

## Das fäkale Mikrobiom und Serum-Konzentrationen von Indoxylsulfat und p-Cresolsulfat in Katzen mit chronischer Nierenerkrankung (CNE)

**Die Veränderung der humanen Darm-Flora (Dysbiosis) wird mit vielen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht, u.a. mit der chronischen Nierenerkrankung (CNE) beim Menschen.** Die negativen Auswirkungen auf das Mikrobiom beim Menschen werden dabei ursächlich durch die CNE begleitenden Urämie bedingt. Bei CNE-Katzen sind bislang Untersuchungen zum fäkalen Mikrobiom und deren Korrelation zu urämischen Toxinen im Serum unbekannt.

**Drei-armige Untersuchung mit 30 CNE-Katzen und 11 älteren gesunden Katzen (> 8 Jahre) als Kontrolle einer prospektive Querschnitts-Studie am tiermedizinischen Lehrkrankenhaus der Colorado State University.** Die Diagnose der CNE erfolgte bei Katzen, wenn Serum-Kreatinin > 1,6 mg/dL und das spezifische Gewicht des Harns (USG) < 1,035 lag oder wenn mindestens zweimal in den letzten drei Monaten ein steigender Kreatininwert auftrat und zusätzlich SDMA 14 µg/dL überschritt. Die CNE-Katzen wurden entsprechend den IRIS Guidelines in zwei Gruppen unterteilt: Zur Gruppe 1 gehörten 17 Katzen im Stadium IRIS 2 (n=17). Der Gruppe 2 wurden insgesamt 13 Katzen der IRIS-Stadien 3 (n=11) und IRIS 4 (n=2) zugeordnet. Als Ausschlusskriterien galten u.a. Gaben von Antibiotika, Probiotika oder Antacida < 6 Wochen vor Beginn der Studie. Die Tierhalter mussten Buch führen über Fütterung, Appetit, Kot und laufende oder in den letzten 3 Monaten verabreichte Medikationen oder Futterergänzungsmittel. Die gesunden Tiere (n=11) dienten als Kontrollgruppe.

**Fäkale Mikrobiom-Analyse der Kot-Proben.** Eine frische Kot-Probe musste vom Tierhalter gesammelt und innerhalb von 24 h tiefgefroren werden. Anschließend wurden die Proben bis zur Untersuchung bei -80°C eingelagert um die Mikroben anhand einer DNS-Analyse zu bestimmen. Diese

DNS-Analyse der Mikroben wurde nach Herstellerangaben extrahiert, verstärkt und anschließend sequenziert. Die Sequenzen wurden mit USEARCH gefiltert, um Chimären zu entfernen. Die verbliebenen Sequenzen wurden in operational taxonomic units (OTUs) geclustert. Um die Diversität der Bakterienspezies zu bewerten, kamen verschiedene Indizes und beobachtete OTU Metriken zum Einsatz. Der Spezies-Reichtum kann dabei definiert werden als Anzahl der singulär vorkommenden OTUs, die annäherungsweise Bakterien Spezies innerhalb einer Kot-Probe repräsentieren.

**Zur Untersuchung der Serum-Konzentrationen von Indoxyl Sulfat (IS) und p-Cresol Sulfat (pCS)** kam ein modifiziertes Flüssig-chromatographisch/massenspektrometrisches Verfahren zur Anwendung. Die Kalibrierung erfolgte durch Zugabe eines internen Standards in das Serum einer gesunden Katze mit normaler Nierenfunktion. Die Standard Kurven in behandeltem Katzenserum waren für beide urämischen Toxine über den Bereich von 100 – 50 000 ng/mL linear. Bei den Messungen in Katzen-Serum wurde der unterste quantitative Wert mit einer Genauigkeit von 85 % und einem Variations-Koeffizienten von < 15 % für IS mit 250 ng/mL und für pCS mit 100 ng/mL ermittelt.

**Fütterung und Medikation.** Den gesunden Katzen wurde verschiedene kommerzielle Senior-Futter verabreicht. 9 der 30 CNE-Katzen erhielten ausschließlich kommerzielle Nieren-Diäten, 3 von 30 CNE-Katzen erhielten eine Kombination von Nieren-Diäten und Senior-Futter und 18 von 30 CNE-Katzen wurden mit unterschiedlichem, kommerziellem Senior-Futter versorgt. Zusätzliche Behandlungen der CNE-Katzen während der Studien-Dauer bestanden aus transdermalem Mirzapin Gel (4 von 30 Katzen), Amlodipin (4 von 30 Katzen) oralem Na-Futterzusatz (3 von 30 Katzen), transdermales Methimazol, Alendronat, Levot-



hydroxin, Maropitant, Psyllium Pulver, Aluminium-Hydroxid, Glukosamin, Buprenorphin und Polyethylenglycol (jeweile 1 von 30 Katzen). Keine der gesunden Katzen stand während der Studiendauer unter irgendeiner Medikation.

**Insgesamt beendeten 38 Katzen die Studie: 28 Katzen mit CNE und 10 ältere aber klinisch unauffällige Katzen.** Das fäkale Mikrobiom wurde bei allen 41 Tieren untersucht. Die quantitative Bestimmung von IS und pCS wurde bei der gesunden Kontrollgruppe (n=10) und bei CNE Katzen (n=28) durchgeführt. Insgesamt konnte nur von 38 Tieren eine genügend große Menge an Serum gewonnen werden, so dass 3 von ursprünglich 41 Katzen (Kontrolle n=1 und CNE-Katzen n=2) nicht ausgewertet werden konnten.

**Ergebnisse.** Beim Altersvergleich der Gruppen fiel auf, dass die gesunde Kontrollgruppe naturgemäß jünger war als die der CNE-Katzen. Erwartungsgemäß waren bei den CNE Katzen Serum Kreatinin und Harnstoff erhöht ( $p = <0,01$ ), Hämatokrit ( $p = 0,003$ ), der Appetit-Score ( $p = 0,04$ ) erniedrigt und die Scores für Erbrechen ( $p = 0,009$ ) und Gesamt-Ca ( $p = 0,04$ ) erhöht. CNE-Tiere im Stadium IRIS 2 ( $p = 0,008$ ) und im Stadium IRIS 3 bzw. IRIS 4 ( $p = 0,007$ ) zeigten niedrigere Appetit-Scores im Vergleich zu den gesunden Katzen. IRIS 2 Katzen zeigten höhere Erbrechen-Scores im Vergleich zu den gesunden Katzen ( $p = 0,005$ ). Keine Unterschiede in den beiden Gruppen konnten festgestellt werden bezüglich Proteinurie, Serum-Phosphat, Natrium und Kalium.

**Indoxylsulfat-Serum-Werte waren bei allen CNE-Katzen signifikant höher gegenüber der gesunden Kontrolle,** innerhalb der IRIS-Gruppen waren die Unterschiede nicht signifikant. Das

widerspricht den Erkenntnissen der Studie von Cheng et al 2015, in der sich Tiere mit CNE 2/3 und 4 durchaus signifikant unterschieden, könnte aber nach Meinung der Autoren in dieser Studie an der relativ geringen Fallzahl liegen. Für p-Cresolsulfat waren keine signifikanten Unterschiede zwischen gesunden und CNE-Katzen erkennbar.

**Die Reduktion der Vielfalt von Bakterien-Spezies in den CNE-Gruppen gegenüber den gesunden Katzen entspricht den Ergebnissen aus Studien mit humanen CNE Patienten bzw. CNE Modellen mit Ratten.** Allerdings korreliert diese reduzierte Vielfalt der bakteriellen Spezies mit den entsprechenden IS- bzw. pCS-Serum-Werten innerhalb der Studien sehr unterschiedlich. In dieser Studie bei CNE-Katzen zeigte sich keine Korrelation zwischen Indol bzw. p-Cresol-bildenden Bakterien und Serum IS- bzw. pCS-Werten in Katzen.

Es gibt mehrere Gründe, warum sich die Ergebnisse dieser Studie mit denen von Human-Studien nicht direkt vergleichen lassen: Erstens, es existieren Spezies-Unterschiede in den üblicherweise isolierten Bakterien-Stämmen von Menschen und Katzen. Zweitens, obwohl alle Katzen und Hunde ähnliche Bakterienstämme auf Familie- oder Gattungsebene besitzen, zeigt sich doch eine hohe inter-individuelle Varianz auf der Speziesebene mit in der Regel nur 5 % – 20 % Überlappung.

Diese Varianz macht es schwierig, einen bestimmten Bakterien-Stamm als „schuldig“ für erhöhte IS oder pCS-Serum-Werte anzusehen.

In dieser Studie konnte belegt werden, dass die Chronische Nierenerkrankung (CNE) bei der Katze einhergeht mit einer reduzierten Vielfalt und einem verringerten Reichtum im fäkalen Mikrobiom.

► **Indoxylsulfat im Serum ist bei CNE-Katzen signifikant erhöht gegenüber gesunden Katzen. Überraschend hoch waren die Werte auch schon bei Katzen im IRIS Stadium 2, so dass auch IRIS 2 Katzen möglicherweise unter einer ähnlich großen urämischen Toxin-Last leiden, wie CNE Katzen in den späteren IRIS Stadien 3 und 4**

Ref.: Stacie C. Summers et al. The fecal microbiome and serum concentrations of indoxyl sulfate and p-cresol sulfate in cats with chronic kidney disease *J Vet Intern. Med.* 2018; 1 - 8

