

**Aus der Klinik für kleine Haustiere
der Tierärztlichen Hochschule Hannover
und dem Gastrointestinal Laboratory
des College of Veterinary Medicine
and Biomedical Sciences
der Texas A&M University, USA**

**Prävalenz und Teilcharakterisierung
von Gastroenteropathien mit Proteinverlust
beim Norwegischen Lundehund in Nordamerika**

INAUGURAL-DISSERTATION

Zur Erlangung des Grades einer Doktorin
der Veterinärmedizin
(Dr. med. vet.)

durch die Tierärztliche Hochschule Hannover

Vorgelegt von
Nora Berghoff
aus Arnsberg

Hannover 2006

Wissenschaftliche Betreuung:

Herr Prof. Dr. I. Nolte, Dipl. ECVIM-CA/ ECVON-CA

Herr Prof. Dr. J. M. Steiner, PhD, Dipl. ACVIM, Dipl. ECVIM-CA

1. Gutachter: **Herr Prof. Dr. I. Nolte, Dipl. ECVIM-CA/ ECVON-CA**

2. Gutachter: **Herr Prof. Dr. G. Breves**

Tag der mündlichen Prüfung: 22. November 2006

*Meiner Familie
und meinen Freunden*

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

α_1 -PI	-	Alpha ₁ -Proteinase Inhibitor
ANOVA	-	Analysis of variance (einfaktoriellen Varianzanalyse mit wiederholten Messungen)
BSP	-	Bromosulphophthalein
BT-PABA	-	N-Benzoyl-L-Tyrosyl-Paraaminobenzoesäure
CDAI	-	Crohn's Disease Activity Index (Index zur Beurteilung eines Krankheitsschubes bei Morbus Crohn-Patienten)
CIBDAI	-	Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (Index zur Beurteilung eines Krankheitsschubes bei Hunden mit IBD)
⁵¹ CrCl ₃	-	⁵¹ Chrom(III)chlorid
CRP	-	C-Reaktives Protein
cTLI	-	Canine Trypsin-like immunoreactivity (canine Trypsinähnliche Immunreaktivität)
ELISA	-	Enzyme-linked immunosorbent assay (Enzymimmunassay)
EPI	-	Exokrine Pankreasinsuffizienz
GC/MS	-	Gaschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion
HPLC	-	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie)
IBD	-	Inflammatory Bowel Disease (Entzündliche Darmerkrankung)
IF	-	Intrinsic factor (Intrinsischer Faktor)
IL	-	Intestinale Lymphangiektasie
KGW	-	Körpergewicht
LPE	-	Lymphoplasmazytäre Enteritis
L/R-Verhältnis	-	Laktulose/Rhamnose-Verhältnis
PABA	-	Paraaminobenzoesäure
PAD	-	Pulsed amperometric detection (gepulste amperometrische Detektion)

VI

PBS	-	Phosphate-buffered saline (Phosphat-Natriumchlorid-Puffer)
PBS-NBCS	-	Phosphate-buffered saline with newborn calf serum (Phosphat-Natriumchlorid-Puffer mit Kälberserum)
PLE	-	Protein-losing enteropathy (Enteropathie mit Proteinverlust)
SHRP	-	Streptavidin-horseradish peroxidase (Streptavidin Meerrettich Peroxidase)
SIBO	-	Small intestinal bacterial overgrowth (Bakterielle Überwucherung des Dünndarms)
TLCK	-	Tosyl-L-Lysin Chloromethylketon
TLI	-	Trypsin-like immunoreactivity (Trypsinähnliche Immunreaktivität)
TMB	-	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin
TP	-	Total protein (Gesamtprotein)
X/M-Verhältnis	-	Xylose/Methylglukose-Verhältnis

INHALTSVERZEICHNIS

VERZEICHNIS DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN	V
LEGENDE DER ABBILDUNGEN	X
LEGENDE DER TABELLEN	XII
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 GESCHICHTE DES NORWEGISCHEN LUNDEHUNDES	2
2.2 LUNDEHUND SYNDROM ODER LUNDEHUND-GASTROENTEROPATHIE	5
2.3 ENTEROPATHIEN MIT PROTEINVERLUST (PROTEIN-LOSING ENTEROPATHY)	7
2.4 INTESTINALE LYMPHANGIEKTASIE	8
2.5 TESTS ZUR DIAGNOSE VON ERKRANKUNGEN DES GASTROINTESTINALTRAKTES	9
2.5.1 Serumkonzentration von Cobalamin	9
2.5.2 Serumkonzentration von Folsäure	10
2.5.3 Trypsin-ähnliche Immunreaktivität	10
2.5.4 Bestimmung von unkonjugierten Gallensäuren im Serum	11
2.5.5 ⁵¹ CrCl ₃ -markiertes Albumin und Alpha ₁ -Proteinase Inhibitor	12
2.5.6 C-reaktives Protein	14
2.5.7 Gastrointestinale Permeabilität und Absorptionskapazität	15
2.5.7.1 Bestimmung der Magenpermeabilität: Saccharose	16
2.5.7.2 Bestimmung der intestinalen Permeabilität: Laktulose und Rhamnose	16
2.5.7.3 Bestimmung der intestinalen Absorptionskapazität: Xylose und Methylglukose	19
2.6 WEITERE UNTERSUCHUNGEN BEI NORWEGISCHEN LUNDEHUNDEN	20
2.6.1 Hämatologie	20
2.6.2 Blutchemische Untersuchungen	20
2.6.2.1 Serumkalzium	20
2.6.2.2 Gesamtprotein und Albumin im Serum	21
2.6.3 Bromosulphophthalein-Retentionstest	22
2.6.4 BT-PABA Test	23
2.6.5 Allgemeine Untersuchung von Kotproben Norwegischer Lundehunde	23
2.6.6 Untersuchung von Urinproben Norwegischer Lundehunde	23

2.7 PATHOLOGISCHE UND HISTOPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN BEIM NORWEGISCHEN LUNDEHUND	25
2.7.1 Allgemeine Beobachtungen und Hinweise zur Probennahme	25
2.7.2 Magen	25
2.7.3 Dünndarm	26
3. MATERIALIEN, METHODEN UND EIGENE UNTERSUCHUNGEN	29
3.1 MATERIALIEN	29
3.1.1 Probenmaterial	29
3.1.2 Geräte, Reagenzien und Verbrauchsmaterialien	29
3.2 METHODEN	32
3.2.1 Statistische Methoden zur Datenanalyse	32
3.2.2 Messung von Cobalamin- und Folsäureserumkonzentrationen	32
3.2.2.1 Prinzip der Cobalaminmessung	32
3.2.2.2 Prinzip der Folsäuremessung	33
3.2.3 Messung von Trypsin-ähnlicher Immunreaktivität in Serum	33
3.2.4 Messung von C-reaktivem Protein in Serum	34
3.2.5 Messung von Alpha ₁ -Proteinase Inhibitor in Kotproben	35
3.2.6 Messung von Gesamtprotein und Albumin im Serum	36
3.2.7 Bestimmung von intestinaler Permeabilität und Absorptionskapazität	36
3.2.7.1 Verwendete Zucker und Dosierung	36
3.2.7.2 Durchführung des Tests	37
3.2.7.3 Analyse der Serumproben	37
3.2.7.4 Statistische Analyse der Ergebnisse	38
4. ERGEBNISSE	39
4.1 PROBENUMFANG, ALTER UND GESCHLECHTERVERHÄLTNIS	39
4.2 COBALAMIN- UND FOLSÄUREKONZENTRATIONEN IM SERUM	40
4.2.1 Cobalaminkonzentration im Serum	40
4.2.2 Folsäurekonzentration im Serum	41
4.2.3 Korrelation zwischen Cobalamin- und Folsäurekonzentrationen im Serum von 97 Lundeunden	43
4.3 TRYPSIN-ÄHNLICHE IMMUNREAKTIVITÄT	44
4.4 C-REAKTIVES PROTEIN IM SERUM	45
4.5 ALPHA₁-PROTEINASE INHIBITOR	48
4.6 GESAMTPROTEIN, ALBUMIN UND GLOBULINE	50
4.7 GASTROINTESTINALE PERMEABILITÄT UND ABSORPTIONSKAPAZITÄT	56
4.7.1 Saccharose	56

4.7.2 Laktulose, Rhamnose und L/R Verhältnis _____	56
4.7.2.1 Laktulose _____	56
4.7.2.2 Rhamnose _____	60
4.7.2.3 L/R Verhältnis _____	63
4.7.3 Xylose, Methylglukose und X/M Verhältnis _____	67
4.7.3.1 Xylose _____	67
4.7.3.2 Methylglukose _____	70
4.7.3.3 X/M Verhältnis _____	74
5. DISKUSSION _____	78
5.1 PROBEN: SELEKTION UND PROBENNAHME _____	78
5.2 ALTER- UND GESCHLECHTERVERHÄLTNIS _____	79
5.3 COBALAMIN- UND FOLSÄUREKONZENTRATION IM SERUM _____	80
5.4 TRYPSIN-ÄHNLICHE IMMUNREAKTIVITÄT _____	82
5.5 C-REAKTIVES PROTEIN IM SERUM _____	83
5.6 ALPHA₁-PROTEINASE INHIBITOR KONZENTRATION IN DEN FÄZES _____	84
5.7 GESAMTPROTEIN, ALBUMIN UND GLOBULINE IM SERUM _____	85
5.8 GASTROINTESTINALE PERMEABILITÄT UND ABSORPTIONSKAPAZITÄT _____	87
5.9 AUSSICHT UND SCHLUSSBETRACHTUNG _____	90
6. ZUSAMMENFASSUNG _____	92
7. SUMMARY _____	95
8. LITERATURVERZEICHNIS _____	97
9. ANHANG _____	107
VERZEICHNIS DER VERWENDETEN LÖSUNGEN _____	107
9.1 PBS (BupH TM PBS Puffer Mischung, Pierce, Rockford IL, USA) _____	107
9.2 PBS-NBCS _____	107
9.3 SHRP-Lösung _____	107
9.4 ELISA-Stop-Lösung _____	107
9.5 Fukoselösung _____	107

LEGENDE DER ABBILDUNGEN

Abbildung 1	Norwegischer Lundehund.....	3
Abbildung 2	Polydaktylie beim Norwegischen Lundehund.....	3
Abbildung 3	Hyperflexibilität der Schultergelenke beim Norwegischen Lundehund.....	3
Abbildung 4	Hyperflexibilität der Halswirbelsäule beim Norwegischen Lundehund.....	4
Abbildung 5	Verschluss des äußeren Gehörgangs beim Norwegischen Lundehund.....	4
Abbildung 6	(A) Permeabilität für Laktulose und Rhamnose im gesunden Darm (B) Erhöhte Permeabilität im erkrankten Darm.....	18
Abbildung 7	Altersverteilung der 97 an der Studie teilnehmenden Norwegischen Lundehunde.....	39
Abbildung 8	Cobalaminkonzentrationen im Serum von 97 Lundehunden...	40
Abbildung 9	Folsäurekonzentrationen im Serum von 97 Lundehunden.....	41
Abbildung 10	Negative Korrelation zwischen der Folsäurekonzentration und dem Alter der 97 Lundehunde.....	42
Abbildung 11	Positive Korrelation zwischen Cobalamin- und Folsäurekonzentration im Serum.....	43
Abbildung 12	Serum cTLI-Konzentrationen bei 97 Lundehunden.....	44
Abbildung 13	CRP-Konzentrationen bei 96 Lundehunden.....	46
Abbildung 14	Vergleich zwischen CRP-Konzentrationen in der Gruppe der Kontrollhunde (n=51) und der Gruppe der Lundehunde (n=96).....	47
Abbildung 15	Alpha1-Proteinase Inhibitor-Konzentrationen bei 97 Norwegischen Lundehunden.....	48
Abbildung 16	Korrelation der Alpha ₁ -Proteinase Inhibitor-Konzentrationen mit dem Alter bei 97 Norwegischen Lundehunden.....	49

Abbildung 17	Verteilung der Gesamtproteinkonzentrationen bei den 97 untersuchten Lundehunden.....	51
Abbildung 18	Verteilung der Albuminkonzentrationen bei den 97 untersuchten Lundehunden.....	52
Abbildung 19	Verteilung der Globulinkonzentrationen bei den 97 untersuchten Lundehunden.....	53
Abbildung 20	Negative Korrelation zwischen der mittleren Konzentration von Alpha1-Proteinase Inhibitor in drei Kotproben und dem Gesamtprotein im Serum.....	54
Abbildung 21	Negative Korrelation zwischen der mittleren Konzentration von Alpha1-Proteinase Inhibitor in drei Kotproben und Globulinen im Serum bei 97 Lundehunden.....	55
Abbildung 22	Vergleich der Laktulosekonzentrationen zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lundehunden (n=13) zu den Zeitpunkten der Probennahme nach Verabreichung der Zucker.....	60
Abbildung 23	Vergleich der Rhamnosekonzentrationen zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lundehunden (n=13) 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker.....	63
Abbildung 24	Vergleich der L/R-Verhältnisse zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lundehunden (n=13) 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker.....	66
Abbildung 25	Vergleich der Xylosekonzentration zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lundehunden (n=13) 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker.....	70
Abbildung 26	Vergleich der Methylglukosekonzentration zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lundehunden (n=13) 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker.....	74
Abbildung 27	Vergleich der X/M-Verhältnisse zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lundehunden (n=13) 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker.....	77

LEGENDE DER TABELLEN

Tabelle 1	Verwendete Materialien.....	29
Tabelle 2	Konzentrationen der verwendeten Zucker.....	36
Tabelle 3	Laktulosekonzentrationen im Serum der Kontrollhunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	58
Tabelle 4	Laktulosekonzentrationen im Serum der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	59
Tabelle 5	Rhamnosekonzentrationen im Serum der Kontrollhunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	61
Tabelle 6	Rhamnosekonzentrationen im Serum der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	62
Tabelle 7	L/R-Verhältnisse der Kontrollhunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	64
Tabelle 8	L/R-Verhältnisse im Serum der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	65
Tabelle 9	Xylosekonzentrationen im Serum der Kontrollhunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	68
Tabelle 10	Xylosekonzentrationen im Serum der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	69
Tabelle 11	Methylglukosekonzentrationen im Serum der Kontrollhunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	72
Tabelle 12	Methylglukosekonzentrationen im Serum der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	73
Tabelle 13	X/M-Verhältnisse bei Kontrollhunden zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	75
Tabelle 14	X/M-Verhältnisse in der Gruppe der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.....	76

1. EINLEITUNG

Gastroenteropathien beim Hund, mit oder ohne enteralem Proteinverlust, stellen oftmals ein Problem dar, da die Ursache einer solchen Erkrankung häufig nicht klar erkannt werden kann und somit auch die Therapie in diesen Fällen auf eine symptomatische Therapie beschränkt ist. Zu den möglichen Ursachen für gastroenteralen Verlust von Proteinen zählen entzündliche Veränderungen des Magen-Darm-Traktes, wie z.B. Inflammatory Bowel Disease (IBD), Blutungen im Magen-Darm-Trakt, z.B. ausgelöst durch Ulzera des Magens oder Darms, oder aber auch primäre oder sekundäre intestinale Lymphangiektasie (IL), eine pathologische Distension der Lymphgefäße des Magen-Darm-Traktes (MUNRO 1974; PETERSON u. WILLARD 2003).

Norwegische Lundehunde sind häufig betroffen von chronischer Gastroenteropathie, welche sich unter anderem durch Erbrechen, Durchfall, Gewichtsverlust, Lethargie, Aszites und subkutane Ödeme äußern kann. Die häufigste im Blutbild festzustellende Veränderung ist Hypoproteinämie, wahrscheinlich hervorgerufen durch enteralen Proteinverlust, welche sowohl durch Hypalbuminämie, als auch Hypogammaglobulinämie, oder beides entstehen kann. Weiterhin werden oftmals verringerte Cobalaminkonzentrationen als auch erniedrigte oder erhöhte Folsäurekonzentrationen im Serum gemessen (FLESJA u. YRY 1977; LANDSVERK u. GAMLEM 1984; ROPSTAD 1983; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997). Diese beiden Parameter reflektieren Malabsorption und/oder Veränderungen in der Komposition der intestinalen Mikroflora (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003). Histopathologisch sind bei vielen Norwegischen Lundehunden chronische atrophische Gastritis, intestinale Lymphangiektasie und lymphoplasmazytäre Enteritis (LPE) erkennbar, wobei jeweils nur eine oder auch mehrere dieser pathologischen Veränderungen vorhanden sein können (KOLBJØRNSEN et al. 1994a; LANDSVERK u. GAMLEM 1984).

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, die Prävalenz von Gastroenteropathien beim Norwegischen Lundehund in Nordamerika zu bestimmen und eine bessere Charakterisierung der Krankheit zu erstellen. Falls sich die Annahme einer hohen Prävalenz dieser Erkrankung beim Lundehund bestätigt, könnten weitere Studien zur Erforschung ähnlicher Gastroenteropathien bei diesen Hunden durchgeführt und nachfolgend womöglich auf andere Hunderassen übertragen werden.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1 Geschichte des Norwegischen Lundehundes

Der Norwegische Lundehund ist eine alte und seltene Hunderasse, die ursprünglich aus Norwegen, Island, den Faroer Inseln, den Orkney Inseln und den Hebriden stammt (FLESJÅ u. YRI 1977). Lundehunde sind kleine, Spitz-ähnliche Hunde, mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von ca. 5-10 kg (Abbildung 1).

Phänotypisch ist im Rassestandard des Lundehundes Polydaktylie vorhanden, welche im Zuchtstandard des Norwegischen Zuchtverbandes (Norsk Kennel Klub) sogar erwünscht ist. Demnach sollten Norwegische Lundehunde mindestens sechs Zehen an jeder Pfote haben (Norsk Kennel Klub, FCI Standard 265) (Abbildung 2).

Weiterhin zeigt der Lundehund eine erhöhte Flexibilität der Schultergelenke und der Halswirbelsäule, wodurch er in der Lage ist, die Vorderextremitäten lateral auszustrecken und den Hals stark nach hinten zu biegen (Abbildung 3 und 4). Lundehunde können außerdem den Knorpel des äußeren Ohres so zurückziehen, dass ein Verschluss des Ohrkanals erfolgt, was als Schutz gegen Schmutz und Nässe dienen soll (WILCOX u. WALCOWICZ 1995) (Abbildung 5).

Erwähnt wurde der Lundehund erstmals im 17. Jahrhundert (FRIMANN-CLAUSEN u. LAANE 1968). Ursprünglich wurde diese Hunderasse zur Jagd auf Papageientaucher (*Fratercula arctica*) eingesetzt, eine Vogelart, welche zur damaligen Zeit oftmals die Haupteinkommensquelle für viele Menschen in Skandinavien darstellte. Im Laufe der Zeit nahm die Zahl der Lundehunde jedoch kontinuierlich ab. Einer der Hauptgründe dafür war, dass aufgrund des Rückganges der Jagd auf Papageientaucher der Lundehund seinen Stellenwert als Jagdhund verlor. Man hielt den Lundehund lange Zeit für ausgestorben, bis im Jahr 1925 eine kleine Population auf der norwegischen Insel Væroy entdeckt wurde (FRIMANN-CLAUSEN u. LAANE 1968). In den darauffolgenden Jahren wurde jedoch fast die gesamte Population an Lundehunden Opfer einer Staupeepidemie. Zum Erhalt des Lundehundes wurde in 1961 mit einem Zuchtprogramm begonnen, bei dem nur zwei Hündinnen und drei Rüden eingesetzt wurden (KOLBJØRNSSEN et al. 1994a). Im Jahr 1964 erkrankte einer der ursprünglichen Rüden im Alter von ca. drei Jahren an einer Gastroenteropathie, die mit Aszites und subkutanen Ödemen einherging

(FLESJÅ u. YRI 1977). Seitdem wurden mehrere Fälle von Lundehunden mit einem ähnlichen Krankheitsbild beschrieben, welches in der Regel als „Lundehund Syndrom“ bezeichnet wird (FLESJÅ u. YRI 1977; LANDSVERK u. GAMLEM 1984; ROPSTAD 1983; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).



Abbildung 1 Norwegischer Lundehund. Auf diesem Bild ist ein typischer Norwegischer Lundehund zu sehen. Adulte Lundehunde sind rotbraun bis fahlbraun gefärbt, mit schwarzen Haarspitzen und weißen Abzeichen verschiedener Ausprägung (Photo: Debby G. Morris).



Abbildung 2 Polydaktylie beim Norwegischen Lundehund. Der FCI Rassestandard erwünscht sechs Zehen an jeder Pfote, wovon fünf Zehen Kontakt mit dem Boden haben sollen, um die Pfote zu stützen. (Photo: David A. Williams).



Abbildung 3 Hyperflexibilität der Schultergelenke beim Norwegischen Lundehund. Lundehunde zeigen eine enorme Flexibilität der Gelenke, insbesondere der Schultergelenke und der Halswirbelsäule (siehe auch Abbildung 4) (Photo: Frances J.E. Wagner).



Abbildung 4 Hyperflexibilität der Halswirbelsäule beim Norwegischen Lundehund. Die Halswirbelsäule sowie andere Gelenke beim Norwegischen Lundehund sind extrem flexibel. Der Lundehund ist dadurch in der Lage, seinen Rücken mit der Stirn zu berühren (Photo: Frances J.E. Wagner).



Abbildung 5 Verschluss des äußeren Gehörgangs beim Norwegischen Lundehund. Lundehunde sind in der Lage, den Ohrkanal zu verschließen, was ihnen besonderen Schutz gegen Schmutz und Nässe verleiht (Photo: Frances J.E. Wagner).

2.2 Lunde Hund Syndrom oder Lunde Hund-Gastroenteropathie

Es gibt Berichte über eine relativ hohe Prävalenz von Gastroenteropathien beim Norwegischen Lunde Hund in den USA, allerdings sind genaue Zahlen oder Schätzungen des Anteils der betroffenen Tiere nicht bekannt (WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

Betroffene Lunde Hunde können eine Reihe verschiedener klinischer Symptome zeigen. Dazu zählen intermittierende Diarrhoe, Erbrechen, Gewichtsverlust, Lethargie, Aszites und subkutane Ödeme, in der Regel der Hinterhand. Es gibt außerdem Hinweise, dass ein Großteil der Hunde subklinisch erkrankt ist (FLESJÅ u. YRI 1977; KOLBJØRNSSEN et al 1994a; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

Das Krankheitsbild wurde bisher meist als Enteropathie mit Proteinverlust bezeichnet (protein-losing enteropathy; PLE), allerdings ist mittlerweile erwiesen, dass neben intestinalen Störungen auch Abnormalitäten des Magens vorhanden sind (FLESJÅ u. YRI 1977; KOLBJØRNSSEN et al. 1994a; KOLBJØRNSSEN et al. 1994b; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997). Der Begriff „Lunde Hund Syndrom“ umfasst die Komponenten Gastritis, PLE, intestinale Lymphangiektasie (IL), entzündliche Darmerkrankungen (IBD) und Malabsorption. Um die umfassenden Eigenschaften des Krankheitsbildes korrekt wiederzugeben, sollte daher der Begriff Lunde Hund-Gastroenteropathie verwendet werden.

Die Lunde Hund-Gastroenteropathie wird sowohl bei Lunde Hunden in Europa als auch in Nordamerika gesehen (FLESJÅ u. YRI 1977; KOLBJØRNSSEN et al. 1994a; LANDSVERK u. GAMLEM 1984; ROPSTAD 1983; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997). Hinweise auf den diffusen Charakter dieser Erkrankung lassen sich anhand Untersuchungen von Blut- und Kotproben und histologischer Untersuchung gastrointestinaler Biopsien erkennen (FLESJÅ u. YRI 1977; KOLBJØRNSSEN et al. 1994a; LANDSVERK u. GAMLEM 1984; ROPSTAD 1983; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

Es sollte erwähnt werden, dass sich die meisten der angeführten Studien jeweils auf eine relativ kleine Anzahl Tiere beziehen, so dass die Ergebnisse in Bezug auf die Gesamtpopulation vorsichtig interpretiert werden sollten. Es ist allerdings erkennbar, dass sich einige der Merkmale und Ergebnisse in fast allen Publikationen wiederfinden, weshalb man davon ausgehen kann, dass es sich hierbei wahrscheinlich

um weit verbreitete Abnormalitäten innerhalb der Population des Norwegischen Lundehundes handelt.

2.3 Enteropathien mit Proteinverlust (Protein-losing enteropathy)

Der Begriff Enteropathie mit Proteinverlust (protein-losing enteropathy, PLE) beschreibt ein Syndrom, bei dem es aufgrund einer Darmerkrankung zum nichtselektiven Verlust von Proteinen in das Lumen des Darmtraktes kommt, oftmals begleitet von Hypalbuminämie oder Panhypoproteinämie, besonders in hochgradigen Fällen. Es gibt eine Vielfalt verschiedener Ursachen für PLE, da mehrere Mechanismen zum Proteinverlust in den Darm führen können. Dazu zählen z.B. entzündliche Darmerkrankungen, Erosionen und Ulzerationen, Neoplasien mit Störung der Mukosaintegrität, und Ruptur von Lymphgefäßen (MUNRO 1974; PETERSON u. WILLARD 2003).

Die klinischen Symptome variieren stark und sind oftmals nur unspezifisch. Mögliche Anzeichen für PLE sind das Vorhandensein von Aszites, Gewichtsverlust, und in den meisten Fällen eine intermittierende Diarrhoe, zum Teil mit Vomitus und/oder Anorexie (FINCO et al. 1973; PETERSON u. WILLARD 2003).

Zur Diagnosestellung sollte Serumalbumin gemessen werden, da viele Hunde mit PLE normale Globulinkonzentrationen haben, so dass die Messung des Gesamtproteins (total protein, TP) unter Umständen nicht zur Diagnosefindung beiträgt. Bei Vorhandensein subnormaler Proteinkonzentrationen sollten andere Ursachen der Hypalbuminämie oder Hypoproteinämie ausgeschlossen werden, darunter Proteinurie, Leberinsuffizienz oder kutane Proteinverluste. Ein hilfreiches Diagnostikum für PLE ist die Messung von Alpha₁-Proteinase Inhibitor (α_1 -PI) in Kotproben des Patienten (siehe auch 2.5.5) (MELGAREJO et al. 1998; PETERSON u. WILLARD 2003).

2.4 Intestinale Lymphangiektasie

Bei der intestinalen Lymphangiektasie (IL), einer beim Lundehund häufig anzutreffenden Erkrankung, unterscheidet man eine primäre und eine sekundäre Form.

Die primäre IL ist ein kongenitaler Defekt des lymphatischen Systems und zeichnet sich aus durch Hypoplasie von Lymphgefäßen. Dies stellt eine funktionelle Blockade für den Fluss der Lymphe dar, und aufgrund dessen kommt es zu einer Erweiterung der Lymphgefäße im Körper (MAZZIE et al. 2003). Möglicherweise ist der zugrunde liegende Defekt eine Insuffizienz des Lymphsystems, effektive Anastomosen zu bilden, die ein blockiertes oder verengtes Lymphgefäß umgehen könnten (LANDSVERK u. GAMLEM 1984). Eine derartige Funktionsstörung könnte im Anschluss zu einem erhöhten Druck innerhalb der Lymphgefäße führen, was eine Distension und möglicherweise Ruptur der Gefäße zur Folge haben kann.

Bei der sekundären Lymphangiektasie kann es ebenfalls zu einer Blockade von Lymphgefäßen kommen, jedoch wird dies hierbei nicht durch einen primären Defekt des Lymphsystems verursacht, sondern z.B. durch Neoplasien, entzündetes Gewebe oder erhöhten intravasalen Druck im venösen System (KULL et al. 2001; LANDSVERK u. GAMLEM 1984). Somit wird die Obstruktion durch äußere Einflüsse hervorgerufen und stellt im Gegensatz zur primären IL keinen Defekt des Lymphsystems dar.

Sowohl die primäre, oder angeborene, Lymphangiektasie als auch die sekundäre, bzw. erworbene, Form kann eine exsudative Enteropathie mit Eiweißverlusten zur Folge haben, wenn es zu einer vermehrten Ruptur der Lymphgefäße im Darm kommt und somit Proteine in das Darmlumen verloren gehen.

Pathologisch stellt sich intestinale Lymphangiektasie durch Distensionen der Villi bis hin zur Villusruptur, dilatierte Lymphgefäße in der Darmwand sowie gelegentliches Auftreten von Granulombildungen dar, welche wahrscheinlich Gewebsreaktion auf das Austreten von Lymphe in das umliegende Gewebe sind (siehe auch 2.7.3) (BURNS 1982; FINCO et al. 1973; KALIMA 1971; MESCHTER et al. 1987; VAN KRUININGEN et al. 1984).

2.5 Tests zur Diagnose von Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes

Es sind diverse Testverfahren entwickelt worden, die eine Diagnose gastrointestinaler Erkrankungen vereinfachen, darunter insbesondere die Messung von Serumkonzentrationen von Cobalamin und Folsäure-, sowie die Bestimmung des Alpha₁-Proteinase Inhibitors in Kotproben.

2.5.1 Serumkonzentration von Cobalamin

Cobalamin ist ein wasserlösliches Vitamin (Vitamin B₁₂) und stellt ein wichtiges Koenzym diverser biochemischer Reaktionen dar. Bestimmung der Serumkonzentration von Cobalamin kann insbesondere hilfreich sein bei der Diagnose von Absorptionsstörungen im distalen Dünndarm. Der Absorptionsmechanismus von Cobalamin ist sehr komplex und involviert eine Reihe verschiedener Mechanismen. An Nahrungsproteine gebundenes Cobalamin wird im sauren Milieu des Magens zunächst abgespalten und sofort wieder an R-Protein gebunden. Nach Passage in den Dünndarm wird der Komplex zwischen R-Protein und Cobalamin durch Trypsin und Chymotrypsin gespalten, so dass wieder freies Cobalamin vorliegt, welches daraufhin umgehend an Intrinsic Factor (IF) bindet. Der IF-Cobalamin-Komplex wird dann über spezielle Transportproteine im Ileum absorbiert (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003; WILLIAMS u. GUILFORD 1996).

Hieraus wird ersichtlich, dass es diverse Faktoren gibt, die die Absorption von Cobalamin beeinflussen können. Eine Schädigung der Magenschleimhaut kann z.B. zu einer Verminderung der Verfügbarkeit an R-Protein und auch IF im Magensaft führen. Exokrine Pankreasinsuffizienz (EPI) hat zur Folge, dass unter Umständen keine ausreichenden Mengen an Trypsin, Chymotrypsin und IF im Dünndarm vorliegen (BATT et al. 1989a; BATT et al. 1989b; SIMPSON et al. 1989). Um EPI als Ursache einer Cobalamindefizienz auszuschließen, sollte gleichzeitig Trypsin-ähnliche Immunreaktivität (TLI, siehe 2.5.3) bestimmt werden. Störungen der Integrität und Oberfläche der Ileumsmukosa, z.B. durch Entzündung, können mit einer Schädigung oder Verminderung der Anzahl der Cobalaminrezeptoren einhergehen, was ebenfalls in einer reduzierten Aufnahme von Cobalamin resultieren kann (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003). Zudem können bestimmte Bakterienarten (v.a. *Bacteroides* spp.) im Dünndarm mit dem Wirtsorganismus um Cobalamin

konkurrieren. Dies kann ebenfalls, insbesondere bei einer Erhöhung der Anzahl dieser Bakterien, zu einer Verminderung der Serumkonzentration von Cobalamin führen.

2.5.2 Serumkonzentration von Folsäure

Folsäure ist ebenfalls ein wasserlösliches Vitamin des B-Komplexes und ist in der Regel in ausreichenden Mengen in der Nahrung enthalten, so dass es im Normalfall nicht zu einer diätbedingten Defizienz kommen kann. Folsäure wird zumeist als schlecht absorbierbares Polyglutamat aufgenommen. Im proximalen Dünndarm werden die Glutamat-Reste entfernt, bis nur noch eine Monoglutamat-Form vorliegt, die über spezielle Transportproteine im proximalen Dünndarm absorbiert wird.

Verringerte Serumfolsäurekonzentrationen können auftreten, wenn die zur Aufnahme benötigten Rezeptoren der intestinalen Mukosa durch eine Darmerkrankung beeinträchtigt sind. Eine Erhöhung der Serumfolsäurekonzentration ist im Allgemeinen eine Folge bakterieller Überwucherung des Dünndarms (Small intestinal bacterial overgrowth, SIBO) bzw. einer Änderung der Zusammensetzung der intestinalen Mikroflora. Da die Folsäurerezeptoren ausschließlich im proximalen Dünndarm angesiedelt sind, ist anzunehmen, dass sich die dortige Flora zugunsten von folsäureproduzierenden Mikroorganismen, z.B. durch retrograde Migration von Bakterien des Dickdarms, verändert hat (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003).

2.5.3 Trypsin-ähnliche Immunreaktivität

Der Test auf canine Trypsin-ähnliche Immunreaktivität (cTLI) basiert auf der Bestimmung von Trypsin und Trypsinogen in Serum und dient der Diagnose von exokriner Pankreasinsuffizienz (EPI) (WESTERMARCK et al. 2005; WILLIAMS u. BATT 1983). Trypsinogen wird in den Acinar-Zellen des Pankreas gebildet und gespeichert, wobei es unter physiologischen Bedingungen zu einer geringen Freisetzung von Trypsinogen in die Blutbahn kommt. Da Trypsinogen nicht über den Darm absorbiert wird, reflektieren Serum-Konzentrationen die tatsächliche Freisetzung aus dem Pankreas (WILLIAMS u. BATT 1988). Bei einem Verlust von Acinar-Zellen, z.B. durch Pankreas-Atrophie oder chronische Pankreatitis, kommt es

zu einer Verringerung der Produktion und Freisetzung von Trypsinogen, was nachfolgend im Serum messbar ist (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003).

Der Referenzbereich für cTLI liegt zwischen 5-35 µg/L (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003). Exokrine Pankreasinsuffizienz wird bei einer cTLI-Konzentration von weniger als 2,5 µg/L diagnostiziert. Bei Werten in der Grauzone (2,5-5,0 µg/L) sollte der Test nach sechs bis acht Wochen wiederholt werden, wobei darauf zu achten ist, dass eine Nüchtern-Blutprobe entnommen wird (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003).

Ein cTLI sollte immer gemessen werden, wenn Cobalamin und Folsäure interpretiert werden, um EPI als Ursache einer Änderung der Serumkonzentration der Vitamine auszuschließen. Falls die cTLI-Konzentration im Referenzbereich liegt, kann davon ausgegangen werden, dass Abnormalitäten der Serumkonzentrationen von Cobalamin und Folsäure die Folge einer Erkrankung des Dünndarms und nicht pankreatischen Ursprungs sind (HALL u. GERMAN 2005; SUCHODOLSKI u. STEINER 2003).

2.5.4 Bestimmung von unkonjugierten Gallensäuren im Serum

Die Bestimmung der Serumkonzentration von unkonjugierten Gallensäuren kann Hinweise auf mögliche Veränderungen der Mikroflora im Dünndarm geben. Gallensäuren werden in der Leber zu einem Großteil an Taurin und Glycin konjugiert und somit hauptsächlich als Konjugat (primäre Gallensäuren) in der Galle ausgeschieden. Der Anteil unkonjugierter Gallensäuren (sekundäre Gallensäuren) in der Galle ist vergleichsweise gering. Einige im Darm angesiedelte bakterielle Spezies sind in der Lage, Gallensäuren mittels bakterieller Enzyme zu dekonjugieren. Diese unkonjugierten Gallensäuren durchlaufen einen enterohepatischen Kreislauf, indem sie im Dünndarm relativ einfach durch passive Diffusion absorbiert und nachfolgend zur Leber transportiert werden. Die hepatische Clearance für unkonjugierte Gallensäuren ist im Vergleich zu konjugierten Gallensäuren nicht effizient, wodurch es zu einem Übertritt unkonjugierter Gallensäuren vom portalen in den systemischen Kreislauf kommt. Diese unkonjugierten Gallensäuren können im Serum bestimmt werden, wobei erhöhte Serumkonzentrationen einen Hinweis auf eine erhöhte Dekonjugationsaktivität, bedingt durch eine Erhöhung der Bakterienzahl im Dünndarm, geben können (MELGAREJO et al. 2000; NORTHFIELD et al. 1973;

SUCHODOLSKI u. STEINER 2003). Gallensäuren unterliegen einem starken postprandialen Anstieg im Serum, daher muss unbedingt eine Nüchtern-Blutprobe (mindestens 12 Stunden) verwendet werden (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003).

Die Serumkonzentrationen von Cobalamin, Folsäure, Trypsin-ähnlicher Immunreaktivität (cTLI) und unkonjugierten Gallensäuren sind in einer kleinen Gruppe von sieben Lundehunden gemessen worden. Die cTLI-Konzentrationen befanden sich bei allen getesteten Hunden im Referenzbereich. Die Serumkonzentrationen von Cobalamin waren subnormal (<225 ng/L) in drei Hunden und Konzentrationen von Folsäure lagen über dem Referenzbereich (>17,4 µg/L) bei fünf Hunden, einschließlich der drei Hunde mit subnormalem Cobalamin. Konzentrationen an unkonjugierten Gallensäuren waren erhöht bei insgesamt vier Hunden mit Werten zwischen 0,06-2,24 µmol/L (Medianwert 0,81 µmol/L; Referenzbereich 0-0,04 µmol/L), wovon zwei Hunde erhöhte Folsäurekonzentrationen hatten (WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

Diese Ergebnisse illustrieren, dass die Messung von Cobalamin und Folsäure beim Norwegischen Lundehund hilfreich bei der Diagnosefindung sein kann. Exokrine Pankreasinsuffizienz ist offensichtlich nicht der Grund für abnormale Vitaminkonzentrationen im Serum. Vielmehr scheinen Änderungen der Cobalamin- und Folsäurekonzentrationen eine Malabsorption aufgrund von Dünndarmerkrankungen zu reflektieren.

2.5.5 $^{51}\text{CrCl}_3$ -markiertes Albumin und Alpha₁-Proteinase Inhibitor

Die Diagnose von PLE stellte in der Vergangenheit insofern ein Problem dar, als dass es nicht möglich ist, Proteine wie z.B. Albumin, die bei PLE in den Darm verloren gehen, im Kot zu messen, da Proteine den Proteasen im Darm ausgesetzt sind und somit degradiert werden.

Eine erfolgreiche Methode zur Messung des intestinalen Proteinverlustes ist die Verwendung von $^{51}\text{Chrom(III)-chlorid}$ ($^{51}\text{CrCl}_3$)-markiertem Albumin. $^{51}\text{CrCl}_3$ ist ein radioaktives Isotop, das die Eigenschaft hat, an Albumin zu binden. Zur Durchführung des Tests wird Albumin mit $^{51}\text{CrCl}_3$ markiert, was entweder *ex vivo*

erfolgen kann (mit anschließender intravenöser Verabreichung des markierten Albumins) oder es kann direkt intravenös als $^{51}\text{CrCl}_3$ appliziert werden, woraufhin eine Markierung mit körpereigenem Albumin erfolgt. Leidet der Patient unter PLE, so kann die Radioaktivität des durch den Darm verlorenen $^{51}\text{CrCl}_3$ -Albumins im Kot gemessen werden, wobei die Stärke der Radioaktivität der Menge des verlorenen Albumins entspricht (NORDGREN et al. 1990; WALDMANN 1972). Diese Methode der Diagnose von PLE kann heutzutage noch als Goldstandard angesehen werden, sie ist jedoch nur schwierig durchzuführen, da die Verwendung radioaktiven Materials nur von zertifizierten Institutionen durchgeführt werden darf und der Patient nach Verabreichung des $^{51}\text{CrCl}_3$ für mehrere Tage dort verwahrt werden muss, um Umweltkontamination mit dem Isotop auszuschließen.

Vor einigen Jahren wurde mit Entwicklung eines Assays zur Messung von Alpha₁-Proteinase-Inhibitor (α_1 -PI) eine neue Methode entwickelt, die weder invasiv ist, noch besondere Behandlungs- oder Aufbewahrungsmaßnahmen erfordert, wodurch sie weit einfacher in der Praxis eingesetzt werden kann (MELGAREJO et al. 1998). Alpha₁-PI ist ein Plasmaprotein, welches normalerweise nicht, oder nur in sehr geringen Mengen im Lumen des Gastrointestinaltraktes vorhanden ist. Findet jedoch ein gastrointestinaler Verlust von Plasma, Lymphe oder Interzellulärflüssigkeit aufgrund einer Erkrankung des gastrointestinalen Systems statt, so kann es zu einer Erhöhung der α_1 -PI-Konzentration im Darminhalt kommen. Anders als die übrigen Plasmaproteine, wie z.B. Albumin, wird α_1 -PI aufgrund seiner inhibitorischen Funktion nicht von Proteasen im Darm degradiert, so dass man die Konzentration an α_1 -PI im Kot messen kann (MELGAREJO et al. 1998; MURPHY et al. 2003). Der Referenzbereich liegt bei 0-5,7 $\mu\text{g/g}$ Kot. Aufgrund normaler Variation kann es vorkommen, dass auch gesunde Hunde gelegentlich leicht erhöhte α_1 -PI-Konzentrationen im Kot aufweisen, was jedoch nicht als PLE interpretiert wird. Um die Gefahr einer solchen falsch-positiven Diagnose von PLE zu vermeiden, wird von drei untersuchten Kotproben der Mittelwert berechnet. Liegt dieser über 9,4 $\mu\text{g/g}$ oder hat wenigstens eine der Proben eine Konzentration von mehr als 15,0 $\mu\text{g/g}$ kann davon ausgegangen werden, dass abnormaler Verlust von Protein in den Magen-Darm-Trakt stattfindet. Eine α_1 -PI-Konzentration von mehr als 20,0 $\mu\text{g/g}$ wird als hochgradige PLE interpretiert (STEINER et al. 2003).

Die Messung von α_1 -PI-Konzentrationen bei sieben Lundehunden ergab erhöhte Konzentrationen bei fünf der Hunde, wovon drei zusätzlich eine Hypalbuminämie aufwiesen. Die fäkale Exkretion von intravenös verabreichtem $^{51}\text{Cr}(\text{III})$ -chlorid ($^{51}\text{CrCl}_3$) war erhöht bei drei von vier getesteten Lundehunden. Diese drei Hunde hatten außerdem erhöhte α_1 -PI-Konzentrationen. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass es im Rahmen der Gastroenteropathie des Lundehundes zu intestinale Proteinverlust kommt, und dass dieser Verlust keine Folge von intestinale Parasitenbefall zu sein scheint (WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

2.5.6 C-reaktives Protein

C-reaktives Protein (CRP) ist ein Akute-Phase-Protein, welches zwar nicht krankheitsspezifisch ist, aber bei Entzündungen oder Gewebeschäden schon kurze Zeit (4 bis 24 Stunden) nach Einwirken der Noxe in erhöhter Konzentration im Blut vorhanden ist (CASPI et al. 1984; CASPI et al. 1987; GEWURZ et al. 1982; OTABE et al. 2000).

In der Humanmedizin wird CRP heute verwendet, um den Schweregrad entzündlicher Darmerkrankungen zu beurteilen. Dabei wird eine sehr gute Korrelation von CRP mit dem Krankheits-Aktivitäts-Index bei Morbus Crohn (Crohn's disease activity index, CDAI) gesehen, wohingegen die Übereinstimmung von CRP-Konzentrationen mit Colitis ulcerosa weniger gut ist (SOLEM et al. 2005; VERMEIRE et al. 2004; VERMEIRE et al. 2005).

Auch beim Hund ist eine gute Korrelation von CRP mit dem Aktivitätsindex entzündlicher Darmerkrankungen (canine IBD activity index, CIBDAI) festgestellt worden, wobei CRP bei Hunden mit hohem CIBDAI signifikant erhöht ist. Nach erfolgreicher Therapie nehmen sowohl die CRP-Konzentrationen als auch der CIBDAI wieder ab. Dies zeigt, dass die Messung von CRP bei einem IBD-Patienten als Hilfsmittel zur Beurteilung der Schwere der Krankheit sowie des Therapieerfolges eingesetzt werden kann (JERGENS et al. 2003; JERGENS 2004).

2.5.7 Gastrointestinale Permeabilität und Absorptionskapazität

Das Epithel des Darms hat neben seiner Eigenschaft als Absorptions- und Transportorgan von Nahrungsinhaltsstoffen auch eine wichtige Barrierefunktion gegenüber intraluminalen Molekülen, und somit Antigenen und Pathogenen, die möglicherweise schädlich für den Körper sind (STEINER et al. 2000). Eine Störung der Barrierefunktion kann z.B. durch diverse Darmerkrankungen, Medikamente, oder Cytokine verursacht werden, wodurch es zu einem Eintritt und Durchlass unerwünschter Stoffe und Antigene kommen kann, was wiederum Entzündungsreaktionen hervorrufen und aufrechterhalten kann (TRAVIS u. MENZIES 1992). Permeabilität beschreibt die Eigenschaft des Epithels, Moleküle auf nicht carrier-vermittelte Weise passieren zu lassen (TRAVIS u. MENZIES 1992). Die Absorptionskapazität bezieht sich in diesem Zusammenhang auf das Vermögen des Epithels, Nährstoffe aktiv oder passiv über Carrier-Mechanismen aufzunehmen.

Es gibt diverse nichtinvasive Testverfahren zur Bestimmung der gastrointestinalen Permeabilität und Absorptionskapazität, die Aufschluss geben können über die Intaktheit und Funktion der Mukosa. Allen gemeinsam ist die orale oder intragastrale Verabreichung eines oder mehrerer Testmoleküle, die idealerweise stabil, biologisch inert, nicht toxisch, und nicht metabolisierbar sind. Eine der am häufigsten beschriebenen Methoden ist die Verwendung einer Mischung verschiedener Zucker (FORDTRAN et al. 1962; KRECIC et al. 2003; RUTGERS et al. 1996b; SØRENSEN et al. 1993; SØRENSEN et al. 1997; STEINER et al. 2000; STREETER et al. 2002; SUCHODOLSKI u. STEINER 2003; TRAVIS u. MENZIES 1992). Dabei kombiniert man in der Regel Zuckermoleküle, die mittels Permeabilität aufgenommen werden, mit Zuckermolekülen, die über Carrier oder andere Mechanismen absorbiert werden, so dass man mit einem Test sowohl Permeabilität als auch Absorptionskapazität beurteilen kann. Um die Sensitivität des Tests zu erhöhen und den Einfluss nicht-mukosaler Faktoren so gering wie möglich zu halten, sollte man jeweils zwei Zuckermoleküle für die Permeabilität und zwei Zuckermoleküle für die Absorptionskapazität miteinander kombinieren und diese dann als Verhältnis zueinander ausdrücken. Dies begründet sich mit der Annahme, dass extra-mukosale Einflussfaktoren beide Zuckermoleküle gleich beeinflussen, wodurch sich das Verhältnis in so einem Fall nicht verändert und nur dann variieren würde, wenn

tatsächlich eines der Zuckermoleküle vermehrt oder verringert aufgenommen wird (SØRENSEN et al. 1997).

Zur Messung der intestinalen Permeabilität verwendet man heute häufig Laktulose und Rhamnose, wohingegen zur Beurteilung der Absorptionskapazität Xylose und 3-O-Methylglukose häufig eingesetzte Moleküle sind. Zusätzlich kann die Magenpermeabilität mittels Saccharose ermittelt werden (KRECIC et al. 2003; MEDDINGS et al. 1993).

2.5.7.1 Bestimmung der Magenpermeabilität: Saccharose

Saccharose ist ein Disaccharid, welches nach Eintritt in den Dünndarm unter Einwirkung des Enzyms Saccharase bald in die Monosaccharide Glukose und Fruktose gespalten wird. Folglich können keine intakten Saccharosemoleküle über den Darm aufgenommen werden, selbst wenn Schädigungen der Darmschleimhaut gegenwärtig sind, da die Saccharase weitgehend gleichbleibende Aktivität zeigt (MEDDINGS et al. 1993). Liegen jedoch Mukosaschäden im Magen vor, können die großen Saccharosemoleküle die Magenschleimhaut permeieren und sind somit im Blut oder Urin nachzuweisen (KRECIC et al. 2003; MEDDINGS et al. 1993).

2.5.7.2 Bestimmung der intestinalen Permeabilität: Laktulose und Rhamnose

Laktulose ist ein Disaccharid, das aus Galaktose und Fruktose besteht. Es wird angenommen, dass Laktulose parazellulär durch die Tight Junctions permeiert. In der normalen intestinalen Mukosa ist die Frequenz der Tight Junctions, welche durchlässig genug sind für große Moleküle wie Laktulose, relativ gering. Ist hingegen die Integrität des Epithels gestört, z.B. durch Erosionen der Mukosa, erhöht sich die Anzahl der durchlässigen Tight Junctions, was zu einer Zunahme der Permeabilität von Laktulose führt (STEINER et al. 2000) (Abbildung 6).

Rhamnose ist ein Monosaccharid und somit deutlich kleiner als Laktulose. Es wird vorausgesetzt, dass Rhamnose die intestinale Mukosa auf transzellulärem Wege direkt durch die Epithelzellen permeiert und damit abhängig von der Gesamtoberfläche der Mukosa ist. Eine Reduktion der Oberfläche, z.B. durch Erosionen oder Zottenatrophie

bedingt, kann somit die Permeabilität für Rhamnose deutlich verringern (STEINER et al. 2000) (Abbildung 6).

Laktulose und Rhamnose werden in der Regel gemeinsam bestimmt und als Laktulose/Rhamnose-Verhältnis (L/R-Verhältnis) zueinander ausgedrückt. Ein hohes L/R-Verhältnis ist ein Indikator für erhöhte Permeabilität (SØRENSEN et al. 1993).

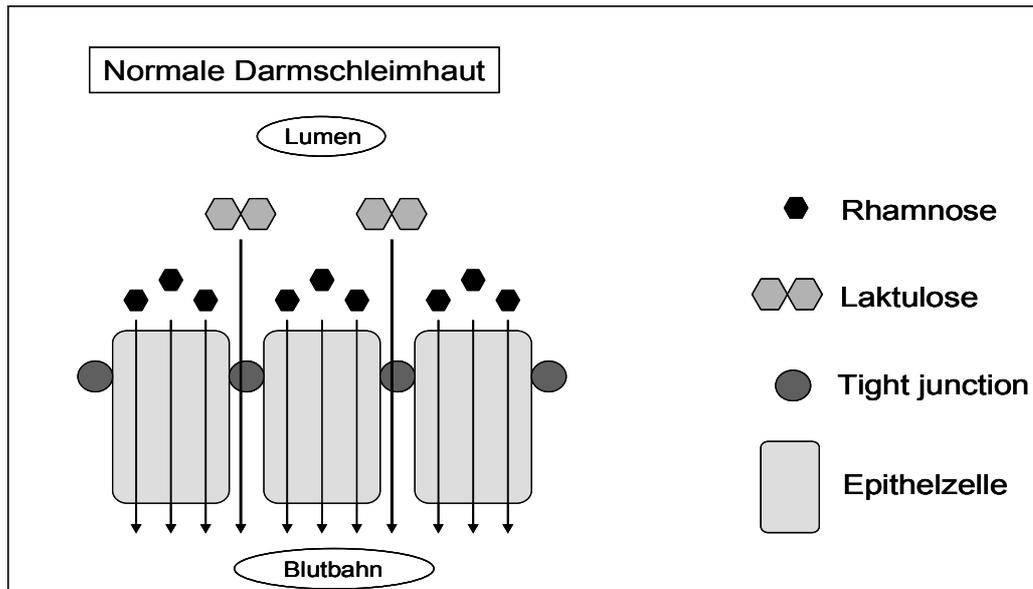
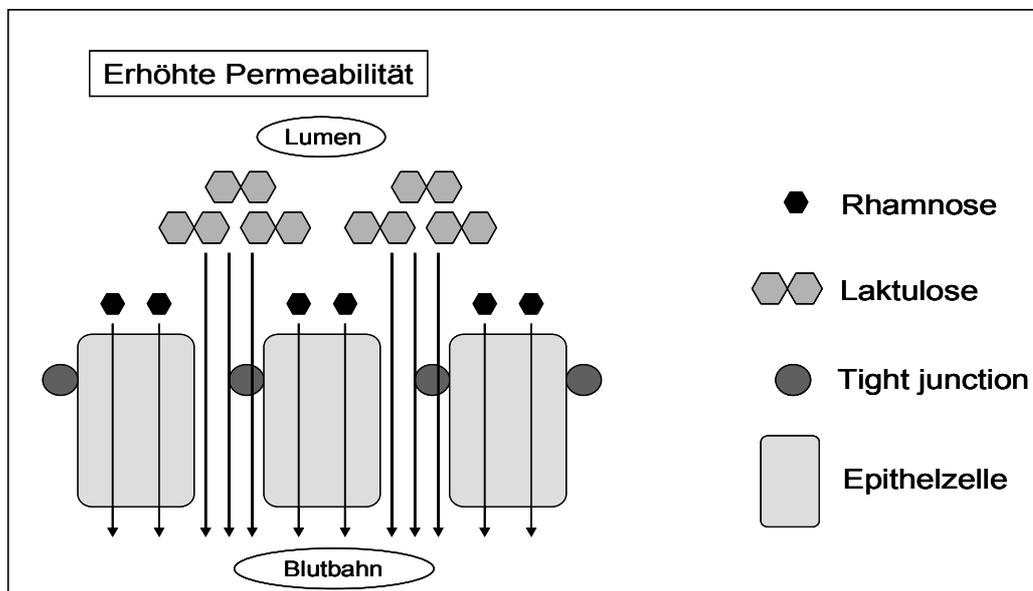


Abbildung 6 (A) Permeabilität für Laktulose und Rhamnose im gesunden Darm.

Nur wenige der großen Laktulosemoleküle permeieren parazellulär durch die Tight junctions, wohingegen eine relativ hohe Anzahl Rhamnosemoleküle transzellulär permeiert.



(B) Erhöhte Permeabilität im erkrankten Darm. Es permeieren mehr Laktulosemoleküle als im gesunden Darm. Gleichzeitig liegt häufig eine Verringerung der Rhamnosepermeabilität aufgrund verringerter Zelloberfläche vor.

(Zeichnung angelehnt an: Suchodolski u. Steiner 2003)

2.5.7.3 Bestimmung der intestinalen Absorptionskapazität: Xylose und Methylglukose

Xylose, ebenfalls ein Monosaccharid, wird eingesetzt zur Beurteilung der Absorptionskapazität des Darmes, wobei die Absorption vermutlich sowohl über passive als auch aktive Mechanismen erfolgt (HILL et al. 1970; LEVITT et al. 1969; SØRENSEN et al. 1997).

3-*O*-Methylglukose (Methylglukose) ist ein nicht metabolisierbares Glukose-Analogon, welches aktiv über Glukosecarrier absorbiert wird und somit Auskunft geben kann über die Absorptionskapazität des Darmes für Glukose (FORDTRAN et al. 1962; SØRENSEN et al. 1997).

Auch Xylose und Methylglukose werden meist zusammen bestimmt und als Verhältnis zueinander ausgedrückt (X/M-Verhältnis). Es wird angenommen, dass die Absorption von Glukose relativ gleichbleibend ist aufgrund einer Überkapazität der Glukosecarriersysteme. Daher kann man die Xyloseabsorption, welche vermutlich eher beeinflussbar ist, auf die Methylglukose als Konstante beziehen (SØRENSEN et al. 1997; STREETER et al. 2002).

2.6 Weitere Untersuchungen bei Norwegischen Lundehunden

2.6.1 Hämatologie

In drei Studien wurden Parameter wie Hämatokrit, Erythrozyten-Anzahl und Morphologie, Sedimentationsgeschwindigkeit, und weißes Blutbild untersucht. Es wurden keine Abnormalitäten gefunden. (FLESJÅ u. YRI 1977; KOLBJØRNSSEN et al. 1994a; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

2.6.2 Blutchemische Untersuchungen

Innerhalb der unterschiedlichen Studien wurden eine Reihe verschiedener Serumparameter in Lundehunden ermittelt, darunter Kalzium, Phosphor, Magnesium, Cholesterol, Harnstoff, Aspartat-Aminotransferase, Alanin-Aminotransferase und Alkalische Phosphatase. Alle Ergebnisse, mit Ausnahme des Kalziums, befanden sich im jeweiligen Referenzbereich (FLESJÅ u. YRI 1977; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

2.6.2.1 Serumkalzium

Serumkalziumkonzentrationen wurden in insgesamt acht Lundehunden in zwei verschiedenen Studien ermittelt. Bei allen Hunden war eine gering- bis mittelgradige Hypokalzämie vorhanden, die nach Meinung der Autoren eine Folge der gleichzeitig vorhandenen Hypalbuminämie war (FLESJÅ u. YRI 1977; ROPSTAD 1983).

Begründen lässt sich dies damit, dass ein Teil des Serumkalziums an Albumin gebunden ist, was bei einer Enteropathie mit Protein-, bzw. Albuminverlust einen gleichzeitigen Verlust des gebundenen Kalziums zur Folge hat, einhergehend mit einer Erhöhung der Kalziumkonzentration im Kot (FINCO et al. 1973; KANEKO et al. 1965; NICOLAIDOU et al. 1980).

Es gibt jedoch noch einige andere Mechanismen, die zu einer Hypokalzämie beitragen können, und denen man in Anbetracht der Komplexität der Lundehund-

Gastroenteropathie eventuell Bedeutung zumessen sollte. Zum Beispiel kann eine Malabsorption von Fetten aus der Nahrung die Kalziumabsorption beeinflussen, da nicht absorbierte Fettsäuren Kalzium binden können und somit dessen Absorption verhindern (NICOLAIDOU et al. 1980). Weiterhin wird die Kalziumabsorption streng reguliert durch 1,25-Dihydroxycholecalciferol, dem aktiven Metaboliten von Vitamin D. 1,25-Dihydroxycholecalciferol stimuliert die Synthese von kalziumbindenden Proteinen, die zur Kalziumabsorption des Dünndarmepithels beitragen (ALPERS et al. 1980; SHINKI et al. 1982). Eine Malabsorption von Vitamin D, wie sie möglicherweise bei Erkrankungen des Dünndarms vorkommt, kann daher ebenfalls zu einer Hypokalzämie beitragen.

2.6.2.2 Gesamtprotein und Albumin im Serum

Die Proteinkonzentrationen in Serum wurden in drei verschiedenen Studien untersucht (FLESJÅ u. YRI 1977; ROPSTAD 1983; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997). Flesjå und Yri fanden bei elf untersuchten Hunden Serumkonzentrationen an Gesamtprotein von 2,3 bis 4,2 g/dl. Es wurde kein Referenzbereich für Gesamtprotein angegeben, jedoch wurden diese Konzentrationen von den Autoren als Hypoproteinämie beurteilt. Acht dieser Hunde litten unter einer Panhypoproteinämie, wobei die übrigen drei nur eine Hypalbuminämie aufwiesen (FLESJÅ u. YRI 1977). Eine weitere Untersuchung in Norwegen ergab ähnliche Befunde. Von acht getesteten Hunden zeigten sechs eine Hypoproteinämie, sieben eine Hypalbuminämie und fünf wiesen eine Hypogammaglobulinämie auf (ROPSTAD 1983). In der neuesten Untersuchung von Williams wurde Hypalbuminämie in drei von sieben Lundehunden gefunden, wobei die Serumglobuline bei allen Hunden normal waren (WILLIAMS u. MELGAREJO 1997). Man muss dabei beachten, dass die von Williams untersuchten Hunde zum Zeitpunkt der Untersuchung keine klinischen Symptome zeigten, wohingegen alle Hunde der beiden anderen Studien jeweils klinisch erkrankt waren, so dass eventuell von einem unterschiedlichen Schweregrad der Erkrankung ausgegangen werden kann.

Diese Ergebnisse zeigen, dass der Verlust an Proteinen eine der schwerwiegendsten Veränderungen in betroffenen Norwegischen Lundehunden ist. Hypalbuminämie scheint häufiger vorzukommen als Panhypoproteinämie.

2.6.3 Bromosulphophthalein-Retentionstest

Bromosulphophthalein (BSP) ist eine cholephile Substanz, die nach intravenöser Administration in der Leber aus dem Blut resorbiert und nachfolgend aktiv mit der Galle ausgeschieden wird. Bei normaler hepatobiliärer Funktion werden ca. 95% der zugeführten Menge an BSP innerhalb von 30 Minuten ausgeschieden. Die Menge an nicht ausgeschiedenem, und daher im Blut messbaren BSP kann somit zur Bestimmung der exkretorischen Leberfunktion herangezogen werden (CENTER 2000; FLATLAND et al. 2000).

Der BSP-Retentionstest wurde zur Beurteilung der Leberfunktion bei elf Lundehunden durchgeführt (FLESJÅ u. YRI 1977). Bei zehn der getesteten Hunde ergab der Test eine BSP-Retention von weniger als 10% nach 30 Minuten (Einzelwerte nicht angegeben). Diese Ergebnisse lagen nach Aussage der Autoren im Referenzbereich. Nur ein Lundehund hatte eine Retention von 30% nach 30 Minuten. Die Autoren gaben an, dass sie dies eher für eine Folge des bei diesem Hund bestehenden Aszites hielten, als es einer Beeinträchtigung der Leberfunktion zuzuschreiben, obwohl sie dafür keine Begründung gaben.

Mögliche Erklärungen für eine Beeinträchtigung der BSP-Clearance durch Aszites sind z.B. die Entstehung einer Leberkongestion, beeinträchtigte Zirkulation zur Leber, Diffusion von BSP in die Aszitesflüssigkeit oder sogar eine Überdosis an BSP aufgrund des durch die Aszitesflüssigkeit fälschlich erhöhten Körpergewichtes (CENTER 2000; FLATLAND et al. 2000).

Es ist somit erkennbar, dass es bei diesem Test eine Reihe an Variablen gibt, die das Ergebnis möglicherweise beeinflussen können. Zusätzlich zu den oben angeführten Faktoren kommt noch hinzu, dass BSP zum Teil an Globuline und Albumin gebunden ist (BAKER u. BRADLEY 1966; CENTER 2000; FLATLAND et al. 2000). Folglich kann eine Hypalbuminämie die BSP-Eliminationsrate beeinflussen, indem es die Plasma-Clearance des ungebundenen BSP erhöht und somit zu einer fälschlich niedrigen BSP-Retention führt (GRAUSZ u. SCHMID 1971). Berichte über Hypersensitivitätsreaktionen auf BSP, mangelnde Sensitivität und Spezifität im Vergleich mit anderen Leberfunktionstests, und die Unfähigkeit des Tests, zwischen verschiedenen Arten von Lebererkrankungen zu unterscheiden, haben dazu geführt, dass dieser Test heutzutage nur noch selten zur Beurteilung der Leberfunktion durchgeführt wird (FLATLAND et al. 2000).

2.6.4 BT-PABA Test

Der N-Benzoyl-L-Tyrosyl-Paraaminobenzoensäure (BT-PABA) Test ist ein Hilfsmittel zur Beurteilung der Aktivität pankreatischer Enzyme im Dünndarm. BT-PABA ist ein Tripeptid, welches durch die pankreatische Peptidase Chymotrypsin in BT und PABA gespalten wird. PABA wird nach der Abspaltung im Dünndarm absorbiert und steht somit anschließend im Blut oder Urin zur Messung zur Verfügung. Eine niedrige PABA-Konzentration, basierend auf dem jeweiligen Referenzbereich der Studie, ist ein Hinweis auf exokrine Pankreasinsuffizienz (EPI).

Dieser Test wurde in drei Lundehunden durchgeführt. Dazu wurde den Hunden eine Testlösung mit BT-PABA oral verabreicht. Nachfolgend wurden über einen Zeitraum von drei Stunden in halbstündigen Intervallen Blutproben zur Analyse entnommen. Einer der drei Hunde hatte nach Aussage der Autoren eine geringe PABA-Konzentration (19,5 µmol/L) nach zweieinhalb Stunden, wobei jedoch kein Referenzbereich angegeben wurde und daher nicht klar ist, wie niedrig dieses Testergebnis im Vergleich zum Referenzbereich der Studie ist (ROPSTAD 1983). Generell kann jedoch gesagt werden, dass bei den meisten Hunden mit EPI PABA-Konzentrationen unter diesem gemessenen Wert beobachtet werden, so dass die Konzentration von 19,5 µmol/L wahrscheinlich eher eine Folge von Malabsorption als eine Folge verringerter pankreatischer Hydrolyse von BT-PABA darstellt.

2.6.5 Allgemeine Untersuchung von Kotproben Norwegischer Lundehunde

In mehreren Studien wurden Kotproben von Lundehunden untersucht, wobei die Fäzes oftmals als mukoid bis flüssig und übelriechend beschrieben wurden. Bakteriologisch oder parasitologisch abweichende Befunde wurden nicht gefunden (FLESJÅ u. YRI 1977; ROPSTAD 1983).

2.6.6 Untersuchung von Urinproben Norwegischer Lundehunde

Urinproben von Lundehunden wurden in zwei Studien unter anderem auf Sediment, pH, spezifisches Gewicht, Proteingehalt, Glukosegehalt, Bilirubin, Ketonkörper, Blut

und Bakterien untersucht. Es wurden keinerlei Abnormalitäten gefunden (FLESJÅ u. YRI 1977; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

2.7 Pathologische und histopathologische Untersuchungen beim Norwegischen Lundehund

2.7.1 Allgemeine Beobachtungen und Hinweise zur Probennahme

Studien haben gezeigt, dass selbst Lundehunde, die klinisch keine Symptome zeigen, oftmals subklinisch erkrankt sind, welches in pathologischen und histopathologischen Untersuchungen des Gastrointestinaltraktes zum Vorschein kommt. Abnormalitäten können sowohl im Magen als auch im Dünndarm gefunden werden, wobei der Schweregrad in der Regel von proximal nach distal abnimmt (FLESJÅ u. YRI 1977; LANDSVERK u. GAMLEM 1984). Einige der äußerlich erkennbaren pathologischen Veränderungen, die bei der Sektion von Lundehunden festgestellt wurden, beinhalteten Kachexie, Aszites (spezifisches Gewicht $<1,018$; kein oder nur geringer Proteingehalt), in hochgradigen Fällen auch Hydrothorax, und subkutane Ödeme (FLESJÅ u. YRI 1977).

Um qualitativ hochwertige Biopsien des Dünndarms beim Lundehund zu gewinnen, sollte generell besonders darauf geachtet werden, dass die Probe *in vivo* oder spätestens innerhalb von fünf Minuten nach dem Tod des Hundes entnommen wird, um geringfügige postmortale Veränderungen des Epithels zu vermeiden, die sonst nur schwierig von den beim Lundehund charakteristischen Veränderungen zu unterscheiden sind. Insbesondere beziehen sich diese Veränderungen auf eine mögliche Separation des Zottenepithels von der Lamina propria. Eine derartige Ablösung des Epithels stellt sich beim Lundehund oftmals durch subepitheliale Flüssigkeitsansammlung dar, kann aber auch als postmortales Artefakt unabhängig von einer Darmerkrankung auftreten (LANDSVERK u. GAMLEM 1984).

2.7.2 Magen

In einer Studie wurden Magenbiopsien von insgesamt 14 Lundehunden untersucht, bei denen zuvor intestinale Lymphangiektasie festgestellt worden war (KOLBJØRNSSEN et al. 1994a). Veränderungen befanden sich hauptsächlich in der Fundus- und Korpusregion des Magens und beinhalteten submukosale Ödeme,

Schleimhauterosionen und Verdickungen der Magenwand durch Bildung fibrösen Gewebes sowie dilatierte Lymphgefäße. Aufgrund des Vorliegens degenerierter Fundusdrüsen und mononukleärer Zellinfiltration wurde bei allen 14 Hunden eine chronisch atrophische Gastritis diagnostiziert. Zusätzlich konnten histopathologisch bei insgesamt vier Hunden Adenokarzinome und bei weiteren sechs Hunden granulomatöse Veränderungen im Magen festgestellt werden. Die Granulome bestanden aus epitheloid-ähnlichen Zellen mit einem Zentrum aus fibrösem Material und befanden sich hauptsächlich in der Submukosa des Antrums (KOLBJØRNSSEN et al. 1994a). Eine andere Studie fand ebenfalls Gastritis und Atrophie der Magenschleimhaut bei vier von sieben untersuchten Lundehunden (WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

Die Tatsache, dass alle untersuchten Lundehunde sowohl mit Lymphangiektasie als auch Gastritis diagnostiziert wurden und zusätzlich bei ca. 30% der Hunde Karzinome im Magen gefunden wurden, deutet darauf hin, dass eine Verbindung zwischen dem Vorkommen intestinaler Lymphangiektasie und chronischer atrophischer Gastritis oder Karzinomen des Magens beim Norwegischen Lundehund bestehen könnte (KOLBJØRNSSEN et al. 1994a). Sonstige Ursachen von Gastritis, wie z.B. Belastung mit bestimmten Chemikalien, Toxinen, Medikamenten, oder das Vorhandensein von Fremdkörpern, waren in den Vorberichten der untersuchten Lundehunde nicht zu finden. Ebenso wenig konnten spiralförmige Bakterien, wie z.B. *Helicobacter* spp., die beim Menschen oftmals Gastritiden hervorrufen, nachgewiesen werden. Die Autoren stellten daraufhin die Hypothese, dass die Gastritis des Lundehundes womöglich eine Autoimmunerkrankung darstellt und wahrscheinlich hereditär ist (KOLBJØRNSSEN et al. 1994a).

2.7.3 Dünndarm

Morphologische Veränderungen wurden beim Lundehund nur im Dünndarm gefunden, wobei die proximalen Anteile stärker betroffen waren als die distalen. Der Dickdarm schien jeweils frei zu sein von pathologischen Abweichungen (FLESJÅ u. YRI 1977; LANDSVERK u. GAMLEM 1984). Makroskopisch konnten am Dünndarm häufig dilatierte Lymphgefäße im Mesenterium und der Subserosa gesehen werden. Die Mukosa erschien oftmals verdickt und rauh oder granulär, mit

vergrößerten, weißlichen Villi. Die Verteilung dieser Läsionen war zum Teil diffus und zum Teil fokal (FLESJÅ u. YRI 1977; LANDSVERK u. GAMLEM 1984; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

Histologisch waren verdickte Mukosa im Duodenum und Jejunum, Zottenatrophie, Zottenfusionen, Krypthyperplasie, sowie mit Muzin und Zelldebris angefüllte Krypten („Kryptabszesse“) zu sehen (FLESJÅ u. YRI 1977; LANDSVERK u. GAMLEM 1984). Das Epithel erschien attenuiert mit einem sehr dünnen Bürstensaum. Desquamation des Epithels von der Lamina propria aufgrund subepithelialer Flüssigkeitsansammlung wurde häufig gefunden, oftmals assoziiert mit einem Ödem der Lamina propria (FLESJÅ u. YRI 1977; LANDSVERK u. GAMLEM 1984). Ein ebenfalls häufiger Befund war lymphoplasmazytäre Infiltration, ein Hinweis auf das Vorhandensein eines entzündlichen Prozesses (FLESJÅ u. YRI 1977; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997).

Das Vorkommen intestinaler Lymphangiektasie (IL) wurde sehr oft beschrieben und zeichnete sich in der Regel aus als ballonähnliche Distension der Villi mit gelegentlicher Villusruptur (FLESJÅ u. YRI 1977; KOLBJØRNSEN et al. 1994a; LANDSVERK u. GAMLEM 1984; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997). In einigen Fällen wurde eine Lymphangiektasie auch in tieferen Regionen der Darmwand gefunden, wobei die Lymphgefäße bis zur Serosa und dem Mesenterium vorstoßen konnten (FLESJÅ u. YRI 1977; LANDSVERK u. GAMLEM 1984). Darüber hinaus wurde in einer Studie ein Auftreten von Granulomen im Zusammenhang mit erweiterten Lymphgefäßen festgestellt, allerdings wurde nicht näher beschrieben, welcher Natur diese Veränderungen waren (WILLIAMS u. MELGAREJO 1997). Granulomatöse Veränderungen, üblicherweise charakterisiert als eosinophile lipogranulomatöse Strukturen, können oftmals im Mesenterium von Hunden mit IL beobachtet werden. Es wird angenommen, dass der Austritt von Lymphflüssigkeit in das umliegende Gewebe die Ursache für diese Gewebsveränderungen ist (BURNS 1982; FINCO et al. 1973; KALIMA 1971; MESCHTER et al. 1987; VAN KRUININGEN et al. 1984).

Welche Form der IL beim Norwegischen Lundehund vorliegt, wurde nicht definitiv festgestellt. Die IL des Lundehundes weist jedoch Ähnlichkeiten mit der primären Lymphangiektasie des Menschen auf (LANDSVERK u. GAMLEM 1984). Es sollte allerdings auch beachtet werden, dass die beim Lundehund beobachteten

entzündlichen Veränderungen des Darms ebenfalls eine sekundäre IL hervorrufen können oder zusätzlich zu einer primären IL erschwerend hinzukommen können.

3. MATERIALIEN, METHODEN UND EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Materialien

3.1.1 Probenmaterial

Von insgesamt 97 Norwegischen Lundehunden aus den USA und Kanada wurde jeweils eine Blutprobe zur Gewinnung von Serum entnommen. Zusätzlich wurden von den Hunden drei Kotproben von drei aufeinanderfolgenden Defäkationen durch den Besitzer gesammelt, welche direkt nach Probennahme eingefroren wurden.

3.1.2 Geräte, Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

Die Rezepturen der verschiedenen Pufferlösungen werden im Anhang aufgeführt.

Tabelle 1 Verwendete Materialien

MATERIAL	HERSTELLER
Blutentnahmeröhrchen Monoject Blood Collection Tubes	TYCO Healthcare Group, Mansfield, MA, USA
Bond-Elut C-18 Säule, 100 mg	Varian, Palo Alto, CA, USA
BupH™ Carbonat-Bicarbonat Puffer Mischung	Pierce, Rockford, IL, USA
BupH™ PBS Puffer Mischung	Pierce, Rockford, IL, USA
canines α_1 -PI	Gereinigt nach der Methode von MELGAREJO et al. (1996)
Double Antibody Canine TLI Test	DPC, Los Angeles, CA, USA
D(+)-Xylose, min. 99%	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Essigsäure, glacial	EMD Chemicals, Gibbstown, NJ, USA

MATERIAL	HERSTELLER
Folsäure IMMULITE Test Kit	DPC, Los Angeles, CA, USA
Fütterungs- und Harnkatheter, 8F	TYCO Healthcare Group, Mansfield, MA, USA
Fukose	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Gammastrahlenzähler Riastar	Packard Instrument Company, Meriden, CN, USA
Glukoseoxidase-Lösung	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Immulite [®] Automatisches Immunassaysystem	DPC, Los Angeles, CA, USA
Injektionsnadeln Monojet Veterinary Hypodermic needles, 20 G	TYCO Healthcare Group, Mansfield, MA, USA
Katalase-Lösung	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Laktulose, min. 95%	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
L-Rhamnose Monohydrat, min. 99%	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Membranfilter 0,45 µm	Pall-Gelmann Sciences, Ann Arbor, MI, USA
3-O-Methyl-D-Glukopyranose, min. 98%	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Mikroplatten Inkubator (Stat Fax [©] -2200)	Awareness Technology Inc., Palm State, FL, USA
Mikrotiter-Platten (96 well)	VWR International, Suwanee, GA, USA
Mikrotiter-Platten-Lesegerät (Multiskan Ascent [®])	Labsystems Oy, Helsinki, Finnland
Newborn Calf Serum (NBCS; Serum vom neugeborenen Kalb), steril	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Phase [™] Range Canine C-reactive Protein Assay	Tri-Delta Diagnostics, Morris Plains, USA
pH-Meter (Modell 8010)	VWR, West Chester, PA, USA
Pipetten (P-10, P-20, P-100, P-250, P-1000, P-5000)	Rainin, Woburn, MA, USA

MATERIAL	HERSTELLER
Polypropylen Teströhrchen	Falcon, Franklin Lakes, NJ, USA
Polypropylen Zentrifugenröhrchen	VWR Scientific Products, West Chester, PA, USA
Präzipitationslösung (N6)	Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA
Saccharose, min. 99,5%	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Schwefelsäure	EMD Chemicals, Gibbstown, NJ, USA
Spritzen (6 ml, 20 ml), Monoject	Sherwood Medical, St. Louis, MO, USA
Statistikprogramm (GraphPad Prism 4.0)	GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA
Streptavidin-Horseradish-Peroxidase	Pierce, Rockford, IL, USA
Stuhlprobenröhrchen	Sarstedt Inc., Newton, NC, USA
Surfact-Amps® X-100 (Triton X-100), 10%	Pierce, Rockford, IL, USA
Teströhrchenhalter aus Plastik	Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA
Teströhrchenhalter aus Schaumstoff	Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA
Thimerosal	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (1-Step™ Ultra TMB-ELISA)	Pierce, Rockford, IL, USA
Tween® (Polyoxyethylensorbitanmonolaurat)	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Vitamin B12 IMMULITE Test Kit	DPC, Los Angeles, USA
Zentrifuge 5810 R	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Zentrifuge 5417 C	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Zentrifuge GS-6R	Beckman, Palo Alto, CA, USA

3.2 Methoden

3.2.1 Statistische Methoden zur Datenanalyse

Alle Daten wurden mit Hilfe des Statistikprogramms GraphPad Prism 4 ausgewertet. Der Test auf Normalverteilung wurde mittels des D'Agostino & Pearson omnibus Tests durchgeführt. Korrelationen zwischen Datensätzen wurden mit dem Korrelationstest nach Pearson (normalverteilte Daten) bzw. nach Spearman (nicht-parametrische Datenverteilung) durchgeführt. Gegebenenfalls wurden Datenpunkte logarithmisch dargestellt, um eine mögliche Korrelation zwischen Datensätzen besser darzustellen. Sofern spezielle statistische Tests (z.B. multiple Vergleiche) verwendet wurden, wurde dies in der entsprechenden Methode erwähnt. Statistische Signifikanz wurde in allen Fällen bei einem p-Wert von $<0,05$ angenommen.

3.2.2 Messung von Cobalamin- und Folsäureserumkonzentrationen

Serumproben von Norwegischen Lundehunden wurden mittels kommerziell erhältlicher kompetitiver Festphasen Chemilumineszenz-Immunoassays für Cobalamin (Vitamin B12) beziehungsweise Folsäure analysiert (DPC Immulite, Los Angeles, USA). Bei einem Chemilumineszenz-Immunoassay wird ein zur Lumineszenz fähiges Molekül durch eine chemische Reaktion zur Photonenemission angeregt, was daraufhin gemessen werden und zur Quantifizierung herangezogen werden kann.

3.2.2.1 Prinzip der Cobalaminmessung

Zur Messung der Cobalaminkonzentration wurde die Serumprobe mit einem Cobalamin-Analogon und gereinigtem porcinen Intrinsischen Faktor (IF) inkubiert. Dabei konkurriert das Cobalamin der Serumprobe mit dem an die Festphase gebundenen Analogon um die Bindungsstellen des IF. Folglich, je mehr Cobalamin in der Probe vorliegt, desto weniger IF bindet an der Festphase. Nach Inkubation wurde ein mit alkalischer Phosphatase markierter Antikörper gegen porcines IF zugegeben, wodurch die messbare Farbreaktion erreicht wird. Es besteht eine umgekehrt

proportionale Beziehung zwischen der Konzentration von Cobalamin in der Probe und der Intensität der entstehenden Chemilumineszenz. Der Referenzbereich für die Cobalaminkonzentration im Serum bei Hunden beträgt 249-733 ng/L (laborinterner Referenzbereich).

3.2.2.2 Prinzip der Folsäuremessung

Die Serumprobe wurde zusammen mit einem ligand-markierten Folsäure-Analogon und Folsäure-Bindungsprotein inkubiert, wobei die in der Probe enthaltene Folsäure mit dem Folsäure-Analogon um das Folsäure-Bindungsprotein konkurriert. Das Folsäure-Bindungsprotein wiederum bindet an die mit Antikörper gegen Folsäure-Bindungsprotein beschichtete Festphase. Je mehr Folsäure in der Probe vorliegt, desto weniger markiertes Folsäure-Analogon wird an die Festphase gebunden. Die Intensität der vom Liganden ausgehenden Chemilumineszenz ist damit umgekehrt proportional zur Folsäurekonzentration in der Probe. Der Referenzbereich für Folsäurekonzentration im Serum von Hunden liegt bei 6,5-11,5 µg/L (laborinterner Referenzbereich).

3.2.3 Messung von Trypsin-ähnlicher Immunreaktivität in Serum

Die Messung von caniner Trypsin-ähnlicher Immunoreaktivität (canine Trypsin-like Immunoreactivity, cTLI) in Serumproben wurde mittels eines kommerziell erhältlichen kompetitiven Radioimmunassays durchgeführt (DPC Double Antibody Canine TLI, Los Angeles, USA). Mit diesem Assay werden sowohl Trypsin als auch Trypsinogen in Serumproben bestimmt, woraus sich der Name Trypsin-ähnliche Immunreaktivität ergibt. Für den Test werden Serumproben mit ¹²⁵I-markiertem caninen Trypsin (inaktiviert mit Tosyl-L-Lysin Chloromethylketon, TLCK) sowie Antikörpern gegen canines Trypsin inkubiert, wobei das radioaktiv markierte Trypsin mit dem Trypsin und Trypsinogen der zu testenden Probe um Bindungsstellen der Antikörper konkurriert. Nach der Inkubation wird die antikörpergebundene Fraktion präzipitiert und mittels eines Gammastrahlenszählers gemessen. Eine vom Gammastrahlenszähler erstellte Standardkurve dient der Berechnung der cTLI-Konzentrationen im Serum. Der Referenzbereich für canines TLI liegt bei 5-35 µg/L

(SUCHODOLSKI u. STEINER 2003). Ein Wert unter 2,5 µg/L wird als diagnostisch für exokrine Pankreasinsuffizienz angesehen.

3.2.4 Messung von C-reaktivem Protein in Serum

Zur Bestimmung der Konzentration von C-reaktivem Protein (CRP) in Serumproben wurde ein kommerziell erhältlicher Sandwich Antigen-capture ELISA benutzt (PhaseTM Range Canine C-reactive Protein Assay, TriDelta Diagnostics). Serumproben wurden nach Gewinnung gekühlt zum Gastrointestinal Laboratory geschickt, wo sie eingefroren und bis zur Analyse bei -80°C aufbewahrt wurden. Für den ELISA wurden die einzelnen Serumproben in einer Verdünnungspufferlösung 1:500 verdünnt. Verwendete Standardverdünnungen von CRP reichten von 7,5-120 ng/L und wurden direkt vor Assaybeginn nach Anleitung des Herstellers angesetzt. Auf antikörperbeschichtete Mikrotiterplatten wurden jeweils 100 µl der einzelnen Standardverdünnungen und Serumproben in die einzelnen Kavitäten als Duplikat pipettiert. Nach Protokoll des Herstellers wurden die so präparierten Mikrotiterplatten für 15 Minuten bei 37°C inkubiert und anschließend mit Waschpufferlösung gewaschen. Nach Zugabe von 100 µl verdünnter Antiserumlösung pro Kavität wurde die Mikrotiterplatte erneut für 15 Minuten bei 37°C inkubiert und nachfolgend gewaschen. Es erfolgte die Zugabe von 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB)-Substrat und eine erneute Inkubation für 15 Minuten bei Raumtemperatur. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde ELISA-Stopplösung hinzugegeben. Die Mikrotiterplatte wurde leicht geschüttelt und anschließend mittels eines Mikrotiterplattenlesegeräts bei 450 nm Wellenlänge gemessen. Die Konzentrationen von CRP in den Serumproben wurden anhand der vom Lesegerät erstellten Standardkurve in mg/L errechnet.

Ein laborinterner Referenzbereich für CRP wurde durch Messung von CRP in Sera von insgesamt 51 gesunden Kontrollhunden erstellt. Diesen Tieren war im Rahmen einer Blutspendeaktion jeweils 2 ml Blut entnommen worden. Die CRP Konzentrationen im Serum wurde mit dem Mann-Whitney-Test zwischen Lundehunden und gesunden Kontrollhunden verglichen. Von einem Lundehund war nicht genügend Serum zur Messung vorhanden, so dass CRP nur bei 96 der 97 Lundehunde bestimmt werden konnte.

3.2.5 Messung von Alpha₁-Proteinase Inhibitor in Kotproben

Von jedem der 97 Norwegischen Lundehunde wurden drei Kotproben untersucht, die direkt nach der Sammlung bis zur weiteren Analyse bei -20°C aufbewahrt wurden. Zur Extraktion und Analyse der Proben wurde nach einem im Gastrointestinal Laboratory entwickelten und bereits veröffentlichten Protokoll verfahren (MELGAREJO et al. 1998). Zur Extraktion des Alpha₁-Proteinase Inhibitor (α_1 -PI) aus den Kotproben wurden diese in einer Verdünnung von 1:5 (w/v) mit Phosphat-Natriumchlorid-Puffer mit 5% Kälberserum (PBS-NBCS) versetzt, 20 Minuten bei Zimmertemperatur geschüttelt und anschließend für 20 Minuten bei 1800 x g zentrifugiert. Der Überstand des Zentrifugats wurde gefiltert und ein weiteres Mal für 30 Minuten bei 10000 x g zentrifugiert. Das nach der zweiten Zentrifugation gewonnene Extrakt wurde dann nochmals mit PBS-NBCS zu 1:200 verdünnt, so dass eine Endverdünnung von 1:1000 vorlag. Für den ELISA wurden Mikrotiterplatten mit 100 ng primärem Anti- α_1 -PI Antikörper pro Kavität beschichtet. Aus reinem caninen α_1 -PI wurde durch Verdünnung mit PBS-NBCS eine Standardreihe mit Konzentrationen von 1 bis 100 ng/ml erstellt. Von den so hergestellten Standards und verdünnten Proben wurden nun jeweils 100 μ l pro Kavität auf die Mikrotiterplatten pipettiert, für eine Stunde inkubiert, und anschließend mit PBS gewaschen. Nachfolgend wurde zunächst ein biotinkoppelter Antikörper in einer Verdünnung von 1:2000 zugegeben (ca. 30 ng pro Kavität). Nach einstündiger Inkubation bei 37°C und Waschen mit PBS wurde Streptavidin-Horseradish-Peroxidase-Lösung (SHRP) zur Bindung an die biotinkoppelten Antikörper zugegeben, für 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert und erneut mit PBS gewaschen. Die Menge an gebundenem SHRP wurde mit TMB-Substrat in einer enzymatischen Reaktion als Farbumschlag sichtbar gemacht und nach ausreichender Inkubationszeit mit ELISA-Stopplösung beendet. Die Mikrotiterplatten wurden dann bei 450 nm im Mikrotiterplattenlesegerät gemessen. Die Konzentrationen von α_1 -PI in den Kotproben wurden unter Zuhilfenahme der Standardkurve als μ g/g Kot (Nassgewicht) berechnet. Der Referenzbereich für canines α_1 -PI im Kot wird mit 0-5,7 μ g/g Kot angegeben (MELGAREJO et al. 1998). Von jedem Hund wurden insgesamt drei Kotproben untersucht. Lag der Mittelwert der drei Proben bei mehr als 9,4 μ g/g oder war die Konzentration von α_1 -PI in mindestens einer der drei Proben größer als 15,0 μ g/g, so wurde PLE diagnostiziert.

3.2.6 Messung von Gesamtprotein und Albumin im Serum

Die Messung des Gesamtproteins (total protein, TP) und Albumins wurde in einem veterinärmedizinischen Labor für klinische Chemie durchgeführt. Die Globulinkonzentration wurde anhand der TP- und Albuminkonzentrationen berechnet. Der Referenzbereich für TP beim Hund lag bei 5,6-7,9 g/dL und für Albumin bei 3,0-4,5 g/dL. Für Globuline wurde ein Referenzbereich von 1,8-4,2 g/dL verwendet.

3.2.7 Bestimmung von intestinaler Permeabilität und Absorptionskapazität

Die Bestimmung intestinaler Permeabilität und Absorptionskapazität erfolgte mittels intragastraler Verabreichung einer Testlösung aus verschiedenen Zuckern mit nachfolgender Entnahme von Blutproben, in denen die Konzentrationen der benutzten Zucker mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (High-Performance Liquid Chromatography; HPLC) mit gepulster amperometrischer Detektion (pulsed amperometric detection; PAD) gemessen wurden.

3.2.7.1 Verwendete Zucker und Dosierung

Es wurden insgesamt fünf verschiedene Zucker eingesetzt. Laktulose und Rhamnose wurden zur Messung der Dünndarmpermeabilität eingesetzt. Die Absorptionskapazität des Dünndarms wurde mittels Xylose und 3-*O*-Methylglukose bestimmt und Saccharose wurde zur Messung der Magenpermeabilität hinzugefügt. Die verwendeten Konzentrationen der einzelnen Zucker sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2 Konzentrationen der verwendeten Zucker. Die verwendeten Konzentrationen ergeben eine Lösung mit ca. 318 mosm/L.

Parameter	Verwendete Zucker	Konzentration
Permeabilität des Magens	Saccharose	40 g/L
Permeabilität des Dünndarms	Laktulose	10 g/L
	Rhamnose	10 g/L
Absorptionskapazität des Dünndarms	Xylose	10 g/L
	3- <i>O</i> -Methylglukose	5 g/L

3.2.7.2 Durchführung des Tests

Es wurde angestrebt, den Test jeweils bei mindestens acht Lundehunden und Kontrollhunden durchzuführen, um statistisch auswertbare Ergebnisse zu erzielen. Dieses Ziel wurde erreicht, da insgesamt acht gesunde Hunde unterschiedlicher Rassen als Kontrollgruppe, sowie 13 Norwegische Lundehunde diesem Test unterzogen wurden. Zwei der Lundehunde litten zur Zeit der Testdurchführung unter Gewichtsverlust. Die übrigen elf zeigten keine klinischen Symptome.

Vor Beginn des Tests wurde den Hunden für mindestens 15 Stunden das Futter entzogen. Die Hunde wurden gewogen und in drei Gewichtskategorien eingeteilt, wonach sich die Menge der zu verabreichenden Testlösung richtete. Hunde bis zu 10 kg Körpergewicht (KGW) erhielten 100 ml der Testlösung, Hunde mit einem KGW zwischen 10 und 20 kg bekamen 200 ml, und Hunden, deren KGW mehr als 20 kg betrug, wurden 400 ml verabreicht. Die Testlösungen wurden direkt vor Verwendung zubereitet, indem die dem KGW des Hundes entsprechenden Mengen der jeweiligen Zucker in einem Becherglas mit dem korrekten Volumen an Wasser (100, 200 oder 400 ml) bis zur vollständigen Lösung gerührt wurden. Die gebrauchsfertige Lösung war mit ca. 318 mosm/L annähernd isoosmolar. Blut wurde in allen Fällen aus der Vena jugularis gewonnen. Es wurde zunächst eine Blutprobe zur Bestimmung der Basalwerte aller verwendeten Zucker entnommen. Daraufhin wurde den Hunden mittels Magensonde die ihrem KGW entsprechende Menge an Zuckerlösung eingegeben. Weitere Blutproben wurden 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Testlösung entnommen. Von allen Blutproben wurde Serum gewonnen, das bis zur Analyse bei -80°C gelagert wurde.

3.2.7.3 Analyse der Serumproben

Die Serumproben wurden anhand eines im Gastrointestinal Labor erstellten Protokolls extrahiert und analysiert. Jeweils 900 µl Serum wurden zunächst mit 100 µl Fukose-Lösung (1 mg/L in deionisiertem Wasser) versetzt. Die Zugabe einer bekannten Menge an Fukose diente bei der Analyse als interner Standard. Nach Zugabe von 2 ml Azeton wurde die Probe mit Hilfe eines Rotationsschüttlers (Vortex) gemischt und anschließend bei 2000 x g für fünf Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde dekantiert und unter einem Strom von Stickstoffgas evaporiert. Der so erhaltene Rückstand wurde mit 0,05 M Natriumphosphat-Puffer auf ein Volumen von 1 ml

gebracht. Nach Zugabe von jeweils 10 µL Glukoseoxidase-Lösung (Glukoseoxidase in 0,1 M Natriumazetat-Lösung, pH 4,0) und 10 µL Katalase-Lösung (Katalase in 0,1 M Natriumazetat-Lösung, pH 5,0) wurde die Probe zwei Stunden lang bei 37°C inkubiert. Die enzymatische Reaktion wurde durch fünfminütige Immersion der Proben in ein kochendes Wasserbad gestoppt. Um nichtpolare Bestandteile der Proben, die eventuell die Analyse beeinträchtigen können, weitgehend zu eliminieren, wurden die Proben zur weiteren Aufbereitung durch eine C18-Säule geleitet. Das Eluat wurde daraufhin mittels Anionenaustausch-HPLC mit gepulster amperometrischer Messung (PAD) analysiert. Die erhaltenen Werte für die einzelnen Zucker wurden anhand des internen Standards Fukose normalisiert und in mg/L berechnet.

3.2.7.4 Statistische Analyse der Ergebnisse

Um den Effekt der Zuckerlösung auf die Serumkonzentrationen der einzelnen Zucker festzustellen, wurden die gemessenen Serumkonzentrationen der Zucker zu jedem Zeitpunkt (0, 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zuckerlösung) miteinander verglichen. Dies wurde unter Zuhilfenahme einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit wiederholten Messungen (analysis of variance, ANOVA) und nachgestellten Bonferroni-Tests (normalverteilte Daten) bzw. mittels Friedman Tests und nachgestellten Dunn's Tests (nichtparametrische Datenverteilung) durchgeführt. Die Mittelwerte der Zuckerkonzentrationen zu den jeweiligen Zeitpunkten (60, 90 und 120 Minuten) wurden zwischen Kontrollhunden und Lundehunden mittels eines ungepaarten Student *t*-Tests (normalverteilte Daten) verglichen. Bei nichtparametrischen Daten wurde der Mann-Whitney U-Test zum Vergleich der Lundehunde mit den Kontrollhunden verwendet. Statistische Signifikanz wurde bei einem p-Wert von <0,05 angenommen. Referenzwerte für die Zucker in Serum wurden mittels der zentralen 95. Perzentile berechnet.

4. ERGEBNISSE

4.1 Probenumfang, Alter und Geschlechterverhältnis

Es wurden Serum- und Kotproben von insgesamt 97 Norwegischen Lundehunden aus den USA und Kanada gesammelt. Dies entspricht ca. 50% der Nordamerikanischen Gesamtpopulation dieser Rasse. Das Alter der an der Studie teilnehmenden Hunde lag zwischen 0,5 und 13,0 Jahren, mit einem Medianwert von 3,0 Jahren (Abbildung 7). 52 Hunde (53,6%) waren männlichen und 45 Hunde (46,4%) weiblichen Geschlechts.

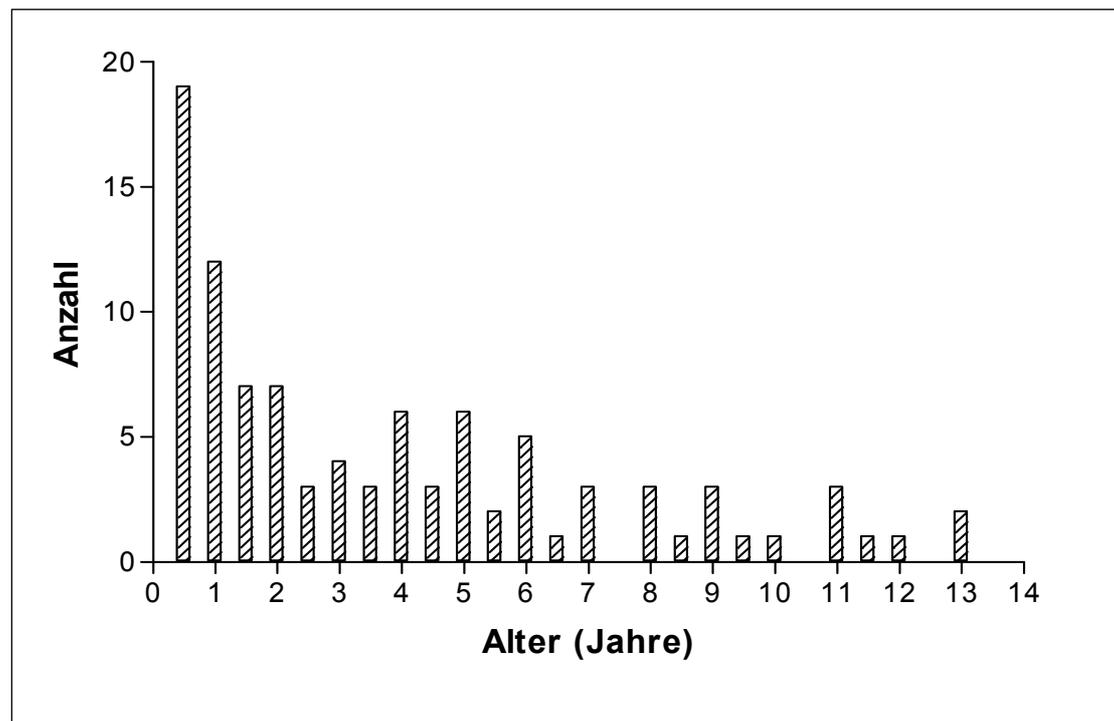


Abbildung 7 Altersverteilung der 97 an der Studie teilnehmenden Norwegischen Lundehunde. Der Medianwert lag bei 3,0 Jahren (Altersspanne 0,5 bis 13 Jahre).

4.2 Cobalamin- und Folsäurekonzentrationen im Serum

4.2.1 Cobalaminkonzentration im Serum

Es wurden Serumkonzentrationen von Cobalamin von 99 ng/L bis 1201 ng/L gemessen, dem jeweiligen unteren und oberen Detektionslimit des verwendeten Assays. Der Medianwert lag bei 574 ng/L. Bei acht Hunden (8,2%) wurden subnormale Cobalaminkonzentrationen (<249 ng/L) gemessen, wohingegen die Werte bei 34 Hunden (35,1%) über dem oberen Limit des Referenzbereichs (>733 ng/L) lagen (Abbildung 8).

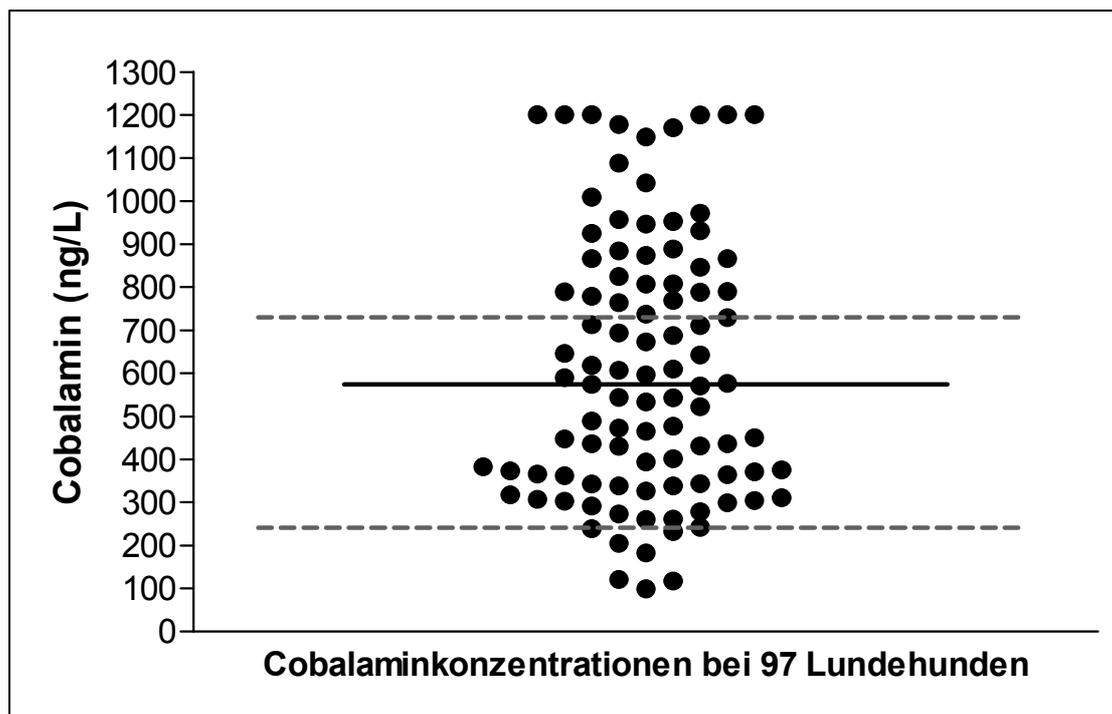


Abbildung 8 Cobalaminkonzentrationen im Serum von 97 Lundeunden. Die beiden grau gestrichelten Linien stellen die obere und untere Grenze des Referenzbereiches dar (249-733 ng/L). Bei 34 Hunden (35,1%) waren die Werte erhöht und bei acht (8,2%) lagen sie unterhalb des Referenzbereiches. Der Medianwert lag bei 574 ng/L und ist anhand der durchgezogenen Linie dargestellt.

4.2.2 Folsäurekonzentration im Serum

Die Konzentration von Folsäure im Serum lag zwischen 2,4 µg/L und 25,0 µg/L, dem oberen Detektionslimit des Assays, mit einem Mittelwert von 10,9 µg/L (SD ±4,1). Verringerte Folsäurekonzentrationen (<6.5 µg/L) wurden bei 13 Hunden (13,4%) gemessen, während erhöhte Folsäurekonzentrationen (>11.5 µg/L) bei 40 Hunden (41,2%) vorhanden waren (Abbildung 9). Es wurde eine negative Korrelation zwischen der Serumkonzentration von Folsäure und dem Alter der Hunde gefunden (Spearman $r=-0,3068$; $p=0,0022$; Abbildung 10).

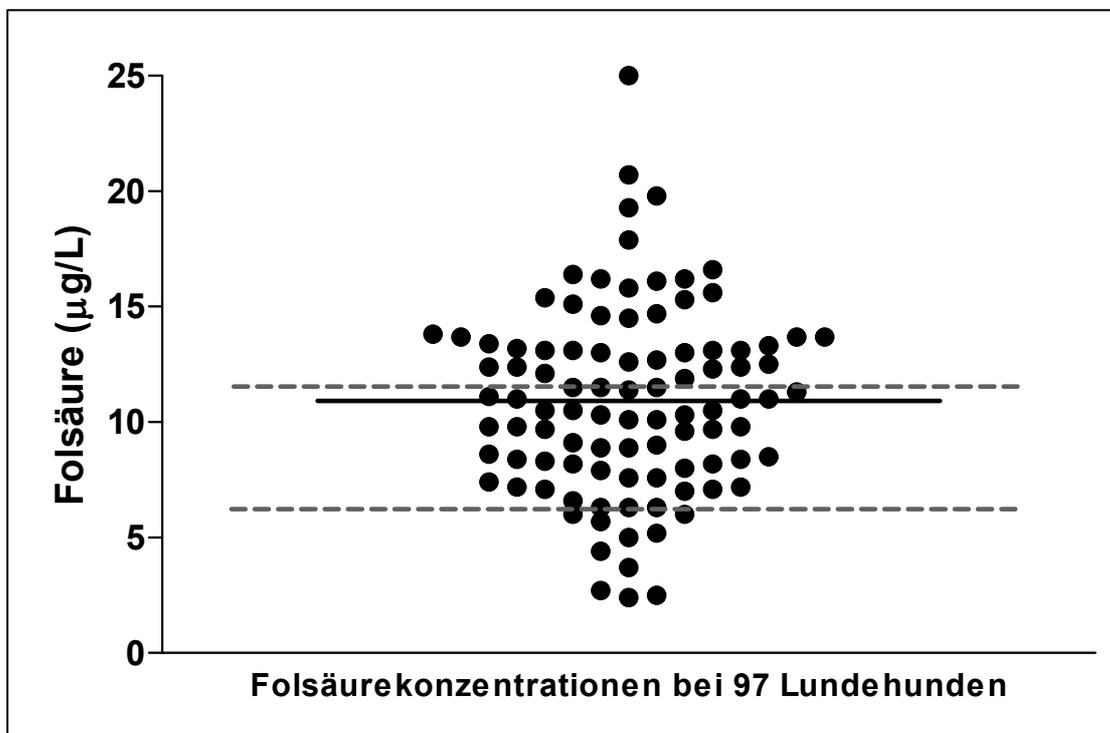


Abbildung 9 Folsäurekonzentrationen im Serum von 97 Lundeunden. Die beiden grau gestrichelten Linien stellen die obere und untere Grenze des Referenzbereiches dar (6,5-11,5 µg/L). Bei 40 Hunden (41,2%) wurde eine erhöhte Serumkonzentrationen gemessen, während bei 13 Hunden (13,4%) der Wert erniedrigt war. Der Mittelwert lag bei 10,9 µg/L und ist durch die durchgezogene Linie dargestellt.

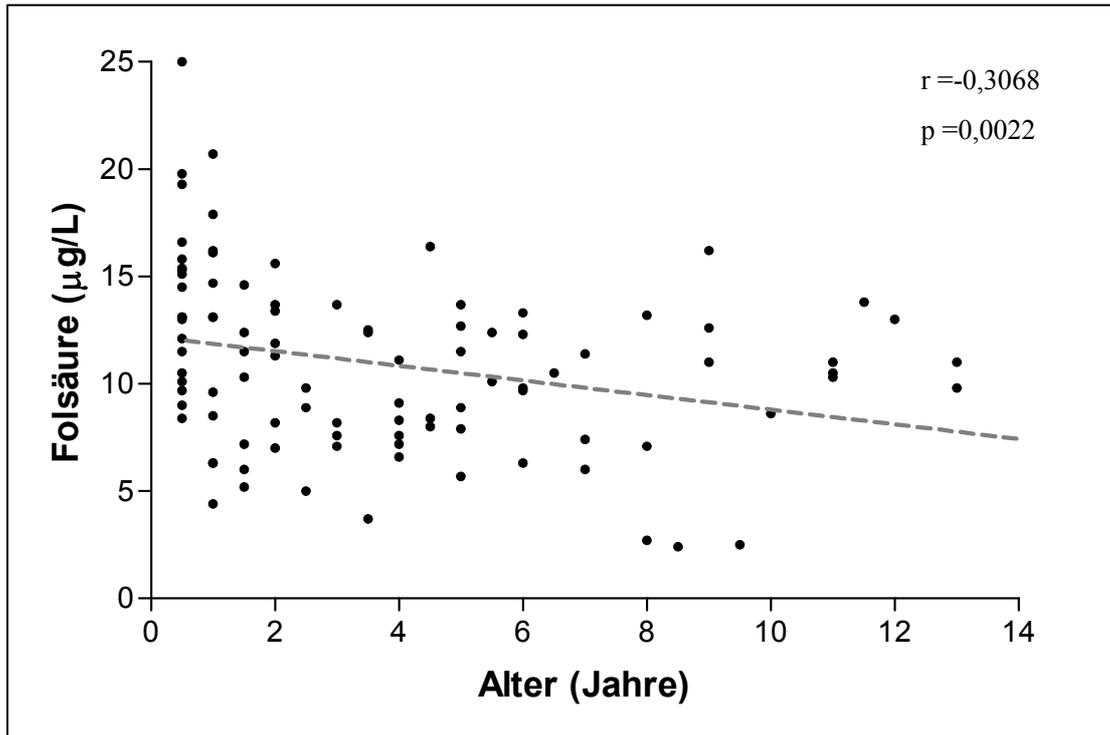


Abbildung 10 Negative Korrelation zwischen der Folsäurekonzentration und dem Alter der 97 Lundehunde. Die grau gestrichelte Linie zeigt die negative Korrelation zwischen Folsäurekonzentration und Alter an (Spearman $r = -0,3068$; $p = 0,0022$).

4.2.3 Korrelation zwischen Cobalamin- und Folsäurekonzentrationen im Serum von 97 Lundehunden

Eine signifikante positive Korrelation wurde zwischen den Cobalamin- und Folsäurekonzentrationen der getesteten 97 Lundehunde gefunden (Spearman $r=0,2053$; $p=0,0436$; Abbildung 11).

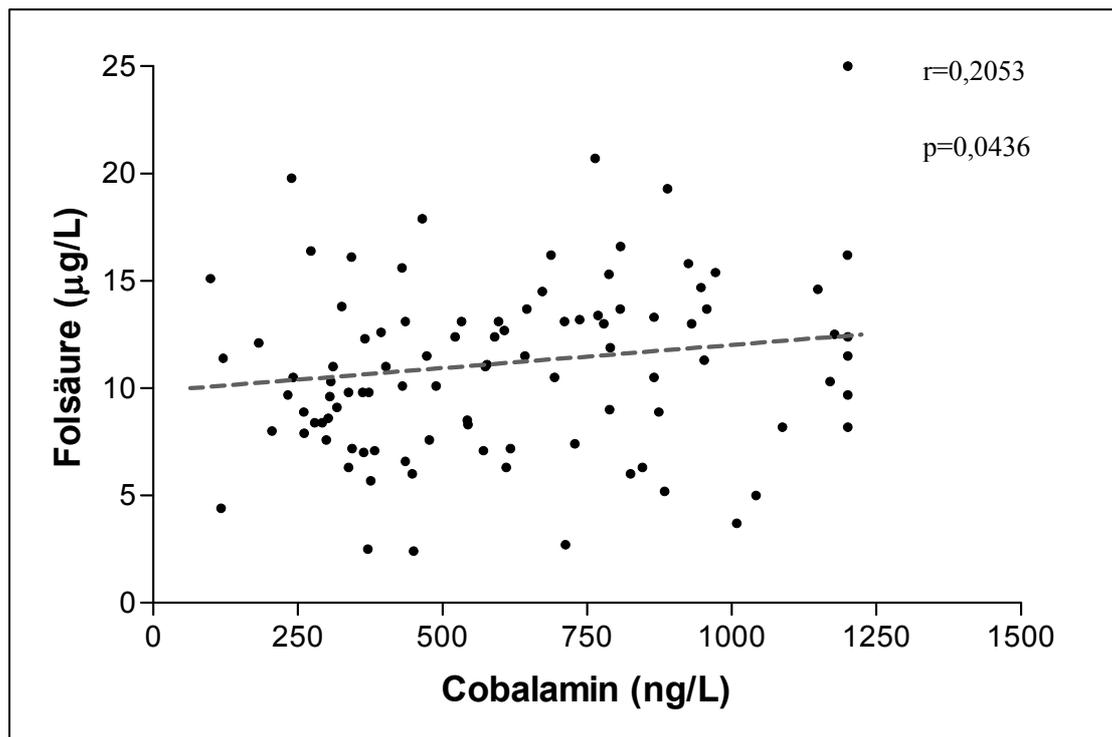


Abbildung 11 Positive Korrelation zwischen Cobalamin- und Folsäurekonzentration im Serum von 97 Lundehunden. Die grau gestrichelte Linie zeigt die schwache positive Korrelation zwischen Folsäure- und Cobalaminkonzentrationen an (Spearman $r = 0,2053$; $p = 0,0436$).

4.3 Trypsin-ähnliche Immunreaktivität

Die Serumkonzentrationen der Trypsin-ähnlichen Immunreaktivität (cTLI) lag bei allen 97 getesteten Lundehunden im Referenzbereich (5,0-35,0 µg/L). Die gemessenen Werte reichten von 5,9 bis 31,6 µg/L, mit einem Medianwert von 16,2 µg/L (Abbildung 12).

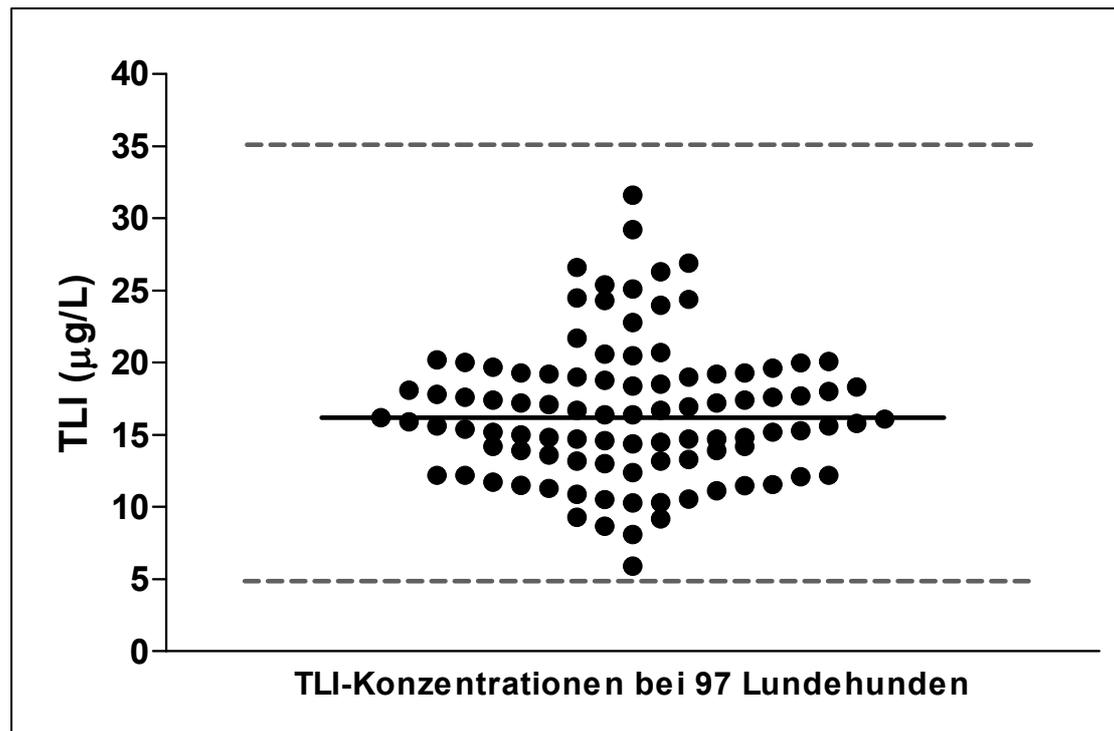


Abbildung 12 Serum cTLI-Konzentrationen bei 97 Lundehunden. Die beiden gestrichelten Linien stellen die obere und untere Grenze des Referenzbereiches dar (5-35 µg/L). Alle Hunde hatten cTLI-Konzentrationen innerhalb des Referenzbereiches (Medianwert 16,2 µg/L). Der Medianwert ist anhand der durchgezogenen Linie dargestellt.

4.4 C-reaktives Protein im Serum

Die Serumkonzentration von C-reaktivem Protein (CRP) wurde im Serum von 96 Lundeunden sowie 51 gesunden Hunden bestimmt. Von einem der Lundeunde war nicht genügend Serum verfügbar. Die 51 gesunden Hunde dienten als Kontrollgruppe und zur Erstellung eines Referenzbereichs. Die CRP-Konzentration bei den Kontrolltieren lag zwischen 0,0 und 8,8 mg/L, mit einem Medianwert von 0 mg/L (Abbildung 13). Der Referenzbereich wurde bestimmt durch die untere 97,5. Perzentile aller erhaltenen Testergebnisse und lag bei 0-7,6 mg/L.

In der Gruppe der Lundeunde wurden CRP-Konzentrationen zwischen 0 und 69,0 mg/L gemessen, mit einem Medianwert von 4,6 mg/L. Bei insgesamt 34 Lundeunden (35,1%) wurden CRP-Konzentrationen, die über dem Referenzbereich lagen, festgestellt (Abbildung 13). Der Vergleich der beiden Gruppen miteinander zeigte einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der CRP-Konzentration der Lundeunde und der bei Kontrollhunden (Mann-Whitney-Test, $p < 0,0001$) (Abbildung 14).

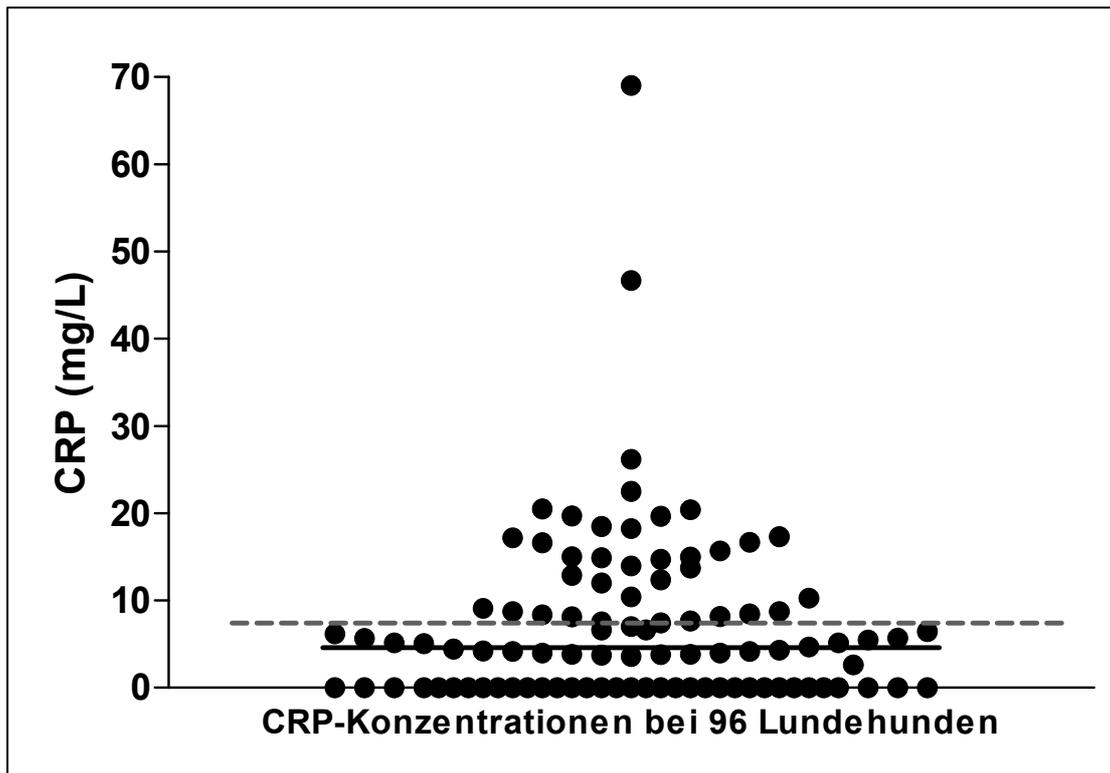


Abbildung 13 CRP-Konzentrationen bei 96 Lunde hunden. Die grau gestrichelte Linie bezeichnet die obere Grenze des Referenzbereichs (7,6 mg/L). Konzentrationen über dem Referenzbereich wurden bei insgesamt 34 Hunden (35,1%) gemessen. Der Medianwert (4,59 mg/L) ist durch die durchgezogene schwarze Linie dargestellt.

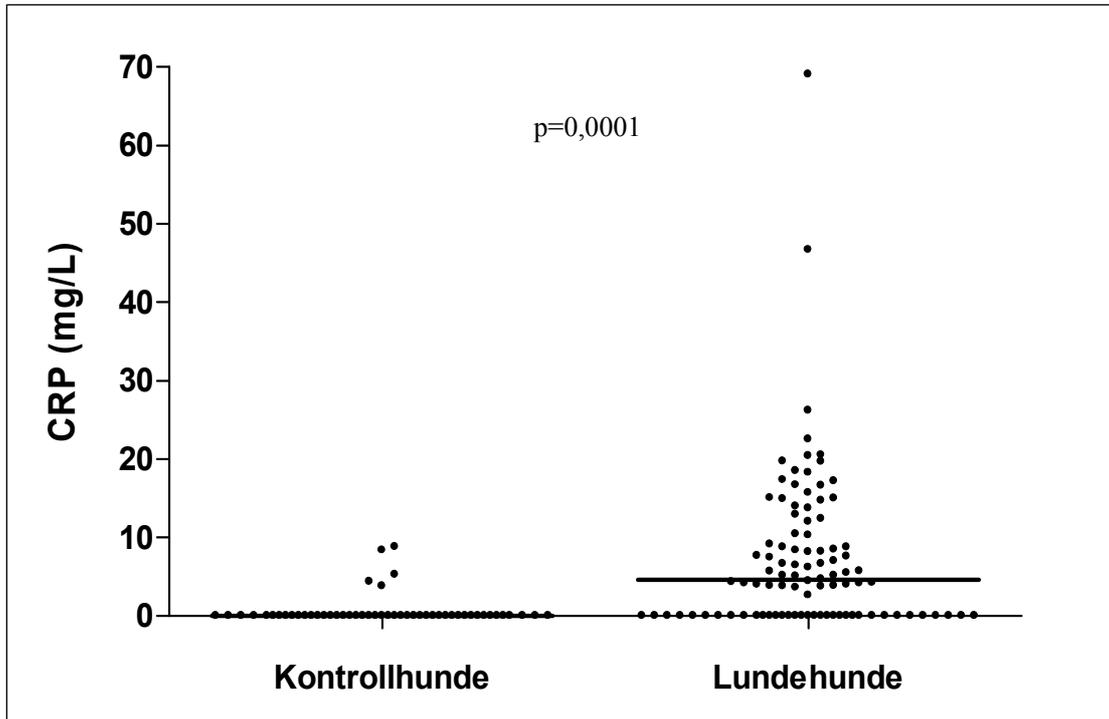


Abbildung 14 Vergleich zwischen CRP-Konzentrationen in der Gruppe der Kontrollhunde (n = 51) und der Gruppe der Lundehunde (n = 96). Die schwarze Linie zeigt den jeweiligen Medianwert in den beiden Gruppen (0 mg/L bzw. 4,59 mg/L). Die Mediane der beiden Gruppen waren signifikant unterschiedlich (Mann-Whitney-Test, $p < 0,0001$).

4.5 Alpha₁-Proteinase Inhibitor

Von insgesamt 97 Lundehunden hatten 43 Hunde (44,3%) eine durchschnittliche α_1 -PI-Konzentration in drei aufeinanderfolgenden Kotproben von mehr als 9,4 $\mu\text{g/g}$ Kot und wurden daher mit PLE diagnostiziert. Neunzehn dieser Hunde (44,2%) hatten durchschnittliche α_1 -PI-Konzentrationen von mehr als 20,0 $\mu\text{g/g}$. Der Medianwert lag bei 6,7 $\mu\text{g/g}$ (Abbildung 15). Die α_1 -PI-Konzentrationen korrelierten negativ mit dem Alter der Hunde (Spearman $r=-0,4604$; $p<0,0001$; Abbildung 16). Um eine mögliche Korrelation zwischen beiden Datensätzen besser darzustellen, wurden die α_1 -PI-Konzentrationen als Logarithmus berechnet.

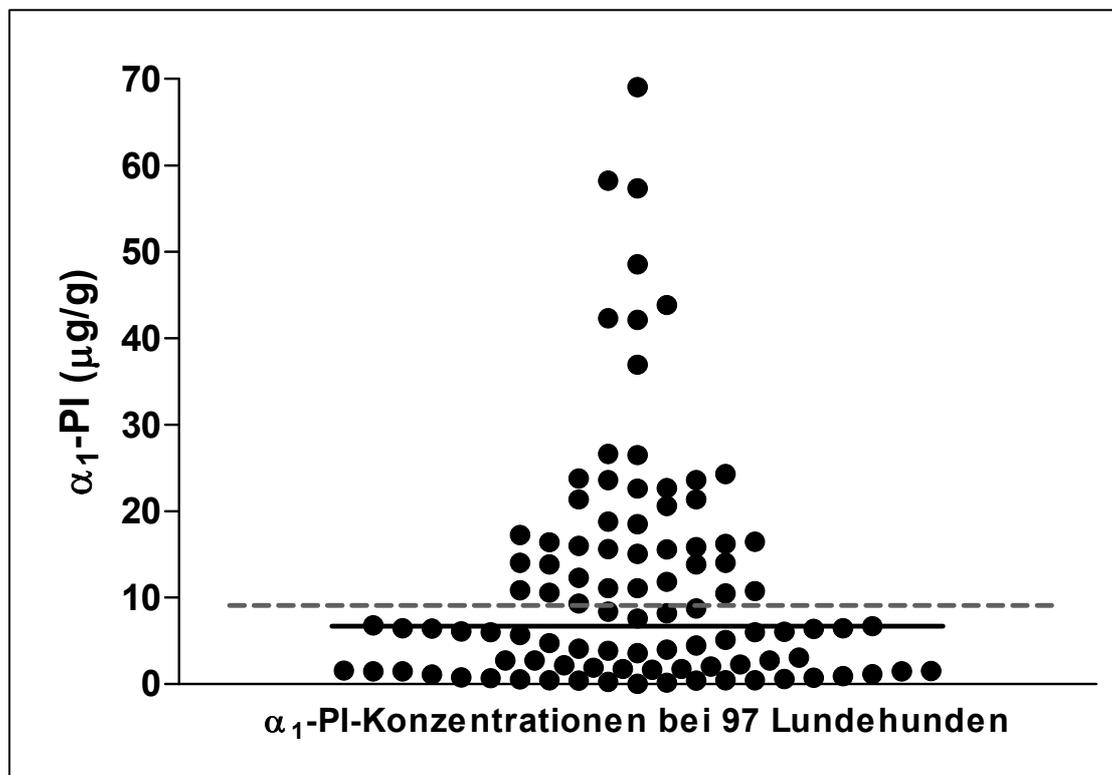


Abbildung 15 Alpha₁-Proteinase Inhibitor-Konzentrationen bei 97 Norwegischen Lundehunden. Die grau gestrichelte Linie zeigt den Grenzwert von 9,4 $\mu\text{g/g}$ an, der zur Diagnosestellung von PLE dient. Insgesamt 43 der getesteten Hunde (44,3%) lagen über diesem Grenzwert. Der Medianwert, dargestellt anhand der durchgezogenen schwarzen Linie, lag bei 6,7 $\mu\text{g/g}$.

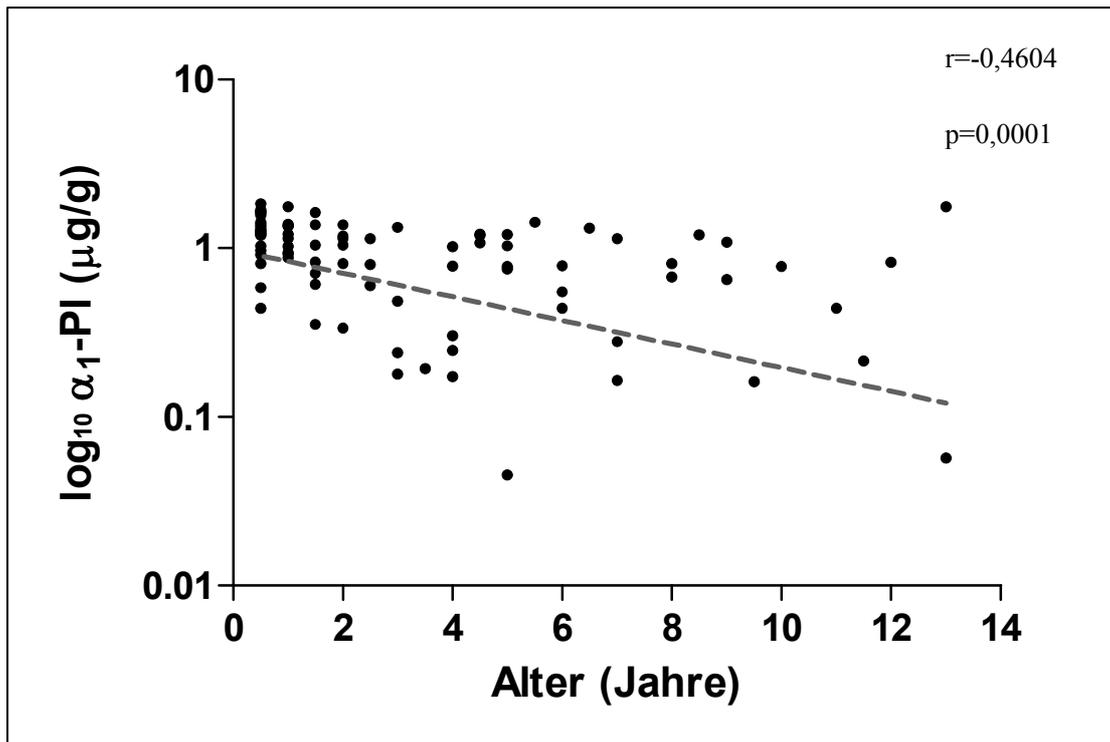


Abbildung 16 Korrelation der Alpha₁-Proteinase Inhibitor-Konzentrationen mit dem Alter bei 97 Norwegischen Lundehunden. Die grau gestrichelte Linie reflektiert die negative Korrelation zwischen Alpha₁-Proteinase Inhibitor-Konzentrationen in den Fäzes und dem Alter der Hunde (Spearman $r=-0,4604$; $p=0,0001$).

4.6 Gesamtprotein, Albumin und Globuline

Die Serumkonzentrationen von Gesamtprotein (TP) und Albumin wurden bei insgesamt 97 Lundehunden bestimmt. Der Referenzbereich für TP wurde mit 5,6-7,9 g/dL angegeben und die gemessenen Konzentrationen lagen zwischen 2,0 und 7,6 g/dL (Medianwert 5,4 g/dL). 55 Hunde (56,7%) hatten eine verringerte (<5,6 g/dL) TP-Konzentration (Abbildung 17).

Für Albumin lag der Referenzbereich bei 3,0-4,5 g/dL. Gemessen wurden Albuminkonzentrationen zwischen 1,0 und 4,5 g/dl (Medianwert 3,2 g/dL). Verringerte Albuminkonzentrationen (<3,0 g/dL) wurden bei 38 Hunden (39,2%) festgestellt (Abbildung 18).

Globuline wurden aus den Werten für TP und Albumin errechnet, mit einem Referenzbereich von 1,8-4,2 g/dL. Die Globulinkonzentrationen der Lundehunde reichten von 0,8-4,1 g/dL (Mittelwert 2,3 g/dL). Bei insgesamt 14 Hunden (14,4%) lagen die Werte unterhalb des Referenzbereiches (<1,8 g/dL; Abbildung 19).

Es wurden signifikante negative Korrelationen zwischen TP und α_1 -PI-Konzentrationen im Kot (Spearman $r=-0,2801$; $p=0,0055$; Abbildung 20), sowie zwischen Globulinen und α_1 -PI-Konzentrationen im Kot gefunden (Spearman $r=-0,4038$; $p<0,0001$; Abbildung 21).

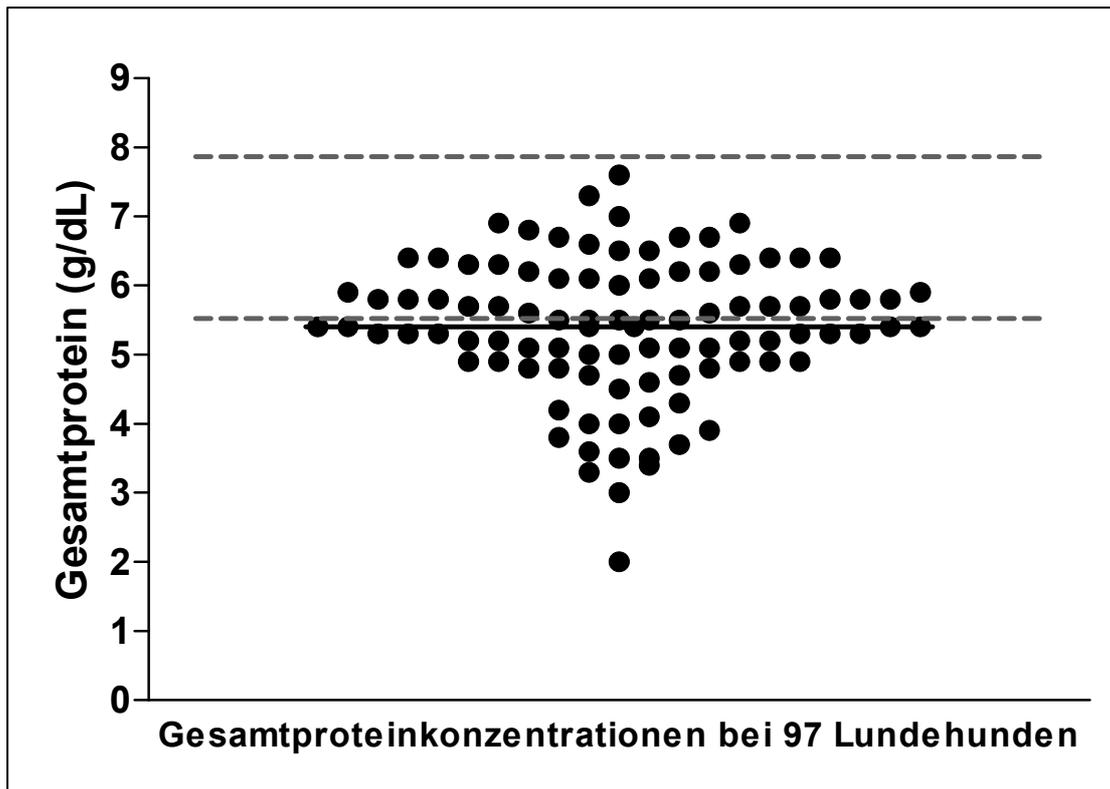


Abbildung 17 Verteilung der Gesamtproteinkonzentrationen bei den 97 untersuchten Lundeunden. Die beiden grau gestrichelten Linien zeigen den unteren und oberen Grenzwert des Referenzbereiches für Gesamtprotein (5,6-7,9 g/dL). Eine verringerte Gesamtproteinkonzentration wurde bei insgesamt 55 Hunden (56,7%) gemessen. Der Medianwert lag bei 5,4 g/dL, dargestellt anhand der durchgezogenen schwarzen Linie.

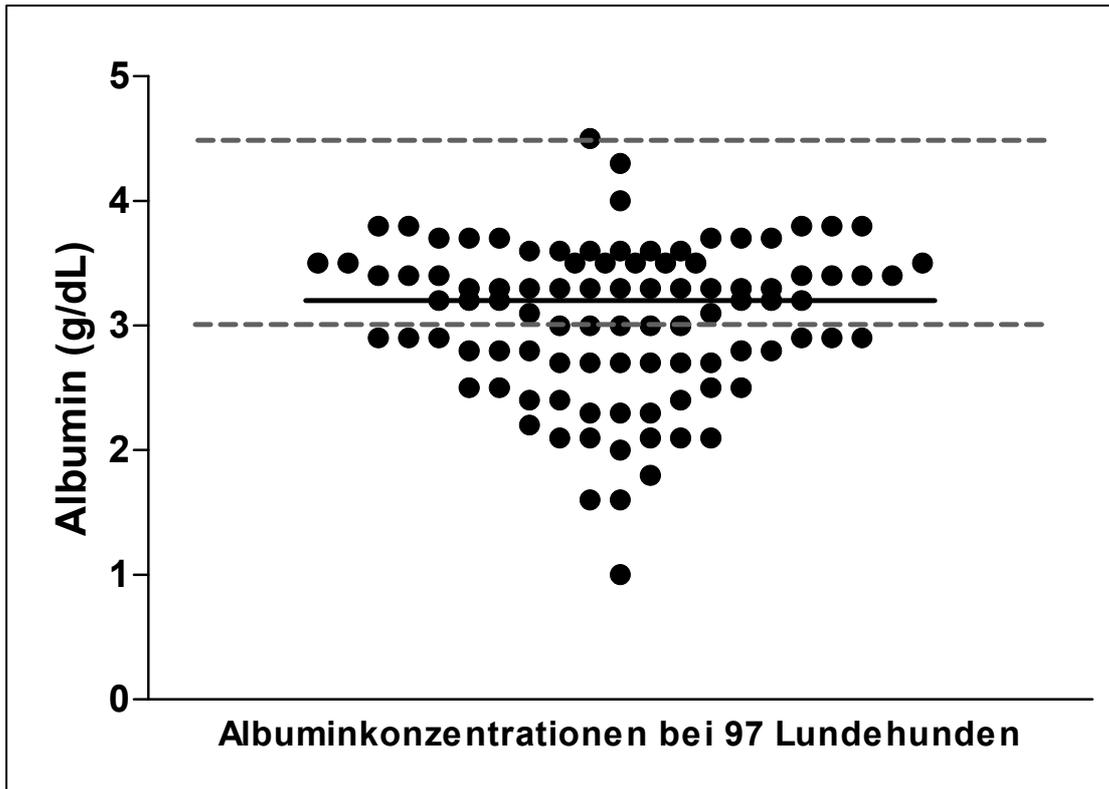


Abbildung 18 Verteilung der Albuminkonzentrationen bei den 97 untersuchten Lundeunden. Die beiden gestrichelten Linien zeigen den unteren und oberen Grenzwert des Referenzbereichs (3,0-4,5 g/dl). Bei 38 Hunden (39,2%) wurde eine verringerte Albuminkonzentrationen im Serum gemessen. Der Medianwert lag bei 3,2 g/dL, dargestellt durch die schwarze Linie.

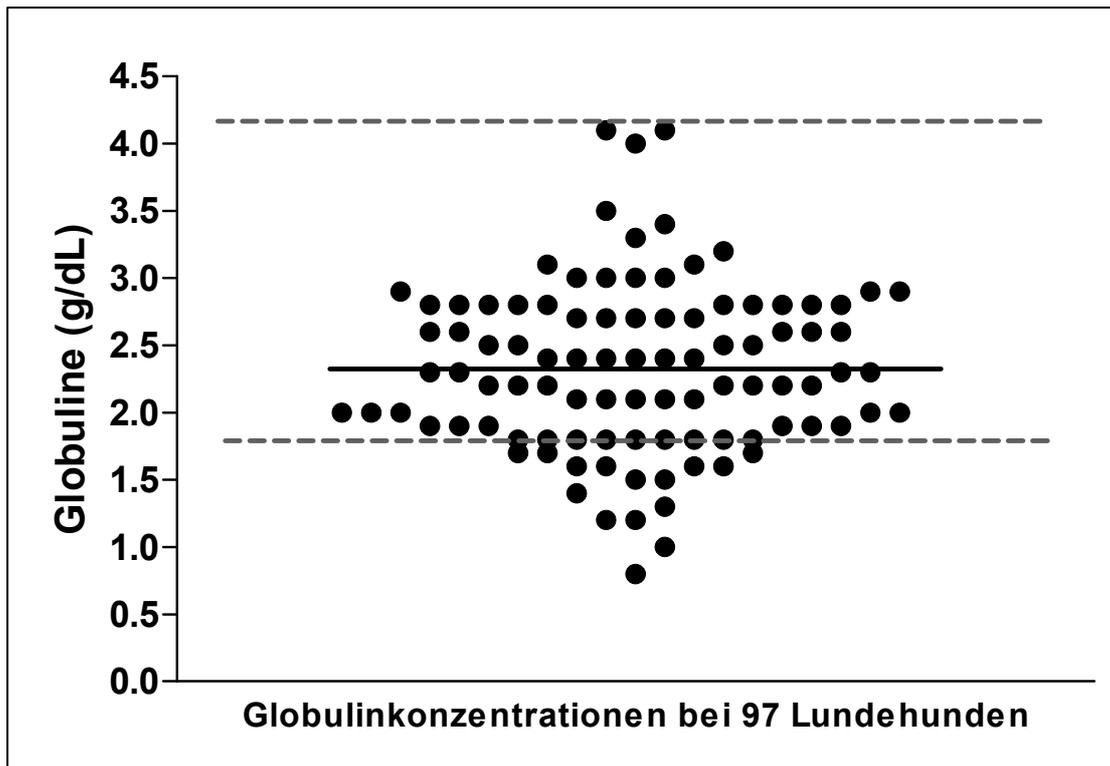


Abbildung 19 Verteilung der Globulinkonzentrationen bei den 97 untersuchten Lundeunden. Die beiden gestrichelten Linien zeigen den unteren und oberen Grenzwert des Referenzbereichs (1,8-4,2 g/dl). Der Mittelwert lag bei 2,3 g/dL und ist hier dargestellt mit der durchgezogenen schwarzen Linie. Insgesamt 14 Hunde (14,4%) hatten Globulinkonzentrationen unterhalb des Referenzbereiches.

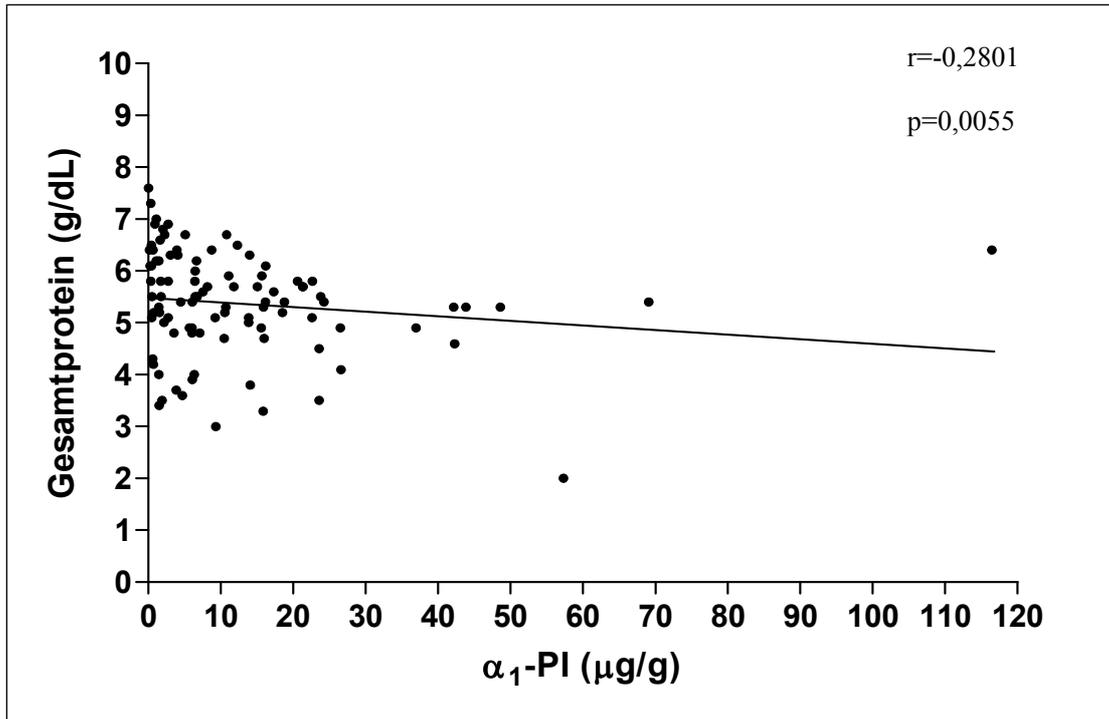


Abbildung 20 Negative Korrelation zwischen der mittleren Konzentration von Alpha₁-Proteinase Inhibitor in drei Kotproben und dem Gesamtprotein im Serum. Bei den 97 Lundeunden wurde eine signifikante negative Korrelation zwischen TP- und α_1 -PI-Konzentrationen gefunden (Spearman $r=-0,2801$; $p=0,0055$).

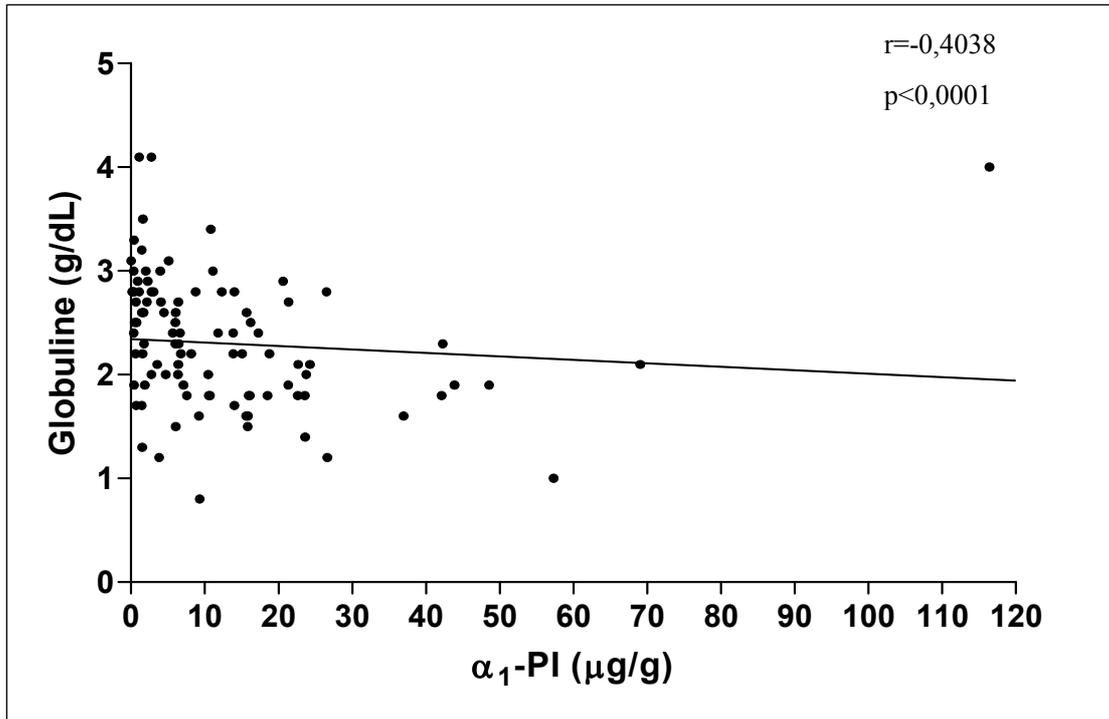


Abbildung 21 Negative Korrelation zwischen der mittleren Konzentration von Alpha₁-Proteinase Inhibitor in drei Kotproben und Globulinen im Serum bei 97 Lundehunden.

Bei den 97 Lundehunden wurde eine signifikante negative Korrelation zwischen Globulinkonzentrationen im Serum und α_1 -PI-Konzentrationen im Kot gefunden (Spearman $r=-0,4038$; $p<0,0001$).

4.7 Gastrointestinale Permeabilität und Absorptionskapazität

Die gastrointestinale Permeabilität und Absorptionskapazität wurde bei 13 Lundeunden sowie bei einer Kontrollgruppe von acht gesunden Hunden verschiedener Rassen bestimmt (zwei Labrador Retriever, ein Sibirischer Husky, ein Rottweiler, ein Zwergspitz, und drei Mischlingshunde). Die Ergebnisse der Kontrollhunde dienten dem Vergleich der beiden Gruppen (Kontrollhunde und Lundeunde) miteinander sowie zum Erstellen von Referenzbereichen für die einzelnen Zucker in Serum.

Das Alter der Lundeunde lag zwischen 0,5 und 9,5 Jahren, mit einem mittleren Alter von 4,0 Jahren. Von den 13 Lundeunden waren sieben Tiere weiblich und sechs männlich. Bei den acht Kontrollhunden lag ein gleichmäßiges Geschlechterverhältnis vor (vier weiblich und vier männlich). Das mittlere Alter lag bei 4,6 Jahren, mit einer Spanne von 1,5 bis 8,0 Jahren.

4.7.1 Saccharose

Die Serumanalyse für Saccharose konnte nicht ausgewertet werden. Im Chromatogramm einiger Serumproben wurde ein ko-eluierender Peak in direkter Nähe des Saccharosepeaks gefunden, was zu Ungenauigkeiten in der Quantifizierung dieser Proben führte. Es wurde daher beschlossen, die Analyse auf die restlichen vier Zucker zu beschränken.

4.7.2 Laktulose, Rhamnose und L/R Verhältnis

4.7.2.1 Laktulose

Die intragastrale Gabe der Zuckerlösung führte zu statistisch signifikanten Veränderungen der Serumkonzentrationen von Laktulose im Serum bei den getesteten Hunden. Die einfaktorielle Varianzanalyse mit wiederholten Messungen fand statistisch signifikante Unterschiede in den Laktulosekonzentrationen zwischen den einzelnen Zeitpunkten bei den Kontrollhunden ($p < 0,0001$). Der Bonferroni-Test ergab

signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten 0 und 60 Minuten ($p < 0,01$), 0 und 90 Minuten ($p < 0,001$) sowie 0 und 120 Minuten ($p < 0,001$). Der Referenzbereich für Laktulose in Serum lag zwischen 0,06 und 1,56 mg/L bei 60 Minuten, zwischen 0,42 und 1,98 mg/L bei 90 Minuten und zwischen 0,69 und 2,57 mg/L bei 120 Minuten (Tabelle 3).

Auch die Unterschiede zwischen den Laktulosekonzentrationen der jeweiligen Zeitpunkte in der Lundehundgruppe erwiesen sich anhand des Friedman-Tests als signifikant ($p < 0,0001$). Der Dunn's-Test zeigte Signifikanz zwischen Zeitpunkt 0 und 90 Minuten ($p < 0,01$) sowie 0 und 120 Minuten ($p < 0,001$). Die Serumkonzentrationen von Laktulose in der Gruppe der Lundehunde lagen zwischen 0,00 und 6,31 mg/L bei 60 Minuten, zwischen 1,03 und 22,68 mg/L bei 90 Minuten und zwischen 1,20 und 30,07 mg/L bei 120 Minuten (Tabelle 4).

Beim Vergleich der Laktulosekonzentrationen zwischen Lundehunden und Kontrollhunden nach 60, 90 und 120 Minuten fanden sich ebenfalls statistisch signifikante Unterschiede. Lundehunde hatten zu allen Zeitpunkten signifikant höhere Laktulosekonzentrationen als die Kontrollhunde (Medianwerte: 1,94 vs. 0,59, $p = 0,0205$; 2,10 vs. 1,12, $p = 0,0125$; 3,64 vs. 1,82, $p = 0,0125$; für 60, 90 und 120 Minuten; Abbildung 22).

Tabelle 3 Laktulosekonzentrationen im Serum der Kontrollhunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme. Der Referenzbereich wurde errechnet mittels der zentralen 95. Perzentile.

Laktulose (mg/L)				
Kontrollhund #	Zeitpunkt (min)			
	0	60	90	120
1	0,00	0,37	1,19	1,63
2	0,00	1,06	1,95	2,37
3	0,00	0,62	0,84	1,63
4	0,00	0,00	0,37	0,66
5	0,00	1,39	1,75	2,00
6	0,00	0,56	1,05	2,31
7	0,00	1,59	1,99	2,61
8	0,00	0,54	0,66	0,85
Normalverteilt	-	Ja	Ja	Ja
Mittelwert	0,00	0,76	1,22	1,76
SD	0,00	0,54	0,61	0,71
Minimum	0,00	0,00	0,37	0,66
Maximum	0,00	1,59	1,99	2,61
2,5. Perzentile	0,00	0,06	0,42	0,69
97,5. Perzentile	0,00	1,56	1,98	2,57

Tabelle 4 Laktulosekonzentrationen im Serum der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.

Laktulose (mg/L)				
Lundehund #	Zeitpunkt (min)			
	0	60	90	120
1	0,00	2,09	1,53	5,09
2	0,00	2,21	3,08	4,37
3	0,00	2,37	2,10	3,05
4	0,00	0,00	13,92	30,07
5	0,00	0,82	1,45	1,98
6	0,00	0,61	1,03	1,46
7	0,00	1,94	1,20	3,79
8	0,00	2,64	2,88	3,42
9	0,00	0,90	1,59	1,20
10	0,00	1,58	2,12	3,64
11	0,00	1,53	2,01	2,57
12	0,00	6,31	22,68	27,58
13	0,00	2,31	3,11	6,04
Normalverteilt	-	Nein	Nein	Nein
Median	0,00	1,94	2,10	3,64
Minimum	0,00	0,00	1,03	1,20
Maximum	0,00	6,31	22,68	30,07

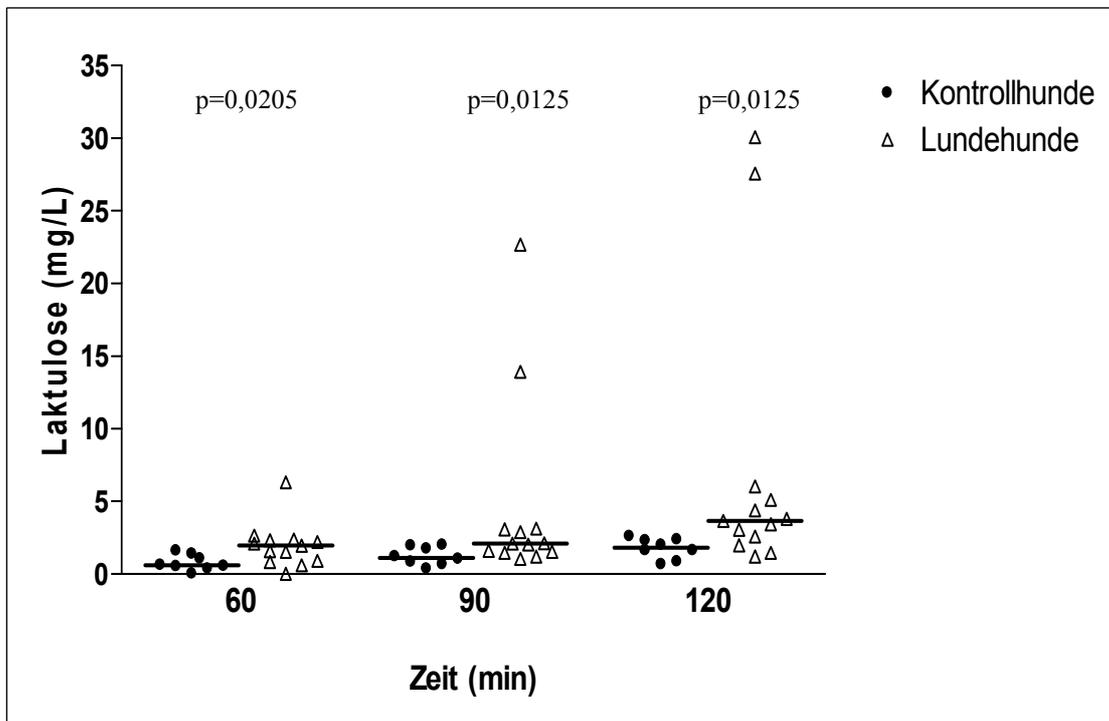


Abbildung 22 Vergleich der Laktulosekonzentrationen zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lundehunden (n=13) zu den Zeitpunkten der Probennahme nach Verabreichung der Zucker (Basalwerte waren alle 0 mg/L in beiden Gruppen). Die p-Werte geben das Ergebnis des Mann-Whitney Tests zwischen den zwei Gruppen zu den jeweiligen Zeitpunkten wieder. Die schwarzen Linien stellen die Medianwerte dar (Medianwerte: 1,94 vs. 0,59, p=0,0205; 2,10 vs. 1,12, p=0,0125; 3,64 vs. 1,82, p=0,0125; für 60, 90 und 120 Minuten).

4.7.2.2 Rhamnose

Die intragastrale Verabreichung der verwendeten Zuckerlösung führte zu statistisch signifikanten Veränderungen der Serumkonzentrationen an Rhamnose bei den getesteten Hunden. Mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse mit wiederholten Messungen wurden statistisch signifikante Unterschiede in den Rhamnosekonzentrationen zwischen den einzelnen Zeitpunkten bei den Kontrollhunden festgestellt ($p < 0,0001$). Der Bonferroni-Test ergab signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten 0 und 60 Minuten ($p < 0,001$), 0 und 90 Minuten ($p < 0,001$) sowie 0 und 120 Minuten ($p < 0,001$). Der Referenzbereich für

Rhamnose in Serum lag zwischen 23,5 und 55,9 mg/L nach 60 Minuten, zwischen 39,5 und 82,5 mg/L nach 90 Minuten und zwischen 43,5 und 104,5 mg/L nach 120 Minuten (Tabelle 5).

Der in der Gruppe der Lundehunde durchgeführte Friedman-Test ergab ebenfalls statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Rhamnosekonzentrationen der jeweiligen Zeitpunkte ($p < 0,0001$). Mittels Dunn's-Tests wurde Signifikanz zwischen Zeitpunkt 0 und 90 Minuten ($p < 0,001$) sowie 0 und 120 Minuten ($p < 0,001$) gefunden. Die Konzentrationen an Rhamnose in der Gruppe der Lundehunde lagen zwischen 0,0 und 47,0 mg/L bei 60 Minuten, zwischen 18,3 und 132,3 mg/L bei 90 Minuten und zwischen 36,7 und 141,4 mg/L bei 120 Minuten (Tabelle 6).

Die Rhamnosekonzentrationen zwischen Lundehunden und Kontrollhunden wurden nach 60, 90 und 120 Minuten verglichen, jedoch fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede (Medianwerte: 32,89 vs. 40,18, $p = 0,1553$; 47,73 vs. 52,33, $p = 0,3283$; 63,31 vs. 61,69, $p = 0,6849$; für 60, 90 und 120 Minuten; Abbildung 23).

Tabelle 5 Rhamnosekonzentrationen im Serum der Kontrollhunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme. Der Referenzbereich wurde errechnet mittels der zentralen 95. Perzentile.

Rhamnose (mg/L)				
Kontrollhund #	Zeitpunkt (min)			
	0	60	90	120
1	0,0	27,9	45,5	63,5
2	0,0	45,3	58,8	51,9
3	0,0	22,6	39,2	41,7
4	0,0	37,9	50,3	59,9
5	0,0	56,1	85,3	109,0
6	0,0	42,4	54,3	64,5
7	0,0	55,2	69,2	83,2
8	0,0	27,5	40,9	53,6
Normalverteilt	-	Ja	Ja	Ja
Mittelwert	0,0	39,4	55,5	65,9
SD	0,0	12,7	15,6	21,2
Minimum	0,0	22,6	39,2	41,7
Maximum	0,0	56,1	85,3	109,0
2,5. Perzentile	0,0	23,5	39,5	43,5
97,5. Perzentile	0,0	55,9	82,5	104,5

Tabelle 6 Rhamnosekonzentrationen im Serum der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.

Rhamnose (mg/L)				
	Zeitpunkt (min)			
Lundehund #	0	60	90	120
1	0,0	35,1	49,7	63,3
2	0,0	26,4	41,6	54,1
3	0,0	37,1	46,0	70,5
4	0,0	0,0	18,3	141,4
5	0,0	13,3	55,4	50,4
6	0,0	32,9	47,7	39,8
7	0,0	40,4	33,0	50,9
8	0,0	25,8	35,0	36,7
9	0,0	21,2	31,9	40,9
10	0,0	42,6	54,8	64,5
11	0,0	31,3	48,8	66,6
12	0,0	47,0	132,3	120,9
13	0,0	45,2	60,9	132,4
Normalverteilt	-	Ja	Nein	Ja
Median	0,0	32,9	47,7	63,3
Mittelwert	0,0	30,6	-	71,7
SD	0,0	13,4	-	36,0
Minimum	0,0	0,0	18,3	36,7
Maximum	0,0	47,0	132,3	141,4

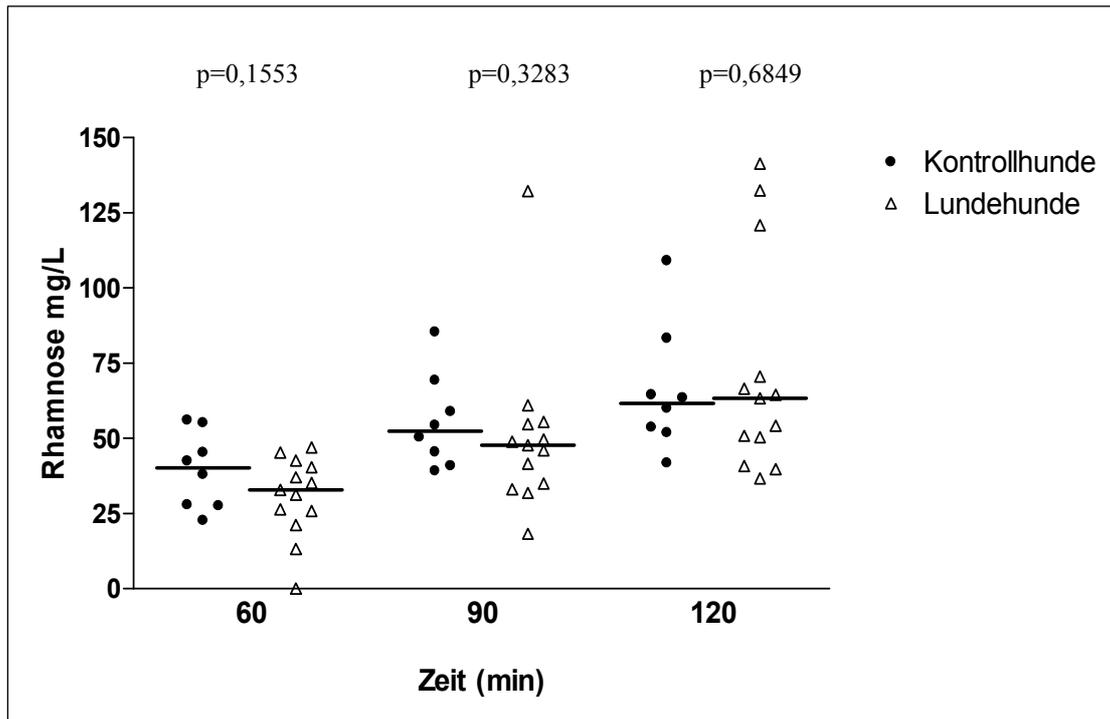


Abbildung 23 Vergleich der Rhamnosekonzentrationen zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lundehunden (n=13) 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker. Die Basalwerte lagen bei 0 mg/L in beiden Gruppen. Die schwarzen Linien stellen die Medianwerte dar. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren statistisch nicht signifikant (Medianwerte: 32,89 vs. 40,18, $p=0,1553$; 47,73 vs. 52,33, $p=0,3283$; 63,31 vs. 61,69, $p=0,6849$; für 60, 90 und 120 Minuten)

4.7.2.3 L/R Verhältnis

Die einfaktorielle Varianzanalyse mit wiederholten Messungen fand statistisch signifikante Unterschiede im Laktulose/Rhamnose-Verhältnis (L/R-Verhältnis) zwischen den einzelnen Zeitpunkten bei den Kontrollhunden ($p<0,0001$). Mittels des Bonferroni-Tests wurden die signifikanten Unterschiede zwischen den Zeitpunkten 0 und 60 Minuten ($p<0,001$), 0 und 90 Minuten ($p<0,001$) sowie 0 und 120 Minuten ($p<0,001$) festgestellt.

Die Referenzbereiche für die L/R-Verhältnisse in Serum lagen zwischen 0,002 und 0,029 für 60 Minuten, zwischen 0,009 und 0,032 für 90 Minuten und zwischen 0,012 und 0,045 für 120 Minuten (Tabelle 7).

Der in der Lundehundgruppe durchgeführte Friedman-Test ergab ebenfalls statistisch signifikante Unterschiede zwischen den L/R-Verhältnissen der jeweiligen Zeitpunkte ($p < 0,0001$). Der Dunn's-Test zeigte Signifikanz zwischen Zeitpunkt 0 und 60 Minuten ($p < 0,001$), 0 und 90 Minuten ($p < 0,01$) sowie 0 und 120 Minuten ($p < 0,001$). Die L/R-Verhältnisse bei den Lundehunden lagen zwischen 0,0 und 0,134 bei 60 Minuten, zwischen 0,022 und 0,762 bei 90 Minuten und zwischen 0,029 und 0,228 bei 120 Minuten (Tabelle 8).

Beim Vergleich der L/R-Verhältnisse zwischen Lundehunden und Kontrollhunden fanden sich statistisch signifikante Unterschiede bei allen Zeitpunkten. Lundehunde hatten zu allen Zeitpunkten signifikant höhere L/R-Verhältnisse als die Kontrollhunde (Medianwerte: 0,051 vs. 0,021, $p = 0,0058$; 0,045 vs. 0,021, $p = 0,001$; 0,056 vs. 0,029, $p = 0,0034$; für 60, 90 und 120 Minuten) (Abbildung 24).

Tabelle 7 L/R-Verhältnisse der Kontrollhunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme. Der Referenzbereich wurde errechnet mittels der zentralen 95. Perzentile.

L/R-Verhältnis				
	Zeitpunkt (min)			
Kontrollhund #	0	60	90	120
1	0,000	0,013	0,026	0,026
2	0,000	0,023	0,033	0,046
3	0,000	0,027	0,021	0,039
4	0,000	0,000	0,007	0,011
5	0,000	0,025	0,020	0,018
6	0,000	0,013	0,019	0,036
7	0,000	0,029	0,029	0,031
8	0,000	0,019	0,016	0,016
Normalverteilt	-	Ja	Ja	Ja
Mittelwert	0,000	0,019	0,021	0,028
SD	0,000	0,010	0,008	0,012
Minimum	0,000	0,000	0,007	0,011
Maximum	0,000	0,029	0,033	0,046
2,5. Perzentile	0,000	0,002	0,009	0,012
97,5. Perzentile	0,000	0,029	0,032	0,045

Tabelle 8 L/R-Verhältnisse im Serum der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.

L/R-Verhältnis				
	Zeitpunkt (min)			
Lundehund #	0	60	90	120
1	0,000	0,059	0,031	0,080
2	0,000	0,084	0,074	0,081
3	0,000	0,064	0,045	0,043
4	0,000	0,000	0,762	0,213
5	0,000	0,062	0,026	0,039
6	0,000	0,018	0,022	0,037
7	0,000	0,048	0,036	0,075
8	0,000	0,102	0,082	0,093
9	0,000	0,043	0,050	0,029
10	0,000	0,037	0,039	0,056
11	0,000	0,049	0,041	0,039
12	0,000	0,134	0,171	0,228
13	0,000	0,051	0,051	0,046
Normalverteilt	-	Ja	Nein	Nein
Median	0,000	0,051	0,045	0,056
Mittelwert	0,000	0,058	-	-
SD	0,000	0,035	-	-
Minimum	0,000	0,000	0,022	0,029
Maximum	0,000	0,134	0,762	0,228

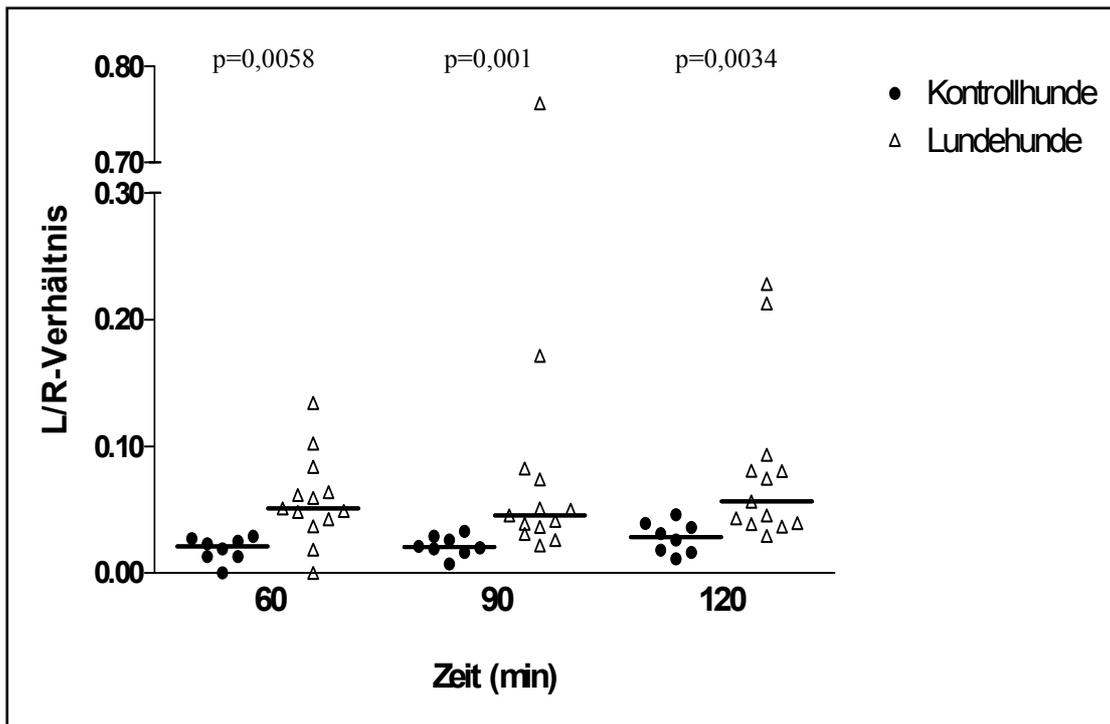


Abbildung 24 Vergleich der L/R-Verhältnisse zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lunde hunden (n=13) 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker. Die schwarzen Linien stellen die Medianwerte dar (0,051 vs. 0,021, $p=0,0058$; 0,045 vs. 0,021, $p=0,001$; 0,056 vs. 0,029, $p=0,0034$; für 60, 90 und 120 Minuten). Die p-Werte geben die Ergebnisse des t -Tests (60 Minuten) bzw. der Mann-Whitney-Tests (90 und 120 Minuten) wieder. Zur besseren Darstellung wurde die y-Achse zweigeteilt (0,00-0,30 sowie 0,70-0,80).

4.7.3 Xylose, Methylglukose und X/M Verhältnis

4.7.3.1 Xylose

Die intragastrale Verabreichung der verwendeten Zuckerlösung führte zu statistisch signifikanten Veränderungen der Konzentration von Xylose im Serum der getesteten Hunde. Der Friedman Test ergab statistisch signifikante Unterschiede in den Xylosekonzentrationen zwischen den einzelnen Zeitpunkten bei den Kontrollhunden ($p < 0,001$). Mit dem Dunn's Test wurde Signifikanz zwischen Zeitpunkt 0 und 60 Minuten ($p < 0,01$) sowie 0 und 90 Minuten ($p < 0,01$) festgestellt.

Der Referenzbereich für Xylose in Serum lag zwischen 1,5 und 3,7 mg/L bei 0 Minuten, zwischen 65,5 und 113,5 mg/L bei 60 Minuten, zwischen 66,0 und 109,8 mg/L bei 90 Minuten und zwischen 41,2 und 124,8 mg/L bei 120 Minuten (Tabelle 9).

Die einfach-klassifizierte Varianzanalyse mit wiederholten Messungen fand statistisch signifikante Unterschiede in den Xylosekonzentrationen zwischen den einzelnen Zeitpunkten in der Lundehundgruppe ($p < 0,0001$). Der Bonferroni-Test ergab signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten 0 und 60 Minuten ($p < 0,001$), 0 und 90 Minuten ($p < 0,001$) sowie 0 und 120 Minuten ($p < 0,001$). Die Konzentrationen an Xylose in der Gruppe der Lundehunde lagen zwischen 7,6 und 177,9 mg/L bei 60 Minuten, zwischen 40,3 und 231,4 mg/L bei 90 Minuten und zwischen 68,4 und 262,3 mg/L bei 120 Minuten (Tabelle 10).

Beim Vergleich der Xylosekonzentration zwischen Lundehunden und Kontrollhunden nach 60, 90 und 120 Minuten wurde ein statistisch signifikanter Unterschied nur bei 120 Minuten gefunden. Die Xylosekonzentration der Lundehunde waren beim 120-Minuten-Zeitpunkt signifikant höher als die der Kontrollhunde (Medianwerte: 104,5 vs. 89,0, $p = 0,19$; 117,2 vs. 88,8, $p = 0,1$; 115,1 vs. 69,6, $p = 0,0042$; für 60, 90 und 120 Minuten) (Abbildung 25).

Tabelle 9 Xylosekonzentrationen im Serum der Kontrollhunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme. Der Referenzbereich wurde errechnet mittels der zentralen 95. Perzentile.

Xylose (mg/L)				
Kontrollhund #	Zeitpunkt (min)			
	0	60	90	120
1	2,2	87,0	94,6	66,2
2	3,8	83,7	65,8	38,0
3	2,2	64,1	111,7	82,8
4	2,3	98,9	82,9	56,6
5	2,3	90,9	100,8	133,8
6	1,4	93,1	82,1	80,1
7	3,3	116,6	95,3	70,3
8	2,0	72,4	67,0	68,9
Normalverteilt	Ja	Ja	Ja	Nein
Median	2,2	89,0	88,8	69,6
Mittelwert	2,4	88,3	87,5	-
SD	0,8	16,1	16,1	-
Minimum	1,4	64,1	65,8	38,0
Maximum	3,8	116,6	111,7	133,8
2,5. Perzentile	1,5	65,5	66,0	41,2
97,5. Perzentile	3,7	113,5	109,8	124,8

Tabelle 10 Xylosekonzentrationen im Serum der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.

Xylose (mg/L)				
	Zeitpunkt (min)			
Lundehund #	0	60	90	120
1	6,2	162,8	172,5	151,2
2	8,2	130,5	140,4	115,1
3	8,2	177,9	169,5	179,7
4	7,1	7,6	40,3	209,8
5	6,0	104,5	117,2	104,1
6	4,5	92,2	90,8	93,7
7	5,8	96,9	99,2	86,2
8	5,2	148,9	138,4	121,3
9	5,3	73,1	84,8	91,6
10	3,1	81,9	80,6	68,4
11	3,0	79,8	55,0	90,6
12	6,4	147,7	231,4	157,2
13	6,5	143,5	151,5	262,3
Normalverteilt	Ja	Ja	Ja	Ja
Mittelwert	5,8	111,3	120,9	133,2
SD	1,6	46,5	53,2	56,6
Minimum	3,0	7,6	40,3	68,4
Maximum	8,2	177,9	231,4	262,3

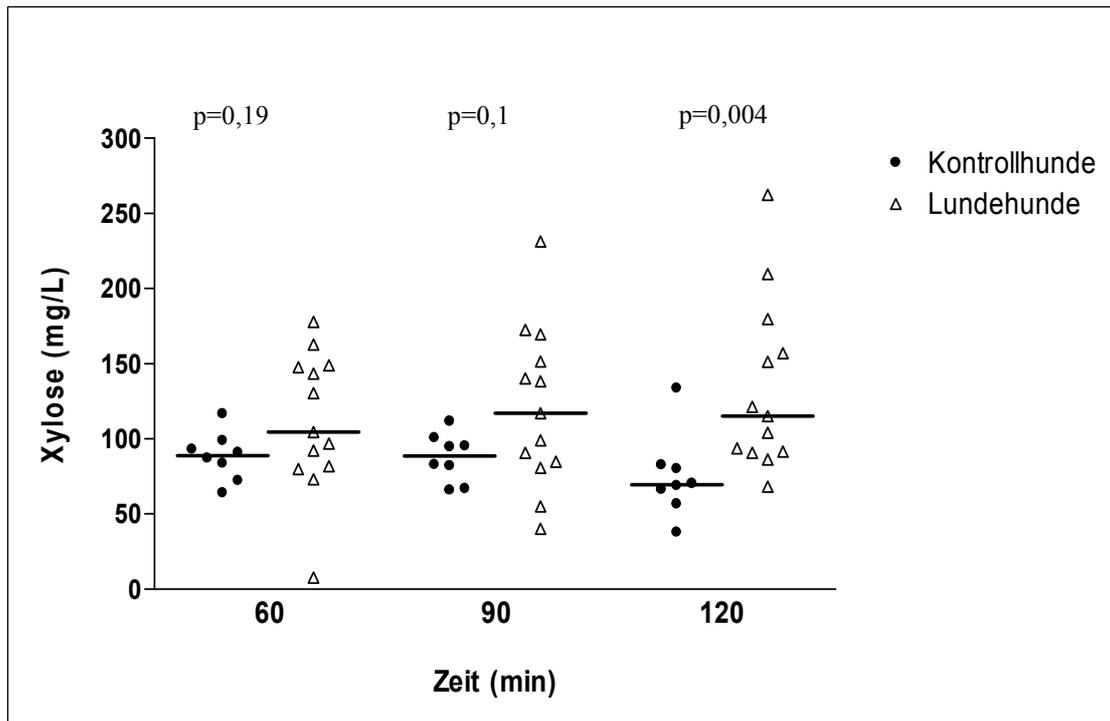


Abbildung 25 Vergleich der Xylosekonzentration zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lundehunden (n=13) 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker. Die schwarzen Linien stellen die Medianwerte dar (Medianwerte: 104,5 vs. 89,0, $p=0,19$; 117,2 vs. 88,8, $p=0,1$; 115,1 vs. 69,6, $p=0,0042$; für 60, 90 und 120 Minuten). Ein statistisch signifikanter Unterschied wurde 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker gefunden.

4.7.3.2 Methylglukose

Die intragastrale Verabreichung der verwendeten Zuckerlösung führte zu statistisch signifikanten Veränderungen der Serumkonzentration von Methylglukose bei den getesteten Hunden. Mittels einfaktorieller Varianzanalyse mit wiederholten Messungen wurden statistisch signifikante Unterschiede in den Methylglukose-Konzentrationen zwischen den einzelnen Zeitpunkten bei den Kontrollhunden festgestellt ($p<0,0001$). Der Bonferroni-Test ergab signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten 0 und 60 Minuten ($p<0,001$), 0 und 90 Minuten ($p<0,001$) sowie 0 und 120 Minuten ($p<0,001$). Der Referenzbereich für Methylglukose in Serum lag zwischen 103,3 und 181,5 mg/L nach 60 Minuten, zwischen 95,4 und

184,2 mg/L nach 90 Minuten und zwischen 82,3 und 199,1 mg/L nach 120 Minuten (Tabelle 11).

Der in der Gruppe der Lundehunde durchgeführte Friedman-Test ergab ebenfalls statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Methylglukosekonzentration der jeweiligen Zeitpunkte ($p < 0,0001$). Mittels Dunn's-Test wurde Signifikanz zwischen Zeitpunkt 0 und 60 Minuten ($p < 0,001$), 0 und 90 Minuten ($p < 0,001$) sowie 0 und 120 Minuten ($p < 0,01$) gefunden. Die Konzentrationen an Methylglukose in der Gruppe der Lundehunde lagen zwischen 0,0 und 199,5 mg/L bei 60 Minuten, zwischen 19,2 und 172,8 mg/L bei 90 Minuten und zwischen 48,4 und 246,1 mg/L bei 120 Minuten (Tabelle 12).

Der Vergleich der Methylglukosekonzentrationen zwischen Lundehunden und Kontrollhunden nach 60, 90 und 120 Minuten zeigte, dass die Methylglukosekonzentration bei Lundehunden zu allen Zeitpunkten geringer war als die der Kontrollhunde. Statistisch signifikante Unterschiede wurden bei 60 und 90 Minuten gefunden (Medianwerte: 86,4 vs. 153,2, $p = 0,0117$; 96,5 vs. 144,2, $p = 0,0306$; 84,3 vs. 101,9, $p = 0,12$; für 60, 90 und 120 Minuten) (Abbildung 26).

Tabelle 11 Methylglukosekonzentrationen im Serum der Kontrollhunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme. Der Referenzbereich wurde errechnet mittels der zentralen 95. Perzentile.

Methylglukose (mg/L)				
Kontrollhund #	Zeitpunkt (min)			
	0	60	90	120
1	0,0	182,7	148,3	107,5
2	0,0	144,9	112,9	81,0
3	0,0	136,4	185,2	170,7
4	0,0	176,2	154,0	108,5
5	0,0	156,4	179,3	205,1
6	0,0	174,6	140,1	94,7
7	0,0	149,9	115,3	88,2
8	0,0	96,3	91,7	96,3
Normalverteilt		Ja	Ja	Ja
Mittelwert	0,0	152,2	140,8	119,0
SD	0,0	27,9	32,8	44,4
Minimum	0,0	96,3	91,7	81,0
Maximum	0,0	182,7	185,2	205,1
2,5. Perzentile	0,0	103,3	95,4	82,3
97,5. Perzentile	0,0	181,5	184,2	199,1

Tabelle 12 Methylglukosekonzentrationen im Serum der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.

Methylglukose (mg/L)				
Lundehund #	Zeitpunkt (min)			
	0	60	90	120
1	0,0	96,9	98,4	84,6
2	0,0	71,8	66,3	48,4
3	0,0	90,2	96,5	84,3
4	0,0	0,0	19,2	81,2
5	0,0	68,4	68,8	74,2
6	0,0	86,4	71,4	59,3
7	0,0	81,2	104,7	84,3
8	0,0	199,5	168,5	152,0
9	0,0	77,4	110,5	93,7
10	0,0	97,4	95,2	66,6
11	0,0	84,6	68,0	98,2
12	0,0	155,5	172,8	109,1
13	0,0	163,7	146,1	246,1
Normalverteilt		Ja	Ja	Nein
Median	0,0	86,4	96,5	84,3
Mittelwert	0,0	97,9	98,9	
SD	0,0	50,1	43,5	
Minimum	0,0	0,0	19,2	48,4
Maximum	0,0	199,5	172,8	246,1

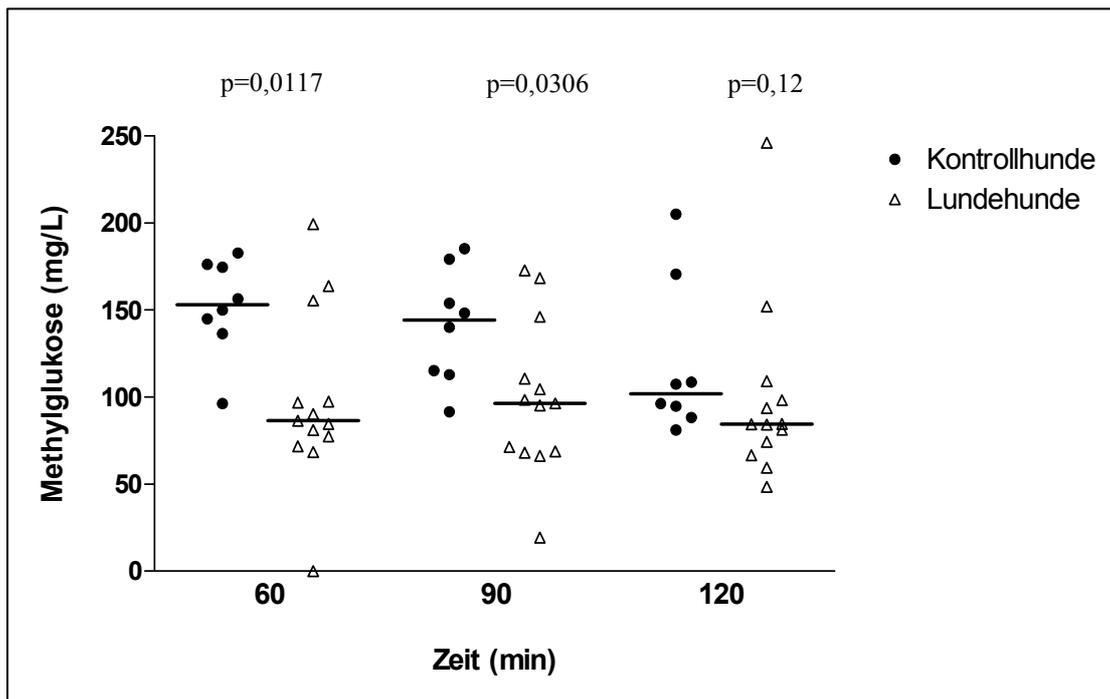


Abbildung 26 Vergleich der Methylglukosekonzentration zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lunde hunden (n=13) 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker. Die schwarzen Linien stellen die jeweiligen Medianwerte dar (Medianwerte: 86,4 vs. 153,2, $p=0,0117$; 96,5 vs. 144,2, $p=0,0306$; 84,3 vs. 101,9, $p=0,12$; für 60, 90 und 120 Minuten). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen wurde nach 60 und 90 Minuten gefunden.

4.7.3.3 X/M Verhältnis

Die einfaktorielle Varianzanalyse mit wiederholten Messungen fand statistisch signifikante Unterschiede im Xylose/Methylglukose-Verhältnis (X/M-Verhältnis) zwischen den einzelnen Zeitpunkten bei den Kontrollhunden ($p<0,0001$). Der Bonferroni-Test ergab signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten 0 und 60 Minuten ($p<0,001$), 0 und 90 Minuten ($p<0,001$) sowie 0 und 120 Minuten ($p<0,001$). Die Referenzbereiche für die X/M-Verhältnisse in Serum lagen zwischen 0,471 und 0,773 für 60 Minuten, zwischen 0,542 und 0,809 für 90 Minuten und zwischen 0,472 und 0,837 für 120 Minuten (Tabelle 13).

Bei den Lundehunden ergab die einfaktorielle Varianzanalyse mit wiederholten Messungen ebenfalls statistisch signifikante Unterschiede im Xylose/Methylglukose-Verhältnis (X/M-Verhältnis) zwischen den einzelnen Zeitpunkten ($p < 0,0001$). Der Bonferroni-Test zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten 0 und 60 Minuten ($p < 0,001$), 0 und 90 Minuten ($p < 0,001$) sowie 0 und 120 Minuten ($p < 0,001$). In der Gruppe der Lundehunde wurden X/M-Verhältnisse zwischen 0,000 und 1,973 bei 60 Minuten, zwischen 0,768 und 2,118 bei 90 Minuten und zwischen 0,798 und 2,583 bei 120 Minuten festgestellt (Tabelle 14).

Beim Vergleich der X/M-Verhältnisse zwischen Lundehunden und Kontrollhunden fanden sich statistisch signifikante Unterschiede. Lundehunde hatten zu allen Zeitpunkten der Probennahme signifikant höhere X/M-Verhältnisse als die Kontrollhunde (Mittelwerte: 1,12 vs. 0,59, $p = 0,012$; 1,33 vs. 0,63, $p = 0,011$; 1,47 vs. 0,64, $p = 0,01$; für 60, 90 und 120 Minuten) (Abbildung 27).

Tabelle 13 X/M-Verhältnisse bei Kontrollhunden zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme. Die Referenzbereiche wurden errechnet anhand der zentralen 95. Perzentile.

X/M-Verhältnis				
	Zeitpunkt (min)			
Kontrollhund #	0	60	90	120
1	0,00	0,48	0,64	0,62
2	0,00	0,58	0,58	0,47
3	0,00	0,47	0,60	0,49
4	0,00	0,56	0,54	0,52
5	0,00	0,58	0,56	0,65
6	0,00	0,53	0,59	0,85
7	0,00	0,78	0,83	0,80
8	0,00	0,75	0,73	0,72
Normalverteilt	-	Ja	Ja	Ja
Mittelwert	0,00	0,59	0,63	0,64
SD	0,00	0,12	0,10	0,14
Minimum	0,000	0,470	0,538	0,469
Maximum	0,000	0,778	0,826	0,845
2,5. Perzentile	0,000	0,471	0,542	0,472
97,5. Perzentile	0,000	0,773	0,809	0,837

Tabelle 14 X/M-Verhältnisse in der Gruppe der Lundehunde zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probennahme.

X/M-Verhältnis				
	Zeitpunkt (min)			
Lundehund #	0	60	90	120
1	0,00	1,68	1,75	1,79
2	0,00	1,82	2,12	2,38
3	0,00	1,97	1,76	2,13
4	0,00	0,00	2,10	2,58
5	0,00	1,53	1,70	1,40
6	0,00	1,07	1,27	1,58
7	0,00	1,19	0,95	1,02
8	0,00	0,75	0,82	0,80
9	0,00	0,94	0,77	0,98
10	0,00	0,84	0,85	1,03
11	0,00	0,94	0,81	0,92
12	0,00	0,95	1,34	1,44
13	0,00	0,88	1,04	1,07
Normalverteilt	-	Ja	Ja	Ja
Mittelwert	0,00	1,12	1,33	1,47
SD	0,00	0,53	0,50	0,59
Minimum	0,000	0,000	0,768	0,798
Maximum	0,000	1,973	2,118	2,583

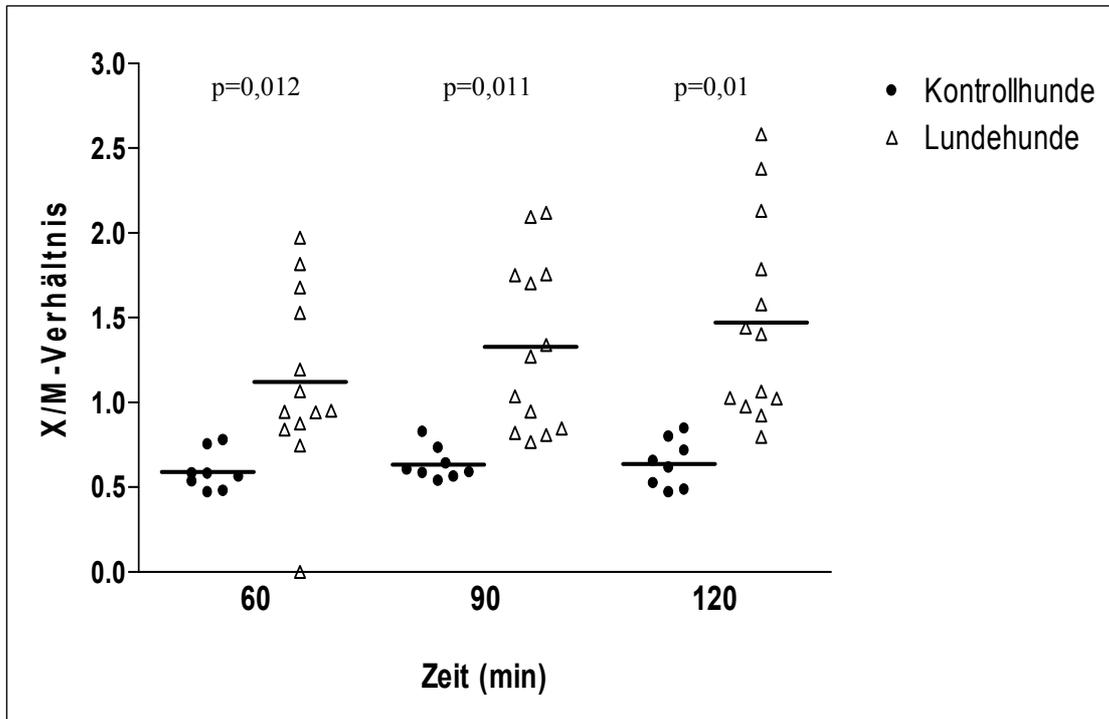


Abbildung 27 Vergleich der X/M-Verhältnisse zwischen Kontrollhunden (n=8) und Lundehunden (n=13) 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichung der Zucker. Die schwarzen Linien stellen die Mittelwerte dar (Mittelwerte: 1,12 vs. 0,59, $p=0,012$; 1,33 vs. 0,63, $p=0,011$; 1,47 vs. 0,64, $p=0,01$; für 60, 90 und 120 Minuten). Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen wurden nach 60, 90 und 120 Minuten gefunden.

5. DISKUSSION

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Prävalenz von Gastroenteropathien beim Norwegischen Lundehund zu bestimmen und anhand diverser klinischer Testverfahren sowie Auswertung vorhandener Literatur eine bessere Charakterisierung der beim Lundehund vorkommenden Gastroenteropathien zu erstellen. Gegenstand der Prävalenzuntersuchung waren Serum- und Kotproben von Norwegischen Lundehunden aus den USA und Kanada. Weiterhin wurde bei einem Teil der Lundehunde sowie einer Gruppe gesunder Hunde verschiedener Rassen ein Test zur Messung der intestinalen Permeabilität und Absorptionskapazität durchgeführt.

5.1 Proben: Selektion und Probennahme

Der Norwegische Lundehund wurde speziell für diese Studie ausgewählt, da es in der Literatur Hinweise auf eine hohe Prävalenz von Gastroenteropathien bei dieser Hunderasse gibt, die jedoch zuvor noch nicht bei einer großen Anzahl an Hunden bestimmt worden ist. Das Vorhandensein einer einheitlichen Erkrankung bei einer Hunderasse kann idealerweise eine Basis für weitere Forschung sein, da man somit eine relativ große Anzahl an Studienobjekten hat, die ähnliche Charakteristika aufweisen. Ergebnisse weiterer Studien können dann unter Umständen auf andere Hunderassen übertragen werden.

Das einzige Aufnahmekriterium für die vorliegende Studie war somit Reinrassigkeit der Lundehunde. Da mit dieser Untersuchung die Prävalenz von Gastroenteropathien beim Lundehund festgestellt werden sollte, wurden keine Beschränkungen hinsichtlich Alter, Geschlecht oder Gesundheitsstatus der einzelnen Tiere gemacht. Zum Zeitpunkt der Probennahme wurden von den Besitzern Informationen über den Gesundheitszustand der Hunde erhoben. Aufgrund von Datenschutzbestimmungen war jedoch die Angabe dieser Informationen freiwillig, und keine Bedingung für eine Aufnahme in die Studie. Daher waren diese Daten auch nicht für alle Fälle verfügbar. Von jedem Hund wurde eine Serumprobe sowie Kotproben von drei aufeinanderfolgenden Defäkationen gesammelt.

Die Blutentnahme erfolgte im gleichen Zeitraum wie die Sammlung der Kotproben, mit einem maximalen Zeitunterschied von einer Woche. Dadurch wurde die statistische Auswertbarkeit zusammengehöriger Probensätze gewährleistet.

Insgesamt konnten Proben von 97 reinrassigen Norwegischen Lundehunden untersucht werden. Diese Anzahl entspricht ca. 50% der gesamten Nordamerikanischen Population (USA und Kanada) und stellt somit eine repräsentative Probe dar.

5.2 Alter- und Geschlechterverhältnis

Bei der Altersverteilung der untersuchten Lundehunde war erkennbar, dass ein Großteil der Hunde sehr jung war. Fast drei Viertel aller Hunde (74,2%) waren jünger als sechs Jahre, und annähernd die Hälfte (49,5%) war jünger als drei Jahre. Der Mittelwert des Alters aller Hunde betrug 3,0 Jahre (Altersspanne 0,5-13,0 Jahre). Der Anteil Norwegischer Lundehunde, die älter als sechs Jahre waren, war in dieser Studie somit relativ gering (25,8%). Es wird geschätzt, dass dies auch auf die gesamte Population bezogen ähnlich ist. Auf Nachfrage bei Züchtern und Besitzern der Hunde wurde bestätigt, dass dies wahrscheinlich in etwa der Altersverteilung in der Rasse insgesamt entspricht und nicht etwa auf eine selektive Teilnahme an dieser Studie zurückzuführen ist. Genaue Angaben hinsichtlich der Lebenserwartung beim Lundehund stehen nicht zur Verfügung. Allerdings sind Daten von acht Lundehunden vorhanden, die an dieser Studie teilgenommen haben und in der Zwischenzeit verstorben sind: Fünf dieser Hunde hatten zum Zeitpunkt des Eintritts in die Studie und der Probennahme Symptome einer Gastroenteropathie. Das durchschnittliche Alter war zum Zeitpunkt der Probenentnahme 5,6 Jahre (Altersspanne 1,0-10,0 Jahre), und das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt des Todes lag bei 7,3 Jahren (Altersspanne 2,0-11,0 Jahre). Alle acht Hunde verstarben an den Folgen der Gastroenteropathie oder wurden deswegen euthanasiert. Diese Stichprobe könnte ein weiterer Hinweis darauf sein, dass die Lebenserwartung bei Lundehunden verhältnismäßig gering ist. Allerdings muss angemerkt werden, dass diese Stichprobe zu klein ist um eine statistisch wertvolle Aussage zu machen.

Das Geschlechterverhältnis war ausgewogen (53,6% männlich, 46,4% weiblich).

5.3 Cobalamin- und Folsäurekonzentration im Serum

Eine Cobalamindefizienz kommt bei Patienten mit chronischen Gastrointestinalerkrankungen häufig vor, wobei mehrere Vorgänge zur Entstehung beitragen können (SIMPSON et al. 2001; SUCHODOLSKI u. STEINER 2003). Darunter fallen, wie oben beschrieben, der Verlust von Cobalaminrezeptoren aufgrund von Schädigung der Mukosa des Ileums, ein Mangel an R-Protein oder Intrinsicem Faktor (IF) bedingt durch Magenschleimhautschädigung, eine bakterielle Überwucherung des Dünndarmes oder auch das gleichzeitige Vorliegen von exokriner Pankreasinsuffizienz (EPI) (SIMPSON et al. 2001; SUCHODOLSKI u. STEINER 2003; WILLIAMS u. GUILFORD 1996). Ein Mangel an R-Protein bedingt durch chronische Gastritis könnte beim Lundehund zum Cobalaminmangel beitragen, wohingegen ein Mangel an IF aufgrund von Gastritis unwahrscheinlicher erscheint, da ein bedeutender Teil des IF beim Hund im Pankreas synthetisiert wird, und z.B. eine Gastrektomie alleine keine Cobalamindefizienz hervorruft (BATT u. HORADAGODA 1989a; BATT u. HORADAGODA 1989b; SIMPSON et al. 1989). Somit hat der Verlust des gastrischen IF aller Wahrscheinlichkeit nach keine großen Auswirkungen auf die Absorption von Cobalamin, solange eine physiologische Funktion des exokrinen Pankreas vorliegt (SIMPSON et al. 1989; WILLIAMS u. GUILFORD 1996). In dieser Studie wurde bei keinem der 97 Hunde EPI festgestellt. Daher ist es unwahrscheinlich, dass EPI als Ursache von Cobalaminmalabsorption bei dieser Hunderasse eine entscheidende Rolle spielt. Somit lässt sich vermuten, dass die Schädigung der Mukosa im Ileum den Hauptfaktor einer Cobalamindefizienz beim Lundehund darstellt, möglicherweise begleitet von einem Mangel an R-Protein und einer bakteriellen Überwucherung des Dünndarmes. Dies würde auch mit den früheren Berichten anderer Autoren übereinstimmen, in denen Schleimhautschäden im Magen und Dünndarm beschrieben werden (FLESJÅ u. YRI 1977; KOLBJØRNSEN et al. 1994a; LANDSVERK u. GAMLEM 1984).

Die Ergebnisse der Messung der Serumkonzentration von Cobalamin zeigten jedoch eine hohe Variabilität zwischen den einzelnen Hunden. Die Konzentrationen schwankten zwischen 99 ng/L und 1201 ng/L, Konzentrationen, die dem jeweiligen unteren und oberen Detektionslimit des verwendeten Assays entsprechen. Der Medianwert lag mit 574 ng/L im mittleren Referenzbereich (249–733 ng/L). Interessanterweise wurde bei nur acht der 97 untersuchten Hunde (8,2%) eine Cobalamindefizienz gefunden (<249 ng/L), während 34 von 97 Hunden (35,2%) eine

erhöhte Serumkonzentration aufwiesen. Dieser Befund war angesichts der vermuteten erhöhten Frequenz einer Enteropathie bei dieser Hunderasse überraschend. Auf Nachfrage bei Besitzern der Hunde mit erhöhten Cobalaminwerten stellte sich heraus, dass bei mindestens neun der Hunde mit erhöhten Serumwerten regelmäßig Cobalamin parenteral appliziert wurde, was in diesen Fällen die hohen Cobalaminkonzentrationen erklären würde. Bei weiteren acht Hunden hingegen wurde laut Angaben der Besitzer kein Cobalamin verabreicht und es ist unbekannt, warum diese Hunde supranormale Cobalaminkonzentrationen aufwiesen. Regelmäßige Cobalaminsupplementation ist bei manchen Besitzern von Lundehunden eine routinemäßige Vorgehensweise, da sich die meisten Besitzer der Problematik der Gastroenteropathie ihrer Hunde bewusst sind und somit aus therapeutischen oder präventiven Gründen regelmäßig Cobalamin verabreichen. Somit ist es wahrscheinlich, dass die in dieser Studie gemessenen Cobalaminkonzentrationen nicht die tatsächliche Prävalenz von Cobalamindefizienz beim Lundehund widerspiegeln und daher mit Vorsicht interpretiert werden müssen. Informationen über Cobalaminsupplementation bei den verbleibenden 17 betroffenen Hunden konnten nicht erfasst werden. Unter Berücksichtigung dieser Befunde muss hinsichtlich der Behandlung Norwegischer Lundehunde in einer tierärztlichen Praxis bedacht werden, dass die hier beobachtete Prävalenz von nur 8,2% unter Umständen das wahre Vorkommen von Cobalamindefizienz beim unbehandelten Lundehund unterschätzt. Daher sollte bei allen Lundehunden mit klinischen Symptomen, die auf eine Gastroenteropathie hinweisen, die Serumkonzentration von Cobalamin gemessen werden, um eventuelle Mangelzustände schnellstmöglich beheben zu können. Außerdem ist es für eine korrekte Einschätzung der Testergebnisse sehr wichtig, einen genauen Vorbericht vom Besitzer zu erhalten. Eine Cobalaminsupplementation durch den Besitzer kann eine fälschlich normale Cobalaminkonzentration beim Patienten hervorrufen, was wiederum zu Fehlinterpretationen führen kann, wenn dies dem Tierarzt nicht mitgeteilt wird.

Serumfolsäurekonzentrationen können bei chronischen Enteropathien verringert sein. Dies ist dann der Fall wenn der proximale Anteil des Dünndarms, in dem sich die Folsäurerezeptoren befinden, von der Erkrankung betroffen ist. Hingegen ist eine Erhöhung der Serumfolsäure oft mit einer Imbalanz der intestinalen Mikroflora zugunsten folsäureproduzierender Spezies assoziiert (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003). Die in dieser Studie bei Lundehunden gemessenen Folsäurekonzentrationen

waren ähnlich wie die Cobalaminkonzentrationen weit gestreut und lagen zwischen 2,4 und 25,0 µg/L, mit einem Mittelwert von 10,9 µg/L (SD ±4,1). Dreizehn Lundehunde hatten eine verminderte Folsäurekonzentration (<6,5 µg/L), wohingegen bei 40 Lundehunden (41,2%) Folsäurekonzentrationen über dem Referenzbereich festgestellt wurden (>11,5 µg/L).

Bei nur einem Lundehund wurde eine niedrige Folsäurekonzentration in Kombination mit einer verringerten Cobalaminkonzentration gefunden. Dies kann wiederum damit zusammenhängen, dass viele Lundehunde zwar zusätzlich Cobalamin erhalten, jedoch nicht mit Folsäure supplementiert werden, so dass sich eine eventuelle Malabsorption zwar durch eine verringerte Folsäurekonzentration, nicht jedoch durch erniedrigte Cobalaminkonzentrationen bemerkbar macht. Drei Hunde (3,1%) mit subnormalen Cobalaminkonzentrationen hatten erhöhte Folsäurekonzentrationen, was auf das Vorliegen von SIBO oder anderweitiger Änderung der intestinalen Mikroflora hinweisen kann (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003). Auch hier muss man allerdings beachten, dass einige der 40 Lundehunde mit erhöhten Folsäurekonzentrationen gleichzeitig mit Cobalamin behandelt wurden und die tatsächliche Anzahl betroffener Hunde eventuell etwas höher sein könnte. Eine schwache, jedoch signifikante Korrelation zwischen Serumcobalamin- und Folsäurekonzentration konnte bei den untersuchten 97 Lundehunden gefunden werden (Spearman $r=0,2053$; $p=0,0436$), was darauf hinweisen könnte, dass eine Assoziation zwischen Cobalamin- und Folsäuremalabsorption besteht.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass die Prävalenz von Malabsorption, basierend auf verminderten Serumcobalamin- und/oder Folsäurekonzentrationen mit insgesamt 21 betroffenen Hunden bei mindestens 21,6% liegt. Es ist möglich, dass dieser Prozentsatz den wahren Anteil an Hunden mit Malabsorption unterschätzt, wenn man die Anzahl der Hunde in Betracht zieht, die mit Cobalamin supplementiert werden und daher Cobalaminkonzentrationen innerhalb des Referenzbereiches oder darüber aufweisen.

5.4 Trypsin-ähnliche Immunreaktivität

Der cTLI-Test wird als Goldstandard für die Diagnose von exokriner Pankreasinsuffizienz (EPI) angesehen (SUCHODOLSKI u. STEINER 2003; WESTERMARCK et al. 2005; WILLIAMS u. BATT 1983). Da EPI chronischen

Durchfall, Gewichtsverlust und Malabsorption verursachen kann, wurden die Serumproben aller an dieser Studie teilnehmenden Lundehunde getestet, um sicherzugehen, dass eventuell vorhandene Symptome nicht Folge einer EPI waren, sondern vielmehr die Konsequenz einer chronischer Gastroenteropathie darstellten. Die Ergebnisse der cTLI Tests der 97 Lundehunde zeigen, dass alle Hunde cTLI-Konzentrationen im Referenzbereich (5-35 µg/L) hatten, woraus geschlossen werden kann, dass EPI beim Lundehund nicht gehäuft vorkommt und oben genannte Krankheitssymptome tatsächlich Folge einer Gastroenteropathie sind.

5.5 C-reaktives Protein im Serum

C-reaktives Protein (CRP) wurde im Serum von 51 gesunden Kontrollhunden und insgesamt 96 von 97 Lundehunden gemessen, um zu bestimmen, ob und wie sich die Serumkonzentrationen von CRP bei gesunden Hunden und Norwegischen Lundehunden unterscheiden. Von einem Lundehund war leider kein Serum zur Messung der CRP Konzentration verfügbar. Ausserdem sollte festgestellt werden, ob es eine Assoziation zu anderen Testergebnissen oder zur Symptomatik des Lundehund Syndroms gibt.

Die Ergebnisse zeigen, dass CRP bei gesunden Kontrollhunden nicht oder nur in geringen Konzentrationen zu messen ist (0,0-8,8 mg/L; Medianwert 0 mg/L), so dass sich ein Referenzbereich basierend auf der unteren 97,5. Perzentile von 0,0-7,6 mg/L ergibt. In der Gruppe der Lundehunde hingegen wurden Konzentrationen von 0,0-69,0 mg/L gemessen (Medianwert 4,6 mg/L), und 34 Lundehunde (35,1%) hatten CRP-Konzentrationen oberhalb des Referenzbereiches. Der CRP Medianwert war bei den Lundehunden statistisch signifikant höher als bei den gesunden Kontrollhunden ($p < 0,0001$), was ein Hinweis darauf ist, dass das Lundehund Syndrom mit einem lokalen oder systemischen Entzündungsgeschehen einhergeht. Es kann zwar nicht genau festgestellt werden, wo dieses Entzündungsgeschehen lokalisiert ist, da der CRP Test nicht spezifisch für bestimmte entzündliche Erkrankungen ist, aber es ist anzunehmen, dass sich der ausschlaggebende Entzündungsvorgang im Gastrointestinaltrakt befindet, und womöglich das Vorhandensein einer entzündlichen Darmerkrankung (Inflammatory Bowel Disease, IBD) widerspiegelt.

Es wurde keine Korrelation zwischen Serum CRP Konzentration und anderen Testergebnissen oder dem klinischen Erscheinungsbild gefunden. Jedoch ist es interessant, dass von den 34 Hunden mit erhöhten CRP-Konzentrationen im Serum nur neun Hunde (26,4%) keine weiteren Abnormalitäten bei den anderen Testergebnissen aufwiesen. Die restlichen 25 Lundehunde hatten entweder gleichzeitig PLE, diagnostiziert anhand erhöhter Alpha₁-Proteinase Inhibitor-Konzentrationen in den Kotproben (n=19), litten unter Cobalamindefizienz (n=5), Folsäuredefizienz (n=6) oder waren hypoproteinämisch (n=4), wobei sieben Hunde mehr als eine dieser Veränderungen aufwiesen.

5.6 Alpha₁-Proteinase Inhibitor Konzentration in den Fäzes

In dieser Studie wurde die Konzentration von Alpha₁-Proteinase Inhibitor (α_1 -PI) in Kotproben zur Diagnose von PLE benutzt, da der Test eine einfache und nicht-invasive Methode darstellt. Die Konzentration von α_1 -PI in Kotproben spiegelt den enteralen Verlust von Plasmaproteinen wieder, was durch eine gute Korrelation von α_1 -PI Konzentration in Fäzes mit der Ausscheidung von ⁵¹CrCl₃-markiertem Albumin beim Menschen sowie beim Hund mit PLE bestätigt wurde (MELGAREJO 1999; MURPHY et al. 2003). Im Gegensatz zu anderen Plasmaproteinen ist α_1 -PI in Kotproben messbar, da es aufgrund seiner Eigenschaften als Proteaseinhibitor nicht durch Proteasen im Kot degradiert wird (MELGAREJO et al. 1998; MURPHY et al. 2003). Im Kot gesunder Hunde ist α_1 -PI entweder gar nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen vorhanden (Referenzbereich 0,0-5,7 $\mu\text{g/g}$ Kot), so dass erhöhte Konzentrationen auf einen exzessiven Verlust von Plasmaproteinen in das Lumen des Darms hinweisen, wie es bei PLE erfolgt (MURPHY et al. 2003).

Es wurden bei jedem Hund drei Kotproben von aufeinanderfolgenden Defäkationen untersucht. Um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden, wurde eine Diagnose von PLE nur dann gestellt, wenn entweder der Mittelwert der drei Proben über 9,4 $\mu\text{g/g}$ lag oder eine einzelne Kotprobe mehr als 15,0 $\mu\text{g/g}$ α_1 -PI enthielt. Es stellte sich heraus, dass 43 (44,3%), und somit annähernd die Hälfte, aller untersuchten Norwegischen Lundehunde erhöhte α_1 -PI-Konzentrationen im Kot aufwiesen und daher mit PLE diagnostiziert wurden. Von diesen Hunden hatten wiederum 44,2% α_1 -PI-Konzentrationen von 20,0 $\mu\text{g/g}$ oder mehr, was als hochgradige PLE bezeichnet

werden kann. Es konnte keine Geschlechterprädisposition gefunden werden, da 44,4% aller weiblichen Lunde Hunde und 42,3% der männlichen Lunde Hunde betroffen waren.

Diese Ergebnisse zeigen, dass PLE bei einem sehr großen Teil der Population des Norwegischen Lunde Hundes vorkommt. Eine Prävalenz von fast 50% ist extrem hoch und sollte Tierärzte dazu veranlassen, ihre Lunde Hund-Patienten regelmäßig auf das Vorhandensein von PLE zu untersuchen. Der genaue Auslöser von PLE beim Lunde Hund ist nicht geklärt, jedoch ist wahrscheinlich, dass eine Kombination von intestinaler Lymphangiektasie und in einigen Fällen IBD den Verlust von Proteinen in den Intestinaltrakt hervorrufen, welcher bei einem Teil der Hunde hochgradig sein kann, wie hier festgestellt wurde. Interessanterweise zeigten sich nicht bei allen Lunde Hunden gleichzeitig mit den erhöhten α_1 -PI-Testergebnissen auch klinische Symptome. Acht der Hunde mit PLE hatten zur Zeit der Probennahme Symptome, die mit einer Gastroenteropathie übereinstimmen, wie z.B. Diarrhoe, Erbrechen oder Gewichtsverlust. Bei weiteren acht Hunden ist bekannt, dass sie in der Zwischenzeit seit der Probennahme klinische Anzeichen von Gastroenteropathie entwickelt haben. Die übrigen Hunde hatten entweder zum Zeitpunkt des Tests keine klinischen Symptome oder die Information war nicht erhältlich. Dies verdeutlicht, dass unter Umständen ein hoher Anteil an Lunde Hunden subklinisch erkrankt sein kann, weshalb regelmäßige Untersuchung dieser Hunde wichtig ist, um eventuell subklinisch erkrankte Tiere rechtzeitig zu identifizieren und entsprechend behandeln zu können.

5.7 Gesamtprotein, Albumin und Globuline im Serum

Die Diagnose von PLE basiert klinisch häufig darauf, dass eine Hypalbuminämie in Zusammenhang mit Symptomen einer Gastroenteropathie und in Abwesenheit anderer Formen von Proteinverlust oder verminderter Proteinsynthese (z.B. renalem Proteinverlust (Proteinurie), Verlust von Plasmaproteinen über Hautverletzungen, oder einer Hepatopathie mit daraus resultierender Leberinsuffizienz) vorgefunden wird (PETERSON u. WILLARD 2003). Wenn keine nephrogene, hepatische oder kutane Ursache für eine Hypalbuminämie vorhanden ist, kann PLE diagnostiziert werden (PETERSON u. WILLARD 2003). Klinische Anzeichen einer Gastroenteropathie können entweder direkt auf einen Proteinverlust hinweisen, wie

z.B. Aszites, oder können sich nur sehr unspezifisch z.B. in Form von Gewichtsverlust äußern. Diarrhoe wird zwar häufig, aber nicht immer bei Hunden mit PLE beobachtet. Daher sollte die Abwesenheit von Diarrhoe keinen Ausschlussgrund für die Diagnose von PLE darstellen (PETERSON u. WILLARD 2003).

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Lundehunden wurde bei insgesamt 55 Hunden (56,7%) eine verringerte Gesamtproteinkonzentration im Serum festgestellt. Hypalbuminämie wurde bei insgesamt 38 Hunden (39,2%) gefunden und Hypoglobulinämie bei 14 Hunden (14,4%). Bei 37 Hunden (38,1%) mit Hypoproteinämie lag eine Kombination aus verringerter Gesamtproteinkonzentration mit jeweils Hypalbuminämie (22,6%), Hypoglobulinämie (4,1%) oder beidem (11,3%) vor. Fünfzehn Hunde (15,5%) hatten nur eine verringerte Gesamtproteinkonzentration bei normaler Albumin- und Globulinkonzentration, und bei weiteren fünf Hunden (5,2%) wurde nur eine Hypalbuminämie festgestellt. In dieser Studie wurde keine Urinanalyse durchgeführt, jedoch ist aufgrund der früheren Berichte in der Literatur davon auszugehen, dass Proteinurie und Leberinsuffizienz beim Lundehund keine große Rolle spielen und generell nicht für Proteinverluste bei diesen Hunden verantwortlich sind (FLESJÅ u. YRI 1977; WILLIAMS u. MELGAREJO 1997). Bei den an dieser Studie teilnehmenden Hunden wurde zwar keine spezielle dermatologische Untersuchung durchgeführt, jedoch fiel bei der Allgemeinuntersuchung durch den Haustierarzt zum Zeitpunkt der Blutprobennahme bei keinem der Hunde eine Hautabnormalität auf, die einen so großen Verlust an Proteinen hätte verursachen können. Somit wurde aus diesen Daten geschlossen, dass die bei den Lundehunden festgestellten Hypoproteinämien Folge einer Gastroenteropathie waren.

Interessanterweise wurde zudem eine schwache negative Korrelation zwischen Gesamtproteinkonzentration und fäkaler α_1 -PI-Konzentration (Spearman $r=-0,2801$; $p=0,0055$), sowie zwischen Globulinkonzentration und α_1 -PI-Konzentration (Spearman $r=-0,4038$; $p<0,0001$) gefunden, nicht jedoch zwischen Albuminkonzentration und α_1 -PI-Konzentration (Spearman $r=-0,0226$; $p=0,83$). Generell wird angenommen, dass die Albuminfraktion im Plasma bei PLE eher verloren geht als die anderen Proteinfractionen, und man würde daher vermuten, dass eine Korrelation am ehesten zwischen α_1 -PI und Albumin zu finden sei (PETERSON u. WILLARD 2003). Es ist unklar, warum dies bei den untersuchten Lundehunden nicht der Fall ist, jedoch decken sich diese Ergebnisse mit denen einer anderen

Untersuchung, bei denen ebenfalls keine Korrelation zwischen fäkaler α_1 -PI Konzentration und Albuminkonzentration im Serum gefunden werden konnte (MURPHY et al. 2003). Die Autoren dieser Studie berichten jedoch nicht, ob Gesamtprotein und Globuline bei den untersuchten Hunden gemessen wurden, so dass unbekannt ist, ob eine eventuelle Korrelation zwischen diesen Parametern und α_1 -PI, wie es hier der Fall ist, vorhanden gewesen sein könnte. Mögliche Erklärungen für diesen Befund sind zum einen, dass α_1 -PI nicht nur bei PLE in den Darm verloren geht, sondern dass es auch in der Darmmukosa sezerniert werden könnte, wie es beim Menschen beschrieben wurde (MOLMENTI et al. 1993). Weiterhin ist denkbar, dass α_1 -PI in den frühen Stadien einer PLE im Kot gemessen werden kann, während die Serumalbuminkonzentration noch durch erhöhte Synthese in der Leber aufrechterhalten wird, so dass das Serumalbumin trotz eines erhöhten Verlustes von Plasmaproteinen im Intestinaltrakt im Referenzbereich liegt (MURPHY et al. 2003). Sobald dann der Proteinverlust so schwerwiegend ist, dass die Kapazität der Leber zur Albuminsynthese überschritten wird, entwickelt sich Hypalbuminämie. Zu diesem Zeitpunkt könnte es dann vorkommen, dass die α_1 -PI-Konzentration im Serum verringert ist, so dass dadurch bedingt weniger α_1 -PI über den Darm ausgeschieden wird und nun bei vorliegender Hypalbuminämie normale oder nur leicht erhöhte α_1 -PI-Konzentrationen im Kot festgestellt werden (MURPHY et al. 2003). Weitergehende Untersuchungen sind nötig, um die genauen Zusammenhänge zwischen Serumproteinen und α_1 -PI-Konzentrationen im Kot bei Hunden mit PLE zu bestimmen.

5.8 Gastrointestinale Permeabilität und Absorptionskapazität

Die gastrointestinale Permeabilität kann bei Hunden mit Enteropathien zum Teil stark erhöht sein, oftmals begleitet von einer Reduktion der Absorptionskapazität aufgrund einer Schädigung der Mukosa (HILL et al. 1970; SØRENSEN et al. 1997; STEINER et al. 2000).

Die Permeabilität und das Absorptionsvermögen des Gastrointestinaltraktes wurde bei 13 Norwegischen Lundehunden mittels eines Zuckertests aus einer Mischung fünf verschiedener Zuckermoleküle untersucht. Zucker werden gerne als Testsubstanzen eingesetzt, da diese relativ stabil, inert, nicht toxisch und zum großen Teil nicht

metabolisierbar sind (FORDTRAN et al. 1962; RUTGERS et al. 1996; SØRENSEN et al. 1993; SØRENSEN et al. 1997; STEINER et al. 2000; STREETER et al. 2002; SUCHODOLSKI u. STEINER 2003; TRAVIS u. MENZIES 1992). Saccharose wurde in dieser Untersuchung für die Bestimmung der Magenpermeabilität eingesetzt, Laktulose und Rhamnose für die Bestimmung der intestinalen Permeabilität, und Xylose und Methylglukose dienten zur Einschätzung der intestinalen Absorptionskapazität. Nach intragastraler Verabreichung der Testlösung wurden die einzelnen Zucker im Serum der Hunde in bestimmten Zeitintervallen gemessen.

Es stellte sich heraus, dass Saccharose mit der im Gastrointestinal Labor verwendeten HPLC-Methode nicht exakt bestimmt werden konnte, da eine unbekannte Substanz zu einem ähnlichen Zeitpunkt wie Saccharose von der HPLC-Säule eluiert wurde. Dies führte zu ungenauen Testergebnissen bei einem Teil der Hunde, weshalb diese Ergebnisse hier nicht dargestellt wurden. Dieser störende Peak wurde auch von anderen Autoren, die Zucker in Plasma analysiert haben, festgestellt (SØRENSEN et al. 1997). Es ist unklar, um welche Substanz es sich handelt, aber es ist aller Wahrscheinlichkeit nach ein Serum- oder Plasmabestandteil, da dieser Peak bei der Analyse von Urinproben nicht auftritt. Leider war nicht mehr genügend Restserum vorhanden, so dass die Analyse nicht mit einer neuen auf GC/MS basierenden Methode wiederholt werden konnte.

Die Medianwerte für das Laktulose/Rhamnose-Verhältnis (L/R-Verhältnis), welches die intestinale Permeabilität beschreibt, waren bei den untersuchten Lundehunden zu allen Zeitpunkten ca. doppelt so hoch wie bei der Kontrollgruppe. Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p \leq 0,0058$ für alle Zeitpunkte). Dieses Ergebnis zeigt, dass die intestinale Permeabilität bei Norwegischen Lundehunden stark erhöht ist. Dies ist möglicherweise eine Folge der Lundehundenteropathie, und somit Ausdruck der Beeinträchtigung der Integrität der Darmmukosa. Zum anderen kann es aber auch zu einer Aufrechterhaltung der Störung der Mukosa beitragen, da das Darmepithel seine Barrierefunktion nicht mehr erfüllen kann (STEINER et al. 2000). Somit wird intraluminalen Molekülen, einschließlich potentiell schädigender Antigene und Pathogene, der Eintritt in die Mukosa ermöglicht, wodurch eine Entzündung entstehen und aufrechterhalten werden kann (TRAVIS u. MENZIES 1992). Die Kausalität ist in diesem Zusammenhang nicht geklärt. Das heißt, es bleibt offen, ob beim Lundehund die erhöhte Permeabilität ursächlich für die entzündliche Darmerkrankung ist oder ob die Entzündung mit nachfolgender Mukosaschädigung zur Erhöhung der

Permeabilität führt. Der jüngste Lundehund in dieser Gruppe war ca. sechs Monate alt, und hatte bereits abnormale L/R-Verhältnisse, die vergleichbar mit denen der adulten Lundehunde waren. Leider konnten von diesem Hund keine Darmbiopsien gewonnen werden, anhand derer man einen eventuellen Entzündungsvorgang hätte diagnostizieren können. Das Vorkommen der erhöhten Permeabilität bei einem Junghund deutet jedoch darauf hin, dass dies ein potentieller Vorläufer für spätere Enteropathien mit entzündlicher Komponente sein könnte.

Die intestinale Absorptionskapazität, welche hier mittels des Xylose/Methylglukose-Verhältnisses (X/M-Verhältnis) bestimmt wurde, war ebenfalls zu allen Messzeitpunkten höher bei den Lundehunden als bei den Kontrollhunden ($p \leq 0,012$ für alle Zeitpunkte). Dies Ergebnis erstaunt zunächst, da anzunehmen ist, dass die Absorptionskapazität bei Hunden mit Enteropathien geringer sein müsste als bei gesunden Hunden. Dies basiert jedoch auf der Annahme, dass bei der Beurteilung des X/M-Verhältnisses die Methylglukose mehr oder weniger eine Konstante darstellt, da aufgrund der vermeintlichen Überkapazität der intestinalen Transportmechanismen für Glukose immer gleich viel Methylglukose absorbiert wird und somit eine Änderung des X/M-Verhältnisses nur durch die Xyloseabsorption beeinflusst wird. Bei Hunden mit ausgeprägter Absorptionsstörung würde dann eine verminderte Xyloseabsorption mit einem verringerten X/M-Verhältnis einhergehen. In dieser Untersuchung wurden jedoch bei den Lundehunden zu allen Zeitpunkten niedrigere Methylglukosekonzentrationen gefunden, die bei zwei Zeitpunkten (60 und 90 Minuten) statistisch signifikant verringert waren ($p \leq 0,03$). Daher ergibt sich das erhöhte X/M-Verhältnis in der Gruppe der Lundehunde primär aus der verminderten Methylglukoseabsorption. Dieser Befund spricht für eine mögliche Beeinträchtigung eines intestinalen Glukosetransportmoleküls oder einer anderen Störung des Glukosetransportmechanismus beim Norwegischen Lundehund. Die zum Zeitpunkt des Tests gemessene Konzentration der Serumglukose war bei allen Lundehunden im Referenzbereich, was dafür spricht, dass eine möglicherweise vorhandene Störung der Glukoseabsorption offenbar nicht schwerwiegend genug ist, um Hypoglykämie bei diesen Hunden hervorzurufen. Weitere Studien müssen ausgeführt werden, um diese potentielle Abnormalität der Glukoseabsorption beim Norwegischen Lundehund zu charakterisieren.

Der hier verwendete Test zur Untersuchung der gastrointestinalen Permeabilität und Absorptionskapazität kann Aufschluss über die Integrität und Funktionsfähigkeit der

intestinalen Mukosa geben. Wie hier am Beispiel der untersuchten Norwegischen Lundehunde dargestellt, ist es anhand dieses Tests möglich, Hunde mit erhöhter Permeabilität und/oder abnormaler Absorptionskapazität zu identifizieren, die zwar keine klinischen Symptome vorzeigen, jedoch an einer Erkrankung des Gastrointestinaltraktes leiden. Dies kann dann nützlich sein, wenn man bei einem Patienten eine subklinische Gastroenteropathie vermutet, die anders nicht, oder nur durch invasivere Maßnahmen zu diagnostizieren ist. Insbesondere das L/R-Verhältnis ist bei Hunden mit Magen-Darm-Erkrankungen oftmals abnormal und kann zur Charakterisierung der Erkrankung beitragen. Aufgrund der unerwarteten Ergebnisse des X/M-Verhältnisses bei den untersuchten Lundehunden im Vergleich zu den Kontrollhunden muss die klinische Relevanz und Interpretation dieses Tests noch weiter untersucht werden.

5.9 Aussicht und Schlussbetrachtung

Zusammenfassend konnte eine hohe Prävalenz von Gastroenteropathien mit Proteinverlust beim Norwegischen Lundehund festgestellt werden. Von 97 untersuchten Hunden zeigte sich bei 43 Hunden enteraler Proteinverlust. Weitere zehn Lundehunde hatten verringerte Serumcobalamin- und/oder Folsäurekonzentrationen, was in beiden Fällen auf das Vorliegen einer Enteropathie hinweist, wenn auch nicht unbedingt mit gleichzeitigem Proteinverlust in den Darm.

Somit ist die Prävalenz gastrointestinaler Störungen beim Lundehund mit mindestens ca. 50% sehr hoch und sollte auf jeden Fall bedacht werden, wenn ein Lundehund mit klinischen Symptomen einer Gastroenteropathie, wie z.B. Diarrhoe, Erbrechen oder Gewichtsverlust vorstellig wird.

Anhand dieser Untersuchungen kann festgestellt werden, dass die hier gemessenen Parameter, Serumkonzentrationen von Cobalamin, Folsäure, TLI, CRP, Gesamtprotein, Albumin und Globulin, sowie Alpha₁-PI in Kotproben, eine gute Basis für die nicht-invasive Diagnostik chronischer Gastroenteropathien beim Hund bilden. Obwohl es natürlich wünschenswert wäre, bei einem Patienten mit unklarer Diagnose alle Tests bestimmen zu lassen um ein möglichst breites Spektrum abzudecken, können alternativ je nach Fragestellung unterschiedliche Tests hervorgehoben werden. So sollte z.B. bei einem Verdacht auf Enteropathie mit

Proteinverlust sofern verfügbar ein Alpha₁-PI-Test veranlasst werden, sowie die Proteinkonzentrationen im Blut bestimmt werden. Wird eine eher entzündliche Darmerkrankung vermutet, sollte insbesondere auf Messung von CRP, Cobalamin, Folsäure, und eventuell TLI zum Ausschluss von EPI, Wert gelegt werden. Ein Permeabilitäts- und Absorptionskapazitätstest kann außerdem weiter Aufschluss über den Charakter der Erkrankung geben und ist oftmals in der Lage, subklinisch erkrankte Hunde zu identifizieren.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Nora Berghoff

Prävalenz und Teilcharakterisierung von Gastroenteropathien mit Proteinverlust beim Norwegischen Lundehund in Nordamerika

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Prävalenz von Gastroenteropathien mit Proteinverlust in der Population des Norwegischen Lundehundes in Nordamerika zu bestimmen und die Erkrankung weiter zu charakterisieren. Es wurden Serum- sowie drei Kotproben von insgesamt 97 reinrassigen Norwegischen Lundehunden im Alter von 0,5 bis 13,0 Jahren (Medianwert 3,0 Jahre) gesammelt.

Zur Diagnose von Enteropathien mit Proteinverlust wurde die Konzentration von Alpha₁-Proteinase Inhibitor (α_1 -PI) im Kot gemessen. In den Serumproben wurden Cobalamin-, Folsäure-, cTLI-, CRP-, Gesamtprotein-, Albumin- und Globulinkonzentrationen gemessen. Bei 13 Lundehunden wurde ein Test zur Bestimmung der intestinalen Permeabilität und Absorptionskapazität durchgeführt, ausgedrückt durch die Verhältnisse von Laktulose zu Rhamnose (L/R-Verhältnis) bzw. Xylose zu Methylglukose (X/M-Verhältnis).

Die Ergebnisse des α_1 -PI-Tests ergaben, dass bei 43 Lundehunden (44,3%) enteraler Proteinverlust vorhanden war. Serumcobalaminkonzentrationen waren bei acht Hunden (8,2%) reduziert, was auf eine langanhaltende und hochgradige Erkrankung des Ileums oder auf eine bakterielle Überwucherung des Dünndarmes schließen lässt. Bei 34 Hunden (35,1%) fanden sich hingegen erhöhte Cobalaminkonzentrationen, welche bei einem Teil der Hunde durch zuvor erfolgte Supplementation mit parenteralem Cobalamin erklärt werden konnten. Es ist unklar, warum die restlichen Hunde erhöhte Cobalaminkonzentrationen zeigten und ob dieser Befund eine klinische Signifikanz hat. Folsäurekonzentrationen waren bei 13 Hunden (13,4%) verringert, was auf eine Schädigung der Mukosa im proximalen Dünndarm hinweist. Vierzig Lundehunde (41,2%) hatten Folsäurekonzentrationen über dem Referenzbereich, was eventuell ein Hinweis auf eine bakterielle Imbalanz zugunsten folsäureproduzierender Spezies darstellen kann. Serumkonzentrationen von cTLI

waren bei allen Hunden im Referenzbereich, was darauf hinweist, dass exokrine Pankreasinsuffizienz (EPI) beim Lundehund nicht häufig vorkommt. Die CRP Konzentration im Serum, ein Indikator für Entzündungsvorgänge, lag bei 34 Lundehunden (35,1%) über dem Referenzbereich und war statistisch signifikant höher als bei einer Gruppe von Kontrollhunden. Obgleich CRP ein unspezifischer Marker ist, kann davon ausgegangen werden, dass die erhöhte CRP Konzentration bei den Lundehunden die Folge einer entzündlichen Darmerkrankung ist. Gesamtprotein-, Albumin- und Globulinkonzentrationen waren jeweils bei 55 (56,7%), 38 (39,2%) und 14 (14,4%) Hunden reduziert. Da anderweitige Ursachen für Hypoproteinämie, wie z.B. Proteinurie, Störung der hepatischen Proteinsynthese oder kutane Proteinverluste beim Lundehund nicht dokumentiert sind, wurde davon ausgegangen, dass die Hauptursache für die Hypoproteinämie bei den untersuchten Hunden auf einen enteralen Verlust von Proteinen zurückzuführen war. Das L/R-Verhältnis, welches eine Einschätzung der Permeabilität der Darmmukosa zulässt, war in der Gruppe der Lundehunde signifikant höher als in einer Gruppe von Kontrollhunden. Ebenso erschien die Absorptionskapazität, ausgedrückt durch das X/M-Verhältnis, für die Gruppe der Lundehunde zunächst höher, was allerdings irreführend war, da das Verhältnis nicht so sehr durch eine gesteigerte Absorption von Xylose, sondern vielmehr durch eine verringerte Aufnahme von Methylglukose erhöht war. Dies weist auf eine mögliche Störung der Glukoseabsorption hin.

Folglich konnte anhand der Ergebnisse der α_1 -PI-Konzentrationen in Kotproben festgestellt werden, dass 43 von den untersuchten 97 Lundehunden unter einer Gastroenteropathie mit Proteinverlust litten und somit die Prävalenz bei 44,3% liegt. Unter Berücksichtigung der verringerten Serumkonzentrationen an Cobalamin und Folsäure wurden weitere zehn Hunde (10,3%) identifiziert, bei denen eine Enteropathie diagnostiziert werden konnte. Sieben dieser zehn Hunde hatten zusätzlich verringerte Gesamtproteinkonzentrationen, was auf PLE hinweist, obwohl die α_1 -PI-Konzentrationen im Kot im Referenzbereich lagen. Aufgrund dieser Daten wurde folglich bei insgesamt 50 Hunden (51,5%) eine Gastroenteropathie mit einhergehender Hypoproteinämie festgestellt, und bei weiteren drei Hunden (3,1%) zumindest das Vorliegen einer Gastroenteropathie.

Der Charakter der Gastroenteropathie beim Norwegischen Lundehund konnte zusätzlich anhand des Permeabilitäts- und Absorptionstests weiter definiert werden. Das Vorhandensein von erhöhter intestinaler Permeabilität kann unter Umständen

einen Einfluss auf den Verlauf der Erkrankung haben, wenn Antigene oder pathogene Keime durch die gesteigerte Permeabilität die Möglichkeit haben, in die Darmmukosa einzudringen und dort Irritationen hervorzurufen. Entzündungen können dadurch potentiell hervorgerufen werden oder zumindest verstärkt und aufrechterhalten werden (TRAVIS u. MENZIES 1992). Es ist unbekannt, welche Ursachen und Auswirkungen die gestörte Absorptionskapazität von Glukose hat. Weitere Studien müssen ausgeführt werden, um dies zu klären.

7. SUMMARY

Nora Berghoff

Prevalence and partial characterization of protein-losing gastroenteropathies in the Norwegian Lundehund in North America

The aim of this study was to determine the prevalence of protein-losing gastroenteropathies in the Norwegian Lundehund population in North America and to further characterize this syndrome in this breed. We were able to enroll a total of 97 purebred Norwegian Lundehunds of the ages of 0.5 to 13.0 years (median 3.0). One serum sample and 3 fecal samples were collected from each dog.

Protein-losing enteropathy (PLE) was diagnosed based on increased fecal α_1 -proteinase inhibitor (α_1 -PI) concentration. Serum concentrations of cobalamin, folate, cTLI, CRP, total protein, albumin and globulin were measured in the serum samples. In addition, a test for the determination of intestinal permeability and absorptive capacity was carried out in 13 Lundehunds. Results were expressed as the serum ratios of lactulose to rhamnose (L/R ratio), and xylose to methylglucose (X/M ratio), respectively.

The results of the fecal α_1 -PI concentration showed enteric protein loss in 43 (44.3%) of the dogs tested. Serum cobalamin concentrations were reduced in eight dogs (8.2%), suggesting longstanding and severe distal small intestinal disease or small intestinal bacterial overgrowth (SIBO). Interestingly, increased serum cobalamin concentrations were detected in 34 dogs (35.1%), which could be explained in only ten of these dogs, who had previously received parenteral cobalamin supplementation. It is unknown why the remaining dogs had supranormal serum cobalamin concentrations and what the clinical significance of this finding is. Serum folate concentrations were decreased in 13 dogs (13.4%), suggesting proximal small intestinal disease, while folate concentrations were increased in 40 Lundehunds (41.2%), which may indicate the presence of a bacterial imbalance in favor of folate producing bacterial species. Serum cTLI concentrations were normal in all dogs enrolled, showing that exocrine pancreatic insufficiency (EPI) does not commonly occur in the Lundehund. Serum concentrations of CRP, an inflammatory marker, were

above the reference range in 34 Lundehunds (35.1%) and were significantly higher in the Lundehunds than in a group of control dogs. Although CRP is a non-specific marker for inflammation, these findings would suggest that the increased serum concentrations of CRP observed in the Lundehunds may be the result of intestinal inflammation. Total protein, albumin and globulin concentrations were decreased in 55 (56.7%), 38 (39.2%) and 14 (14.4%) of the dogs enrolled, respectively. Causes of hypoproteinemia other than PLE, such as proteinuria, decreased albumin synthesis in the liver or percutaneous loss have not been documented in the Norwegian Lundehund. Therefore, it was concluded that the cause of hypoproteinemia was most likely enteric protein loss. The L/R and X/M ratios were both significantly higher in the group of Lundehunds studied when compared to the control dogs. However, the increased X/M ratio may be misleading, as it is not due to an increased absorption of xylose, but rather an unexpected decreased absorption of methylglucose, which may indicate a disturbance of the intestinal glucose uptake.

In summary, the prevalence of protein-losing gastroenteropathy in the Norwegian Lundehund in North America is very high at 44.3%. Also, taking in account low serum cobalamin and/or folate concentrations we were able to identify an additional ten dogs (9.7%) with evidence of gastrointestinal disease. Seven of these ten dogs had hypoproteinemia, indicating PLE, despite normal fecal α_1 -PI concentrations. Based on these results, a gastroenteropathy with concurrent hypoproteinemia could be identified in a total of 50 dogs (51.5%), and gastroenteropathy without evidence of PLE in an additional three dogs (3.1%).

We were able to further characterize the gastroenteropathy in Norwegian Lundehunds using the intestinal permeability and absorptive capacity testing. Increased intestinal permeability, as indicated by the increased L/R ratio, can potentially have an impact on the course of gastrointestinal disease as antigens or pathogens can enter the intestinal mucosa. This could potentially aggravate and perpetuate or even cause inflammation (TRAVIS u. MENZIES 1992). The cause and possible consequences of the impaired absorption of methylglucose is not known. Further studies are needed to determine the impact of this abnormality.

8. LITERATURVERZEICHNIS

ALPERS, D.H., GRIMME, N., SMITH, R., u. AVIOLI, L.V. (1980):

Dog intestinal mucosa contains two vitamin D-stimulating calcium binding proteins.

Gastroenterology 79 (2): 259-264

BAKER, K.J. u. BRADLEY, S.E. (1966):

Binding of sulfobromophthalein (BSP) sodium by plasma albumin. Its role in hepatic BSP extraction.

J Clin Invest 45 (2): 281-287

BATT, R.M., HORADAGODA, N.U., McLEAN L., MORTON, D.B. u.

SIMPSON, KW (1989a)

Identification and characterization of a pancreatic intrinsic factor in the dog.

Am J Physiol 256 (3): G517-G523

BATT, R.M. u. HORADAGODA, N.U. (1989b):

Gastric and pancreatic intrinsic factor-mediated absorption of cobalamin in the dog.

Am J Physiol 257 (3): G344-G349

BURNS, M.G. (1982):

Intestinal Lymphangiectasia in the dog: a case report and review.

J Am Anim Hosp Assoc 18: 97-105

CASPI, D., BALTZ, M.L., SNEL, F., GRUYS, E., NIV, D., BATT, R.M., MUNN, E.A., BUTTRESS, N., u. PEPYS, M.B. (1984):

Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog.

Immunology 53 (2): 307-313

CASPI, D., SNEL, F.W., BATT, R.M., BENNETT, D., RUTTEMAN, G.R.,
HARTMAN, E.G., BALTZ, M.L., GRUYS, E., u. PEPYS, M.B. (1987):
C-reactive protein in dogs.
Am J Vet Res 48 (6): 919-921

CENTER, S.A. (2000):
BSP- A retired test revisited.
J Vet Intern Med 14 (6): 557-559

FINCO, D.R., DUNCAN, J.R., SCHALL, W.D., HOOPER, S.,
CHANDLER.F.W., u. KEATING, K.A. (1973):
Chronic enteric disease and hypoproteinemia in 9 dogs.
J Am Vet Med Assoc 163 (3): 262-271

FLATLAND, B., LEIB, M.S., WARNICK, L.D., u. SPONENBERG, D.P. (2000):
Evaluation of the bromosulfophthalein 30-minute retention test for the
diagnosis of hepatic disease in dogs.
J Vet Intern Med 14 (6): 560-568

FLESJÅ, K. u. YRI, T. (1977):
Protein-losing enteropathy in the Lundehund.
J Small Anim Pract 18 (1): 11-23

FORDTRAN, J.S., CLODI, P.H., SOERGEL, K.H., u. INGELFINGER, F.J.
(1962):
Sugar absorption tests, with special reference to 3-0-methyl-D-glucose and D-
xylose.
Ann Intern Med 57: 883-891

FRIMANN-CLAUSEN, C. u. LAANE, M. (1968):
Cyto-genetical and anatomical studies in the Lundehound, a deviating
member of the canis familiaris palustris group.
Nytt Mag Zool 16: 72-78

GERMAN, A.J., DAY, M.J., RUAUX, C.G., STEINER, J.M., WILLIAMS, D.A.,
u. HALL, E.J. (2003):

Comparison of direct and indirect tests for small intestinal bacterial
overgrowth and antibiotic-responsive diarrhea in dogs.

J Vet Intern Med 17 (1): 33-43

GEWURZ, H., MOLD, C., SIEGEL, J., u. FIEDEL, B. (1982):

C-reactive protein and the acute phase response.

Adv Intern Med 27: 345-372

GRAUSZ, H. u. SCHMID, R. (1971):

Reciprocal relation between plasma albumin level and hepatic
sulfobromophthalein removal.

N Engl J Med 284 (25): 1403-1406

HALL, E. u. GERMAN, A. (2005):

Diseases of the Small Intestine. Ettinger, S. u. Feldman, E:
Textbook of Veterinary Internal Medicine.

6. Ausgabe, Elsevier Saunders, St.Louis,

S. 1333-1378

HILL, F.W.G., KIDDER, D.E., u. FREW, J. (1970):

A xylose absorption test for the dog.

Vet Rec 87: 250-255

JERGENS, A.E. (2004):

Clinical assessment of disease activity for canine inflammatory bowel disease.

J Am Anim Hosp Assoc 40 (6): 437-445

JERGENS, A.E., SCHREINER, C.A., FRANK, D.E., NIYO, Y., AHRENS, F.E.,
ECKERSALL, P.D., BENSON, T.J., u. EVANS, R. (2003):

A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease.

J Vet Intern Med 17 (3): 291-297

KALIMA, T.V. (1971):

The structure and function of intestinal lymphatics and the influence of impaired lymph flow on the ileum of rats.

Scand J Gastroenterol Suppl 10: 1-87

KANEKO, J.J., MOULTON, J.E., BRODEY, R.S., u. PERRYMAN, V.D. (1965):

Malabsorption syndrome resembling nontropical sprue in dogs.

J Am Vet Med Assoc 146 (5): 463-473

KOLBJØRNSEN, Ø., PRESS, C.M., u. LANDSVERK, T. (1994a):

Gastropathies in the Lundehund. I. Gastritis and gastric neoplasia associated with intestinal lymphangiectasia.

APMIS 102 (9): 647-661

KOLBJØRNSEN, Ø., PRESS, C.M., u. LANDSVERK, T. (1994b):

Gastropathies in the Lundehund. II. A study of mucin profiles.

APMIS 102 (11): 801-809

KRECIC, M.R., STEINER, J.M., KERN, M.R., u. WILLIAMS, D.A. (2003):

Kinetics and postmucosal effects on urinary recovery of 5 intravenously administered sugars in healthy cats.

Can J Vet Res 67 (2): 88-93

KULL, P.A., HESS, R.S., CRAIG, L.E., SAUNDERS, H.M., u. WASHABAU, R.J. (2001):

Clinical, clinicopathologic, radiographic, and ultrasonographic characteristics of intestinal lymphangiectasia in dogs: 17 cases (1996-1998).

J Am Vet Med Assoc 219 (2): 197-202

LANDSVERK, T. u. GAMLEM, H. (1984):

Intestinal Lymphangiectasia in the Lundehund.

APMIS 92 (5): 353-362

LEVITT, D.G., HAKIM, A.A., u. LIFSON, N. (1969):

Evaluation of components of transport of sugars by dog jejunum in vivo.

Am J Physiol 217 (3): 777-783

MAZZIE, J.P., MASLIN, P.I., MOY, L., PRICE, A.P., u. KATZ, D.S. (2003):

Congenital intestinal lymphangiectasia: CT demonstration in a young child.

Clin Imaging 27 (5): 330-332

MEDDINGS, J.B., SUTHERLAND, L.R., BYLES, N.I., u. WALLACE, J.L.

(1993):

Sucrose: a novel permeability marker for gastroduodenal disease.

Gastroenterology 104 (6): 1619-1626

MELGAREJO, T. (1999):

Novel approaches for the diagnosis of protein-losing enteropathy and small intestinal bacterial overgrowth in dogs.

PhD-Dissertation, Purdue University

MELGAREJO, T., WILLIAMS, D.A., u. ASEM, E.K. (1998):

Enzyme-linked immunosorbent assay for canine α_1 -protease inhibitor.

Am J Vet Res 59 (2): 127-130

MELGAREJO, T., WILLIAMS, D.A., O'CONNELL, N.C., u. SETCHELL, K.D.

(2000):

Serum unconjugated bile acids as a test for intestinal bacterial overgrowth in dogs.

Dig Dis Sci 45 (2): 407-414

MESCHTER, C.L., RAKICH, P.M., u. TYLER, D.E. (1987):

Intestinal lymphangiectasia with lipogranulomatous lymphangitis in a dog.

J Am Vet Med Assoc 190 (4): 427-430

MOLMENTI, E.P., PERLMUTTER, D.H., u. RUBIN, D.C. (1993):

Cell-specific expression of α_1 -antitrypsin in human intestinal epithelium.

J Clin Invest 92 (4): 2022-2034

MUNRO, DR (1974):

Route of protein loss during a model protein-losing gastropathy in dogs

Gastroenterology 66 (5): 960-972.

MURPHY, K.F., GERMAN, A.J., RUAUX, C.G., STEINER, J.M., WILLIAMS,

D.A., u. HALL, E.J. (2003):

Fecal alpha₁-proteinase inhibitor concentration in dogs with chronic gastrointestinal disease.

Vet Clin Pathol 32 (2): 67-72

NICOLAIDOU, K., LADEFOGED, K., HYLANDER, E., THALE, M., u.

JARNUM, S. (1980):

Endogenous faecal calcium in chronic malabsorption syndromes and in intestinal malabsorption.

Scand J Gastroent 15 (5): 587-592

NORDGREN, S., HELLBERG, R., CEDERBLAD, A., FASTH, S.,

LINDSTEDT, G., u. HULTEN, L. (1990):

Fecal excretion of radiolabeled (⁵¹CrCl₃) Proteins in patients with Crohn's Disease.

Scand J Gastroent 25 (4): 345-351

NORTHFIELD, T.C., DRASAR, B.S., u. WRIGHT, J.T. (1973):

Value of small intestinal bile acid analysis in the diagnosis of stagnant loop syndrome.

Gut 14 (5): 1815-1825

OTABE, K., ITO, T., SUGIMOTO, T., u. YAMAMOTO, S. (2000):

C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury.

Lab Anim 34 (4): 434-438

PETERSON, P.B. u. WILLARD, M.D. (2003):

Protein-losing enteropathies.

Vet Clin North Am Small Anim Pract 33 (5): 1061-1082

ROPSTAD, E. (1983):

Lundehundsyndromet - det kliniske bildet.

Norsk Veterinærtidsskrift 95 (5): 305-310

RUTGERS, H.C., BATT, R.M., PROUD, F.J., SORENSEN, S.H., ELWOOD, C.M., PETRIE, G., MATTHEWMAN, L.A., FORSTER-VAN HIJFTE, M.A., BOSWOOD, A., ENTWISTLE, M., u. FENSOME, R.H. (1996a):

Intestinal permeability and function in dogs with small intestinal bacterial overgrowth.

J Small Anim Pract 37 (9): 428-434

SHINKI, T., TAKAHASHI, N., KAWATE, N., u. SUDA, T. (1982):

The possible role of calcium-binding protein induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ in the intestinal calcium transport mechanism.

Endocrinology 111 (5): 1546-1551

SIMPSON, K.W., MORTON, D.B., u. BATT, R.M. (1989)

Effect of exocrine pancreatic insufficiency on cobalamin absorption in dogs.

Am J Vet Res 50 (8): 1233-1236

SIMPSON, K., FYFE J, CORNETTA A, SACHS A, STRAUSS-AYALI D, LAMB SV, u. REIMERS TJ (2001):

Subnormal concentrations of serum cobalamin (vitamin B₁₂) in cats with gastrointestinal disease.

J Vet Intern Med 15 (1): 26-32

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

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

Inflamm Bowel Dis 11 (8): 707-712

SØRENSEN, S.H., PROUD, F.J., ADAM, A., RUTGERS, H.C., u. BATT, R.M. (1993):

A novel HPLC method for the simultaneous quantification of monosaccharides and disaccharides used in tests of intestinal function and permeability.

Clin Chim Acta 221: 115-125

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

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

Clin Chim Acta 264 (1): 103-115

STEINER, J.M., RUAUX, C.G., MILLER, M., WRIGHT ZM, TEAGUE SR, VADEN S, u. WILLIAMS, D.A. (2003):

Intraindividual variability of fecal Alpha-1 Proteinase Inhibitor concentration in clinically healthy dogs.

J Vet Intern Med 17 (3): 445-445

STEINER, J.M., WILLIAMS, D.A., u. MOELLER, E.M. (2000):

Development and validation of a method for simultaneous separation and quantification of 5 different sugars in canine urine.

Can J Vet Res 64 (3): 164-170

STREETER, E.M., ZSOMBOR-MURRAY, E., MOORE, K.E., RUSH, J.E., STEINER, J.M., ROZANSKI, E.A., MICHEL, K.E., WILLIAMS, D.A., u. FREEMAN, L.M. (2002):

Intestinal permeability and absorption in dogs with traumatic injury.

J Vet Intern Med 16 (6): 669-673

SUCHODOLSKI, J.S. u. STEINER, J.M. (2003):

Laboratory assessment of gastrointestinal function.

Clin Tech Small Anim Pract 18 (4): 203-210

TRAVIS, S. u. MENZIES, I. (1992):

Intestinal permeability: Functional assessment and significance.

Clin Sci 82 (5): 471-488

VAN KRUININGEN, H.J., LEES, G.E., HAYDEN, D.W., MEUTEN, D.J., u.

ROGERS, W.A. (1984):

Lipogranulomatous Lymphangitis in Caine Intestinal Lymphangiectasia.

Vet Pathol 21 (4): 377-383

VERMEIRE, S., VAN ASSCHE, G., u. RUTGEERTS, P. (2004):

C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease.

Inflamm Bowel Dis 10 (5): 661-665

VERMEIRE, S., VAN ASSCHE, G., u. RUTGEERTS, P. (2005):

The role of C-reactive protein as an inflammatory marker in gastrointestinal diseases.

Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol 2 (12): 580-586

WALDMANN, T.A. (1972):

Protein-losing enteropathy and kinetic studies of plasma protein metabolism.

Semin Nucl Med 2 (3): 251-263

WESTERMARCK, E., WIBERG, M., STEINER, J.M., u. WILLIAMS, D.A.

(2005):

Ettinger, SJ, Feldman EC: Textbook of Veterinary Internal medicine

Exocrine Pancreatic Insufficiency in Dogs and Cats.

6.Auflage, Elsevier Saunders, St. Louis
S. 1492-1495

WILCOX, B. u. WALCOWICZ, C. (1995):
Lundehund.
The Atlas of the Dog Breeds of the World. Neptune City, T.F.H. Publications,
S. 587-589

WILLIAMS, D.A. u. BATT, R.M. (1983):
Diagnosis of canine exocrine pancreatic insufficiency by the assay of serum
trypsin-like immunoreactivity.
J Sm Anim Pract 24: 583-588

WILLIAMS, D.A. u. BATT, R.M. (1988):
Sensitivity and specificity of radioimmunoassay of serum trypsin-like
immunoreactivity for the diagnosis of canine exocrine pancreatic insufficiency.
J Am Vet Med Assoc 192: 195-201

WILLIAMS, D.A. u. GUILFORD, W.G. (1996):
Strombeck's Small Animal Gastroenterology
Procedures for the evaluation of pancreatic and gastrointestinal tract
diseases.
3. Auflage, W.B.Saunders Company, Philadelphia
S. 77-113

WILLIAMS, D.A. u. MELGAREJO, T. (1997):
Gastroenteropathy in Norwegian Lundehunds in the USA.
J Vet Intern Med 11: 114-114

9. ANHANG

Verzeichnis der verwendeten Lösungen

9.1 PBS (BupHTM PBS Puffer Mischung, Pierce, Rockford IL, USA)

0,1 M Na₂HPO₄

0,15 M NaCl

pH 6,9 – 7,2

9.2 PBS-NBCS

950 mL PBS (BupHTM PBS Puffer Mischung, Pierce, Rockford IL, USA)

50 mL Kälberserum (Newborn calf serum, Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA)

0,1 g Thimerosal (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA)

10,0 mL Triton X-100, 10%ige Lösung (Pierce, Rockford IL, USA)

9.3 SHRP-Lösung

11 mL PBS-NBCS

2,5 µg SHRP (Pierce, Rockford IL, USA)

9.4 ELISA-Stop-Lösung

500 mL 2 N H₂SO₄ (EMD Chemicals, Gibbstown, NJ, USA)

500 mL 8 M CH₃COOH, glacial (EMD Chemicals, Gibbstown, NJ, USA)

9.5 Fukoselösung

1 mg Fukose (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA)

1000 mL H₂O (deionisiert)

Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. I. Nolte, für die Betreuung der Doktorarbeit und die Ermöglichung einer Zusammenarbeit mit dem Gastrointestinal Labor bedanken.

I would like to thank Dr. Jörg M. Steiner and Dr. David A. Williams, who made it possible for me to work on this project. I am grateful for being given this wonderful opportunity to work in their lab and receive such great mentorship.

A very special “Thank You” goes to Dr. Craig G. Ruaux, who was always there for me to help with the study and lend moral support as a friend when needed.

I would like to thank Dr. Jan Suchodolski for proof-reading this thesis and giving lots of advice along the way.

A huge “Thank You” to everyone in the GI Lab – I could not have done all this work without the help of the technicians and the support from my fellow grad students.

Special thanks go to Kathleen M. Findlay and Sarah A. Read for their moral support and friendship.

Bei meiner Familie möchte ich mich für die Unterstützung bei all meinen Vorhaben bedanken!

Last, but certainly not least, I would like to thank Mrs. Debby G. Morris and Ms. Frances J.E. Wagner, who helped me so much over the past three years and without whom many of this would not have been possible.