

Untersuchungen zum Gesamtprotein, Albumin- Quotient und IgG Index im Liquor cerebrospinalis der Katze

Tanja Alexandra Steinberg

Aus der Medizinischen Tierklinik
Lehrstuhl für Innere Medizin der kleinen Haustiere und Heimtiere
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. med. vet. Dr. habil. K. Hartmann)

unter Anleitung von
PD. Dr. med. vet. Dr. habil. A. Fischer

**Untersuchungen zum Gesamtprotein, Albumin-Quotient und IgG Index im
Liquor cerebrospinalis der Katze**

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

von
Tanja Alexandra Steinberg
aus
Bochum

München 2005

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent: PD Dr. A. Fischer
1. Korreferent: Univ.-Prof. Dr. C. Knospe

Tag der Promotion: 10. Februar 2006

*Meiner Familie
und
meinem
Stiefvater Herbert Liedtke*

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|---------|--|----|
| 1 | EINLEITUNG | 1 |
| 2 | LITERATUR | 3 |
| 2.1 | Produktion des Liquor cerebrospinalis | 3 |
| 2.2 | Zirkulation des Liquors cerebrospinalis | 4 |
| 2.3 | Absorption des Liquors cerebrospinalis | 4 |
| 2.4 | Funktion des Liquors cerebrospinalis | 5 |
| 2.5 | Zusammensetzung des Liquor cerebrospinalis | 7 |
| 2.6 | Blut-Hirn Schranke | 9 |
| 2.6.1 | Aufbau der Blut-Hirn Schranke | 9 |
| 2.6.2 | Transportmechanismen | 11 |
| 2.7 | Liquordiagnostik | 13 |
| 2.7.1 | Morphologische Untersuchungen | 13 |
| 2.7.2 | Klinisch-chemische Untersuchungen | 17 |
| 2.7.2.1 | Glukose | 17 |
| 2.7.2.2 | Gesamtprotein | 18 |
| 2.7.2.3 | Enzyme | 20 |
| 2.7.2.4 | Weitere Metaboliten | 20 |
| 2.8 | Liquorprotein Profil | 21 |
| 2.8.1 | Albumin | 21 |
| 2.8.2 | Immunglobuline im Liquor | 23 |
| 2.8.3 | Polyspezifische Immunantwort | 25 |
| 2.8.4 | Antikörperspezifischer Index | 26 |
| 2.8.5 | Albuminquotient und IgG Index | 28 |
| 2.8.6 | Proteine aus dem ZNS | 32 |
| 2.9 | Analyse der Liquorproteine in der Humanmedizin | 34 |
| 2.10 | Analyse der Liquorproteine in der Tiermedizin, vor allem bei der Katze | 36 |
| 2.10.1 | Albuminquotient | 36 |
| 2.10.2 | Intrathekale IgG-Produktion | 38 |
| 2.10.3 | Weitere Immunglobuline | 39 |
| 2.10.4 | Spezifische Antikörper | 40 |

| | | |
|------------|--|----|
| 3 | EIGENE UNTERSUCHUNGEN | 42 |
| 3.1 | Material und Methodik | 42 |
| 3.1.1 | Material | 42 |
| 3.1.1.1 | Patientengut | 42 |
| 3.1.1.2 | Gruppeneinteilung | 42 |
| 3.1.1.3 | Proben | 45 |
| 3.1.1.4 | Geräte und Lösungen | 45 |
| 3.1.1.5 | Vorbereitung der Reagenzien | 46 |
| 3.1.2 | Methodik | 47 |
| 3.1.2.1 | Liquorgewinnung | 47 |
| 3.1.2.2 | Serumgewinnung | 48 |
| 3.1.2.3 | Probenverarbeitung | 48 |
| 3.1.2.4 | Zytologische Untersuchung der Liquorproben | 49 |
| 3.1.2.5 | Funktionsprinzip Nephelometer | 49 |
| 3.1.2.5.1 | Bestimmungsmethode | 50 |
| 3.1.2.5.2 | Kalibration | 51 |
| 3.1.2.5.3 | Gesamtprotein | 52 |
| 3.1.2.5.4 | Albumin | 52 |
| 3.1.2.5.5 | Immunglobulin G | 53 |
| 3.1.2.3 | Prüfung auf Stabilität | 54 |
| 3.1.2.3.1 | Wiederfindung | 54 |
| 3.1.2.3.2 | Präzision | 54 |
| 3.1.2.3.3 | Richtigkeit | 55 |
| 3.1.2.3.4 | Messung der Liquor-/Serumpaare | 55 |
| 3.1.2.4 | Statistik | 57 |
| 3.1.2.4.1 | Graphische Darstellung der Daten und ihre Verteilung | 57 |
| 3.1.2.4.2 | Normalverteilung | 59 |
| 3.1.2.4.3 | Konstruktion univarianter Referenzbereiche | 59 |
| 3.1.2.4.4 | Gruppenvergleich | 61 |
| 3.2 | ERGEBNISSE | 62 |
| 3.2.1 | Kontrollmessungen | 62 |
| 3.2.1.1 | Wiederfindung | 62 |
| 3.2.1.2 | Präzisionskontrollen in Serie | 64 |
| 3.2.1.3 | Präzisionskontrollen von Tag zu Tag | 64 |

| | | |
|------------|--|-----|
| 3.2.1.4 | Richtigkeitskontrollen | 65 |
| 3.2.3 | Test auf Normalverteilung | 66 |
| 3.2.4 | Konstruktion univariater Referenzbereiche | 66 |
| 3.2.4.1 | Elimination der Ausreißer | 67 |
| 3.2.5 | Abhängigkeiten | 68 |
| 3.2.5.1 | Altersabhängigkeiten | 68 |
| 3.2.5.2 | Geschlechtsabhängigkeit | 68 |
| 3.2.6 | Geschlechts-, Alters- und Rasseverteilung | 69 |
| 3.2.6.1 | Altersverteilung..... | 69 |
| 3.2.6.2 | Geschlechtsverteilung | 70 |
| 3.2.6.3 | Rasseverteilung..... | 72 |
| 3.2.7 | Gesamtproteingehalt..... | 74 |
| 3.2.8 | Albumin-Quotient | 75 |
| 3.2.9 | IgG Index | 76 |
| 3.2.10 | Graphische Darstellung der Daten..... | 77 |
| 3.2.10.1 | Gesamtproteingehalt | 77 |
| 3.2.10.2 | Albuminquotient..... | 80 |
| 3.2.10.3 | IgG Index | 82 |
| 3.2.11 | Einfache Regressionsanalyse für metrische Variablen | 84 |
| 3.2.11.1 | Korrelation Liquorprotein, Albumin-Quotient und IgG Index..... | 84 |
| 3.2.11.2 | Korrelation Serum-, Liquoralbumin und Albumin-Quotient..... | 89 |
| 3.2.11.2.1 | Korrelation Serum-Albumin und Albumin-Quotient..... | 89 |
| 3.2.11.2.2 | Korrelation Liquor-Albumin und Albumin-Quotient | 90 |
| 3.2.11.3 | Korrelation Liquor-IgG, Serum-IgG und IgG Index..... | 91 |
| 3.2.11.3.1 | Korrelation Serum-IgG und IgG Index..... | 91 |
| 3.2.11.3.2 | Korrelation Liquor-IgG und IgG Index | 93 |
| 3.2.12 | Liquorergebnisse | 94 |
| 4 | DISKUSSION | 98 |
| 5 | ZUSAMMENFASSUNG | 127 |
| 6 | SUMMARY | 129 |
| 7 | ABKÜRZUNGEN | 131 |
| 8 | LITERATURVERZEICHNIS | 133 |
| 9 | LEBENS LAUF | 158 |
| 10 | DANKSAGUNG | 159 |

1 EINLEITUNG

Erkrankungen des zentralen Nervensystems haben in der Tiermedizin eine große Bedeutung und stellen oft eine diagnostische Herausforderung für den Tierarzt dar. Wie in der Humanmedizin besteht auch in der Veterinärmedizin eine sehr große Diversität der neurologischen Krankheiten. Häufige Ursachen sind neben strukturellen und metabolischen Erkrankungen vor allem Infektionskrankheiten des ZNS.

Die Diagnostik neurologischer Erkrankungen hat in den letzten Jahren in der Kleintiermedizin große Fortschritte gemacht. Dies liegt vor allem an der Einführung verbesserter bildgebender Nachweisverfahren, wie der Computer- und der Kernspintomographie als auch an optimierten chirurgisch-therapeutischen Maßnahmen. Trotzdem steht der Veterinärneurologe gerade im Hinblick auf Infektionskrankheiten des ZNS oft vor einer diagnostischen Herausforderung; bildgebende Verfahren sind für diesen Bereich nicht das Diagnostikum der Wahl und ein Erregernachweis aus dem Blut ist oft ungeeignet, um eine eindeutige Diagnose stellen zu können.

Da pathologische Veränderungen im zentralen Nervensystem häufig mit Veränderungen in der Zusammensetzung des Liquor cerebrospinalis einhergehen, spielt dessen Untersuchung eine maßgebende Rolle bei der ätiologischen Klärung einer entzündlichen ZNS Erkrankung. In der Humanmedizin sind erste Liquoruntersuchungen bereits 1892 durch den Internisten Heinrich Iräneus durchgeführt worden. Nonne und Nissl haben die Liquoranalyse als diagnostisches Routineverfahren etabliert (FELGENHAUER und BEUCHE, 1999).

Durch die konventionelle Liquordiagnostik, die eine Zellzählung, deren Differenzierung und einen quantitativen Proteinnachweis beinhaltet, können bestimmte Krankheiten weiter eingegrenzt werden. Da eine Pleozytose oder der Anstieg der Proteinfraction allerdings unspezifisch für eine bestimmte Krankheit ist, bleibt eine endgültige Diagnosestellung oft der weiterführenden Liquordiagnostik vorbehalten. Als Ursache für einen Proteinanstieg wird häufig der

Funktionsverlust der Blut-Hirn Schranke oder die isolierte Produktion autochthoner Immunglobuline genannt. Zusätzlich soll auch ein reduzierter Liquorfluß zu einem erhöhten Liquorprotein beitragen (REIBER, 1994).

In der Humanmedizin wird bereits seit den 1970er Jahren die Evaluierung der Integrität der Blut-Hirn Schranke und die Evaluierung der intrathekalen Immunantwort mit in die vollständige Liquoranalyse einbezogen. Dazu gehört die Bestimmung des Albumin-Quotienten (AQ) und der Nachweis intrathekal produzierter Immunglobulinfraktionen anhand von oligoklonalen Banden in der Elektrophorese oder der Berechnung von IgG Indizes. Der AQ wird durch den Quotienten aus dem Liquor- und Serumalbumingehalt errechnet und ist allgemein als Referenzmethode für Messungen der Funktion der Blut-Hirn Schranke anerkannt. Der IgG Index weist intrathekal gebildete Immunglobuline nach und errechnet sich aus dem Quotienten des Liquor- und Serum-IgG Gehalts und wird auf den Albumin-Quotienten bezogen.

Bei der Katze spielen entzündliche Erkrankungen des ZNS eine große Rolle, die ätiologisch häufig ungeklärt bleiben. Der Nachweis von Antikörpern im Liquor wird oft postuliert, ist aber ohne gleichzeitige Evaluierung der Blut-Hirnschranke nicht diagnostisch (FOLEY et al., 1998 und BÖTTCHER et al., 2004). Bisher wurde der Albumin-Quotient lediglich in experimentellen Studien bei der Katze eingesetzt, um das Ausmass der Blut-Hirn Schranken Störung zu beschreiben (PODELL et al., 1997).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Bestimmung von Referenzbereichen für das Gesamtprotein, den Albumin-Quotienten und den IgG Index bei der Katze. Zusätzlich wird die Anwendung der ermittelten Referenzbereiche bei Katzen mit feliner infektiöser Peritonitis ohne und mit gleichzeitiger Erkrankung des ZNS, sowie Neoplasien des ZNS überprüft.

2 LITERATUR

2.1 Produktion des Liquor cerebrospinalis

Die Produktion des Liquor cerebrospinalis findet in mehreren Regionen des Gehirns statt. Er wird von den Plexus choroidei der beiden lateralen, des dritten und vierten Ventrikel gebildet; zusätzlich sind die isoprismatischen Ependymzellen des Ventrikelsystems und die Endothelien der Pia-Arachnoidea-Membran an der Produktion beteiligt. Bis zu 70 % der Liquorproduktion finden im Plexusepithel statt, die restlichen 30 % im Subarachnoidalraum (SIMPSON und FITCH, 1988).

Die Produktion des Liquor cerebrospinalis beruht auf zwei unterschiedlichen Mechanismen. Ein Teil wird durch Ultrafiltration aus dem Blutplasma gewonnen. Zusätzlich besteht ein aktiver und energieverbrauchender Transportmechanismus in den endothelialen Zellen der zerebralen Kapillaren und im Plexusepithel (GUYTON, 1991).

Anatomisch betrachtet ist der Plexus choroideus ein Geflecht aus Blutgefäßen von blumenkohlartiger Gestalt. Eine dünne epitheliale Zelllage bedeckt diese Kapillarschlingen. Zwischen Blut und ventrikulärem Liquor befinden sich am Plexus choroideus zwei Zelllagen. Das vaskuläre Endothel ist von den ependymalen Zellen durch eine dünne Membran und gelegentlich durch meningeale Zellen getrennt. Bei den ependymalen Plexuszellen handelt es sich um hohe kolumnare Zellen, die über „tight junctions“ miteinander verbunden sind (GANONG, 1993). Sie bilden eine semipermeable Membran, die aktiv und selektiv Stoffe transportiert (DELAHUNTA, 1983; SIMPSON und FITCH, 1988).

Die Produktionsrate des Liquors variiert in Abhängigkeit von der Spezies. Die Angaben aus der Humanmedizin schwanken zwischen 0,34 ml/min und 0,5 ml/min (GUYTON, 1991); beim Hund zwischen $0,04 \pm 0,005$ ml/min (MAYHEW und BEAL, 1980) und 0,05 ml/min (BRAUND, 1994) und bei der Katze zwischen 0,017 ml (DE LAHUNTA, 1983) und 0,02 ml/min (BRAUND a, 1994).

2.2 Zirkulation des Liquors cerebrospinalis

Ein großer Anteil des Liquor cerebrospinalis wird in den beiden Seitenventrikeln sezerniert. Der Liquor fließt dann von den Seitenventrikeln zum III. Ventrikel und von dort über den Aqueductus mesencephali in den IV. Ventrikel. Anschließend verlässt er den IV. Ventrikel über die lateralen Foramina Luschkae und das medial lokalisierte Foramen Magendii. Von hier aus gelangt der Liquor in die Cisterna magna, die Teil des Subarachnoidalraums ist. Der Liquor fließt zum größten Teil nach kranial, umfließt das Cerebrum und umspült die gesamte Oberfläche des zentralen Nervensystems und des Rückenmarks (GUYTON, 1991). An den Arachnoidalvilli (Pacchioni-Granulationen) des Hirnsinus wird er in den venösen Sinus aufgenommen.

Die Pulsation des Blutes im Plexus choroideus erzeugt den Zirkulationsfluß des Liquors. Auch der Zilienbesatz der ependymalen Zellen ist daran beteiligt. Beim Menschen wird dadurch der Liquorfluß sowohl in kraniale und zu einem geringen Anteil auch in kaudale Richtung ermöglicht (DELAHUNTA, 1983).

Die Liquorzirkulation kann an jeder der genannten Strukturen behindert oder unterbrochen sein. Die hieraus resultierenden serumähnliche Gesamtproteinwerte werden als „Sperrliquor“ oder „Liquorstop“ bezeichnet (FELGENHAUER, 1998)

2.3 Absorption des Liquors cerebrospinalis

Der Großteil der Liquorabsorption aus dem Subarachnoidalraum ins Blut findet an den Arachnoidalzotten (Villi arachnoidales) statt (DELAHUNTA, 1983 und BAGLEY, 1996). Ansammlungen dieser Zotten bezeichnet man auch als arachnoidale Granulationen oder Pacchioni-Granulationen. Diese sind im Sinus venosus lokalisiert.

Anatomisch betrachtet sind die Villi arachnoidales eine Verlängerung der Arachnoidea und des Subarachnoidalraumes und ragen fingerähnlich in den Sinus venosus hinein. Die einzelnen Zotten werden von einem venösen Endothel bedeckt. Dieses besitzt Öffnungen, die einen relativ freien Fluß des Liquors und der Proteinmoleküle in das venöse Blut erlauben (GUYTON, 1991). Die Öffnungen arbeiten nach dem Prinzip einer Ventilkonstruktion. Dies bedeutet, dass der Liquor

cerebrospinalis in den Sinus venosus übertreten kann. Eine umgekehrte Flussrichtung ist nicht möglich (DELAHUNTA, 1983).

Ursache für die Absorption des Liquors ist der hydrostatische Druck. Physiologischerweise ist der hydrostatische Druck im Liquor größer als der Druck in den Venen. Der Liquor wird gegen die arachnoidalen Zotten bewegt. Die Arachnoidalzotten funktionieren dadurch als eine Art Ventilsystem. So findet der Liquorfluss immer in Richtung des Blutgefäßsystems statt. Wenn sich der Druck im venösen Blutsystem erhöht, kann durch die Ventilfunktion der Arachnoidalzotten ein Umkehrung des Liquorflusses verhindert werden.

Die Absorption ist der bestimmende homöostatische Mechanismus zur Regulation des intrakraniellen Drucks (DE LAHUNTA, 1983). Beim Menschen beginnt die Absorption bei einem Druck von 7 cm H₂O und steigt dann linear bis zu einem Druck von 25 cm H₂O. Die Absorptionsrate beträgt dann bis zu 90 ml/h. Ein Gleichgewicht zwischen Absorptionsrate und Bildung stellt sich bei 11 cm H₂O ein (MC CONELL und BIANCHINE, 1994).

2.4 Funktion des Liquors cerebrospinalis

Laut MC CONNELL und BIANCHINE (1994) werden dem Liquor vier wesentliche Funktionen zugeschrieben. Dazu gehört zum einen der mechanische Schutz gegenüber traumatischen Einwirkungen. Zum anderen ist der Liquor cerebrospinalis wesentlich am Aufbau des inneren Milieus, des intrazerebralen Transports und des Lymphsystems beteiligt.

Der hauptsächlich im Plexus choroideus sezernierte Liquor cerebrospinalis badet das Gehirn und das Rückenmark in seiner Flüssigkeit (KORNEGAY, 1981). Aufgrund dieser Eigenschaft stellt der Liquor einen außerordentlichen Puffer für das stoß- und druckempfindliche Gehirn dar. So reduziert er das tatsächliche Gewicht eines menschlichen Gehirns von 1500 g auf ein Effektivgewicht von 50 g (FISHMAN, 1992; MC CONNELL und BIANCHINE, 1994; TREPEL, 1995). Durch eine dünne Flüssigkeitsschicht wird die Arachnoidea durch die Oberflächenspannung an der Dura gehalten. Der Schutz durch den Liquor und die Meningen bewahren das Gehirn davor, schon durch verhältnismäßig kleine Noxen einen starken Schaden zu nehmen. Das Auftreten erheblicher Schmerzen bei einem herabgesetzten Liquorvolumen unterstreicht in diesem Zusammenhang die Bedeutung des Liquor cerebrospinalis (GANONG, 1993).

Der Aufbau und die Aufrechterhaltung des chemischen Milieus im zentralen Nervensystem ist eine weitere wichtige Funktion der Liquorflüssigkeit. Anatomisch gesehen trennt lediglich eine dünne Lage ependymal-glialer und pia-glialer Zellen die Extrazellulärflüssigkeit des Gehirns und Rückenmarks vom Liquor cerebrospinalis. Über den Virchow-Robinschen Raum kommuniziert der Liquor direkt mit dem Extrazellulärraum und erlaubt nur dort eine freie Diffusion verschiedener gelöster Stoffe. Durch die Blut-Liquor Schranke wird die unterschiedliche chemische Zusammensetzung des Extrazellulär- und des Liquorraumes gewährleistet. Der Liquor ist so gegenüber Schwankungen der Ionenkonzentrationen (Natrium, Magnesium und Calcium) im Blut abgesichert. Dahingegen haben Schwankungen dieser Ionen im Liquor selber Veränderungen des Blutdruckes und der Herzfrequenz zur Folge. Des Weiteren haben schon geringe Abweichungen der Ionenkonzentrationen im Liquor signifikante Auswirkungen auf den zentralen Blutfluss und den Metabolismus des zentralen Nervensystems (MC CONNELL und BIANCHINE, 1994).

Eine weitere Aufgabe des Liquor cerebrospinalis besteht im Transport bestimmter Metaboliten. Dazu gehören Ionen, Vitamine (Vit C, Vit B12, Folsäure), Desoxyribonukleinsäuren und Neurotransmitter. Diese werden zum Teil aus dem Blut direkt über Ultrafiltration oder durch verschiedene Transportmechanismen gewonnen. Es kommt aber auch im Plexus choroideus selber zu Synthese bestimmter Peptide (STRAZIELLE und GHERSI-EGEA, 2000).

Die im Liquor cerebrospinalis nachweisbaren, signifikanten Konzentrationen an neuroaktiven Substanzen schreiben ihm eine wichtige Rolle bezüglich der Signalübermittlung zu (NICHOLSON, 1992). Das Vorhandensein von supraependymalen, serotonergen und GABA-nergen Rezeptoren, die mit dem Liquor in Kontakt stehen, das neuronale Netzwerk innerhalb des Liquor cerebrospinalis am Grund des III. Ventrikels und spezifische Rezeptoren für neuroaktive Substanzen in den Leptomeningen unterstützen diese Annahme.

Zusätzlich legt die eigentümliche Lokalisation des circumventrikulären Organs die Vermutung nahe, dass der Liquor cerebrospinalis eine regulative Rolle in der neuroendokrinen Funktion spielt (NICHOLSON, 1992 und GHERSI-EGEA, 1996).

Des weiteren kommt dem Liquor cerebrospinalis eine entscheidende Rolle bei der Regulation von Schlaf, Schmerz und vielfältigen Verhaltensweisen zu. Von

geringerer Bedeutung ist die nutritive Komponente des Liquors (MC CONELL und BIANCHINE, 1994).

Im Gehirn gibt es kein vergleichbares lymphatisches System, wie es im Körper zu finden ist. Bisher nahm man an, dass die Beseitigung metabolischer Endprodukte und Toxine aus dem Liquor cerebrospinalis bei Mensch und Tier über die Pacchioni-Granulationen erfolgt (MC CONNELL und BIANCHINE, 1994). Neuere Studien ergaben allerdings, dass dieser Mechanismus nur bei sehr hohen intrakraniellen Druckverhältnissen als unterstützende Funktion mitwirkt (PAPAICONOMOU et al., 2004 und ZAKHAROV et al., 2004).

JOHNSTON et al. (2004) konnten experimentell beweisen, dass vor allem die lymphatischen Einrichtungen der Nasenhöhle an der Drainage des Liquors beteiligt sind. Dabei wurde beim Schaf, Schwein, Hasen, bei Ratten, Mäusen, Affen und Menschen die Verteilung von gelben Microfil nach Einbringen in das Liquorkompartiment untersucht. In allen Fällen konnte die Verteilung des gelben Farbstoffes entlang des perineuralen Raumes des N. olfactorius in die Nasenhöhle visualisiert werden.

Der Liquor cerebrospinalis wird durch die Lamina cribrosa zu den Lymphgefäßen in der Submucosa des olfaktorischen und respiratorischen Epithels geleitet. Ein komplexes Netzwerk an Lymphgefäßen im Ethmoid transportiert den Liquor dann durch eine Reihe von Lymphknoten der Kopf- und Halsregion zu den Lnn. cervikales. Von dort aus wird der Liquor in das venöse System filtriert.

2.5 Zusammensetzung des Liquor cerebrospinalis

Der physiologische Liquor ist eine farblose, zell-, metaboliten- und proteinarme Flüssigkeit. Der Wasseranteil beträgt nahezu 99 %. Der Proteingehalt im Liquor ist verglichen mit Plasma deutlich geringer. Es besteht überwiegend aus Albumin. Beim Menschen beträgt dieser Anteil 56 % bis 76 % (MC CONNELL und BIANCHINE, 1994), des Weiteren können α 1-Globuline (2 % bis 7 %), α 2-Globulin (3,5 % bis 12 %), β -Globulin (8 % bis 18 %) und γ -Globulin (5 % bis 12 %) nachgewiesen werden. Laut RAND et al. (1990a) beträgt der prozentuale Anteil an Globulinen bei der Katze für α -Globulin 0 bis 48 %, für β -Globulin 30 bis 97 % und für γ -Globulin 0 bis 54 %.

Hinsichtlich der Zusammensetzung von Liquor und Serum bestehen Unterschiede im Elektrolytgehalt. Der Gehalt an Natrium ist im Liquor cerebrospinalis und Serum annähernd identisch; bei Magnesium und Chlorid liegt im Liquor eine deutlich höhere Konzentration vor. Der Anteil an Kalzium, Kalium und Glukose ist im Liquor geringer als im Serum.

Für den Zellgehalt wird beim Menschen ein Referenzbereich von 0 bis 5 Leukozyten/ μ l angegeben. Auch beim Hund entspricht dieser Wert dem Referenzbereich (OLIVER et al. 1997, COWELL, 1999). Für die Katze sind etwas niedrigere Werte angeführt. RAND und PARENT (1990b) geben 0 bis 2 Leukozyten/ μ l an. TIPOLD (1997) gibt für den Hund und die Katze Werte bis 8 Leukozyten/3/ μ l an. Bei physiologischem Liquor handelt es sich dabei fast ausschließlich um verschieden große monozytäre Zellen (RAND und PARENT, 1990b; CHRISMAN, 1992).

Beim Menschen ist eine Altersabhängigkeit der Liquorzusammensetzung nachgewiesen. Bei Neugeborenen kann eine erhöhte Zellzahl, ein erhöhter Proteingehalt (Albumin) und ein vermehrter Gehalt an Aminosäuren und Glukose gemessen werden. Auch Geschlecht und Gewicht haben einen Einfluss auf die Zusammensetzung des Liquor cerebrospinalis (MC CONNELL, 1994). Beim Rind wurde bei einer Untersuchung von 27 Mastkälbern in einer Altersgruppe von vier bis acht Wochen eine Altersabhängigkeit der Proteinkonzentration und der Leukozytenzahl ermittelt. Die Proteinkonzentration im Liquor war mit einem Median von 0,20 g/l etwas geringer als beim erwachsenen Rind (0,30 g/l), der Median für die Leukozytenzahlen lag bei 3,3 Leukozyten/ μ l, allerdings ergab die 90 %-Quantile mit 24,3 Leukozyten/ μ l deutlich höhere Werte als für das erwachsene Rind (STOCKER et al., 2002).

Der Proteingehalt im Liquor kann auch aufgrund der Entnahmestelle variieren. Bei der Lumbalpunktion sind signifikant höhere Proteinkonzentrationen für die Katze (HOCHWALD et al., 1969 und CHRISMAN, 1992), den Hund (CHRISMAN, 1992), und den Rhesusaffen (SMITH et al., 1993) verglichen mit einer atlanto-okzipitalen Punktion beschrieben. Dieser Konzentrationsunterschied kann das Ergebnis einer langsameren Zirkulation des Liquores im lumbalen Bereich sein. Dadurch kommt es zu einer lokalen Resorption von Proteinen.

2.6 Blut-Hirn Schranke

2.6.1 Aufbau der Blut-Hirn Schranke

Bereits im 19. Jahrhundert gab es Gedanken zur Existenz einer funktionellen Schranke zwischen dem Gehirn und der peripheren Zirkulation (EHRlich, 1885 und GOLDMAN, 1909).

Moleküle, die aus dem arteriellen Gefäßsystem stammen, haben nur eine eingeschränkte Möglichkeit in das Hirnparenchym und in den Liquorraum zu gelangen. Verantwortlich hierfür ist die Existenz zweier Schrankensysteme: der Blut-Hirn Schranke und der Blut-Liquor Schranke.

Im Vergleich zur Blut-Liquor Schranke besitzt die Blut-Hirn Schranke eine ca. 5000fach größere Oberfläche. Aus diesem Grund wird der Blut-Hirn Schranke die Hauptfunktion für die Aufnahme von endo- und exogenen Molekülen zugeschrieben (PARDRIGE, 1999; KUSUHARA und SUGIYAMA, 2001). Anatomisch betrachtet handelt es sich bei der Blut-Hirn Schranke um die nicht-fenestrierten Endothelzellen der zerebralen Gefäße, die untereinander durch interendotheliale tight junctions fest verbunden sind (REESE und KARNOVSKY, 1967; KNIESEL und WOLBURG, 2000; WEBB und MUIR, 2000; WOLBURG et al., 2002). Tabelle 1 gibt eine Übersicht über den unterschiedlichen Aufbau der beiden Schrankensysteme.

Die tight junctions werden auch als Zonula occludentes bezeichnet; sie bestehen aus einem komplexen Maschenwerk interendothelialer Proteine. Dazu gehören die Zona occludens-assoziierten Proteine wie Occludin (FURUSE et al., 1993; HIRASE et al., 1997), Claudin-1 und Claudin-5 (MORITA et al., 1999; LIEBNER et al., 2000), ZO-1, ZO-2, ZO-3 (BALDA et al., 1993). Weitere Proteine sind Cingulin (MITIC et al., 1998) und 7H6 (ZHONG et al., 1994). Die Proteine sind in unterschiedlichen Regionen der zerebralen Endothelien lokalisiert und erfüllen verschiedene Funktionen.

Die Funktion der Blut-Hirn Schranke wird dynamisch durch verschiedene Zellen reguliert. Dazu gehören Astrozyten, Neuronen und Perizyten (JANZER und RAFF, 1987).

Es wird angenommen, dass die Verbindung der Perizyten mit den zerebralen Gefäßen die Proliferation der Endothelzellen, deren Differenzierung, Überleben und die Verzweigung der Gefäße reguliert (ROUMEN et al., 1998).

Die Astrozyten umgeben zu über 99 % die zerebralen Kapillaren. Ihre Ausläufer bedecken die Lamina basalis. Die Astrozyten sind dabei selber nicht direkt an der Permeabilität der Blut-Hirn Schranke beteiligt (BRIGHTMAN und REESE, 1969). Vielmehr werden sie mit der Ausbildung und Aufrechterhaltung der Eigenschaften der Blut-Hirn Schranke in Verbindung gebracht (JANZER und RAFF, 1987). Experimentell konnte gezeigt werden, dass zuvor permeable Gefäßendothelien in der Umgebung von astrozytärer Glia deutlich weniger durchlässiger wurden (BAUER et al., 2000). Auch umgekehrt wurden zuvor permeable Gehirngefäßendothelien, die in nichtneuronales Gewebe transplantiert wurden, impermeabler (BAUER et al., 2000). ABBOTT (2002) beschreibt eine Kommunikation der neuronalen Gefäßendothelien mit spezialisierten perivaskulären Astrozyten. Es ist nicht völlig geklärt, wie es zu der Entwicklung dieser einzigartigen astroglialen perivaskulären Umhüllung kommt. Der Entwicklungszeitpunkt stimmt genau mit der Entstehung der Blut-Hirn Schranke überein (RUBIN und STADDON, 1999). Es gibt neuere Studien die annehmen, dass die Sauerstoffkonzentration im embryonalen Gewebe daran beteiligt sein könnte (LEE et al., 2001; SONG et al., 2002).

Durch die Lamina basalis werden die zerebralen Endothelzellen von den sie umgebenden Zellen getrennt. Die Zusammensetzung dieser Membran beinhaltet unter anderem Kollagen Typ IV, Laminin, Fibronectin und Heparinsulfat. Diesen Substanzen wird auch eine Rolle beim Transport von Molekülen zugeschrieben (SCHERRMANN, 2002).

Die tight junctions bilden die Grundlage für die Selektivität der Blut-Hirn Schranke. Hinzu kommt eine hohe elektrische Resistenz der Endothelzellen. Bei den Meningen beträgt sie ca. 1200 bis 2000 Ω/cm^2 (CRONE, 1982; BUTT et. al, 1990) verglichen mit 3 bis 33 Ω/cm^2 in anderen Geweben. Zusätzlich fehlt den Endothelzellen des zentralen Nervensystems die Fähigkeit zur Endozytose (RUBIN und STADDON, 1999).

Die Blut-Hirn Schranke ist am Plexus choroideus und an den kapillären Membranen des Hirnparenchyms lokalisiert (GUYTON, 1992).

Eine Ausnahme besteht am Hypothalamus, der Zirbeldrüse, der Area postrema, dem subfornikalen Organ, der Neurohypophyse und der medianen Eminenz (BROADWELL und SOFRONIEW, 1993). In diesen Regionen liegen fenestrierte Endothelien vor und es kann zu einem freien Austausch im Blut gebildeter Substanzen zwischen dem Gehirn und peripheren Organen kommen.

Tabelle 1: Struktureller Vergleich Blut-Hirn Schranke und Blut-Liquor Schranke (Msch.) modifiziert nach ZHENG (2003):

| | Blut-Hirn Schranke | Blut-Liquor Schranke |
|------------------------|---|---|
| Anatomie | Endothelzellen der Gehirnkapillaren Basalmembran Perivaskuläre Astrozytenausläufer Interstitielle Flüssigkeit | Endothelzellen der Plexus choroideus Kapillaren Basalmembran Plexus choroideus Liquor cerebrospinalis |
| tight-junctions | zwischen Endothelien | zwischen Epithelien |
| Oberfläche | 155 cm ² | 75 cm ² |
| Blutfluss | 0,9 bis 1,8 ml/min/g | 4 bis 6 ml/min/g |
| Effizienz | sehr effizient | effizient; funktionell durchlässig |

2.6.2 Transportmechanismen

Der Transport von Substanzen durch die Blut-Hirn Schranke kann passiv und aktiv erfolgen. Die Diffusion von Molekülen durch die Blut-Hirn Schranke ist abhängig von ihrer elektrischen Ladung, ihrer Lipophilie und ihrem Molekulargewicht (CORNFORD und HYMAN, 1999). Verallgemeinert lässt sich sagen, dass ein nicht ionisiertes, lipophiles Molekül mit geringem Molekulargewicht am besten durch die Blut-Hirn Schranke hindurch diffundieren kann (SCHELD, 1989).

Zusätzlich zu der vereinfachten Diffusion befinden sich an der Blut-Hirn Schranke verschiedene spezifische Carriersysteme. Dazu gehört unter anderem die energieverbrauchende Na⁺-K⁺-Pumpe. Ihr Verteilungsmuster ist luminal und abluminal.

Ein weiteres wichtiges Transportsystem an der Blut-Hirn Schranke ist das ATP abhängige P-Glycoprotein. Es ist in den Endothelien der Gehirnkapillaren lokalisiert und verantwortlich für den Efflux von bestimmten Substanzen aus dem ZNS in den Blutkreislauf. Genannt werden hydrophobe Substanzen wie Ivermectin, Cyclosporin A, Digoxin, Loperamid, Chemotherapeutika sowie antivirale Protease-Hemmer (SCHINKEL et al., 1996 und KIM et al., 1998). Auch der Transport von Dexamethason, Opioiden, Calcein-AM, zyklischer und linearer Peptide wie Gramicidin D und Valinomycin konnte nachgewiesen werden (AMBUDKAR, 1999; SILVERMANN, 1999 und THOMPSON et al., 2000). P-Glycoprotein wird von den sogenannten MDR (multi drug resistant) Genen codiert und im Zusammenhang mit dem Versagen verschiedener antitumoröser Therapeutika genannt (DEMEULE et al., 2002). Auch gibt es Hinweise, dass dieser Pathomechanismus bei der Therapieresistenz epileptischer Anfälle von Bedeutung ist. Beim Menschen und beim Nagetier wurde ein Efflux für die Antiepiletika Phenytoin, Carbamazepin und Lamotrigine erforscht (LÖSCHER und POTSCHKA, 2005). Bisher wurden in der Humanmedizin zwei unterschiedliche Gen-Typen ermittelt. Dabei ist MDR-1 an der Blut-Hirn Schranke und MDR-2 in der kanalikulären Membran der Hepatozyten lokalisiert (DEMEULE et al., 2002). Beim Nagetier wird das, dem beim Menschen in der Funktion ähnlichem, MDR-1 P-Glycoprotein durch zwei Gene codiert: mdr 1a und mdr 1b (DEMEULE et al., 2002). Auch beim Hund wurde die Existenz der P-Glycoproteine an der Blut-Hirn Schranke bewiesen. Zahlreiche Berichte über neurologisch auffällige Colliehund nach dem Einsatz des Antiparasitikums Ivermectin führten zu genetischen Untersuchungen dieser Rasse (ROULET et al., 2003). Es konnte eine Genmutation mit einer 4-bp Deletion nachgewiesen werden, durch die es zur Codierung von mehreren Stopcodons kommt. Dadurch wird die P-Glycoprotein-Synthese frühzeitig gestoppt (ROULET et al., 2003; EDWARDS, 2003; FRICK und MILLER, 2004).

Zusätzlich scheinen organische Anionen-Transportsysteme an dem Efflux hydrophiler Substanzen wie Valporinsäure, Cefodizime, Azidothymidin und Baclofen beteiligt zu sein (SUZUKI et al., 1997 und STRAZIELLE und GHERSI-EGEA, 2000).

Weitere Transportmechanismen bestehen in der vereinfachten Diffusion von Vitaminen, Nukleosiden, Purinen, Glucose und Aminosäuren durch die epithelialen Zellen, die essentiell für die Entwicklung des Gehirnparenchyms sind. Auch eine Diffusion vom Liquor in Richtung Serum ist für toxische Metaboliten beschrieben. TIPOLD (2003) bezeichnet den Plexus choroideus in diesem Fall als ein „ektopisches renales tubuläres Epithel“.

Die Blut-Hirn Schranke des Neugeborenen ist wesentlich weniger selektiv als die des Erwachsenen (STATZ und FELGENHAUER, 1983; REIBER, 1995). In der Humanmedizin wird empfohlen, bei der Beurteilung der Blut-Hirn Schranke das Lebensalter zu berücksichtigen.

2.7 Liquordiagnostik

Zur weiteren Klassifizierung einer neurologischen Erkrankung ist die labordiagnostische Untersuchung des Liquor cerebrospinalis von großer Bedeutung.

2.7.1 Morphologische Untersuchungen

Der normale Liquor ist bei allen Tieren und beim Menschen eine wasserklare Flüssigkeit. Jede Farbabweichung ist abnormal. Blutbeimengungen sind fast immer punktionsbedingt. Durch Zentrifugation kann diese Fehlerquelle ausgeschlossen werden. Bleibt der Liquor nach der Zentrifugation gelbstichig (Xanthochromasie), ist dies ein Hinweis auf eine pathologische subarachnoidale Blutung. Ursache dafür ist eine Akkumulation an Blutfarbstoffen (Hämoglobin, Oxyhämoglobin oder Methämoglobin). Dies kann schon vier bis sechs Stunden nach einem hämorrhagischen Insult auftreten (z.B. bei Traumen, Arteriitis oder Gerinnungsstörungen) und persistiert für ca. drei bis vier Wochen (PARENT 1999).

Eine vermehrte Trübung wird auch bei einer stark erhöhten Zellzahl (> 500 Zellen/mm³) festgestellt. Die Zellzahl ist erhöht bei destruktiven Prozessen und

sehr stark erhöht bei entzündlichen Erkrankungen des zentralen Nervensystems (VANDEVELDE, 1987 und CHRISMAN, 1992). Ein hochgradig erhöhter Proteingehalt kann, falls ausgeprägt, im Extremfall ebenfalls zu einer Trübung führen und verursacht eine Zunahme der Viskosität. Dies wird bei entzündlichen Prozessen, seltener bei metabolisch-toxischen und neoplastischen Veränderungen beobachtet.

Die Bestimmung der Zellzahl erfolgt in einer Zählkammer nach Fuchs-Rosenthal. Die Zählung sollte innerhalb von 30 Minuten nach der Entnahme des Liquors durchgeführt werden, da die Zellen aufgrund des physiologisch niedrigen Proteingehaltes schnell degenerieren. Vor allem Granulozyten sind sehr empfindlich. 40 % der Population wird innerhalb von zwei Stunden lysiert (TIPOLD, 2002).

Das Volumen der Zählkammer beträgt 3,2 µl, die Höhe der Kammer 0,2 mm und die Fläche 16 mm². Da der Liquor zur Bestimmung der Leukozyten 9:10 verdünnt wird, erfolgt die Berechnung der Leukozyten nach folgender Formel:

| |
|---|
| $\frac{\text{Zellzahl} \times 10}{3,2 \times 9} = \frac{\text{Zellzahl} \times 10}{28,8} = \frac{\text{Zellzahl}}{\sim 3}$ <p style="text-align: center;"><i>KRAFT und DÜRR, 1992</i></p> |
|---|

Es handelt sich hierbei nicht um Drittelzellen, sondern um die Zellzahl in etwa 3 µl unverdünntem Liquor.

Durch eine geringe Blutkontamination wird das Ergebnis der Zellzählung nicht beeinflusst. Bei einer Kontamination > 500 Erythrozyten/µl kann die Leukozytenzahl um eins nach unten korrigiert werden (BAILEY und HIGGINS, 1985; TIPOLD, 2002), wobei unterschiedliche Meinungen zu dieser Thematik bestehen.

Da der Zellgehalt im Liquor deutlich geringer ist als im Blut, ist es notwendig, zuvor eine Zellkonzentration durchzuführen. Dies kann mit einer Sedimentationstechnik oder mit einer speziellen Zytozentrifuge ermöglicht werden. Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden alle Präparate mit einer Zytozentrifuge hergestellt, da bei dieser Methode die Morphologie der Zellen am besten erhalten bleibt (STEINBERG und VANDEVELDE, 1974; CHRISTOPHER, 1988).

Bakterielle Entzündungen und destruktive Prozesse im ZNS können zu hochgradigen Zellzahlerhöhungen führen (VANDEVELDE, 1987 und CHRISMAN, 1992). Von einer geringgradigen Pleozytose spricht man bei einer Zellzahl von 5 bis 50 Zellen, einer moderaten bei 50 bis 200 Zellen und von einer starken Pleozytose bei mehr als 200 Zellen (TIPOLD, 2002).

Tabelle 2: Zusammenfassung der wichtigsten Liquorbefunde bei verschiedenen ZNS- Erkrankungen (modifiziert nach Tipold, 2002)

| Erkrankung | Zellzahl | Dominierender Zelltyp | Proteingehalt (mg/dl) |
|--|---|---|--|
| Virale Enzephalitis | milde bis moderate Pleozytose | mononukleär | leicht bis stark erhöht |
| Bakterielle Enzephalitis | moderate bis starke Pleozytose | neutrophil | leicht bis stark erhöht |
| Protozoäre Enzephalitis | moderate Pleozytose | gemischt; z. T. eosinophil | leicht bis stark erhöht |
| Mykotische Enzephalitis | moderate bis starke Pleozytose | gemischt; z. T. eosinophil | stark erhöht |
| Parasitäre Enzephalitis | milde bis moderate Pleozytose | gemischt; z. T. eosinophil | leicht bis stark erhöht |
| GME | moderate bis starke Pleozytose | mononukleär und gemischt | leicht bis stark erhöht |
| SRMA | starke Pleozytose | akut: neutrophil chronisch: mononukleär | leicht bis stark erhöht leicht erhöht |
| Rassespezifische nekrotisierende Enzephalitis | milde bis moderate Pleozytose | mononukleär | stark erhöht |
| Feline infektiöse Peritonitis | starke Pleozytose | variabel, oft neutrophil | stark erhöht |
| Eosinophile Meningo-enzephalitis | milde bis moderate Pleozytose | eosinophil | leicht bis stark erhöht |
| Neoplasien | variabel: normale bis starke Pleozytose | variabel: mononukleär, neutrophil | variabel: normal bis stark erhöht |

2.7.2 Klinisch-chemische Untersuchungen

Diese Untersuchungen befassen sich mit der Bestimmung von Glukose, Enzymen, verschiedenen Metaboliten wie zum Beispiel Laktat, Pyruvase und Neurotransmittern und vor allem mit der Messung des Gesamtproteingehalts und der Proteinzusammensetzung. Die Bestimmung des Gesamtproteingehalts, des Albuminquotienten und der Immunglobuline ist vor allem in der Humanmedizin für die neurologische Diagnostik eine unverzichtbare Messgröße. Dahingegen ist die Bestimmung von zum Beispiel Laktat oder Glukose von zweitrangiger Bedeutung (KELLER, 1991).

2.7.2.1 Glukose

Die Konzentration der Glukose im zentralen Nervensystem ist abhängig vom Blutzuckerspiegel und dem Verbrauch im Gehirn. Zwei unterschiedliche Mechanismen erlauben den Eintritt von Glukose ins zentrale Nervengewebe. Es gibt zum einen die „carrier mediated diffusion“ über ein glukosetransportierendes Protein und zum anderen einfache Diffusion. Unterschiedliche Zeiten (zwei bis vier Stunden) werden benötigt um ein Equilibrium zwischen der Glukosekonzentration im ZNS und Blut herzustellen (FISHMANN, 1992). Der Glukosespiegel im ZNS beträgt ungefähr 60 bis 80 % der extraneuralen Blutzuckerkonzentration.

Der diagnostische Wert der Glukosebestimmung ist sehr gering. Ein erhöhter Glukosespiegel im Gehirn gibt nur einen Eindruck über eine Hyperglykämie in einem Zeitraum der vorhergegangenen vier Stunden. Erniedrigte Werte können bei einer bakteriellen oder mykotischen Meningitis durch einen erhöhten Glukose-Verbrauch durch die Mikroorganismen gefunden werden.

Die Steroid-Responsive-Meningitis-Arteriitis ist eine Erkrankung, die relativ häufiger beim Hund auftritt und ebenfalls erniedrigte Glukosewerte im Gehirn verursacht. Vermutlich ist die Ursache in der neutrophilen Pleozytose zu suchen, da die erhöhte Aktivität der Neutrophilen eine Glykolyse verursacht. Auch bei verschiedenen Tumoren sind erniedrigte Glukosewerte im Liquor nachweisbar, so dass anhand eines erniedrigten Glukosespiegels keine spezifische Diagnose gestellt werden kann.

Zusammenfassend kann man sagen, dass niedrige Glukosewerte im Liquor cerebrospinalis ohne eine begleitende extraneurale Hypoglykämie lediglich eine

Aussage über das Vorhandensein einer diffusen meningialen Erkrankung zulassen (TIPOLD, 2002).

2.7.2.2 Gesamtprotein

Im Gegensatz zur Glukosebestimmung ist die Messung des Gesamtproteingehaltes von großer Bedeutung. Anhand des Proteinwertes können bestimmte Erkrankungen des zentralen Nervensystems differentialdiagnostisch ein- oder ausgeschlossen werden.

Der Nachweis kann semiquantitativ mit der Pándy-Reaktion (nach PÁNDY, 1910) sowie quantitativ mit verschiedenen Messmethoden bestimmt werden. Die semiquantitativen Methoden, hier vor allem die Pándy-Reaktion werden in der Praxis häufiger verwendet, da sie den Vorteil einer sehr einfachen Anwendung besitzen. Der Nachteil ist aber eine geringere Sensitivität, die nur eine Annäherung an den exakten Wert zulässt. Dagegen sind die quantitativen Methoden zwar aufwendiger durchzuführen, dafür sind sie aber sensitiver und bieten den Vorteil der Vergleichbarkeit der ermittelten Werte (BURTIS und ASHWOOD, 1994; REBEL, 1999).

In der Humanmedizin haben sich die Photo- und Nephelometrie und die Turbidimetrie als verlässliche Analysemethoden durchgesetzt (REIBER, 1987). Die Bestimmung des Gesamtproteins hat in der Humanmedizin aber weniger eine klinische Relevanz, sie dient vor allem als Orientierungswert für die Verdünnungsschritte der immunchemischen Einzelproteinanalysen (REIBER, 1988).

Proteine können aufgrund ihrer chemischen und immunologischen Eigenschaften quantitativ bestimmt werden. Zum einen haben Proteine die Eigenschaft im sauren Milieu zu denaturieren und auszufallen. Dadurch kommt es an den Präzipitaten zur Streuung von Licht. Dies wird bei der Nephelometrie und Turbidimetrie verwendet. Auch Antigen-Antikörperkomplexe können auf diese Art quantitativ bestimmt werden.

Zum anderen können an den N-terminalen Aminogruppen Ionen gebunden werden, durch die es dann zur Bildung von Farbkomplexen kommt. Diese Eigenschaft wird bei der Photometrie genutzt. Ein Beispiel ist die Coomassie-Brilliant-Blau-Methode (KELLER, 1991; BURTIS, 1994).

Physiologischer Liquor cerebrospinalis weist eine wesentlich niedrigere Gesamtproteinkonzentration auf als Serum. Er kann relativ hohe Konzentrationen an potentiellen Störfaktoren, wie endogene Metabolite oder auch Medikamente und deren Abbauprodukte enthalten (REIBER, 1991).

Bei pathologischen Verhältnissen kann es zu einem Anstieg des Gesamtproteins im Liquors kommen. Der Großteil der im Liquor nachgewiesenen Proteine hat seinen Ursprung aus dem zirkulierenden Blut. Bei Schrankenstörungen, bei Veränderungen des Plasmaproteingehalts oder bei einer lokalen Produktion von Immunglobulinen im ZNS kommt es zu einer erhöhten Proteinkonzentration (FISHMAN, 1992).

Als Ursachen für einen Anstieg des Gesamtproteins im Liquor kommen Infektionen und Entzündungen in Frage. Hier sind bakterielle, virale, protozoäre und mykotische Infektionen sowie autoimmune Erkrankungen zu nennen. Auch ein neoplastisches Geschehen kann zu einer Erhöhung des Gesamtproteingehaltes führen. Bei traumatischen, degenerativen oder vaskulären Läsionen im ZNS kann der Proteingehalt normal oder erhöht sein. Auch endokrine Stoffwechselstörungen (Hypoparathyreodismus, diabetische Neuropathien), metabolische Entgleisungen (Urämie, Hypercalzämie, Dehydratation) und Intoxikationen (Isopropanol, Ethanol) können zu einem Anstieg des Proteingehaltes führen (MC CONNELL und BIANCHINE, 1994). Ein erhöhter Proteingehalt ist pathologisch, jedoch nicht spezifisch für eine bestimmte Krankheit (VANDEVELDE, 2000).

In der Literatur werden unterschiedliche Angaben für den Gesamtproteingehalt im Liquor der Katze angegeben. Dies ist auf unterschiedliche Entnahmestellen des Liquors, den Einsatz verschiedener Analysemethoden und unterschiedliche Berechnungen des Referenzbereiches zurückzuführen. Ein Überblick über die in der Literatur aufgeführten Referenzbereiche gibt Tabelle 3.

Tabelle 3: Referenzwerte für das Gesamtprotein im Liquor der Katze

| Proteingehalt (mg/dl) | Methode | Probenanzahl | Literatur |
|--|--------------------------------------|---------------|-----------------------|
| 10,0 – 27,0 ² | keine Angabe | keine Angabe | Chrisman, 1992 |
| 6,0 - 36,0 ² (18,0) ¹ | Ponceau S | 58 | Rand and Parent, 1990 |
| 27,0 ¹ ± 8,8 ³ | Precipitin Methode | 18 | Hochwald, 1967 |
| 20,0 - 25,0 ² | Trichloressigsäure, Turbidimetrie | keine Angaben | Mayhew und Beal, 1980 |
| < 25,0 ¹ | keine Angaben | keine Angaben | Kornegay, 1981 |
| 12,0 - 32,0 ² | Photometrie Coomassie Blau | 4 | Bienzle, 2000 |

¹ : Mittelwert

² : Minimum – Maximum

³ : Mittelwert ± Standardabweichung

2.7.2.3 Enzyme

Der Vergleich der Enzymbestimmung im Serum und Liquor ergab, dass aufgrund der fehlenden Spezifität nur ein geringer diagnostischer Nutzen aus deren Bestimmung im Liquor gezogen werden kann. In der Tiermedizin werden unter bestimmten Fragestellungen manchmal die Creatinkinase (CK) und die Laktat Dehydrogenase (LDH) bestimmt. Da aber auch hier bei einer Vielzahl von neurologischen Erkrankungen erhöhte Werte gemessen werden können, ist die Aussagekraft fraglich (TIPOLD, 2002).

2.7.2.4 Weitere Metaboliten

Zahlreiche Stoffwechselprodukte sind im Liquor cerebrospinalis bestimmt worden. Dazu gehört das Laktat/Pyruvat Verhältnis, Gamma-Amino-Buttersäure (GABA), Glutamat, Serotonin, Dopamin, Norepinephrin, biogene Amine und verschiedene Zytokine (Interferon-Gamma, Interleukin 8 und 10, Wachstumsfaktor β).

Bei einem Großteil dieser Faktoren wurden bisher nur Fallstudien durchgeführt. Für GABA konnten Zusammenhänge zwischen Anfallsaktivitäten und niedrigen Konzentrationen dargestellt werden (LÖSCHER und SCHWARTZ-PORSCHE; 1986; PODELL und HADJICONSTANTINO, 1997).

Glutamat kommt eine Rolle als sekundärer Mediator bei Gewebeschäden zu. Bei chronischen und akuten Rückenmarkskompressionen konnten erhöhte Glutamatkonzentrationen im lumbalen Liquor nachgewiesen werden (OLBY et al., 1999).

Veränderte Konzentrationen an biogenen Aminen, Dopamin, Serotonin und Norepinephrin scheinen bei Verhaltensstörungen vorzuliegen (REISNER et al, 1996, HEWSON et al., 2000).

2.8 Liquorprotein Profil

Der Hauptanteil der Proteine aus dem physiologischen Liquor cerebrospinalis stammt aus dem Blutsystem. Dazu gehört z.B. Albumin, welches 35 % bis 80 % des Gesamtproteins im Liquor ausmacht (REIBER und PETER, 2001). Weitere Proteinanteile aus dem zirkulierenden Blutsystem sind vor allem die Immunglobuline (IgG, IgA und IgM). Bei neurologischen Erkrankungen, die mit einer Störung der Funktion der Blut-Hirn Schranke einhergehen können alle Proteinfractionen aus dem Blut im Liquor ansteigen.

2.8.1 Albumin

Studien zur Klärung der Herkunft der einzelnen Proteinfractionen im Liquor cerebrospinalis wurden bereits früh durchgeführt. So konnte FISHMAN 1953 anhand von J^{131} markiertem Albumin zeigen, dass bei Hunden ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Blut- und Liquoralbumin besteht. Auch beim Menschen wurden zahlreichen Untersuchungen hinsichtlich der Proteine im Liquor und ihrem Verteilungsmuster durchgeführt (FRICK, 1958; FIESCHI, 1964; KLATZO, 1964). FRICK und SCHEID-SEYDEL (1958) berichten von einem Austausch von J^{131} -markiertem Albumin zwischen Blut und Liquor beim Menschen. Ein Gleichgewicht stellte sich nach 60 Stunden ein, egal ob es sich dabei um erkrankte oder gesunde Patienten handelte. Dabei wurde ein großes Spektrum an ZNS-Erkrankungen abgedeckt, darunter auch solche, die mit einer Störung der Blut-Hirn

Schrankenfunktion einhergingen. Somit konnte bewiesen werden, dass das Albumin im Liquor ausschließlich aus dem Blut bzw. aus der Leber stammt.

HOCHWALD und WALLENSTEIN gelangten 1967 zu ähnlichen Ergebnissen bei der Katze. Nach intravenöser Applikation von J^{131} markiertem Albumin stellte sich nach vier bis 20 Stunden auch hier ein Gleichgewicht ein. Zusätzlich zeigen alle diese Studien, dass umgekehrt auch ein Albumin-Efflux aus dem Liquor in das Blut besteht. Im Vergleich mit der Influx-Zeit benötigt dieser Prozess ungefähr das 200fache an Zeit.

Kann mittels der Erstellung des Albuminquotienten ein erhöhter Albumingehalt im Liquor nachgewiesen werden, so lässt dies einen Rückschluss auf eine Blut-Hirn Schrankenstörung zu (BICHSEL et al., 1984; VANDEVELDE et al., 1986).

Beim Menschen konnte eine altersabhängige Veränderung der Liquorkonzentration von Albumin festgestellt werden. Dies ist laut REIBER (2003) durch die erst ab dem viertem Lebensmonat abgeschlossene Reifung der Arachnoidalzotten zu erklären. Es kommt dadurch zu einer verminderten Liquorflussrate und in der Folge zu einer erhöhten Konzentration der Albuminfraktion. Nach der Geburt fällt die Albuminkonzentration zunächst ab und steigt im Verlauf des Lebens langsam wieder an. Dies ist zum einen auf die durch das Wachstum bedingte Längenzunahme des Spinalkanals zurückzuführen; zum anderen nimmt mit dem Alter die Liquorproduktionsrate und dadurch die Liquorzirkulation ab. Als Folge zeigt sich eine positive Korrelation des Albuminquotienten mit dem Alter (TIBBLING et al., 1977; REIBER, 1995; FELGENHAUER, 1999).

Tabelle 4: Referenzwerte für den Albumingehalt im Liquor der Katze

| Albumingehalt (mg/dl) | Methode | Probenanzahl | Literatur |
|--|--------------------|--------------|--------------------------------|
| 1,0 – 20,0 ² | keine Angabe | keine Angabe | Chrisman, 1992 |
| 3,3 ¹ ± 1,1 ³ | Precipitin Methode | 8 | Hochwald, 1967 |
| 6,5 ¹ ± 2,1 ³ zisternaler Liquor | Precipitin Methode | 18 | Hochwald, Wallenstein, 1969 |
| 10,1 ¹ ± 2,9 ³ lumbaler Liquor | Precipitin Methode | 11 | Hochwald, Wallenstein, 1969 |
| 11 ¹ ± 15 ³ | Elektrophorese | 24 | Rand et al., 1990 |

¹ : Mittelwert

² : Minimum – Maximum

³ : Mittelwert ± Standardabweichung

2.8.2 Immunglobuline im Liquor

Ein Faktor, der den Immunglobulingehalt des Liquors mitbestimmt, ist die Konzentration der Immunglobuline im Serum. Dabei handelt es sich um die drei Immunglobulinfraktionen IgM, IgG und IgA. Unter physiologischen Bedingungen treten sie entsprechend ihrer physiochemischen Eigenschaften nur zu einem geringen Anteil durch die Blut-Hirn Schranke hindurch. Eine Störung der Blut-Hirn Schrankenfunktion hat zur Folge, dass Moleküle aus dem Blut ohne Hindernis in das Liquorkompartiment übertreten können. Dadurch kommt es auch zu einem erhöhten Übertritt von Immunglobulinen aus der Blutbahn in den Liquor.

Bei Menschen konnte anhand J^{131} - und J^{125} - markiertem Serum-IgG gezeigt werden, dass bei einer physiologischen Serum IgG Konzentration das Liquor-IgG selektiv aus dem Serum stammt. Diese Untersuchungsergebnisse konnten unter pathologischen Bedingungen allerdings nicht bestätigt werden. Hier zeigte sich

eine zusätzliche intrathekale Produktion (FRICK und SCHEID-SEYDEL, 1958; CUTLER et al., 1969 und 1970). HOCHWALD und WALLENSTEIN (1967) bestätigten in einer Studie bei Katzen die Ergebnisse der Humanmedizin. Nach der intravenösen Applikation von radioaktiv markierten J^{131} wurde ein Austausch zwischen Blut, Liquor und Gehirnparenchym beobachtet.

Im Gegensatz zum Albumin kann ein erhöhter Immunglobulingehalt im Liquor cerebrospinalis also sowohl aus dem Blut, als auch zusätzlich durch Synthese im Liquorraum (intrathekal) bedingt sein. Deswegen ist es wichtig eine Unterscheidung zwischen intrathekal bzw. extrathekal produzierten Antikörpern zu machen. Als zuverlässiges Diagnostikum hat sich in der Humanmedizin die isoelektrische Fokussierung, eine hochauflösende Elektrophorese, herausgestellt. Handelt es sich um intrathekal produzierte Immunglobuline kann ein oligoklonales Muster im Bereich der γ -Globuline festgestellt werden (REIBER und FELGENHAUER, 1987; KELLER, 1991). Für die Auswertung der Ergebnisse der Proteinbestimmungen haben sich die von REIBER und FELGENHAUER (1987) beschriebenen Verfahren am besten bewährt, da sie die gleichzeitige Erfassung einer Blut-Liquor Schrankenfunktionsstörung und einer autochthonen Immunglobulinsynthese erlauben und die Möglichkeit einer unselektiven Schrankenstörung berücksichtigen (FATEH- MOGHADAM, 1989).

Die Produktion intrathekaler Immunglobuline bei einer Infektion des zentralen Nervensystems wird durch perivaskuläre Infiltrate von B-Lymphozyten ermöglicht. Ihre Vermehrung und Reifung findet lokal statt. Ab der zweiten Woche werden Antikörper sezerniert. Der Höhepunkt der humoralen Immunabwehr wird oft nach zwei bis vier Wochen erreicht (FELGENHAUER und BEUCHE, 1999).

Bei akuten Infektionen des Organismus kommt es im Serum zur Verschiebung der Produktion von IgM- zu IgG-Antikörpern („nossal switch“). Im ZNS fehlt der intrathekale Switch von IgM zu IgG.

Das initiale Muster der Immunglobuline ist offenbar mit einer bestimmten neurologische Erkrankung verbunden (REIBER, 1998; FELGENHAUER, 1998). Bei zahlreichen Infektionen des zentralen Nervensystems kann dieses Phänomen nachgewiesen werden. Bei der Neuroborreliose des Menschen bleibt über mehrere Monate eine konstantes Verteilungsmuster zwischen der intrathekalen

Produktion an IgG, IgA und IgM bestehen. Auch bei chronischen *HIV*-Enzephalitiden, Multipler Sklerose, Infektionen mit *Paramyxoviren* (Mumps- und Masernenzephalitis), Infektionen mit *Herpesviren* (Herpes simplex- und Zosterenzephalitis), Coxsackie-Enzephalitis, Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) und der neurologischen Form der Syphilis kommt es zu einer intrathekalen Immunglobulinsynthese (REIBER, 1991; FELGENHAUER und THOMAS, 1998). Die Antikörpersynthese klingt trotz erfolgreicher Behandlung zum Teil erst nach Jahren ab. Bei der Infektion mit *Treponema pallidum* kann noch 20 Jahre nach Ausheilung der Erkrankung ein IgG-Antikörperspiegel im Liquor nachgewiesen werden (REIBER und PETER, 2001).

2.8.3 Polyspezifische Immunantwort

Neben den spezifisch intrathekal produzierten Antikörpern gegen das auslösende Antigen (AG) kommt es im ZNS zusätzlich zur Synthese von Immunglobulinen ohne Antigen-Spezifität (> 70 %). Beispielsweise werden bei einer Herpes simplex-Enzephalitis nur 20 % bis 30 % der Immunglobuline AG-spezifisch produziert, der restliche Anteil ist unspezifisch. Weitere Beispiele für die unspezifische Immunreaktion sind die subakut sklerosierende Panenzephalitis und Multiple Sklerose (CONRAD et al., 1994).

Das Phänomen der Heterogenität der Immunantwort wird in der Theorie damit erklärt, daß jede Immunantwort, die durch einen einzelnen Mikroorganismus oder ein einzelnes Antigen ausgelöst wird, das gesamte Immunsystem aktiviert (REIBER und DAVEY, 1996). Dieses Phänomen wird als polyspezifische Immunantwort bezeichnet.

Der Nachweis von oligoklonalen, polyspezifischen, intrathekalen IgG im Liquor ist z. B. charakteristisch für Multiple Sklerose (MS) (CHAPMAN et al., 2005). Dies belegen zahlreiche Untersuchungen der Immunglobuline im Liquor bei MS (FRICK und SCHEIDEL, 1958; LIPPINCOTT et al., 1965; LINK, 1967; CUTLER et al., 1970; LATERRE et al., 1970, SCHLIEP und FELGENHAUER, 1978). Des Weiteren wurden Antikörper gegen *Chlamydia pneumoniae* (ROSTASY et al., 2003), *Masern*, *Röteln* und *Varizella-Zoster* untersucht (MRZ-Reaktion). Die MRZ-Reaktion ist bei 34 % der Patienten gegen ein Virus, bei 27 % gegen zwei Viren und bei 39 % gegen drei Viren gerichtet (FELGENHAUER und BEUCHE, 1999)

und tritt mit einer Häufigkeit bis zu 94 % auf (REIBER und WICK, 2004). Dabei konnte in keiner der genannten Infektionen eine Ursache für die MS gefunden werden und die intrathekale Immunglobulinsynthese wird deswegen als Teil der polyspezifischen Immunantwort gewertet (DERFUSS et al., 2001).

Der Nachweis einer intrathekalen IgG Produktion bei intakter Blut-Hirn Schranke hat eine sehr hohe diagnostische Bedeutung für Multiple Sklerose (FELGENHAUER, 1982). Dabei hat sich besonders die isoelektrische Fokussierung (IEF) als Nachweismethode bewährt (KLEINE und DAMM, 2003).

Eine polyspezifische Immunantwort im Serum wurde z. B. bei der Polyradikulitis und Desert Storm Syndrom gesehen. Bei dem Guillan-Barré Syndrom sind im Serum der Patienten, neben Antikörpern gegen körpereigene Substanzen (Sulfatid, Cardiolipin) auch *Mumps*-spezifische IgG (66 %), *Adenovirus*-spezifische IgG (52 %), *Varizella-Zoster Virus*-spezifische IgG (46 %) und *Streptokokkus pneumoniae Serotyp 7*-spezifische IgG (45 %) gefunden worden (TERRYBERRY et al., 1995). Auch beim Desert Storm Syndrom wurde u.a. eine polyspezifische autoimmune Immunreaktion in Folge einer Impfung vermutet (REIBER und DAVEY, 1996).

Das Phänomen der polyspezifischen Immunantwort kann auch im Kammerwasser der Augen beobachtet werden. Dies trifft in der Humanmedizin z.B für die Fuchs Heterochromic Cyclitis (FHC) zu, bei der QUENTIN und REIBER (2004) ähnlich wie bei der MS die Präsenz von *Rötelviren* nachweisen konnten. Zu einem geringeren Anteil waren auch *Maser*-, *Varizella-Zoster*- und *Toxoplasmose*-Antikörper vorhanden. Auch bei der intraokularen Manifestation der *Toxoplasmose* wird eine polyspezifische Immunantwort beobachtet (QUENTIN et al., 1997)

2.8.4 Antikörperspezifischer Index

Noch empfindlicher als der Nachweis eines oligoklonalen Immunglobulin Bandenmusters ist ein quantitativer Vergleich der, bezogen auf die gleiche IgG Menge, spezifischen Antikörper von Serum und Liquor (FELGENHAUER und BEUCHE, 1999). Die klassischen Methoden der Virologie, wie Antigenneutralisierung oder Komplementinaktivierung, waren in der Regel für die niedrigen Antikörperspiegel des normalen Liquors zu unempfindlich. Erst wenn die Immunreaktion aktiviert wird oder Serumantikörper in das Liquorkompartiment

übertreten, kann ein Antikörpertiter nachgewiesen werden. Ohne Berechnung der Blut-Hirn Schrankenfunktionen ist die Bestimmung der konventionellen AK-Titer diagnostisch wertlos. Ein Liquortiter bekommt erst dann eine diagnostische Relevanz, wenn man ihn auf die IgG-Konzentration im Serum bezieht und einen antikörperspezifischen Index (ASI) berechnet:

$$\text{ASI} = (\text{Liquor-Titer} \times \text{Serum-IgG}) / (\text{Liquor-IgG} \times \text{Serum-Titer})$$

Der Index gibt an um wieviel höher der Gehalt spezifischer Antikörper im Liquor bei gleichen IgG-Spiegeln ist (FELGENHAUER und BEUCHE, 1999).

Er ist zudem unabhängig von der Antikörperhöhe, d.h. ein erhöhter ASI Wert beweist auch bei normalen Serumtitern eine intrathekale Antikörperproduktion. Umgekehrt sagen hohe ASI Werte nichts über die vorhandene Antikörpermenge im Liquor aus.

Einen besonders hohen diagnostischen Wert besitzt die intrathekale Antikörpersynthese bei Autoimmunerkrankungen in der Humanmedizin (MEINCK et al., 1994).

Seit Einführung der Polymerasekettenreaktion (PCR) ist die Antikörperdiagnostik bei akuten Virusinfektionen in den Hintergrund getreten, weil im Liquor der diagnostischen Erstpunktion ausreichend Viruspartikel, aber noch keine intrathekalen Antikörper vorhanden sind. Kommt die humorale Reaktion in Gang, verliert die PCR an Sensitivität. Trotzdem wird man bei chronischen Viruserkrankungen beide Methoden einsetzen. Bei der intraokulären *Toxoplasma gondii* Infektion hat die PCR zwar eine hohe Spezifität, aber nur eine geringe Sensitivität von 30 %, d. h. 70 % falsch negative Ergebnisse (GARWEG et al., 1996). Die Berechnung des ASI stellt daher eine sinnvolle Ergänzung der Diagnostik dar.

Tabelle 5: Antikörperspezifitätsindex (Msch.) modifiziert nach FELGENHAUER und BEUCHE, 1999

| Grad der lokalen Antikörperbildung | Erkrankung |
|---|--|
| leicht (ASI < 10) | Zosterganglionitis und –meningitis, chronische HIV-Enzephalitis, MRZ-Reaktion bei der Multiplen Sklerose |
| mittelgradig (ASI 10 - 20) | Herpes-simplex-Enzephalitis |
| stark (ASI > 20) | subakut sklerosierende Panenzephalitis |

2.8.5 Albuminquotient und IgG Index

Ein weiterer Parameter zur Klassifizierung einer neurologischen Erkrankung ist die Bestimmung des Albuminquotienten und des IgG-Index. Diese Werte ermöglichen die Aussage, ob einer Erhöhung des Gesamtproteins eine reine Schrankenstörung oder eine lokale Immunglobulinsynthese zugrunde liegt.

In der Humanmedizin wurde historisch zur Überprüfung der Funktion der Blut-Hirn Schranke der Liquor-Serum-Quotient der Albuminkonzentration herangezogen (TIBBLING und LINK, 1977). Albumin dient bei diesen Auswertungen als Referenzprotein für die Blut-Liquor Schrankenfunktion. Da Albumin ausschließlich in der Leber synthetisiert wird, erfüllt es die notwendigen Voraussetzungen einer Testsubstanz, die nicht im ZNS selber synthetisiert wird und chemisch inert ist. Auch unter pathologischen Umständen stammt das Albumin im Liquor ausschließlich aus dem Blut. Aus diesen Gründen lässt der Liquor-Serum-Albuminquotient eine individuelle Aussage über die Blut-Hirn Schrankenfunktion zu (REIBER, 1991). Der Albuminquotient AQ beschreibt das Verhältnis von Albumin im Liquor zum Albumin im Serum.

| |
|---|
| Albumin-Quotient (AQ) = Albumin Liquor/Albumin Serum |
|---|

Er stellt einen adäquaten und zuverlässigen Parameter zur Beurteilung der Blut-Hirn Schrankenfunktion dar (TIBBLING et al.,1977). Laut FELGENHAUER (1999) hat sich der Albuminquotient als der zuverlässigste Messwert für den aktuellen Zustand der Blut-Hirn Schranke erwiesen. Dies setzt voraus, dass die Probenentnahme von Serum und Liquor zum gleichen Zeitpunkt stattfindet und ein Gleichgewicht zwischen Blut- und Liquorkompartiment besteht.

Liegt eine erhöhte Albuminkonzentration im Liquor bei unveränderter Albuminkonzentration im Serum vor, so spricht dies für eine erhöhte Durchlässigkeit der Blut-Hirn Schranke. In diesem Fall lässt sich ein erhöhter Albuminquotient nachweisen. Auch FELGENHAUER (1995) sieht die Ursachen einer Blut-Hirn Schrankenstörung in einer Steigerung der Gefäßpermeabilität an den Grenzschichten des Liquorkompartiments.

Im Gegensatz zur traditionellen Vorstellung einer gestörten Blut-Hirn Schrankenfunktion durch eine Permeabilitätsveränderung stellt REIBER (2003) eine neue These zur Diskussion: er geht dabei von einer verminderten Liquorzirkulation und der damit verbundenen erhöhten Diffusion verschiedener Moleküle als alleinige Ursache für den erhöhten Anteil an Proteinen im Liquor aus. Es muss keine morphologische Veränderung an den an der Blut-Hirn Schranke beteiligten Strukturen vorliegen. Erklärt wird dieser Zusammenhang mit dem ersten und zweiten Diffusionsgesetz nach Fick. Nach dem ersten Fick'schen Diffusionsgesetz ist der Diffusionsstrom J direkt proportional dem Konzentrationsgradienten. Das bedeutet, dass der Diffusionsstrom, d.h. die Substanzmenge, die durch eine Schicht einer bestimmten Fläche und Dicke hindurchtritt der wirksamen Konzentrationsdifferenz direkt proportional ist. Unter pathologischen Bedingungen einer ZNS Erkrankung kommt es zu einer veränderten Ausgangssituation, d.h. einem erhöhten Liquorprotein und dadurch zu einem erhöhten Diffusionsgradienten. Dadurch wird das zweite Fick'sche Diffusionsgesetz wirksam. Bei einem verlangsamten Liquorfluss kommt es zu einer Verschiebung der Diffusionsgradienten und damit zu einer Steigerung der Geschwindigkeit, mit der Makromoleküle die Schranke passieren.

Ursachen für einen reduzierten Liquorfluss können eine reduzierte Liquorproduktion im Plexus choroideus, eine Liquorflussbehinderung im Subarachnoidalraum oder eine Behinderung der Drainage ins venöse Blut sein.

SEYFERT et al. (2003) gibt drei Faktoren an, die einen Einfluss auf die Albuminkonzentration im Liquor haben:

1. Konzentration von Albumin im Serum
2. Liquorzirkulation
3. Individuelle Durchlässigkeit der Blut-Hirn Schranke

Dabei zeigte sich bei einer Studie mit einem Patientengut von 1700 gesunden Patienten, dass die Fließgeschwindigkeit des Liquors der wichtigste Parameter für die Konzentration von Albumin im Liquor ist und die Albuminkonzentration im Serum den geringsten Einfluss auf den Albuminquotienten hat (SEYFERT et al., 2003).

Dies gilt sowohl für Patienten mit einem normalen als auch mit pathologischem Albumingehalt im Liquor. Bei den gesunden Patienten sind lediglich 3,3 % der Variationen der Albuminwerte durch die Serumkonzentration zu erklären; die Schrankendurchlässigkeit trägt mit 41,9 % und der Liquorfluss mit 54,8 % dazu bei.

Unterschiede in der Albumin- und IgG-Konzentration im Liquor cerebrospinalis werden deren unterschiedlichen physiochemischen Eigenschaften zugeschrieben. Dazu gehören die verschiedenen elektrischen Ladungen der Moleküle und das unterschiedliche Molekulargewicht, das bei Albumin 67 kDa und IgG 150 kDa beträgt. Das Liquor-/Serum-Verhältnis beträgt beim Menschen für Albumin 1:205 und für IgG 1: 450 (REIBER, 2001).

Einen weiteren wichtigen Einfluss auf den Albuminquotienten hat in der Humanmedizin das Alter. Untersuchungen beim Menschen zeigen, dass initial bei Neugeborenen ein sehr hoher Albuminquotient messbar ist, dem dann ein starker Abfall der Werte bis zu einem Alter von vier Monaten folgt. Danach steigt der Albuminquotient mit zunehmendem Alter wieder an. REIBER (2003) erklärt dies mit der zeitlich verzögerten Reifung der Arachnoidalzotten und der damit verbundenen neonatal verringerten Liquorsynthese und auch -flußrate. Nach dem vierten Lebensmonat ist die Reifung abgeschlossen, der Albuminquotient fällt zunächst ab und stabilisiert sich anschließend. Ab dem Erwachsenenalter steigt der Albuminquotient langsam wieder an. Dies steht im Zusammenhang mit der verminderten Liquorproduktion am Plexus choroideus. Die Liquorflussrate nimmt dadurch ab und nachfolgend zeigt sich ein leicht erhöhter Albuminquotient.

Tabelle 6: Altersbezogene Referenzwerte für den Albuminquotienten beim Menschen (Reiber, 1995)

| Alter | Albuminquotient (x 10⁻³) |
|-------------------|--|
| Neugeborene | 8 – 28,0 |
| 1 Monat | 5 – 15,0 |
| 2 Monate | 3 – 10,0 |
| 3 Monate | 2 – 5 |
| 4 Monat – 6 Jahre | 0,5 – 3,5 |
| < 15 Jahre | < 5,0 |
| < 40 Jahre | < 6,5 |
| < 60 Jahre | < 8,0 |

Ähnliche Ergebnisse konnten in einer Studie von ANDREWES et al. (1994) beim Fohlen erzielt werden. Der Albuminquotient, entnommen von 15 neurologisch gesunden Fohlen im Alter von ein bis zehn Tagen zeigte eine vergleichbare altersbezogene Korrelation wie beim Menschen.

Bei der Katze existieren bisher keine Studien, die altersabhängige Referenzwerte für den Albuminquotienten angeben. Für Referenzwerte adulter Katzen konnte nur eine Literaturangabe gefunden werden. PODELL et al. (1997) konnten elektrophoretisch einen Albuminquotient von $0,12 \pm 0,04$ bei insgesamt fünf Katzen bestimmen.

Die Höhe des IgG-Gehalts im Liquor wird von drei Faktoren beeinflusst: dem Serum IgG-Gehalt, der intrathekalen IgG-Produktion und dem Status der Blut-Hirn-Schranke. Da der IgG-Gehalt im Liquor dadurch einer Variabilität unterlegen ist, kann er nicht als alleiniger Indikator einer intrathekalen IgG-Synthese in Erwägung gezogen werden. Stattdessen wurden in der Humanmedizin zahlreiche mathematische Modelle entwickelt, von denen die intrathekale Syntheserate nach TOURTELLOTTE (1975) und das Modell nach REIBER und FELGENHAUER (1987) angewendet werden. Ein weiteres weit verbreitetes Modell ist der IgG-Index nach LINK und TIBBLING (TIBBLING et al., 1977):

| |
|---|
| IgG Index = Q_{IgG}/Q_{Alb} |
|---|

Dabei wird das Verhältnis zwischen dem Immunglobulinanteil, der aus dem Serum in das Liquorkompartiment diffundiert zu dem Immunglobulinanteil, welcher direkt im zentralen Nervensystem (QIgG) produziert wird, beschrieben und durch Miteinbeziehen des Albuminquotienten (QAlb) in Bezug zum Status der Blut-Hirn Schranke gebracht.

Im Allgemeinen hat sich die Verwendung des zuletzt genannten „Link-Index“ als zuverlässigstes Modell durchgesetzt, da es sich um ein rein mathematisches Modell handelt, dass auf der Grundlage theoretischer Überlegungen entwickelt wurde. Die intrathekale Syntheserate nach TOURTELLOTTE und das Modell nach REIBER und FELGENHAUER basieren beide auf empirischen Erkenntnissen und werden von den Autoren anhand neuerer Patientendaten auch immer wieder aktualisiert. Sie sind also am Menschen für den Menschen entwickelt und ihr Einsatz in der Tiermedizin wäre zumindest fraglich (SCHINDLER, 2000).

Aufgrund dieser Überlegung wird in der Tiermedizin der IgG-Index nach LINK und TIBBLING verwendet. Die Untersuchungen von SCHINDLER (2000) zum IgG-Index bei verschiedenen Erkrankungen des ZNS beim Hund hat gezeigt, dass der IgG-Index das Auftreten einer intrathekalen IgG-Produktion deutlich besser eingrenzt, als der alleinige IgG-Gehalt im Liquor. Während beispielsweise Hunde mit orthopädischen Krankheiten zu 45 % und Hunde mit idiopathischer Epilepsie zu 5% Erhöhungen des IgG-Gehalts im Liquor aufwiesen, zeigte keiner dieser Hunde eine Erhöhung des IgG-Index.

2.8.6 Proteine aus dem ZNS

Ungefähr 20 % der Proteine im Liquor cerebrospinalis entstehen im ZNS selber. Sie werden als sogenannte „brain-derived proteins“ beschrieben (REIBER, 2003), sind aber selten spezifisch für das Gehirn (THOMPSON, 1988).

Verglichen mit ihrer Konzentration im Serum kommen die „brain-derived proteins“ aber in deutlich höheren Konzentrationen im Liquor vor. Dies führt zu einem Netto-Ausstrom aus dem Liquor in die Blutbahn, im Gegensatz zu Albumin und den Immunglobulinen mit einem Netto-Einstrom in die Gehirnflüssigkeit.

Aufgrund ihrer unterschiedlichen Herkunft aus dem Gehirnparenchym können diese Proteine in drei Gruppen unterteilt werden (REIBER, 2001):

1. Proteine aus Neuronen und Gliazellen

- Tau-Protein, S-100, NSE (neuronen-spezifische Enolase)

2. Proteine aus den Leptomeningen

- β -trace Protein, Cystatin C

3. Proteine mit einem zusätzlichen Anteil aus der Blutbahn

- Transthyretin, ACE (angiotensin converting enzyme), s-ICAM (soluble intercellular adhesion molecule)

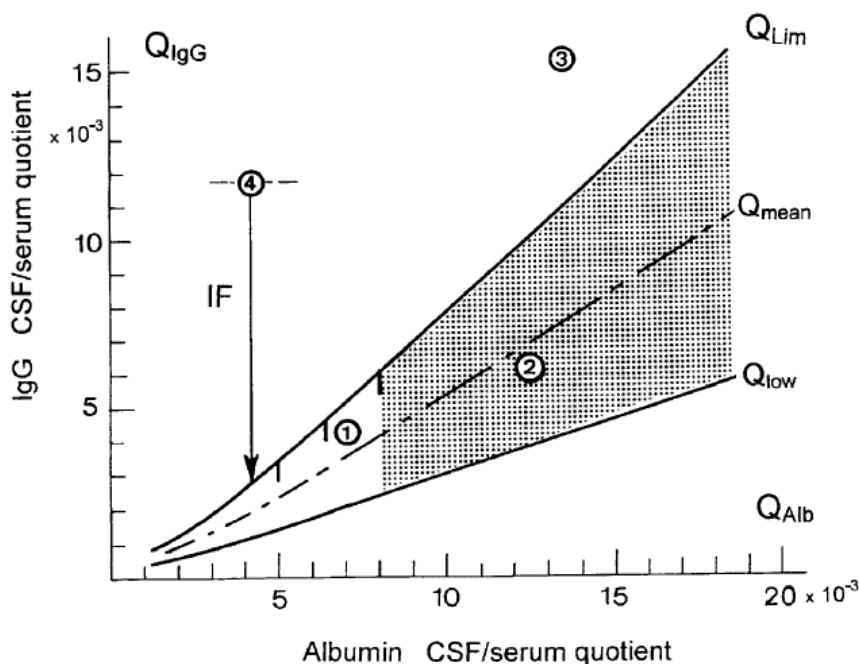
Die Analyse dieser Proteinfractionen stellt in der Humanmedizin eine wichtige Erweiterung der Liquordiagnostik dar (REIBER, 2001). Anhand dieses Proteinprofils ergeben sich Hinweise zur Unterscheidung möglicher Ursachen für Demenz, wie Creutzfeldt-Jakob, Alzheimer oder Multiinfarkt-Demenz (ZERR, BODEMER, RÄCKER et al., 1995; OTTO und STEIN et al., 1997; ANDREASEN et al., 1998).

Tabelle 7: Liquorkonzentrationen und Konzentrationsgradienten von Proteinen aus dem Blutsystem und ZNS (modifiziert nach REIBER, 2001)

| Protein | MW (kDa) | Liquorkonz. | Liquor / Serum Verhältnis |
|------------------------|-----------------|--------------------|----------------------------------|
| Albumin | 67 | 245 mg/l | 1:205 |
| IgG | 150 | 25 mg/l | 1:440 |
| IgA | 170 | 1,0 mg/l | 1:800 |
| IgM | 900 | 0,2 mg/l | 1:3400 |
| β -trace Protein | 25 | 16,6 mg/l | 34:1 |
| Cystatin C | 13,3 | 3,1 mg/l | 5:1 |
| Tau-Protein | 55-74 | 0,20 μ g/l | 10:1 |
| S-100 B | 21 | 1,5 μ g/l | 18:1 |
| Transthyretin | 55 | 17 mg/l | 1:18 |
| ACE | 150 | - | 1:100 |
| s-ICAM | 90 | 1,5 μ g/l | 1:190 |
| NSE | 78 | 8 mg/l | 1:1 |

2.9 Analyse der Liquorproteine in der Humanmedizin

Die Liquorproteinprofile können in der Humanmedizin mit hyperbolen Verlaufskurven nach REIBER graphisch dargestellt werden. Sie werden auch als Reiberdiagramme bzw. Reibergramms (DORTA-CONTRERAS, 1999) bezeichnet. Anhand dieser hyperbolen Verlaufskurven können zusätzlich IgA und IgM dargestellt und in Bezug zum Albuminquotienten gebracht werden. Mit Hilfe der Reiberdiagramme wird graphisch der Immunglobulinquotient gegen den Albuminquotienten (AQ) als Bezugspunkt und Kenngröße für die Schrankenfunktion aufgetragen. Dieses Diagramm gibt damit die Möglichkeit gleichzeitig eine intrathekale IgG-Synthese und Schrankenstörung darzustellen und berücksichtigt außerdem die Möglichkeit einer Änderung der Selektivität der Schrankenfunktion.



- (1) Normalbefund
- (2) Schrankenstörung
- (3) Kombination Schrankenstörung + intrathekale Immunglobulinsynthese
- (4) Intrathekale IgG Synthese ohne Schrankenstörung

Abbildung 1: Liquorproteinprofile zur Differenzierung von autochthoner IgG Synthese und Schrankenstörung (modifiziert nach REIBER, 2001)

In diesem Diagramm wird der Liquor-Serum-Quotient der IgG-Konzentration (Q_{IgG}) auf der Ordinate gegen den Liquor-Serum-Quotienten der Albuminkonzentration (Q_{Alb}) auf der Abszisse als Bezugspunkt und Kenngröße für die Schrankenfunktion aufgetragen. Q_{lim} bezeichnet den oberen, Q_{mean} den mittleren und Q_{low} den unteren Referenzbereich.

Als reine Schrankenstörung ohne begleitende intrathekale IgG Synthese werden in der Humanmedizin folgende neurologische Erkrankungen beschrieben:

- Polyradikuloneuropathien (Ausnahmen: akute *Neuroborreliose*, paraneoplastische Neuropathien)
- primäre Hirntumoren
- Initialstadien akuter bakterieller Meningitiden (*Streptokokken*, *Hämophilus*, *Neisserien*)
- Infarkte vaskulärer Genese, Rückenmarkskompressionen
- Stenosen des Rückenmarkkanals
- Systematrophien des Nervensystems und Großhirnatrophien

Laut REIBER et al. (2001) kommt es bei folgenden neurologischen Erkrankungen zu einer intrathekalen Immunglobulinsynthese mit oder ohne Blut-Hirn Schranken (BHS) Störung:

Bakterielle Infektionen:

- Bakterielle Meningitis: Starke BHS-Störung mit einer möglichen intrathekalen IgA Synthese ab dem dritten Tag nach einer Infektion (*Meningokokken* und *Pneumokokken*)
- *Neurotuberkulose*: Starke BHS-Störung einhergehend mit dominanter IgA Synthese und oligoklonaler IgG Synthese (Ausnahme: Bei spinaler Variante auch IgM Synthese)
- *Neuroborreliose*: Variable BHS-Störung mit dominierender IgM Synthese (IgM > IgA > IgG). Anhand dieser Liquorbefunde kann mit einer Spezifität von 96 % und einer Sensitivität von 70 % die Diagnose Neuroborreliose gestellt werden
- *Neurosyphilis*: Normale bis leicht gestörte BHS mit begleitender IgM Synthese, fehlende IgA Synthese (zum Teil starke Ähnlichkeit mit den Immunglobulinprofilen bei multipler Sklerose)

Virale Infektionen:

- Varzellenezephalitis: keine BHS-Störung, starke intrathekale Immunglobulinsynthese (erhöhter *Varzellavirus*-spezifischer Antikörper-Index)
- *HIV*-Enzephalitis: Normale bis leicht gestörte BHS mit schwacher Immunantwort, zum Teil oligoklonale IgG Banden
- *Herpes simplex*-Enzephalitis: Keine BHS-Störung, nach sechs bis zehn Tagen oligoklonale IgG Banden, diese können für Jahre im Liquor persistieren
- Opportunistische Infektionen: Mittlere BHS-Störung, alle drei Immunglobuline können vorkommen

Nicht-entzündliche ZNS Erkrankungen:

- Infarkt: Keine Immunglobulinsynthese; Ausnahme bei Infarkten mit infektiöser Ursache (*Zoster-Angiitis* mit IgG und IgM Synthese)
- Degenerative Erkrankungen: Kein Nachweis oligoklonaler IgG Synthese; Ausnahmen wurden bei Alzheimer und Creutzfeldt-Jakob berichtet
- ZNS Tumoren: Keine Immunglobulinsynthese; Ausnahme bei sekundären Entzündungen oder bei einem ZNS-Lymphom und Meningiom
- Multiple Sklerose: Intakte BHS-Funktion; deutliche Erhöhung der IgG Synthese

2.10 Analyse der Liquorproteine in der Tiermedizin, vor allem bei der Katze**2.10.1 Albuminquotient**

Wie in der Humanmedizin ist die Bestimmung des Albuminquotienten als Maß der Blut-Hirn-Schrankenfunktion in der Veterinärmedizin anerkannt. Grundsätzlich ist bei allen Erkrankungen, die mit einer verlangsamten Zirkulation des Liquor cerebrospinalis bzw. einer Störung der Blut-Hirnschranke und dem dadurch bedingten vermehrten Austausch der Moleküle einhergehen, eine Veränderung des Albuminquotienten zu erwarten. Dazu gehören Infektionskrankheiten des

zentralen Nervensystems, Neoplasien (primär und sekundär), degenerative Myelopathien und kompressive Erkrankungen.

Studien über den Albuminquotienten liegen beim Meerschweinchen (SUCKLING et al., 1984), beim Rind (SCHLOTE, 1988), beim Pferd (ANDREWS et al., 1990 und 1995; MILLER et al., 1999) und beim Fohlen (ANDREWS et al., 1994) vor. Zusätzlich wurden beim Hund zahlreiche Arbeiten mit dem Ziel der Untersuchung der Blut-Hirn Schrankenfunktion durchgeführt (BICHSEL et al., 1984; VANDEVELDE et al., 1986; SORJONEN et al., 1989; TIPOLD, PFISTER et al., 1993; SCHINDLER, 2000).

Beim Hund zeigten sich leichte bis mittlere Schrankenstörungen bei folgenden Erkrankungen: Entzündliche Form der Staupe (BICHSEL 1984; SORJONEN, 1987; TIPOLD, 1995), degenerative Myelopathien und Rückenmarkskompressionen (BICHSEL et al., 1984; SORJONEN, 1987). Schwere Schrankenstörungen treten bei der granulomatösen Meningoenzephalitis, eitrigen Enzephalitiden und Tumoren des zentralen Nervensystems auf (BICHSEL, 1984). In einer Studie von SCHINDLER (2000) wurden 122 Liquor-Serum-Paare neurologisch erkrankter Hunde untersucht. Dabei zeigte sich, dass bei 37 (30 %) der untersuchten Hunde der Albuminquotient erhöht war. Das waren 70 % der Entzündungen, 64 % der Tumoren, 14 % der Bandscheibenvorfälle und in keinem Fall bei der Gruppe der idiopathischen Epilepsien.

Bei der Katze liegen wenige Arbeiten zur Bestimmung der Blut-Hirn Schrankenfunktion vor. PODELL et al. (1997a) konnten eine leichte bis mittlere Schrankenstörung bei natürlich und experimentell mit *FIV* infizierten Katzen nachweisen. Dabei wurden experimentell fünf SPF Katzen mit einem *FIV*-Isolat intravenös infiziert. Anschließend wurde nach einer Zeitspanne von zwei, vier, zehn und sechzehn Monaten Liquor entnommen und auf den antiviralen Antikörpergehalt, die Zellzahl, das Gesamtprotein und den Albuminquotienten zur Einschätzung der BHS Funktion untersucht. Es zeigte sich eine Korrelation zwischen dem Zeitpunkt der Liquorentnahme und dem Albuminquotienten. 16 Monate nach der experimentellen Infektion war dieser Wert am stärksten erhöht. PODELL et. al. (1997a) interpretieren dies als ein Maß für die Stärke der BHS-Funktionsstörung.

Eine weitere Infektionskrankheit bei der eine verminderte BHS Funktion zu erwarten ist, ist eine Infektion mit der ZNS Form der feline infektiösen Peritonitis. Dies ist auf die Tatsache zurückzuführen, dass bei der zentralnervösen Form der FIP immer eine Vaskulitis vorliegt. Durch die Ablagerung von Immunkomplexen und die Fixierung von Komplementfaktoren kommt es zu pyogranulomatösen Entzündungsreaktionen (ADDIE und JARRETT, 1990; SPARKES et al., 1991). Häufig sind die kleinen Gefäße betroffen, da sich dort die Makrophagen ablagern, die das Virus in sich tragen (MC REYNOLDS und MACY, 1997).

2.10.2 Intrathekale IgG-Produktion

Als zuverlässigstes Modell zur Beschreibung einer intrathekalen IgG Produktion hat sich, wie in der Humanmedizin die Anwendung des IgG Index nach LINK und TIBBLING et al. (1977) etabliert.

Nicht alle entzündlichen Erkrankungen des ZNS gehen mit einer Pleozytose und/oder Blut-Hirn Schrankenstörung einher. Daher bietet der Nachweis einer intrathekalen IgG-Produktion eine erweiterte diagnostische Möglichkeit bei der Aufarbeitung zentralnervöser Erkrankungen. Die Differenzierung verschiedener Formen oder Akuitätsstadien von Krankheiten, wie beispielsweise der Staupe, soll durch die Bestimmung des IgG-Index erleichtert werden (BICHSEL et al., 1984; VANDEVELDE et al., 1986; JOHNSON et al., 1988; TIPOLD et al., 1993 und 1994). Differenzialdiagnostische Anwendung findet der IgG-Index auch beim Pferd (ANDREWS et al., 1990 und 1995). SCHINDLER et al. (2000) konnte in seiner Arbeit über die Evaluierung der Blut-Hirn Schranke des Hundes bei drei Hunden mit White-Dog-Shaker-Disease eine alleinige intrathekale IgG-Produktion ohne Schrankenstörung nachweisen. Das gleiche Ergebniss zeigt sich auch bei einem Hund, der an der FSME erkrankt war.

Im Vergleich zum Hund wurden nur wenige Arbeiten bei der Katze zur Untersuchung des IgG Index angefertigt (Tabelle 8). Bei der Katze wird eine deutliche Erhöhung der IgG Konzentration und des IgG Index im Liquor von Katzen mit einer *FIV*-Infektion beschrieben (DOW et al. 1990). Eine Studie von LIN (1992) ergab keine Erhöhung des IgG Index bei experimentell infizierten Katzen mit *Toxoplasma gondii*. In der Literatur werden keine weiteren

Untersuchungen zur Produktion intrathekalen IgG Antikörper bei der Katze angegeben.

Tabelle 8: Referenzwerte für den IgG Index bei der Katze

| IgG Index | Methode | Probenanzahl | Literatur |
|--|--------------------------|---------------------|-------------------|
| 0,61-1,65 ² | ELISA | 6 | Dow et al., 1990 |
| 0,297 ¹ 0,127 ³ | Immun- elektrophorese | 33 | Rand et al., 1990 |

¹ : Mittelwert

² : Minimum – Maximum

³ : Mittelwert ± Standardabweichung

2.10.3 Weitere Immunglobuline

Neben der Bestimmung von Immunglobulin G hat in der Tiermedizin die Messung von Immunglobulin A an Bedeutung gewonnen. Ist dieser Parameter sowohl im Blut, als auch im Liquor erhöht, ist dies sehr stark indikativ für das Vorliegen einer Steroid-Responsiven-Meningitis-Arteriitis (SRMA) (TIPOLD und JAGGY, 1994). Die Messung eines erhöhten Wertes im Liquor alleine ist nur hinweisend für eine primäre (entzündlich/infektiöse) oder sekundäre Immunreaktion (z.B. bei Neoplasien) im ZNS.

Weitere Proteine, wie das „Myelin Basic Protein“ (SUMMERS et al., 1987), das „S-100 Protein“ und das „C-reactive protein“ können zur zusätzlichen Eingrenzung einer klinischen Diagnose herangezogen werden. Allerdings haben diese Messungen in der Tiermedizin keinen diagnostischen Wert, da zu viele neurologische Krankheiten mit einer Erhöhung dieser Parameter einhergehen (TIPOLD, 2002).

2.10.4 Spezifische Antikörper

Bei der Katze liegen mehrere Studien vor die spezifische Antikörper im Liquor cerebrospinalis nachweisen. Zu nennen sind hier die protozoäre Enzephalitis (*Toxoplasma gondii*) (LIN et al., 1992; MUNANA et al., 1995; LAPPIN et al., 1996), die neurologische Form der felines infektiösen Peritonitis (FIP) (FOLEY et al., 1998; BOETTCHER, 2004), sowie Infektionen mit dem *felines Immundefizienz Virus (FIV)* (DOW et al., 1990; PHILLIPS et al., 1994), dem *Borna-Virus* (JOHANNSON et al., 2002), und *Herpes-Virus 1* (DAWSON et al., 1998).

Nur in wenigen Fällen wurde jedoch gleichzeitig die BHS evaluiert oder ein antikörperspezifischer Index bestimmt. Dadurch ist die Aussagekraft der gemessenen Antikörper von eingeschränktem Nutzen, da eine Kontamination mit Antikörpern aus der peripheren Blutzirkulation nicht ausgeschlossen werden kann. Ein Beispiel für die Notwendigkeit der Bestimmung der BHS Funktion ist eine Leishmanniose Studie von LIMA et al. (2003). Hier wurde bei 32 Hunden im Liquor cerebrospinalis Antikörper gegen *Leishmania chagasi* gefunden. Dabei zeigten aber nur drei der infizierten Tiere eine neurologische Symptomatik. Auch in der histopathologischen Untersuchung konnte keine Infektion des zentralen Nervensystems nachgewiesen werden.

In einer Studie von BOETTCHER (2004) wurden bei 67 Katzen im Liquor und im Serum spezifische *Coronavirus*-Antikörper gemessen. Bei 18 % aller untersuchten Katzen (12 von 67) konnten *Coronavirus*-Antikörper im Liquor nachgewiesen werden. Neben sechs Katzen mit einer FIP Meningoenzephalitis zeigten auch vier Katzen mit einer extraneuralen FIP und zwei Katzen mit Gehirntumoren Antikörper im Liquor. Nur seropositive Katzen hatten *Coronavirus*-Antikörper im Liquor. Zusätzlich zeigten nur Tiere mit einer Serumtiterhöhe von größer oder gleich 1:4096 Antikörper im Liquor. Serum- und Liquorantikörper waren über eine mittlere, positive Korrelation statistisch hoch signifikant verbunden ($r=0,652$; $p=0,000$). Obwohl der Einfluss der Erythrozytenzahl auf die Antikörper im Liquor nicht statistisch signifikant war, traten tendenziell mit steigender Zahl der Erythrozyten auch höhere Titer im Liquor auf. Die statistisch hoch signifikante Korrelation zwischen Liquor- und Serumantikörpern wurde als

Hinweis auf eine gestörte Blut-Hirn-Schranke oder eine Blutkontamination interpretiert.

Zukünftige Untersuchungen zur FIP Diagnostik im Liquor sollten daher den Status der Blut-Hirn Schranke und den Anteil der intrathekal produzierten Antikörperfraktion evaluieren.

In der Literatur wurden bisher keine Untersuchungen zu dieser Fragestellung durchgeführt. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war daher auch u.a. die Bestimmung der Integrität der BHS bei FIP.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methodik

3.1.1 Material

3.1.1.1 Patientengut

Das Probenmaterial für diese Arbeit stammt aus dem Patientengut der Medizinischen und der Chirurgischen Tierklinik der Ludwigs-Maximilians-Universität München. Insgesamt gingen 72 Katzen in die vorliegende Studie ein. Ein Teil der Katzen wurde im Zeitraum von Juni 2001 bis Juni 2004 in der Medizinischen Kleintierklinik mit neurologischen Symptomen vorgestellt. Zur Diagnosestellung wurde diesen Tieren subokzipital Liquor, sowie eine venöse Serumprobe entnommen.

Zusätzlich wurde im gleichen Zeitraum einer Vergleichsgruppe neurologisch symptomfreier Katzen ebenfalls ein Liquor/Serumpaar entnommen und untersucht. Diese Tiere wurden aufgrund einer schweren Allgemeinerkrankung in der Medizinischen Kleintierklinik euthanasiert und zeigten zu diesem Zeitpunkt keine Symptome einer Erkrankung des zentralen Nervensystems.

3.1.1.2 Gruppeneinteilung

Die Patienten wurden in drei Hauptgruppen eingeteilt:

- Gruppe I neurologisch symptomfreie Katzen (n = 37)
- Gruppe II neurologisch erkrankte Katzen (n = 23)
- Gruppe III Katzen mit extraneuraler FIP (n = 12).

Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen

Dieser Gruppe wurden 37 Katzen ohne neurologische Symptome zugeteilt. Zur endgültigen Bestätigung der klinischen Verdachtsdiagnose wurde von allen euthanasierten Tieren eine pathologische und neuropathologische Untersuchung eingeleitet. Diese beinhaltete immer eine histopathologische Untersuchung des Gehirns. Die Sektionen erfolgten im Institut für Pathologie, Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München, Vorstand Prof. Dr. Schmahl.

Alle Katzen wurden vor der Euthanasie einer gründlichen klinischen und neurologischen Untersuchung unterzogen. Dabei wurden Allgemeinzustand, Verhalten, Körperinnentemperatur, Ernährungs- und Pflegezustand, Haut und Schleimhäute, Lymphknoten, Herz, Kreislauf, Atmungsapparat und der Verdauungstrakt beurteilt.

Um den Gesundheitszustand der Tiere weiter einzuschätzen, wurde von jedem Patienten eine labordiagnostische Untersuchung eingeleitet. Diese beinhaltete ein rotes und ein weißes Blutbild mit Differentialblutbild, Enzyme (AP, ALT, AST), sowie Eiweiß, Albumin, Gesamtbilirubin, Harnstoff, Kreatinin, Blutglukose, Triglyceride, Cholesterin, Elektrolyte (Phosphat, Natrium, Chlorid, Kalium) und den Urinstatus.

Gruppe II: Neurologisch erkrankte Katzen

In dieser Gruppe wurden Tiere erfasst, die aufgrund einer neurologischen Symptomatik in der Medizinischen Kleintierklinik vorgestellt wurden. Ein geringer Teil dieser Tiere stammt aus dem Patientengut der Chirurgischen Tierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München. Dieser Gruppe wurden 23 Tiere zugeteilt.

Neben den klinischen Untersuchungsbefunden basierte die endgültige Diagnose bei allen Tieren dieser Gruppe auf einer neuropathologischen und histologischen Untersuchung.

Bei Tieren, deren neurologische Symptomatik einen Hinweis auf ein hepatoenzephalisches Syndrom gab, wurden zusätzlich Leberfunktionstests durchgeführt. Diese beinhalteten prae- und postprandiale Serumgallensäuren, sowie einen

Ammoniaktoleranztest. Bei einem Teil dieser Gruppe wurde zusätzlich eine computer- oder kernspintomatographische Untersuchung des Gehirns durchgeführt.

Gruppe II a: Katzen mit Neoplasien im ZNS

In diese Gruppe gingen acht Tiere ein. Die Diagnosen basierten auf den Befunden der makroskopischen und histopathologischen Untersuchung des Gehirns oder Rückenmarks. Alle acht Katzen litten an einem Tumor im Gehirn.

Eine differenzierte neuropathologische und histologische Betrachtung der einzelnen Neoplasien ergab folgende Befunde:

1. Primäre ZNS Tumoren:

- Meningiom (n = 4)
- Astrozytom (n = 1)

2. Sekundäre Metastasen im ZNS:

- Plattenepithelkarzinom (n = 2)
- Lymphom (n = 1)

Gruppe II b: Katzen mit zentralnervöser FIP

In diese Gruppe gingen 15 Tiere ein. Bei allen Tieren wurde eine pathologische und neuropathologische Untersuchung durchgeführt. Die Histologie zeigte typische Veränderungen einer ZNS FIP. Es konnten entzündliche Infiltrate mit einem gemischten Zellbild, bestehend aus Plasmazellen, Makrophagen, Granulozyten und Lymphozyten nachgewiesen werden. Das Verteilungsmuster entsprach der für die zentralnervöse FIP typische Lokalisation: Perivaskuläre Infiltrate im Gehirnparenchym, in den Meningen, im Ependym und im Plexus choroideus. Ausnahme war eine Katze mit einem ungewöhnlichen intrazerebralem Verteilungsmuster: Die Veränderung war auf nur eine Thalamusseite beschränkt. Eine Katze zeigte eine ausschließliche FIP-Beteiligung des Rückenmarks. Bei fast allen Katzen dieser Gruppe wurde auch eine extraneurale Manifestation der felines infektiösen Peritonitis diagnostiziert. Dabei kam sowohl die pyogranulomatöse Organmanifestation, als auch die exsudative Form der FIP vor. Nur bei einer Katze lag eine reine zentralnervöse Form der FIP vor.

Gruppe III: Katzen mit extraneuraler FIP Infektion

Weitere 12 Katzen zeigten in der histopathologischen Untersuchung extraneurale Symptome einer FIP Erkrankung (pyogranulomatöse, perivaskuläre Entzündung der Organe mit oder ohne Exudat); bei der histologischen Untersuchung des Gehirnparenchyms konnte allerdings eine Beteiligung des ZNS definitiv ausgeschlossen werden. Diese Tiere zeigten bei der klinisch-neurologischen Untersuchung keine Auffälligkeiten. Diese Gruppe diente als Kontrollgruppe für die Gruppe II b.

3.1.1.3 Proben

Von allen Katzen wurde zum gleichen Zeitpunkt eine Liquor- und eine Serumprobe entnommen und für die weiterführende Diagnostik bei –70 °C asserviert.

Das Volumen der Probenmengen variierte individuell. Als Mindestmenge zur Durchführung aller geplanten Untersuchungen (Zellzahl, Zelldifferenzierung, Pándytest, Gesamtprotein, Albumin-Quotient und IgG Index) waren jedoch mindestens 1000 µl pro Probe erforderlich.

3.1.1.4 Geräte und Lösungen

- Nephelometer BN 100 (Firma Behringwerke AG, Marburg)
- gesättigte Carbonsäurelösung in Aqua dest. zur semiquantitativen Gesamteiweißbestimmung (Firma Merck Diagnostica, Lot Nr. 1.09047.0250)
- schwarzes Uhrglas
- Plastikpipetten
- N-Reaktionspuffer für die Nephelometrie (Behringwerke AG, Marburg, OUMS 60/61)
- N-Diluens für die Nephelometrie (Behringwerke AG, Marburg, OUMT 60/61)
- Tween Waschlösung
- N-Probenmagazin (Behringwerke AG, Marburg, OVCM 30)
- NA-Küvettensegmente (Behringwerke AG, Marburg, OVCM 10/11)
- 20 %ige Trichloressigsäure (Firma Bender und Hobein, München Art. Nr. 1.09415.0500)

- N-Protein Standard SY (Behringwerke AG, Marburg, OQIM 13)
- N/T Proteinkontrollen SL/L (Behringwerke AG, Marburg, OQIN 13)
- Standard-Albumin, Powder Katze (Firma Sigma-Aldrich, Taufkirchen; Art. Nr. A 4662)
- Katzen Albumin Antiserum aus der Ziege (Firma Bethyl Laboratories., Art. Nr. A 20-109A, 1 mg/ml)
- IgG Standard Katzen (Purified Immunoglobulin der Firma Sigma, München)
- Katzen IgG Antiserum aus der Ziege (Firma Bethyl Laboratories)
- Aqua bidest (Firma Spicker, München)

3.1.1.5 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Proben wurden, sofern sie tiefgefroren waren, zunächst im Kühlschrank bei +4 °C aufgetaut und dann auf Zimmertemperatur erwärmt. Danach erfolgte eine Zentrifugation bei 3000 Umdrehungen pro Minute für fünf Minuten, um einer Trübung des Probenmaterials durch Kryoglobuline vorzubeugen. Die Entstehung von Kryoglobulinen wird durch das Einfrieren und Wiederauftauen der Proben verursacht. Die Zentrifugation verhindert die Erstellung von falsch hohen Messwerten, die aufgrund der verstärkten Streuung bedingt durch die Trübung entstehen würden.

Die hergestellten Albumin- und IgG Lösungen wurden in Aliquots von 300 µl bei –20 °C gelagert und bei Bedarf aufgetaut.

Zur weiteren Kontrolle wurde ein Pool aus Liquor und Serum erstellt. Die Zusammenstellung des Pools erfolgte aus Liquores bzw. Seren, die nicht mehr zur weiteren Diagnostik benötigt wurden. Beide Materialien wurden im Rahmen einer Diagnosefindung in der Medizinischen Kleintierklinik bzw. Chirurgischen Tierklinik gewonnen.

Die Proben des Serum- und Liquor pools wurden in einer Größenordnung von 300 µl Aliquots bei –20 °C tiefgefroren. Diese Menge ist erforderlich, um ein luftblasenfreies und damit fehlerfreies Pipettieren des Nephelometers zu gewährleisten.

3.1.2 Methodik

3.1.2.1 Liquorgewinnung

Die Punktion des Liquors wurde unter Vollnarkose durchgeführt. Allen Tieren wurde zunächst ein intravenöser Zugang gelegt, über welchen dann ein Sedativum (Diazepam®, Wirkstoff: Valium) gefolgt von einem Narkotikum (Rapinovel®, Wirkstoff: Propofol) verabreicht wurde. Teilweise wurde zusätzlich eine Inhalationsnarkose (Isofluran/Sauerstoff) angewendet.

Für die Liquorpunktion wurde das narkotisierte Tier in rechte Seitenlage gebracht und parallel zur Tischkante gelagert. Die Punktion erfolgte subokzipital. Zunächst wurde die Hautstelle zwischen Protuberantia occipitalis und den Atlasflügeln rasiert, gereinigt und mit einer Kombination aus Alkohol und Jodspray desinfiziert. Grundsätzlich erfolgte die Liquorgewinnung unter sterilen Kautelen. Von einem Helfer wurde der Kopf in einem Winkel von ca. 90° zur Halswirbelsäule nach ventral gebeugt. Die Punktion erfolgt in der Mitte eines imaginären Dreiecks, das durch die cranialen Ränder der Atlasflügel und die Protuberantia occipitalis geformt wird (VANDEVELDE, 2000).

Zur Punktion wurden sterile Handschuhe verwendet. Mittels einer Punktionskanüle mit Mandrin (Fa. Braun, Spinocan 0,73 x 0,75 mm/22G x 3'') wurde vorsichtig unter die Haut eingegangen, wobei der schräg angeschliffene Teil der Kanülenspitze in Richtung Kopf wies. Anschließend wurde die Nadel unter gebremstem Druck in Millimeterschritten durch die Nackenmuskulatur geführt.

Sobald die Kanüle die dorsale atlanto-occipitale Membran durchstoßen hat und in den Subarachnoidalraum vorgedrungen ist, war ein leichter Verlust an Widerstand zu spüren. Dies kennzeichnete das Erreichen der Cisterna magna. Bis zu diesem Punkt wurde schrittweise das eventuelle Abtropfen des Liquors durch das Herausziehen des Mandrins kontrolliert, um ein Durchstechen der Cisterna zu vermeiden. Während der ganzen Prozedur wurde der Kanülenansatz durch die freie Hand gestützt. Die austretenden Liquortropfen wurden in einer sterilen Spritze aufgefangen. Anschließend wurde die Kanüle zusammen mit dem Mandrin vorsichtig herausgezogen und die Einstichstelle steril abgedeckt.

3.1.2.2 Serumgewinnung

Zu jeder Liquorportion wurde eine Serumprobe von dem gleichen Untersuchungstag gewonnen.

Auch hier wurde die zu punktierende Stelle zunächst rasiert und desinfiziert. Anschließend erfolgte die Blutentnahme entweder an der Vena cephalica antebrachii, der Vena saphena lateralis oder an der Vena jugularis. Die Punktion wurde mit einer Kanüle (Sterican®, Fa. Braun, Melsungen, 0,90 x 40 mm/20 G x 11/2“) durchgeführt und das Probenmaterial in einem Serumröhrchen (Fa. Sarstedt, 5 ml) aufgefangen. Zur weiteren Bearbeitung wurde das Serum nach einer Sedimentationszeit von 30 Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und zu 250 µl Aliquots bei -20 °C bzw. -70 °C tiefgefroren.

3.1.2.3 Probenverarbeitung

Die Untersuchung des Liquor cerebrospinalis erfolgte innerhalb von 30 min nach der Entnahme. Nach der makroskopischen Beurteilung von Farbe und Beschaffenheit wurde eine Menge von ungefähr 300-500 µl für die Herstellung von Zytopräparaten abgeteilt. Die Untersuchung erfolgte am Institut für Neuropathologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München, Vorstand Prof. Dr. Schmahl.

Aus einem weiteren Teil des nativen Liquors wurden die Pándy-Reaktion, die Leukozyten- und die Erythrozytenzahl bestimmt. Für die Zellzählung wurden 90 µl Liquor mit 10 µl einer Eisessiglösung vermischt. Dies führt zur Lysierung der Erythrozytenfraktion. Anschließend kann diese Lösung zur Bestimmung der Leukozytenzahl verwendet werden. Aus dem nativen Liquor erfolgte die Bestimmung der Erythrozytenzahl. Beide Werte wurden in der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer ermittelt.

Danach wurde der Liquor bei 1500 Umdrehungen pro Minute fünf Minuten lang zentrifugiert und der Überstand abpipettiert. Daraus wurden in weiteren Verfahren Gesamtprotein, IgG Index und der Albumin-Quotient bestimmt. Ein Großteil der Proben wurde zunächst in 200-300 µl Aliquots bei -70 °C asserviert.

3.1.2.4 Zytologische Untersuchung der Liquorproben

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden die zytologischen Präparate mit einer Zytocentrifuge angefertigt. Dazu wurden jeweils zwei Objektträger mit je 200 µl nativen Liquors beschickt. Zuvor wurden die Objektträger in eine spezielle Vorrichtung eingespannt und mit Plastikaufsätzen bestückt. In diese Plastikaufsätze wurde der Liquor eingefüllt. Anschließend wurden die Proben für vier Minuten bei 1500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und ein zweites Mal zusammen mit einer Filterkarte bei 2000 Umdrehungen für eine Minute zentrifugiert. Dies hatte zur Folge, dass die noch vorhandene Flüssigkeit aufgrund der Schwerkraft in das Filterpapier gedrückt und aufgesaugt wurde, während die Zellen auf dem Objektträger angereichert wurden. Zur Stabilisierung wurde jeweils einer Probe eine gleiche Menge bovines Serumalbumin (BSA) beigefügt.

Nach diesem Prozess wurden die Objektträger getrocknet und zur weiteren mikroskopischen Diagnostik nach Wright gefärbt.

Die Zelldifferenzierung erfolgte bei 1000facher Vergrößerung mit Ölimmersion. Sie diente in dieser Arbeit ausschließlich der Diagnosesicherung.

3.1.2.5 Funktionsprinzip Nephelometer

Das Nephelometer erlaubte die schnelle, vollautomatische und quantitative Bestimmung von Präzipitationsreaktionen. Werden eine antigenhaltige Probe und ein korrespondierendes Antiserum in eine Meßküvette gegeben, bilden sich daraus Antigen-Antikörper-Komplexe. Licht, das durch die Meßküvette strahlt, wird an diesen Immunkomplexen gestreut. Dies geschieht hauptsächlich in Vorwärtsrichtung. Das Streulicht wird dann in einem Winkel von 13° bis 24° unter Ausblendung des Primärstrahls mit einem Detektor gemessen und in ein elektrisches Signal umgewandelt, das der Konzentration der Streuteilchen und damit der Konzentration des Antigens proportional ist. Die Signale werden nun in einen digitalen Modus umgewandelt, mit den entsprechenden Messwerten der Referenzkurve verglichen und in Proteinkonzentrationen umgerechnet. Die Beziehung zwischen Antigenmenge und Meßsignal bei konstanter Antikörperkonzentration wird durch die Kurve nach HEIDELBERGER und KENDALL (Abbildung 1) veranschaulicht.

Abb. 1: Optimierte HEIDELBERGER-KENDALL-Kurve für IgG am Behring Nephelometer
 Meßbereich: 180 – 5000 mg/dl
 Normalbereich: 800 – 1800 mg/dl
 Pathologischer Grenzwert: 10000 mg/dl
 Physikalischer Meßbereich: 10 – 4096 bit
 Sicherheitsbereich: 50000 mg/dl (theoretischer Wert)

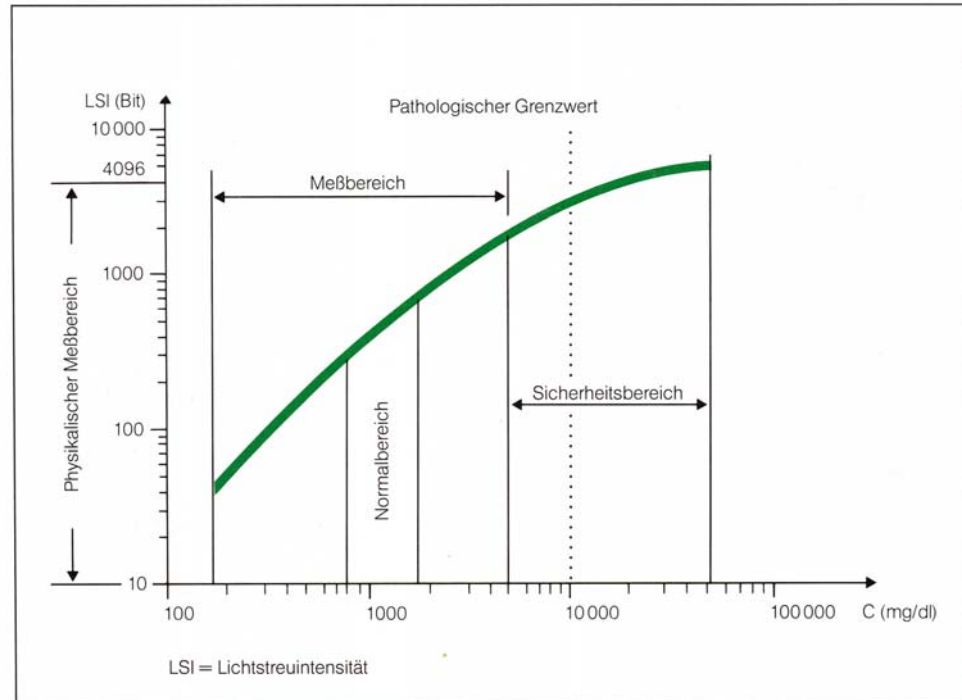
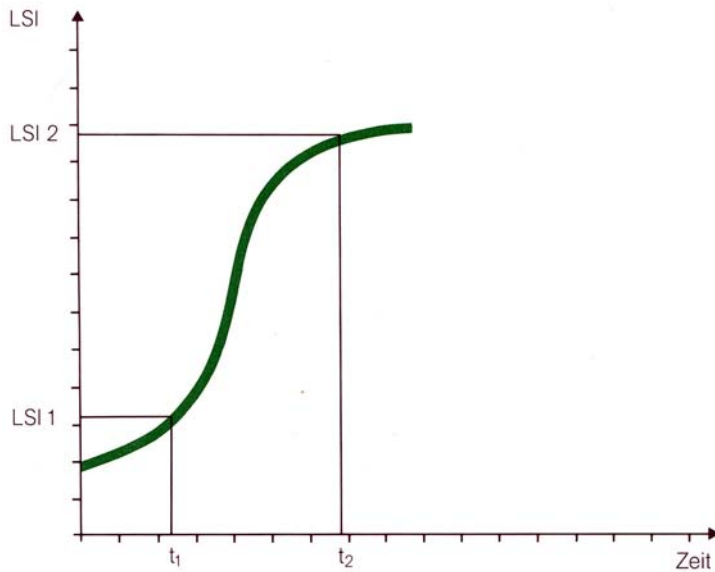


Abbildung 1: optimierte HEIDELBERGER-KENDALL-Kurve (Bedienungsanleitung Nephelometer Behring 100)

3.1.2.5.1 Bestimmungsmethode

Mit dem Nephelometer sind zwei verschiedene Methoden zur Proteinbestimmung möglich.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde mit der Fixed-Time-Methode (Abbildung 2) gearbeitet. Dabei handelt es um eine Bestimmungsmethode, die auf der Differenzbildung zweier zeitlich versetzt gewonnener Messwerte beruht. Nach der Pipettierung aller Reaktionspartner in die Meßküvette wird der erste Messwert (Gesamtblindwert) nach ca. 10 Sekunden (t_1) ermittelt. Der zweite Messwert wird nach einer Inkubationszeit von sechs Minuten (t_2) erfasst. Die aus diesen Messwerten ermittelte Zunahme des Streulichtes wird automatisch aufbereitet und die Konzentration ausgegeben.



LSI = Lichtstreuintensität

Abbildung 2: Fixed-Time Methode (Behring Nephelometer 100 Bedienungsanleitung)

3.1.2.5.2 Kalibration

Die Kalibration erfolgte vollautomatisch durch das Behring Nephelometer. Zur Konzentrationsberechnung wurden Referenzkurven nach der Mehrpunktkalibrierung verwendet. Bei der Mehrpunktkalibrierung wird die Referenzkurve anhand von verschiedenen Verdünnungsstufen des Standards und unter Zusatz eines spezifischen Antiserums vom Analyzer automatisch erstellt. Die Verdünnungsreihen des Standards sind testspezifisch so bemessen, dass die Referenzkurve die Normalbereiche und auch die vielfach höher oder niedriger liegenden pathologischen Werte erfassen kann. Die Gültigkeit der Referenzkurven beträgt maximal sieben Tage. Um optimale Ergebnisse zu erhalten, wurden die Referenzkurven für die Mikroprotein-, IgG- und Albuminmessung alle sieben Tage bzw. für jede Messung neu erstellt.

3.1.2.5.3 Gesamtprotein

Zur Erstellung der Referenzkurve für diesen Parameter wurde der humane N-Liquorprotein-Standard SY der Firma Behring AG, Mahrburg angewendet. Als Präzipitationsreagenz wurde 20 %ige Trichloressigsäure der Firma Bender und Hobein, München eingesetzt. Die Referenzkurve wurde nach dem oben genannten Funktionsprinzip vollautomatisch erstellt.

Nach dem Einfüllen der Reaktionspartner in die entsprechenden Reaktionsgefäße werden vom Nephelometer automatisch sieben Verdünnungsstufen des Proteinstandards hergestellt. Dabei bewegen sich die Verdünnungen zwischen 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640 und 1:1280. Diese Werte wurden vom humanmedizinischen Messprogramm übernommen.

Zur Optimierung der Reaktionsbedingungen werden N-Diluens und N-Pufferlösung angewendet. Dadurch wird die Reaktionsgeschwindigkeit der Antigen-Antikörperbildung erhöht und gleichzeitig unspezifische Eintrübungen während der Inkubationszeit vermieden.

Anschließend werden nach der Fixed-Time Methode die verschiedenen Proteinkonzentrationen bestimmt und die Referenzkurve berechnet. Jede gemessene Referenzkurve wird einer automatischen Qualitätskontrolle unterzogen. Dazu wird die prozentuale Abweichung von der Sollwertkonzentration für jeden Referenzpunkt berechnet. Liegt der Mittelwert über einem im Test-Schema festgelegten Maximalwert von 5 %, so ist die Referenzkurve ungültig und muss wiederholt werden.

3.1.2.5.4 Albumin

Für die Erstellung der Eichkurve wurde als Albuminstandard „Cat Albumin, Fatty Acid Free“ der Firma Sigma, München in einer Konzentration von 2500 mg/dl verwendet. Als Fällungsmittel diente „Goat anti-Cat Albumin“ der Bethyl Laboratories. Mit diesen Reaktionspartnern wurde die Referenzkurve vollautomatisch erstellt.

Dazu wurden die vom Nephelometer berechneten Mengen an Albuminstandard und Präzipitationsreagenz in das entsprechende Probengefäß der Standardserenkassette, beziehungsweise der Reagenzienkassette pipettiert. Anhand eines Messprogramms wurden vom Nephelometer selbständig fünf Verdünnungen des Albuminstandards mit N-Diluens von 1:80 bis 1:1280 hergestellt, die Albuminkonzentrationen bestimmt und daraus die Referenzkurve berechnet. Dabei durften die Messergebnisse höchstens drei Prozent von den theoretisch berechneten Werten abweichen, damit die Eichkurve gültig war.

Die Verdünnungen von 1:80, 1:160, 1:320, 1:640 und 1:1280 wurden manuell in das Messprogramm des Nephelometers einprogrammiert, da keine entsprechende Vorgabe des für die Humanmedizin entwickelten Standardmessprogramms vorhanden war.

3.1.2.5.5 Immunglobulin G

Für die Erstellung der Eichkurve wurde als IgG Standard „Cat IgG, Purified Immunoglobulin“ der Firma Sigma, München in einer Konzentration von 1000 mg/l verwendet. Als Fällungsmittel diente „Sheep anti-Cat IgG“ der Bethyl Laboratories. Damit wurde die Referenzkurve vollautomatisch erstellt.

Dazu wurden die vom Nephelometer berechneten Mengen IgG Standard und Präzipitationsreagenz in das entsprechende Probengefäß der Standardserenkassette, beziehungsweise der Reagenzienkassette pipettiert. Anhand eines Messprogramms wurden vom Nephelometer selbständig fünf Verdünnungen des IgG Standards mit N-Diluens von 1:20 bis 1:320 hergestellt, die IgG Konzentrationen bestimmt und daraus die Referenzkurve berechnet. Dabei durften die Messergebnisse höchstens drei Prozent von den theoretisch berechneten Werten abweichen, damit die Eichkurve gültig war.

Die Verdünnungen von 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 und 1:320 wurden auch hier manuell in das Messprogramm des Nephelometers einprogrammiert, da keine entsprechende Vorgabe des für die Humanmedizin entwickelten Standardmessprogramms vorhanden war.

3.1.2.3 Prüfung auf Stabilität

Diese Maßnahme wurde durchgeführt, um eventuelle Konzentrationsänderungen bedingt durch das Einfrieren und Auftauen der Proben zu untersuchen. Im Folgenden sind die einzelnen Messmethoden aufgeführt.

3.1.2.3.1 Wiederfindung

Zur Bestimmung der Wiederfindung und somit zur Bestimmung der Genauigkeit der Methoden wurden von den zu untersuchenden Parametern (Gesamtprotein, Albumin, IgG) verschiedene Verdünnungen hergestellt.

Die ermittelten Messergebnisse durften um höchstens 10 % von den Soll-Werten abweichen.

Als Kontrollreagenzien wurden N-Protein-Standard SY der Firma Behring, Marburg, Katzen Albumin und Katzen Standard IgG verwendet.

3.1.2.3.2 Präzision

3.1.2.3.2.1 Präzisionskontrollen von Tag zu Tag

Die Messung der Gesamtprotein-, Albumin- und IgG Konzentration eines Liquor/Serumpaars wurde an zehn aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Aus den Ergebnissen wurden die jeweiligen Variationskoeffizienten, Standardabweichungen, Mittelwerte, Minimal- und Maximalwert ermittelt.

Die Variationskoeffizienten (VK), bezogen auf den Mittelwert (\bar{x}) und die Standardabweichung (s) durften höchstens 10% betragen. Dabei gilt:

$$VK (\%) = s \times 100 / \bar{x}$$

3.1.2.3.2.2 Präzisionskontrollen in Serie

Von einer Liquorprobe wurden zehn Mal hintereinander Gesamtprotein, Albumin und IgG bestimmt. Auch hier wurden der Variationskoeffizient, die Standardabweichung, der Mittelwert sowie der Minimal- und der Maximalwert ermittelt. Die Variationskoeffizienten durften auch bei diesen Messwerten nicht 10% überschreiten.

3.1.2.3.3 Richtigkeit

3.1.2.3.3.1 Richtigkeitskontrollen

Vor der Messung der gesammelten Liquor/Serumpaare wurde grundsätzlich eine Messung mit den entsprechenden Kontrollreagenzien durchgeführt. Als Kontrolle für die Gesamtproteinbestimmung wurde Human-Protein Standard der Firma Sigma in den definierten Konzentrationen 15 mg/dl, 30 mg/dl und 50 mg/dl verwendet. Als Kontrolle für die Messung von Albumin und IgG dienten Katzen Standard Albumin (Fa Sigma-Aldrich; 100 mg/ml) und Katzen Standard IgG (Firma Sigma, München, 250 mg/ml).

Zusätzlich zu diesen Kontrollen wurden Gesamtprotein, Albumin und IgG in den Aliquots der Liquor- und Serumpools gemessen.

Bei keiner der Kontrollen durfte das Messergebnis um mehr als 10 % von dem Sollwert differieren. Ergab die Messung eine Abweichung über 10 %, musste der Messvorgang wiederholt werden.

3.1.2.3.4 Messung der Liquor-/Serumpaare

Das vollautomatische Messprogramm des Nephelometers wurde um die Möglichkeit der IgG- und Albuminbestimmung aus Liquor und Serum bei der Katze manuell erweitert. Für die Bestimmung des Gesamtproteins im Liquor konnte das vorhandene Messprogramm für humanes Gesamtprotein übernommen werden. Erforderliche Vorverdünnungen der Proben wurden somit automatisch durchgeführt. Die Messbereiche bei der empfohlenen Probenverdünnung erfassten den Referenzbereich und pathologisch erhöhte und erniedrigte Konzentrationen.

Zunächst erfolgte die Eingabe der Probenanzahl und der zu bestimmenden Parameter unter dem Programmpunkt Arbeitsliste. Dann wurden jeweils mindestens 300 µl Probenvolumen in die entsprechenden Küvetten der Probenkassette und die vom Nephelometer berechnete Menge an Präzipitationsmittel in die dafür vorgesehenen Behältnisse der Reagenzienkassette pipettiert. Der Analyzer stellte in den Probengefäßen der

entsprechenden Kassetten automatisch die erforderlichen Verdünnungen mit N-Diluens her. Anschließend begann der eigentliche Messvorgang. Die Dispensierspitze pipettierte die Reaktionspartner nacheinander in die Messküvetten des Rotors. Dazu wurden 20 µl (für die Gesamtproteinbestimmung) beziehungsweise 30 µl (für die IgG- und Albuminbestimmung) Probenvolumen angesaugt und mit 30 µl (für die Gesamtprotein- und Albuminbestimmung) beziehungsweise 40 µl (für die IgG-Bestimmung) Präzipitationsmittel und 100 µl N-Reaktionspuffer (für die IgG- und Albuminbestimmung) vermischt. Um Verschleppungen von Seren und Proben zu vermeiden, wurden die Dispensierspitze und der Mikrorührer nach jedem Pipettiervorgang in der Waschstation (drei Waschzyklen) gespült. Die Reaktionsansätze wurden in den optischen Strahlengang gedreht und gemessen.

Die Messung erfolgte nach der sogenannten Fixed-Time-Methode. Die Mindestmenge Liquor und Serum in den Probenküvetten betrug 300 µl, um ein luftblasenfreies Pipettieren des Gerätes zu gewährleisten und dadurch Messwertverfälschungen auszuschließen.

Die nephelometrischen Messungen sind als Fällungsreaktionen beziehungsweise immunologische Bestimmungsmethoden temperaturabhängig. Deshalb wurde nach Empfehlung des Herstellers das Nephelometer zwei Stunden vor Messbeginn in Betrieb genommen und sämtliche Reagenzien, Proben und Präzipitationsmittel vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur erwärmt.

3.1.2.4 Statistik

Die Patientendaten wurden in einer multiplen Regressionsanalyse mit dem Statistikprogramm SPSS für Windows ausgewertet (Statistical Package for the Social Science, Version 11.5, SPSS GmbH, München, Deutschland). Als Signifikanzniveau wurde 0,05 festgelegt.

3.1.2.4.1 Graphische Darstellung der Daten und ihre Verteilung

Die graphische Darstellung der Daten, ihre Häufigkeitsverteilung und die Lage- und Kenngrößen ergaben einen ersten Eindruck des Symmetriegrades der Verteilung. Zur Darstellung der Daten wurden Box- und Whisker-Plots verwendet. Zusätzlich wurden numerische Beschreibungen der Ergebnisse durch Streuungs- oder Lagekenngrößen durchgeführt. Dazu zählen:

MEAN = Mittelwert: Das arithmetische Mittel \bar{x} wird berechnet, indem man die Summe aller n Einzelwerte durch die Anzahl teilt

STD ERR = Standardfehler des Mittelwertes:

Der Mittelwert einer Stichprobe ergibt lediglich einen Schätzwert. Dies ist der Grund, weshalb man bei einer erneuten Messung aller Wahrscheinlichkeit nach ein anderes arithmetisches Mittel erhält. Je mehr Einzelwerte um den Mittelwert streuen und je kleiner die Stichprobenzahl ist, desto größer ist der Standardfehler. Somit ist der Standardfehler des Mittelwertes nichts anderes als die Standardabweichung der Mittelwerte- Verteilung, von welcher der beobachtete Mittelwert ein einzelnes Element ist. Um den Standardfehler zu halbieren muss die Stichprobenmenge vervierfacht werden.

STD DEV = Standard Deviation = Standardabweichung

Ist ein Maß für die Streuung der Werte einer Messreihe um den Mittelwert

SKEWNESS = Grad der Asymmetrie der Verteilung

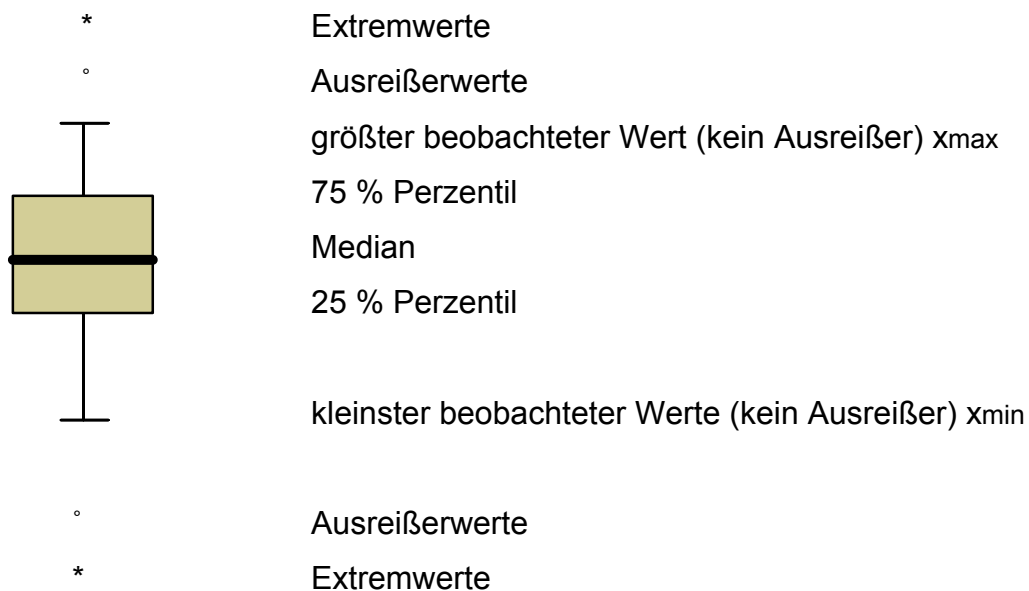
Wenn die Klassenhäufigkeit mit wachsenden Messwerten zunächst schnell ansteigen und jenseits des Gipfels hingegen langsam abnehmen, spricht man von einer rechts-schiefen Verteilung mit positiver Schiefe. Diese Verteilungen werden

auch als links-steil bezeichnet; das heißt der Hauptteil der Verteilung liegt auf der linken Seite und läuft nach rechts langgezogen aus. Ein umgekehrtes Verhältnis findet sich bei einer negativen Schiefe, die dann links-schief und rechts-steil bezeichnet wird. Deutlich weniger häufig kommen in der Natur rechts-steile Verteilungen vor.

KURTOSIS = Grad der Steilheit einer Verteilung

Bei einem negativem Exzess verläuft die Kurve flacher als bei einer Gauß'schen Glockenkurve, bei einem positivem Exzess verläuft sie dementsprechend steiler als die Kurve der Standardnormalverteilung.

Box- und Whisker-Plot: Schematischer Aufbau:



In der Box sind 50 % der Messwerte enthalten. Die untere und obere Begrenzung stellt jeweils das 25 % und 75 % Perzentil dar. Somit spiegelt die Größe der Box die Variabilität der Werte wieder. Die Lage des Median gibt Auskunft über die SKEWNESS; das heißt ob eine symmetrische oder asymmetrische (schiefe) Verteilung vorliegt.

Mit * sind diejenigen Werte gekennzeichnet, die als Extremwerte aufgefallen sind und den Wertebereich der Box an dessen Ende um mehr als das dreifache überschritten haben. Das Symbol ° bezeichnet die Ausreißerwerte, die zwischen dem 1,5 - 3fachen des Wertebereiches in der Box vom Boxende entfernt liegen.

3.1.2.4.2 Normalverteilung

Ein effektives Testverfahren zur Prüfung der Normalverteilung ist der Kolmogorov-Smirnov-Test. Er überprüft die Übereinstimmung einer beobachteten mit einer erwarteten Verteilung, in diesem Fall der Normalverteilung. In diesem Test wird die sogenannte Nullhypothese H_0 gegen die Alternativhypothese H_a gegeneinander aufgetragen. Dabei gibt die Nullhypothese die Normalverteilung $F_0(x)$ an (Referenzdaten folgen einer bekannten Verteilung). Bei der Alternativhypothese entstammen die Referenzdaten nicht der Normalverteilung.

$$H_0 : F = F_0 \text{ gegen } H_a : F \neq F_0$$

Wenn die H_0 -Hypothese angenommen wird, liegt eine Normalverteilung vor.

Der Kolmogorov-Smirnov-Test ist für die Auswertung kleiner Stichprobenumfänge besser geeignet als andere Testverfahren. Er sollte nur bei Probenanzahlen unter 100 angewendet werden, da bei großen Probenanzahlen kleine Abweichungen von der Normalverteilung zur Zurückweisung der Nullhypothese führen (KUEFFNER und WITTENBERG, 1985).

3.1.2.4.3 Konstruktion univariater Referenzbereiche

Zur Erstellung von Referenzbereichen können parametrische und nicht-parametrische Verfahren angewendet werden. Parametrische Methoden werden angewendet, wenn die Messdaten einer Normalverteilung unterliegen. Sie entsprechen der Gauß'schen Verteilungskurve. Ist dies nicht der Fall, wird durch Transformation der Daten eine zumindest annähernde Normalverteilung erreicht.

Falls dies nicht möglich ist, werden nicht-parametrische Methoden zur Referenzbereichsbestimmung angewendet (FEINSTEIN, 1974, HENRY und REED, 1974 und BOFFIN, 1993).

Im Folgenden werden die verwendeten statistischen Methoden zur Referenzbereichsbestimmung aufgeführt:

1. Range = Spannweite

Die Spannweite R ist ein Streuungsmaß und errechnet sich aus der Differenz zwischen dem maximalen und minimalen Wert: Mit diesem Wert wird der Referenzbereich beschrieben, der sich vom kleinsten bis zum größten Messwert ableitet. Dabei wird nicht berücksichtigt, dass es sich nicht immer zwangsläufig um

eine Population gesunder Tiere handelt. Eine eindeutige Trennung zwischen „krank“ und „gesund“ ist nicht in jedem Fall möglich, da es auch subklinische Fälle gibt, die als „gesund“ bezeichnet werden. Einen weiteren großen Einfluss hat die Tatsache, dass auch Extremwerte und Ausreißer mit in die Berechnung einbezogen werden.

2. Normaler Referenzbereich

Der „normale“ Referenzbereich wird durch die Formel $\bar{x} \pm 2s$ angegeben. Diese Formel wurde bereits von Gauß zur parametrischen Referenzbereichsbestimmung angewendet. Es wird eine Normalverteilung der Daten vorausgesetzt.

Wird diese Berechnung aber bei Werten angewendet, die diese Voraussetzung nicht erfüllen, können erhebliche Fehlinterpretationen die Folge sein (LUMSDEN und MULLEN, 1978). Deshalb muss dann zunächst eine Transformation der Daten in eine Gauß'sche Verteilungsform erfolgen oder es muss eine entsprechend hohe Probenanzahl vorliegen, die dann nach dem zentralen Grenzwertsatz wieder zu einer Normalverteilung tendiert.

So gibt $\bar{x} \pm 2s$ nur dann einen 95 %-Normalbereich an, wenn die Meßwerte tatsächlich einer Normalverteilung entsprechen und das arithmetische Mittel und die Standardabweichung mit einem sehr großen Stichprobenumfang ermittelt wurden (ACKERMANN, 1983; BOFFIN, 1993).

3. Nicht-Parametrischer Referenzbereich

Bei der Anwendung nicht-parametrischer Verfahren besteht keine Abhängigkeit davon, ob eine Normalverteilung der Daten vorliegt oder nicht.

Das einfachste nicht-parametrische System ist, die Daten ihrer Größe nach zu ordnen und jeweils 2,5 % oder einen anderen passenden Prozentsatz der größten und kleinsten Werte auszugrenzen und die sich ergebenden Werte als Referenzbereich anzusehen.

Üblicherweise wird ein 95 %-Perzentil als obere Grenze bestimmt. Dazu werden alle Messdaten ihrer Größe nach geordnet. Bei einseitigen Referenzbereichen werden am oberen Bereich 5 % ausgegrenzt. Bei zweiseitigen Referenzbereichen wird im Gegensatz dazu an jeweils dem unteren und oberen Grenzbereich je 2,5% ausgegrenzt.

Die Verwendung der Perzentiltechnik hat sich in der Praxis als ein einfaches und

realistisches Verfahren erwiesen. Sie kommt ohne Transformationen oder bestimmte Voraussetzung an die Verteilung der Werte aus. Die nicht-parametrischen Grenzen ergeben sich dann mit den Stichprobenquantilen:

$$\left[X \left(\frac{\alpha}{2} \right) (n+1); X \left(\left(1 - \frac{\alpha}{2} \right) (n + 1) \right) \right]$$

Dabei liegt die Irrtumswahrscheinlichkeit bei $\alpha = 0,05$ (FEINSTEIN, 1974; ACKERMANN, 1983; LORENZ, 1992; BOFFIN, 1993).

3.1.2.4.4 Gruppenvergleich

Die Krankheitsgruppen wurden untereinander in den Parametern Gesamtproteingehalt, Liquoralbumingehalt, Albuminquotient, Immunglobulingehalt und IgG-Index verglichen. Dazu wurden die absoluten Werte in Box- und Whisker-Plots und in deskriptiver Statistik tabellarisch – Mittelwert, Median, Standardabweichung, Minimum und Maximum – dargestellt.

Mit dem Test auf Homogenität der Varianzen und dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest wurde eine Normalverteilung der Messergebnisse ausgeschlossen. Der statistische Vergleich der Krankheitsgruppen erfolgte daher durch die nicht-parametrischen Kruskal-Wallis-Test und Mann-Whitney-Test.

Unterschiede mit $p < 0,05$ wurden als signifikant, Unterschiede mit $p < 0,01$ als hoch signifikant eingestuft.

Die Ergebnisse der nephelometrisch ermittelten Parameter wurden durch eine lineare Regressionsanalyse miteinander verglichen. Dies erfolgte für die gesunden und die neurologisch erkrankten Tiere.

3.2 ERGEBNISSE

3.2.1 Kontrollmessungen

3.2.1.1 Wiederfindung

Zur Kontrolle der Wiederfindung wurde eine Verdünnungsreihe eines humanen Standardliquorproteins der Firma Behring, sowie eines felines Albumin- und IgG Standards der Firma Sigma hergestellt und die gemessenen Konzentrationen mit den theoretischen Werten verglichen. Von jeder Verdünnungsstufe wurden die Wiederfindungsgenauigkeit und die prozentuale Abweichung vom Sollwert bestimmt.

Für die Gesamtproteinmessung ergaben die Werte eine mittlere Wiederfindungsgenauigkeit von 102,4 % und eine mittlere Abweichung von 7,0 %; kein Wert überschritt eine Abweichung über 10 %.

Tabelle 9: Verdünnungsreihe Gesamtprotein zur Wiederfindung

| Sollwert (mg/dl) | Istwert (mg/dl) | Wiederfindung (%) | Abweichung (%) |
|-------------------|-----------------|-------------------|----------------|
| 19,9 | 18,4 | 92,3 | 7,7 |
| 24,8 | 24 | 96,0 | 4,0 |
| 30,2 | 33,3 | 109,8 | 9,8 |
| 34,8 | 36,7 | 105,5 | 5,5 |
| 39,8 | 42,9 | 107,8 | 7,8 |
| Mittelwert | 31,1 | 102,4 | 7,0 |

Für die Albuminmessungen ergaben die Werte eine mittlere Wiederfindungsgenauigkeit von 98,1 % und eine mittlere Abweichung von 4,0 %, wobei kein Einzelwert um mehr als 10 % vom Sollwert abwich.

Tabelle 10: Verdünnungsreihe Albuminstandard zur Wiederfindung

| Sollwert (mg/dl) | Istwert (mg/dl) | Wiederfindung (%) | Abweichung (%) |
|-------------------|-----------------|-------------------|----------------|
| 2500 | 2466 | 98,6 | 1,4 |
| 1250 | 1230 | 98,4 | 1,6 |
| 625 | 590 | 94,4 | 5,6 |
| 312,5 | 298 | 95,4 | 4,6 |
| 156,3 | 155,4 | 99,4 | 0,6 |
| 80,6 | 85,5 | 106,1 | 6,1 |
| 41 | 39,8 | 97,1 | 2,9 |
| 20,7 | 21,6 | 104,3 | 9,2 |
| 10,4 | 9,3 | 89,4 | 3, |
| Mittelwert | 543,9 | 98,1 | 4,0 |

Die Wiederfindungsgenauigkeit der IgG-Messungen lag im Mittel bei 100,9 %, die prozentuale Abweichung war nie größer als 10 % und lag im Mittel bei 3,0 %.

Tabelle 11: Verdünnungsreihe IgG-Standard zur Wiederfindung

| Sollwert (mg/l) | Istwert (mg/l) | Wiederfindung % | Abweichung % |
|-------------------|----------------|-----------------|--------------|
| 7000 | 6986 | 99,8 | 0,2 |
| 3500 | 3670 | 104,8 | 4,8 |
| 1750 | 1740 | 99,4 | 0,6 |
| 875 | 870 | 99,4 | 0,6 |
| 437,5 | 477 | 109,0 | 9,0 |
| 225,8 | 218 | 96,5 | 3,5 |
| 114,8 | 111 | 96,7 | 3,3 |
| 57,9 | 59 | 101,9 | 1,9 |
| Mittelwert | 1766,4 | 100,9 | 3,0 |

3.2.1.2 Präzisionskontrollen in Serie

Für die Präzision in Serie wurden aus einer Liquorprobe zehn Mal direkt hintereinander die Gesamtprotein, Albumin- und IgG-Konzentrationen gemessen. Die Mittelwerte, Minima, Maxima, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten sind der Tabelle 12 zu entnehmen.

Der Variationskoeffizient lag für das Gesamtprotein bei 2,7 %, für die Albuminkonzentrationen bei 3,4 % und für die IgG-Konzentrationen bei 3,2 %.

Tabelle 12: Präzision in Serie einer Liquorprobe

| | Gesamtprotein (mg/dl) | IgG (mg/l) | Albumin (mg/dl) |
|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------------|
| Mittelwert | 14,9 | 42,5 | 16,1 |
| Minimum | 14,5 | 40 | 15,3 |
| Maximum | 15,8 | 45 | 17 |
| Standardabweichung | 0,39 | 1,4 | 0,5 |
| Variationskoeffizient (%) | 2,7 | 3,2 | 3,4 |

3.2.1.3 Präzisionskontrollen von Tag zu Tag

Für die Präzision von Tag zu Tag wurde aus einer Liquorprobe an zehn aufeinander folgenden Tagen die Konzentration von Gesamtprotein, Albumin und IgG gemessen.

Die Mittelwerte, Minima, Maxima, Standardabweichung und der Variationskoeffizient sind in Tabelle 13 und 14 aufgeführt.

Für die Liquorprobe betrug der Variationskoeffizient des Gesamtproteins 3,0 %, der IgG Konzentrationen 7,0 % und der Albuminkonzentrationen 3,2 %.

Aus einer Serumprobe wurde ebenfalls an zehn aufeinander folgenden Tagen von derselben Probe der Albumin- und IgG-Gehalt gemessen. Es ergaben sich Variationskoeffizienten von 5,3 % für die IgG-Konzentrationen und 3,1 % für die Albuminkonzentrationen.

Tabelle 13: Präzision einer Liquorprobe von Tag zu Tag

| | Gesamtprotein (mg/dl) | IgG (mg/l) | Albumin (mg/dl) |
|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------------|
| Mittelwert | 14,6 | 19,4 | 10,4 |
| Minimum | 14,0 | 16 | 9,9 |
| Maximum | 15,4 | 21 | 10,9 |
| Standardabweichung | 0,44 | 1,4 | 0,3 |
| Variationskoeffizient (%) | 3,0 | 7,0 | 3,2 |

Tabelle 14: Präzision einer Serumprobe von Tag zu Tag

| | IgG (mg/l) | Albumin (mg/dl) |
|----------------------------------|-------------------|------------------------|
| Mittelwert | 31226,0 | 3328,9 |
| Minimum | 29420 | 3157 |
| Maximum | 34700 | 3498 |
| Standardabweichung | 1644,6 | 103,2 |
| Variationskoeffizient (%) | 5,3 | 3,1 |

3.2.1.4 Richtigkeitskontrollen

Als Richtlinie wurde eine maximale Abweichung der Messergebnisse der Standards um 10 % vom Sollwert angenommen. Bei Überschreitung dieser Vorgabe wurde die Messung als nicht gültig gewertet und eine erneute Messung durchgeführt.

Für das Gesamtprotein ergab sich für den Messzeitraum eine mittlere Wiederfindungsgenauigkeit von 98,7 % und eine mittlere Abweichung von 4,1 %. Für den Albuminstandard lagen die Werte bei 100,1 % mittlerer Wiederfindungsgenauigkeit und 3,7 % mittlerer Abweichung, wobei kein Einzelwert 10 % Abweichung übertraf.

Für den IgG-Standard ergaben sich über den gesamten Messzyklus eine mittlere Wiederfindungsgenauigkeit von 100,9 % und eine mittlere Abweichung von 3,0 %. Auch bei diesen Messungen wich kein Wert um mehr als 10 % vom Sollwert ab.

3.2.3 Test auf Normalverteilung

Nach dem Kolmogorov-Smirnov-Test (Irrtumswahrscheinlichkeit = 0,05) konnte eine Normalverteilung sowohl für den Gesamtproteingehalt (logMP), als auch für den Albumin-Quotienten (logAlb) und den IgG Index (logIgG) innerhalb der neurologisch gesunden Referenzgruppe nicht abgelehnt werden. Das Ergebnis ist in Abbildung 3 dargestellt.

| | | Residuen für logMP | Residuen für logAlb | Residuen für logIgG |
|--|--------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| Parameter der Normalverteilung ^{a,b} | Mittelwert | .0000 | .0000 | .0000 |
| | Standardabweichung | .3635 | .2126 | .1428 |
| Extremste Differenzen | Absolut | 1 .078 | 5 .114 | 5 .133 |
| | Positiv | .078 | .114 | .133 |
| | Negativ | -.047 | -.083 | -.096 |
| Kolmogorov-Smirnov-Z | | .658 | .883 | 1.029 |
| Asymptotische Signifikanz (2-seitig) | | .780 | .417 | .240 |

a. Die zu testende Verteilung ist eine Normalverteilung.

b. Aus den Daten berechnet.

Abbildung 3: Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest

3.2.4 Konstruktion univariater Referenzbereiche

Der Referenzbereich für die Parameter Gesamtproteingehalt, Albumin-Quotient und IgG Index wurde mit drei verschiedenen Methoden berechnet.

In Tabelle 15 sind die Messergebnisse zusammengefasst. Spalte eins enthält die Spannweite (Range) der Verteilung, Spalte zwei den parametrischen $\bar{x} \pm s$ Referenzbereich und Spalte drei den 95 % Perzentilbereich. Dieser wurde den nicht-parametrischen Referenzbereichen zugeordnet und ist somit

verteilungsunabhängig. Der $\bar{x} \pm s$ Referenzbereich setzte eine Normalverteilung voraus und war somit verteilungsabhängig. Ein Referenzbereich in Abhängigkeit vom Alter war wegen der geringen Tierzahlen in den Altersgruppen statistisch nicht sinnvoll.

Tabelle 15: Referenzbereich für Gesamtprotein, Albumin-Quotient und IgG bei der Katze

| Parameter | Spannweite | $\bar{x} \pm 2s$ | 95%- Perzentilbereich |
|---------------------|---------------|---------------------|--------------------------|
| Gesamtprotein (g/l) | 0,06-0,36 | 0,15 \pm 0,1 | 0,06-0,29 |
| Albumin-Quotient | 0,0006-0,0057 | 0,0024 \pm 0,0012 | 0,0007-0,0048 |
| IgG Index | 0,3-0,6 | 0,43 \pm 0,16 | 0,38-0,56 |

3.2.4.1 Elimination der Ausreißer

Anhand der Abbildung 7 wird deutlich, dass lediglich zwei Ausreißerwerte nach oben vorlagen (Nr. 19 und Nr. 42). Daher wurde auf die Überprüfung auf Ausreißer und deren Elimination nach der Methode von HENRY und REED (1971) verzichtet.

Um zu überprüfen, ob eine Abhängigkeit der Proteinkonzentration, des Albumin-Quotienten und des IgG Index im Liquor gesunder Katzen von Alter oder Geschlecht besteht, wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Diese wurde durch den F-Wert und das Signifikanzniveau beschrieben. Es gilt, dass die Mittelwerte der beiden Verteilungen bei $p < 0,05$ signifikant differieren.

Da 29 Katzen (78,3 %) der Rasse Europäisch Kurzhaar zugeordnet wurden, wurde auf eine Überprüfung auf Rasseabhängigkeit verzichtet.

3.2.5 Abhängigkeiten

3.2.5.1 Altersabhängigkeiten

Zur Überprüfung auf Altersabhängigkeiten wurden die Gruppe neurologisch gesunder Katzen in zwei Altersgruppen eingeteilt. Altersgruppe eins beinhaltet die Katzen bis zu einem Jahr, Altersgruppe zwei die Katzen über einem Lebensjahr. Tabelle 16 zeigt, dass keine signifikante Altersabhängigkeit von Gesamtprotein, Albumin-Quotient und IgG Index besteht.

Tabelle 16: Vergleich Gesamtprotein, Albumin-Quotient und IgG-Index zwischen den zwei Altersgruppen mittels Varianzanalyse (ANOVA)

| Vergleich Altersgruppen | F-Wert | Signifikanzniveau |
|-------------------------|--------|-------------------|
| Gesamtprotein (g/l) | 0,000 | 0,997 |
| Albumin-Quotient | 1,098 | 0,304 |
| IgG Index | 1,463 | 0,237 |

3.2.5.2 Geschlechtsabhängigkeit

Die 37 neurologisch gesunden Katzen wurden in zwei Gruppen eingeteilt (männlich, inklusive männlich kastriert und weiblich, inklusive weiblich kastriert). Die Messwerte wurden varianzanalytisch auf das Vorhandensein einer Geschlechtsdisposition untersucht. Tabelle 17 gibt die F-Werte mit ihrem Signifikanzniveau an. Sie bestätigt, dass für keinen der Parameter eine Geschlechtsabhängigkeit vorlag.

Tabelle 17: Geschlechtsabhängigkeit von Gesamtprotein, Albumin-Quotient und IgG-Index mittels Varianzanalyse (ANOVA)

| Vergleich Geschlecht | F-Wert | Signifikanzniveau |
|----------------------|--------|-------------------|
| Gesamtprotein (g/l) | 0,223 | 0,880 |
| Albumin-Quotient | 0,452 | 0,718 |
| IgG Index | 1,989 | 0,112 |

3.2.6 Geschlechts-, Alters- und Rasseverteilung

3.2.6.1 Altersverteilung

Bei allen Tieren lag eine Altersangabe vor. Der niedrigste Median, also die jüngsten Tiere befanden sich in der Gruppe mit einer FIP Infektion. Dabei waren die Tiere der Gruppe II b (ZNS FIP) jünger als die Katzen der Gruppe III (extraneurale FIP). Die Gruppe II a (Neoplasien des ZNS) zeigte den höchsten Median. Eine Übersicht gibt Tabelle 18.

Tabelle 18: Altersverteilung der einzelnen Gruppen

| | Gruppe I | Gruppe II a | Gruppe II b | Gruppe III |
|---------------------|----------|-------------|-------------|------------|
| Mittelwert | 9,0 | 13,3 | 1,9 | 4,5 |
| Median | 10,5 | 14,0 | 1,1 | 2,5 |
| Standard-abweichung | 5,43 | 5,51 | 1,55 | 4,48 |
| Minimum | 0,25 | 9,0 | 0,25 | 0,25 |
| Maximum | 21,0 | 22,0 | 5,0 | 12,0 |

Gruppe II b und Gruppe III unterschieden sich hoch signifikant von Gruppe II a ($p < 0,01$). Zwischen Gruppe II b und III bestand kein statistisch signifikanter Unterschied.

Weiterhin unterscheiden sich Gruppe II b und Gruppe III von der Gruppe I. Dabei bestand zwischen Gruppe II b und Gruppe I ein statistisch hoch signifikanter Unterschied ($p < 0,01$) und zwischen Gruppe III und Gruppe I ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$). Zwischen Gruppe I und Gruppe II a existierte kein signifikanter Unterschied.

3.2.6.2 Geschlechtsverteilung

- **Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen**

Es wurde bei allen Tieren eine Geschlechtsangabe gemacht. Bei den neurologisch gesunden Katzen überwogen die männlichen Tiere mit $n = 21$ gegenüber den weiblichen Tieren mit $n = 16$.

Es waren 17 kastrierte Tiere unter den männlichen Tieren vertreten. Auch bei den weiblichen Tieren war der überwiegende Teil ($n = 13$) ovariohysterektomiert

Tabelle 19: Prozentuale Geschlechtsverteilung Gruppe I

| Geschlecht | Anzahl | Prozent % |
|-----------------------------|---------------|------------------|
| Weiblich | | |
| Nicht ovariohysterektomiert | 3 | 8,1 |
| ovariohysterektomiert | 13 | 35,1 |
| Männlich | | |
| Nicht kastriert | 4 | 10,8 |
| Kastriert | 17 | 45,9 |
| Gesamt | 37 | 100,0 |

- **Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen**

Gruppe II a: Katzen mit ZNS Neoplasien

Auch bei dieser Gruppe überwog der Anteil der männlichen Tiere (n = 6) gegenüber den weiblichen Tieren (n = 2). Alle Tiere dieser Gruppe waren kastriert.

Tabelle 20: Prozentuale Geschlechtsverteilung Gruppe II a

| Geschlecht | Anzahl | Prozent (%) |
|-----------------------------|---------------|--------------------|
| Weiblich | | |
| Nicht ovariohysterektomiert | 0 | 0,0 |
| ovariohysterektomiert | 2 | 25,0 |
| Männlich | | |
| Nicht kastriert | 0 | 0,0 |
| kastriert | 6 | 75,0 |
| Gesamt | 8 | 100,0 |

Gruppe II b: Katzen mit zentralnervöser FIP

In dieser Gruppe überwog der Anteil der männlichen Tiere (n = 12). Bei den weiblichen Tieren waren zwei nicht ovariohysterektomiert, bei den männlichen Tieren fünf unkastriert.

Tabelle 21: Prozentuale Geschlechtsverteilung Gruppe II b

| Geschlecht | Anzahl | Prozent (%) |
|-----------------------------|---------------|--------------------|
| Weiblich | | |
| Nicht ovariohysterektomiert | 2 | 20,0 |
| ovariohysterektomiert | 1 | 5,0 |
| Männlich | | |
| Nicht kastriert | 4 | 25,0 |
| kastriert | 8 | 50,0 |
| Gesamt | 15 | 100,0 |

Gruppe III: Katzen mit extraneuraler FIP

Bei dieser Gruppe konnte ebenfalls eine Dominanz der männlichen Tiere (n = 8) gegenüber den weiblichen Tieren (n = 4) verzeichnet werden. Von den männlichen Tieren waren insgesamt sechs Tiere kastriert. Bei den weiblichen Tieren war der überwiegende Anteil (n = 3) ovariohysterektomiert.

Tabelle 22: Prozentuale Geschlechtsverteilung Gruppe III

| Geschlecht | Anzahl | Prozent (%) |
|-----------------------------|---------------|--------------------|
| Weiblich | | |
| Nicht ovariohysterektomiert | 1 | 7,7 |
| ovariohysterektomiert | 3 | 23,1 |
| Männlich | | |
| Nicht kastriert | 2 | 25,0 |
| kastriert | 6 | 41,7 |
| Gesamt | 12 | 100,0 |

3.2.6.3 Rasseverteilung

- **Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen**

Bei allen Tieren lag eine Rasseangabe vor. Die Gruppe der neurologisch symptomfreien Katzen bestand zu 78,3 % aus Europäisch Kurzhaar Katzen (n = 29). Des Weiteren waren drei Perserkatzen, zwei Siamkatzen, eine Maine Coon, eine Karthäuser und eine British Shorthair vertreten.

Tabelle 23 : Prozentuale Rasseverteilung Gruppe I

| Rasse | Anzahl | Prozent (%) |
|-------------------|---------------|--------------------|
| EKH | 29 | 78,3 |
| Perser | 3 | 8,1 |
| Siam | 2 | 5,4 |
| Maine Coon | 1 | 2,7 |
| Karthäuser | 1 | 2,7 |
| British Shorthair | 1 | 2,7 |
| Gesamt | 37 | 100,0 |

- **Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen**

In dieser Gruppe waren ebenfalls überwiegend Katzen der Rasse EKH vertreten. Dies galt sowohl für die Gruppe Katzen mit Neoplasien im ZNS (n = 5), als auch für die Gruppe Katzen mit einer zentralnervösen FIP (n = 11).

Als weitere Rassen waren Perser, Siam, Maine Coon und Devon Rex vorhanden.

Tabelle 24: Prozentuale Rasseverteilung Gruppe II a

| Rasse | Anzahl | Prozent (%) |
|---------------|----------|--------------|
| EKH | 5 | 62,5 |
| Perser | 2 | 25,0 |
| Siam | 1 | 12,5 |
| Gesamt | 8 | 100,0 |

Tabelle 25: Prozentuale Rasseverteilung Gruppe II b

| Rasse | Anzahl | Prozent (%) |
|---------------|-----------|--------------|
| EKH | 11 | 75,0 |
| Perser | 1 | 6,25 |
| Maine Coon | 2 | 12,5 |
| Devon Rex | 1 | 6,25 |
| Gesamt | 15 | 100,0 |

- **Gruppe III: Katzen mit extraneuraler FIP**

Auch in dieser Gruppe bestand der hauptsächliche Anteil aus Europäisch Kurzhaar Katzen (92,3 %). Außerdem war eine Maine Coon Katze vertreten (7,7 %).

Tabelle 26: Prozentuale Rasseverteilung Gruppe III

| Rasse | Anzahl | Prozent % |
|---------------|-----------|--------------|
| EKH | 11 | 92,3 |
| Maine Coon | 1 | 7,7 |
| Gesamt | 12 | 100,0 |

3.2.7 Gesamtproteingehalt

Bei neun von 72 Tieren (10,3 %) lagen die Gesamtproteinwerte über 0,36 g/l. Dies traf nur für Katzen mit Veränderungen im ZNS zu (n = 23) und entsprach 39,1 % innerhalb dieser Gruppe. Einzeln betrachtet hatten vier von acht der Katzen mit Neoplasien im ZNS (50 %), fünf von 15 der Katzen mit einer zentralnervösen FIP (33,4 %) und keine Katze mit einer extraneuralen FIP Infektion einen erhöhten Gesamtproteingehalt. Tabelle 27 gibt eine vergleichende Darstellung der einzelnen Werte.

Tabelle 27: Lage- und Kenngrößen Gesamtproteinwerte

| Gesamtprotein | Gruppe I | Gruppe II a | Gruppe II b | Gruppe III |
|--------------------|----------|-------------|-------------|------------|
| Mittelwert (g/l) | 0,15 | 0,62 | 0,59 | 0,12 |
| Median (g/l) | 0,13 | 0,47 | 0,18 | 0,08 |
| Standardabweichung | 0,05 | 0,55 | 0,86 | 0,08 |
| Minimum (g/l) | 0,06 | 0,08 | 0,06 | 0,06 |
| Maximum (g/l) | 0,36 | 1,37 | 3,13 | 0,22 |

Der Einzelvergleich der Gruppen mit dem „Exakten Test“ nach FISHER ergab signifikante Unterschiede zwischen Katzen mit einer Entzündung bzw. einem Tumor und Katzen ohne neurologische Symptome oder Katzen mit einer extraneuralen FIP ($p < 0,01$).

Tabelle 28: Paarweiser Vergleich Gesamtproteinwerte

Abhängige Variable: logGesamtprotein

| (I) Gruppe | (J) Gruppe | Mittlere Differenz (I-J) | Standardfehler | Signifikanz ^a | 95% Konfidenzintervall für die Differenz ^a | |
|-------------|-------------|--------------------------|----------------|--------------------------|---|------------|
| | | | | | Untergrenze | Obergrenze |
| Neuro obB | Neuro FIP | -.296* | .130 | .026 | -.556 | -.037 |
| | ZNS Tumoren | -.461* | .172 | .010 | -.806 | -.116 |
| Neuro FIP | Neuro obB | .296* | .130 | .026 | .037 | .556 |
| | ZNS Tumoren | -.165 | .203 | .420 | -.570 | .241 |
| ZNS Tumoren | Neuro obB | .461* | .172 | .010 | .116 | .806 |
| | Neuro FIP | .165 | .203 | .420 | -.241 | .570 |

Basiert auf den geschätzten Randmitteln

*. Die mittlere Differenz ist auf dem Niveau .05 signifikant

a. Anpassung für Mehrfachvergleiche: Geringste signifikante Differenz (entspricht Anpassungen).

3.2.8 Albumin-Quotient

Bei sieben von 72 Tieren (8,0 %) lag der Albuminquotient über 0,0057. Dies traf nur für Katzen mit Veränderungen im ZNS zu und entspricht in dieser Gruppe 30,4%. Einzelnen betrachtet hatten drei von acht Katzen mit Neoplasien im ZNS (37,5%) und vier von 15 Katzen mit einer zentralnervösen FIP (26,7%) einen erhöhten Albuminquotienten. Auch hier lagen alle Werte der Gruppe III im Referenzbereich.

Tabelle 29: Lage- und Kenngrößen Albuminquotient

| Albuminquotient | Gruppe I | Gruppe II a | Gruppe II b | Gruppe III |
|------------------------|-----------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| Mittelwert | 0,0024 | 0,0054 | 0,0066 | 0,0021 |
| Median | 0,0020 | 0,0046 | 0,0030 | 0,0018 |
| Standardabweichung | 0,0006 | 0,0033 | 0,0086 | 0,0010 |
| Minimum (min) | 0,0006 | 0,0013 | 0,001 | 0,0010 |
| Maximum (max) | 0,0057 | 0,0100 | 0,031 | 0,0044 |

Der Einzelvergleich der Gruppen mit dem „Exakten Test“ nach FISHER ergab einen signifikanten Unterschied zwischen Katzen mit Entzündungen im ZNS und Katzen ohne neurologische Symptome bzw. Katzen mit einer extraneuralen FIP Infektion ($p < 0,05$). Außerdem konnte ein hochsignifikanter Unterschied zwischen Katzen mit ZNS Tumoren und Katzen mit einer extraneuralen FIP Infektion bzw. Katzen ohne neurologische Symptome festgestellt werden ($p < 0, 01$).

Tabelle 30: Paarweiser Vergleich Albumin-Quotientwerte

Abhängige Variable: logAlbumin-Quotient

| (I) Gruppe | (J) Gruppe | Mittlere Differenz (I-J) | Standardfehler | Signifikanz ^a | 95% Konfidenzintervall die | |
|-------------|-------------|--------------------------|----------------|--------------------------|----------------------------|------------|
| | | | | | Untergrenze | Obergrenze |
| Neuro obB | Neuro FIP | -.180* | .082 | .034 | -.346 | -.014 |
| | ZNS Tumoren | -.357* | .104 | .001 | -.566 | -.147 |
| Neuro FIP | Neuro obB | .180* | .082 | .034 | .014 | .346 |
| | ZNS Tumoren | -.177 | .128 | .173 | -.433 | .080 |
| ZNS Tumoren | Neuro obB | .357* | .104 | .001 | .147 | .566 |
| | Neuro FIP | .177 | .128 | .173 | -.080 | .433 |

Basiert auf den geschätzten Randmitteln

*. Die mittlere Differenz ist auf dem Niveau .05 signifikant

a. Anpassung für Mehrfachvergleiche: Geringste signifikante Differenz (entspricht keinen Anpassungen).

3.2.9 IgG Index

Bei acht von 72 Tieren (9,2 %) lag der IgG Index über 0,56. Dies traf nur für Katzen mit ZNS-Erkrankungen (Gruppe II) zu und entsprach 34,8 % der neurologisch kranken Katzen. Einzeln betrachtet hatten fünf von acht der Katzen mit Neoplasien im ZNS (62,5 %) und fünf von 15 der Katzen mit einer zentralnervösen FIP (33,4 %) einen erhöhten IgG Index. Auch hier war kein Tier der Gruppe III betroffen.

Tabelle 31: Lage- und Kenngrößen IgG Index

| IgG Index | Gruppe I | Gruppe II a | Gruppe II b | Gruppe III |
|--------------------|----------|-------------|-------------|------------|
| Mittelwert | 0,43 | 0,91 | 0,87 | 0,45 |
| Median | 0,42 | 0,89 | 0,48 | 0,44 |
| Standardabweichung | 0,08 | 0,51 | 1,31 | 0,07 |
| Minimum (min) | 0,3 | 0,3 | 0,4 | 0,3 |
| Maximum (max) | 0,6 | 1,9 | 5,6 | 0,6 |

Der Einzelvergleich der Gruppen mit dem „Exakten Test“ nach FISHER ergab hoch signifikante Unterschiede zwischen Katzen mit ZNS Tumoren und Katzen ohne neurologische Symptome bzw. Katzen mit einer extraneuralen FIP Infektion

($p < 0,01$). Zusätzlich liegt ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe der Entzündungen und der Tumoren vor ($p < 0,05$).

Kein signifikanter Unterschied bestand zwischen Entzündungen im ZNS und Katzen ohne neurologische Symptome bzw. Katzen mit einer extraneuralen FIP Infektion.

Tabelle 32: Paarweiser Vergleiche IgG Index

Abhängige Variable: logIgG Index

| (I) Gruppe | (J) Gruppe | Mittler Differenz (I-J) | Standard ehler | Signifikanz ^a | 95% Konfidenzintervall für die Differenz | |
|----------------|-------------|----------------------------|-------------------|--------------------------|---|------------|
| | | | | | Untergrenze | Obergrenze |
| Neuro obB | Neuro FIP | -.099 | .056 | .083 | -.211 | .013 |
| | ZNS Tumoren | -.312* | .070 | .000 | -.454 | -.171 |
| Neuro FIP | Neuro obB | .099 | .056 | .083 | -.013 | .211 |
| | ZNS Tumoren | -.214* | .086 | .017 | -.387 | -.040 |
| ZNS Tumoren | Neuro obB | .312* | .070 | .000 | .171 | .454 |
| | Neuro FIP | .214* | .086 | .017 | .040 | .387 |

Basiert auf den geschätzten Randmitteln

*. Die mittlere Differenz ist auf dem Niveau .05 signifikant

a. Anpassung für Mehrfachvergleiche: Geringste signifikante Differenz (entspricht keinen Anpassungen).

3.2.10 Graphische Darstellung der Daten

3.2.10.1 Gesamtproteingehalt

Ein Vergleich der Messwerte des Gesamtproteins zwischen den einzelnen Gruppen wurde anhand eines Box- und Whisker-Plots dargestellt (Abb.7).

Auf der x-Achse sind die Einzelnen zu untersuchenden Gruppen I bis III angegeben. Auf der y-Achse befindet sich die Angabe für das Gesamtprotein in der Einheit g/l.

Die Grafik zeigt ferner für jede kategoriale Größe den Median – also das 50 %-Perzentil – sowie die 25 %- und 75 %-Perzentile.

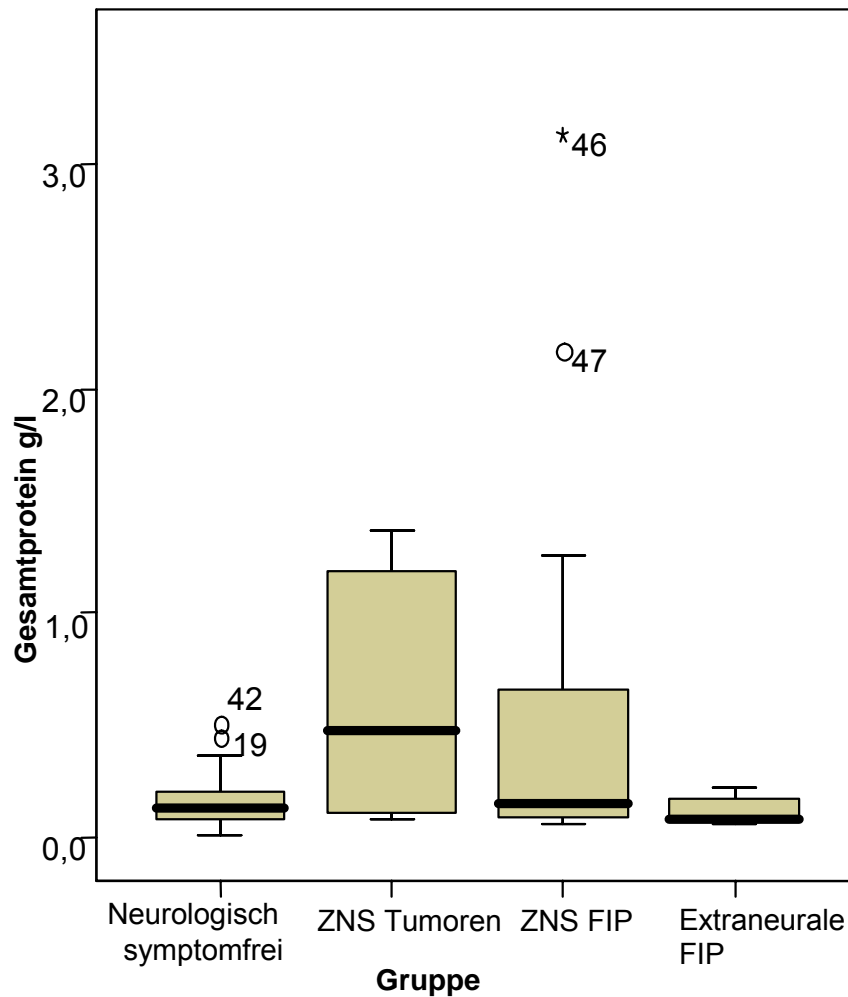


Abbildung 7: Box- und Whisker-Plot Gesamtprotein

- **Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen**

Gruppe I zeigte nur eine geringe Streuung der Messwerte. Es lagen zwei Ausreißerwerte nach oben vor. Beide Werte lagen einzeln betrachtet eng beieinander (0,45 g/l und 0,51 g/l, Nr. 19 und Nr. 42).

Die Größe der Box ergab eine geringe Variabilität der Daten um den Median (0,13 g/l). Die Lage des Median zeigte eine symmetrische Verteilung der Daten. Der größte beobachtete Wert nach oben (x_{max}) betrug 0,36 g/l; der kleinste beobachtete Wert (x_{min}) betrug 0,06 g/l.

- **Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen**

Gesamtprotein Gruppe II a:

Der Box- und Whisker-Plot für die Gruppe II a zeigte die größte Variabilität der Werte. Der Median lag bei 0,47 g/l. Die Lage des Median ergibt eine asymmetrische Verteilung der Messwerte mit einer rechts-schiefen Ausrichtung.

Der größte beobachtete Messwert (x_{max}) lag bei 1,37 g/l; der kleinste beobachtete Messwerte (x_{min}) bei 0,08 g/l. In dieser Gruppe wurden keine Ausreißerwerte beobachtet.

Ein Vergleich der Medianen des Gesamtproteins zwischen Gruppe I und II a ergab einen fast um das dreifache höheren Median (293,75 %) bei Katzen mit Neoplasien im ZNS.

Gesamtprotein Gruppe II b:

Im Diagramm der Gruppe II b wurde ebenfalls eine höhere Variabilität der Messwerte im Vergleich zur Gruppe I beobachtet. Auch hier zeigte die Lage des Median (0,18 g/l) eine asymmetrische Verteilung mit einer rechts-schiefen Ausrichtung.

In dieser Gruppe lagen ein Ausreißerwert nach oben (2,17 g/l) und ein Extremwert nach oben (3,13 g/l) vor. Dies bedeutet, dieser Wert übersteigt um mehr als das dreifache den Wertebereich, der am oberen Ende der Box liegenden Werte.

Der größte beobachtete Messwert (x_{max}) liegt bei 1,26 g/l; der kleinste beobachtete Messwert (x_{min}) bei 0,06 g/l. Ein Vergleich der Medianen des Gesamtproteins zwischen Gruppe I und Gruppe II b zeigt einen nahezu identischen Wert.

- **Gruppe III: Extraneurale FIP**

Der Box- und Whisker-Plot der Gruppe III zeigte die geringste Variabilität der Messwerte. Der Median in dieser Gruppe lag bei 0,08 g/l. Die Lage des Median ergab eine asymmetrische Verteilung der Daten mit einer rechts-schiefen Verteilung.

Der größte beobachtete Messwert (x_{max}) lag bei 0,22 g/l und der kleinste beobachtete Messwert (x_{min}) bei 0,06 g/l.

3.2.10.2 Albuminquotient

Ein Vergleich der Messergebnisse des Albuminquotienten der einzelnen Gruppen wurde ebenfalls anhand eines Box- und Whisker-Plots dargestellt (Abb. 8).

Auf der x-Achse sind die einzelnen zu untersuchenden Gruppen I bis III angegeben. Die y-Achse gibt den Wert des Albuminquotienten ohne Einheit an. Die Grafik zeigt ferner für jede kategoriale Größe den Median – also das 50 %-Perzentil– sowie die 25 % und 75 %-Perzentile.

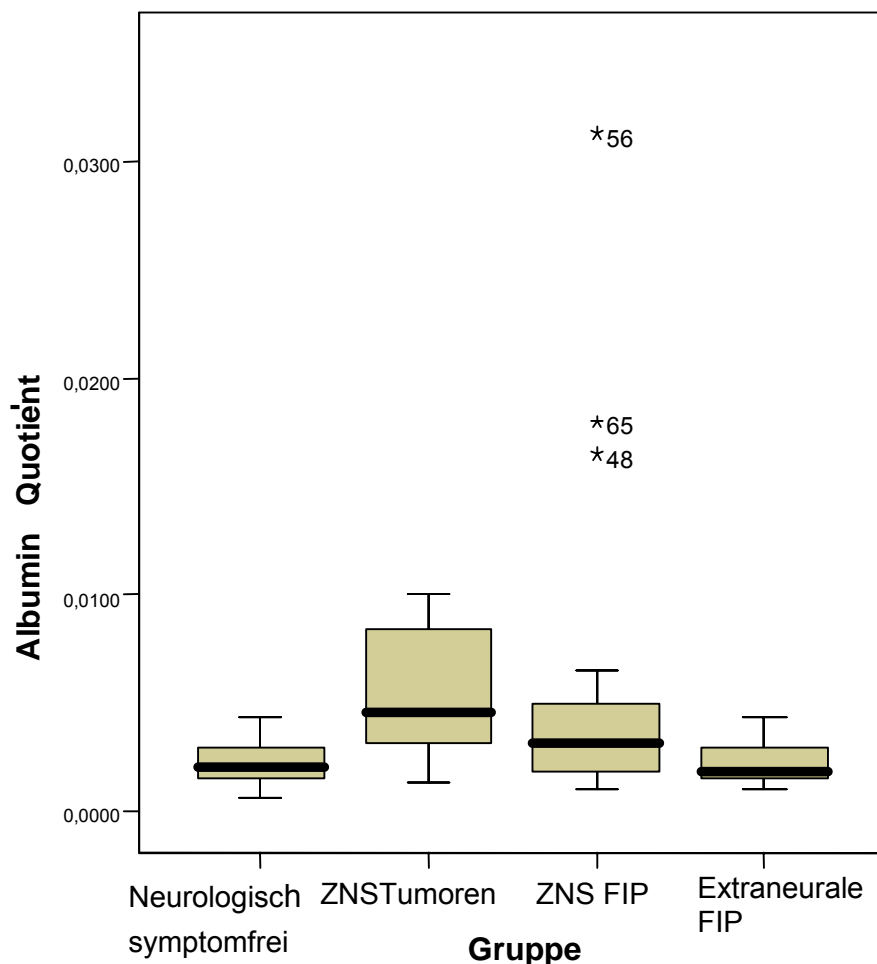


Abbildung 8: Box- und Whisker-Plot Albumin-Quotient

- **Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen**

Auch dieser Wert zeigte für die Gruppe I nur eine geringe Streuung der Messwerte. Es lagen keine Ausreißerwerte vor.

Die Größe der Box zeigte eine geringe Variabilität der Daten um den Median (0,0018). Die Lage des Median ergab eine asymmetrische Verteilung der Daten mit einer rechts-schiefen Verteilung. Der größte beobachtete Wert nach oben (x_{\max}) beträgt 0,057; der kleinste beobachtete Wert (x_{\min}) beträgt 0,0006.

- **Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen**

Albuminquotient Gruppe II a:

Der Box- und Whisker-Plot für die Gruppe II a zeigte auch hier, wie bei den Ergebnissen für das Gesamtprotein, die größte Variabilität der Werte. Der Median lag bei 0,0046. Die Lage des Median ergab eine asymmetrische Verteilung der Messwerte mit einer rechts-schiefen Ausrichtung.

Der größte beobachtete Messwert (x_{\max}) lag bei 0,010; der Kleinste (x_{\min}) bei 0,0013. In dieser Gruppe wurden keine Ausreißerwerte beobachtet.

Ein Vergleich der Mediane des Gesamtproteins zwischen den Gruppe I und II a ergab einen 2,5fach höheren Median bei Katzen mit Neoplasien im ZNS.

Albuminquotient Gruppe II b:

Im Diagramm der Gruppe II b wurde ebenfalls eine höhere Variabilität der Messwerte im Vergleich zur Gruppe I beobachtet. Auch hier zeigte die Lage des Median eine asymmetrische Verteilung mit einer rechts-schiefen Ausrichtung.

In dieser Gruppe lagen drei Ausreißerwerte (0,016, 0,018 und 0,031) nach oben vor. Der größte beobachtete Messwert (x_{\max}) lag bei 0,0065; der Kleinste (x_{\min}) bei 0,001. Ein Vergleich der Mediane des Gesamtproteins zwischen Gruppe I und Gruppe II b ergab einen 1,5fach höheren Median bei Katzen mit einer zentralnervösen FIP.

- **Gruppe III: Extraneurale FIP**

Der Box- und Whisker-Plot der Gruppe III zeigte die geringste Variabilität der Messwerte. Der Median in dieser Gruppe lag bei 0,0018. Die Lage des Median ergab eine asymmetrische Verteilung der Daten mit rechts-schiefer Ausrichtung.

Der größte beobachtete Messwert (x_{\max}) lag bei 0,0044 und der kleinste

beobachtete Messwert (x_{\min}) bei 0,001.

Ein Vergleich der Mediane zwischen Gruppe I und Gruppe III ergab einen identischen Wert.

3.2.10.3 IgG Index

Ein Vergleich der Messergebnisse des IgG Index der einzelnen Gruppen wurde ebenfalls anhand eines Box- und Whisker-Plots dargestellt (Abb.9).

Auf der x-Achse sind die einzelnen zu untersuchenden Gruppen I bis III angegeben. Auf der y-Achse befindet sich die Angabe für den IgG Index ohne Einheit.

Die Grafik zeigt ferner für jede kategoriale Größe den Median – also das 50 %-Perzentil – sowie die 25 % und 75 %-Perzentile.

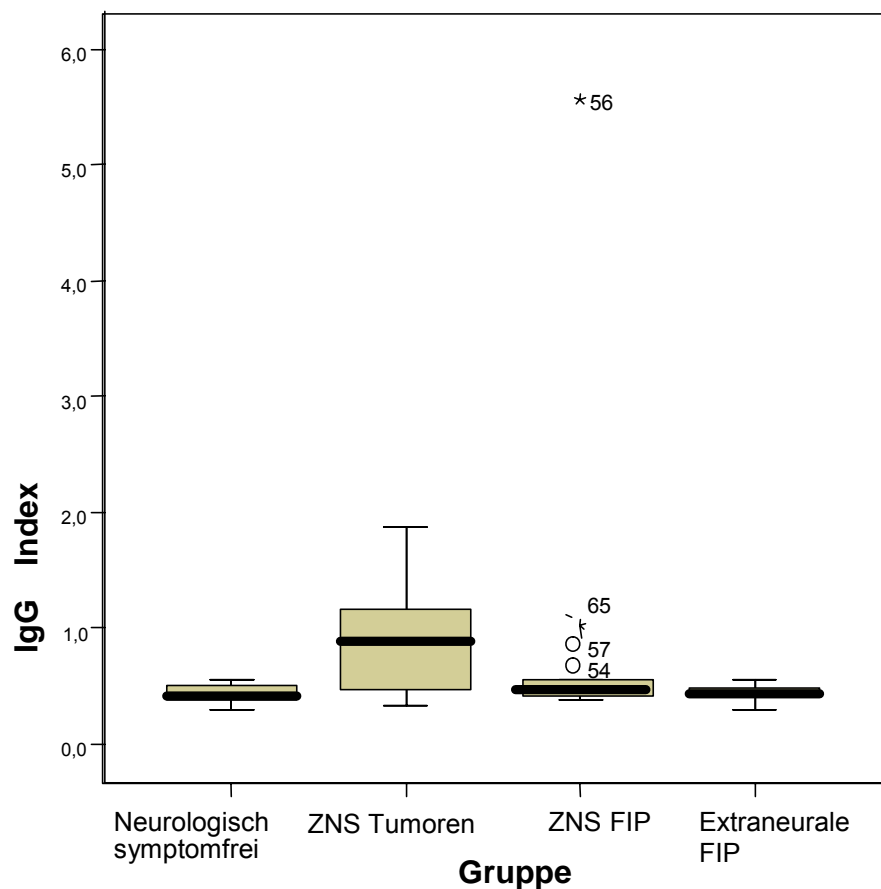


Abbildung 9: Box- und Whisker-Plot IgG Index

- **Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen**

Auch dieser Wert zeigte für die Gruppe I nur eine geringgradige Streuung der Messwerte. Es lagen auch hier keine Ausreißerwerte vor.

Die Größe der Box ergab die geringste Variabilität der Daten um den Median (0,44). Die Lage des Median zeigt eine asymmetrische Verteilung der Daten mit einer rechts-schiefen Verteilung. Der größte beobachtete Wert nach oben (x_{max}) beträgt 0,56; der kleinste beobachtete Wert (x_{min}) 0,3.

- **Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen**

IgG Index Gruppe II a:

Der Box- und Whisker-Plot für die Gruppe II a zeigte auch hier die größte Variabilität der Werte. Der Median lag bei 0,89. Die Lage des Median ergibt eine asymmetrische Verteilung der Messwerte mit einer links-schiefen Verteilung.

Der größte beobachtete Messwert (x_{max}) liegt bei 1,88; der kleinste beobachtete Messwerte (x_{min}) bei 0,33. In dieser Gruppe wurden keine Ausreißerwerte beobachtet.

Ein Vergleich der Median des Gesamtproteins zwischen Gruppe I und II a ergab einen 1,5fach höheren Median bei Katzen mit Neoplasien im ZNS.

IgG Index Gruppe II b:

Im Diagramm der Gruppe II b wurde eine geringe Variabilität der Messwerte beobachtet. Auch hier zeigte die Lage des Median (0,48) eine asymmetrische Verteilung mit einer rechts-schiefen Verteilung. In dieser Gruppe lagen zwei Ausreißerwerte (0,69 und 0,77) nach oben vor. Zusätzlich zeigten sich zwei Extremwerte (1,03 und 5,57) nach oben vor. Der größte beobachtete Messwert (x_{max}) lag bei 0,56; der kleinste beobachtete Messwert (x_{min}) bei 0,39.

Ein Vergleich der Mediane des IgG Index zwischen Gruppe I und Gruppe II b ergibt einen nahezu identischen Median bei beiden Gruppen.

- **Gruppe III: Extraneurale FIP**

Der Box- und Whisker-Plot der Gruppe III zeigte auch hier die geringste Variabilität der Messwerte. Der Median in dieser Gruppe lag bei 0,44. Die Lage des Median ergab eine symmetrische Verteilung.

Der größte beobachtete Messwert (x_{max}) lag bei 0,6 und der Kleinste (x_{min}) bei

0,29. Der Vergleich der Mediane zwischen Gruppe I und Gruppe III ergab einen nahezu identischen Wert (0,42 und 0,44).

3.2.11 Einfache Regressionsanalyse für metrische Variablen

3.2.11.1 Korrelation Liquorprotein, Albumin-Quotient und IgG Index

Für die metrischen Variablen wurde eine einfache Regressionsanalyse durchgeführt. Diese Analyse wurde für jede Gruppe separat berechnet. Untersucht wurde die Korrelation zwischen Gesamtproteinkonzentration, Albumin-Quotient und IgG Index im Liquor.

• Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen

Der Korrelationskoeffizient r nach Pearson für die einzelnen Parameter ist in Tabelle 33 veranschaulicht. In dieser Gruppe besteht eine signifikante Korrelation zwischen dem Gesamtproteingehalt des Liquors und dem Albumin-Quotienten (Pearson-Korrelation: 0,593). Keine signifikante Korrelation konnte dagegen zwischen den Messgrößen Gesamtprotein/IgG Index und Albumin-Quotient/IgG Index nachgewiesen werden. Abbildung 10 veranschaulicht die Korrelation zwischen Gesamtprotein und Albumin-Quotient.

Tabelle 33: Korrelation nach Pearson Gesamtprotein/Albumin-Quotient/IgG Index Gruppe I

| | | Gesamtprotein g/l | Albumin Quotient | IgG-Index |
|----------------------|--------------------------|----------------------|---------------------|-----------|
| Gesamtprotein g/l | Korrelation nach Pearson | 1 | .593** | .021 |
| | Signifikanz (2-seitig) | | .008 | .893 |
| Albumin- Quotient | Korrelation nach Pearson | .593** | 1 | .063 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .008 | | .824 |
| IgG-Index | Korrelation nach Pearson | .021 | .063 | 1 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .893 | .824 | |

** . Die Korrelation ist auf dem Nive au von 0,01 (2-seitig) signifikant.

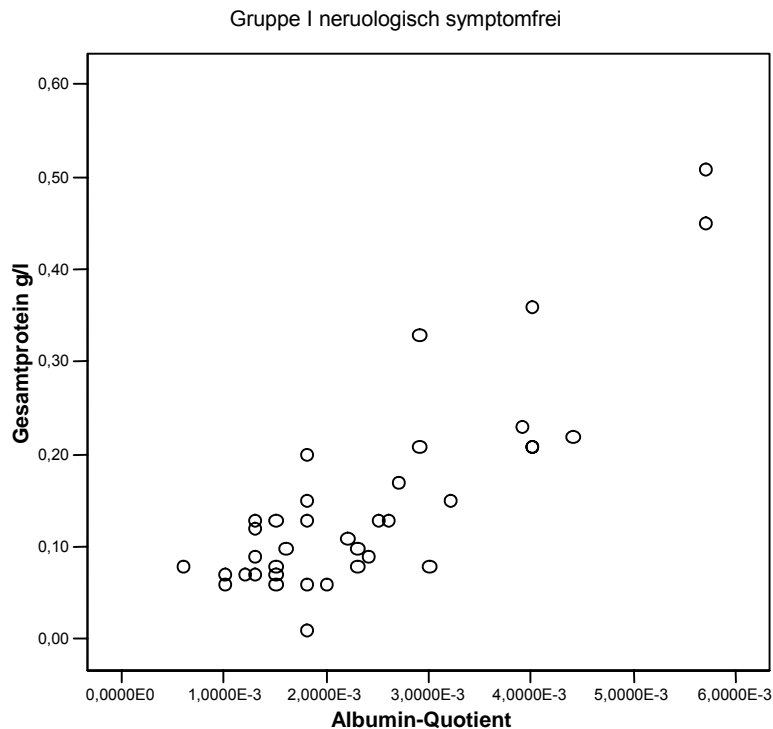


Abbildung 10: Korrelation Gesamtprotein/Albumin-Quotient Gruppe I

• Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen

Dazu wurde Liquor von 23 neurologisch erkrankten Katzen auf den Gesamtproteingehalt, Albumin-Quotienten und IgG Index untersucht. Die Proteinwerte umfassten den Bereich von 0,08 bis 3,13 g/l, der Albumin-Quotient 0,0013 bis 0,031 und der IgG Index 0,3 bis 5,17.

In der Gruppe II a bestand keine signifikante Korrelation zwischen Gesamtprotein/Albumin-Quotient, Gesamtprotein/IgG Index oder Albumin-Quotient/IgG Index.

Gruppe II b zeigt eine signifikant positive Korrelation zwischen Albumin-Quotient und IgG Index. (Pearson-Korrelation: 0,833). Keine Abhängigkeit ergab sich im Vergleich zwischen Gesamtprotein/Albumin-Quotient und Gesamtprotein/IgG Index. Abbildung 11 zeigt ein Punktwolkendiagramm der voneinander abhängigen Parameter Albumin-Quotient und IgG Index bei Katzen mit zentralnervöser FIP. Die einzelnen Pearson-Korrelationen sind in Tabelle 34 dargestellt.

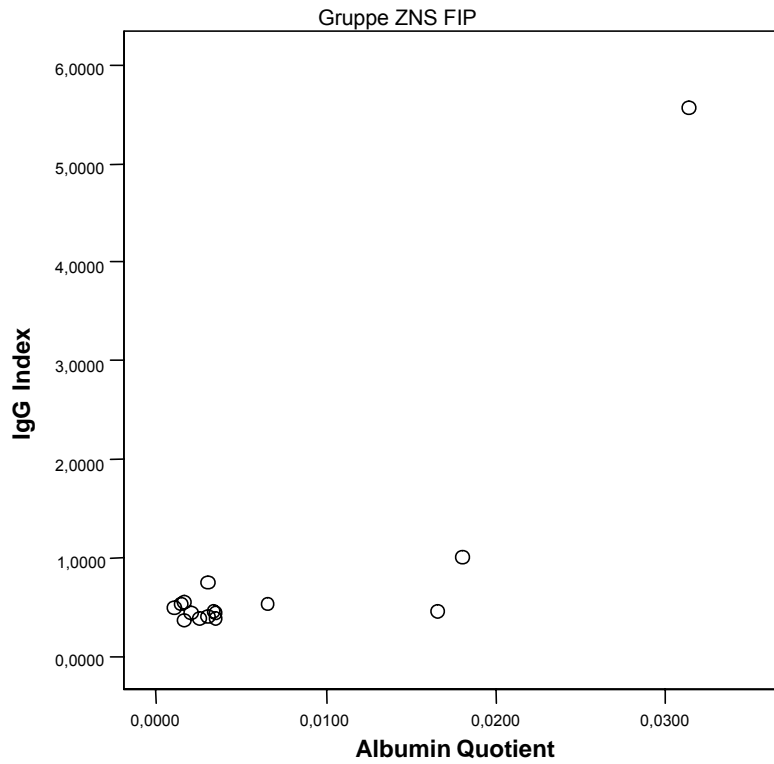


Abbildung 11: Korrelation Albumin-Quotient/IgG Index Gruppe II b

Tabelle 34.: Korrelation Gesamtprotein/Albumin-Quotient/IgG Index Gruppe II a

| | | Gesamtprotein g/l | Albumin- Quotient | IgG- Index |
|----------------------|--|----------------------|----------------------|---------------|
| Gesamtprotein g/l | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | 1 | .704 .051 | .636 .090 |
| Albumin- Quotient | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | .704 .051 | 1 | .090 .832 |
| IgG- Index | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | .636 .090 | .090 .832 | 1 |

Tabelle 35: Korrelation Gesamtprotein/Albumin-Quotient/IgG Index Gruppe II b

| | | Gesamtprotein g/l | Albumin Quotient | IgG-Index |
|----------------------|--------------------------|----------------------|---------------------|-----------|
| Gesamtprotein g/l | Korrelation nach Pearson | 1 | .433 | -.093 |
| | Signifikanz (2-seitig) | | .107 | .742 |
| Albumin- Quotient | Korrelation nach Pearson | .433 | 1 | .833** |
| | Signifikanz (2-seitig) | .107 | | .000 |
| IgG-Index | Korrelation nach Pearson | -.093 | .833** | 1 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .742 | .000 | |

** . Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

- **Gruppe III: Extraneurale FIP**

Die Untersuchung auf Abhängigkeiten innerhalb der Gruppe Katzen mit einer extraneuralen FIP Infektion erfolgte im Liquor von 12 Katzen.

Innerhalb dieser Gruppe ergibt sich eine signifikant positive Korrelation zwischen den Parametern Gesamtprotein und Albumin-Quotienten (Pearson-Korrelation: 0,695). Abbildung 12 veranschaulicht die signifikant positive Korrelation im Punktwolkendiagramm. Keine Korrelation zeigt sich bei der Regressionsanalyse zwischen den Parametern Gesamtprotein/IgG Index und Albumin-Quotienten/IgG Index. Tabelle 36 gibt einen Überblick über die Einzelvergleiche der Messgrößen.

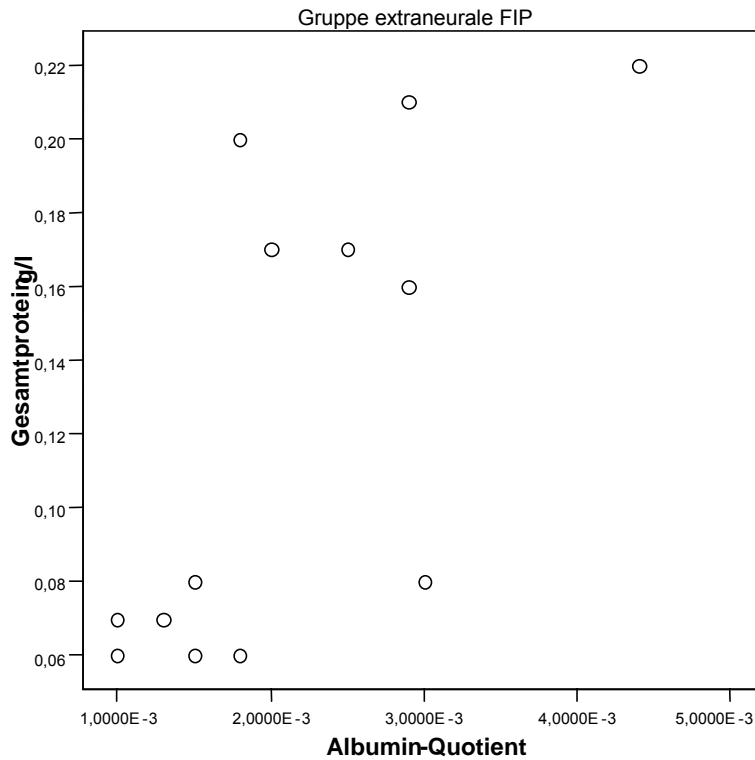


Abbildung 12: Korrelation Gesamtprotein und Albumin-Quotient Gruppe III

Tabelle 36: Korrelation Gesamtprotein/Albumin-Quotient/IgG Index Gruppe III

| | | Gesamtprotein g/l | Albumin Quotient | IgG-Index |
|----------------------|--------------------------|----------------------|---------------------|-----------|
| Gesamtprotein g/l | Korrelation nach Pearson | 1 | .695** | .023 |
| | Signifikanz (2-seitig) | | .008 | .941 |
| Albumin- Quotient | Korrelation nach Pearson | .695** | 1 | .067 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .008 | | .827 |
| IgG-Index | Korrelation nach Pearson | .023 | .067 | 1 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .941 | .827 | |

** . Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

3.2.11.2 Korrelation Serum-, Liquoralbumin und Albumin-Quotient

3.2.11.2.1 Korrelation Serum-Albumin und Albumin-Quotient

Die Tabellen 37 bis 39 zeigen die Ergebnisse der Regressionsanalyse für die Korrelation zwischen Serum-Albumin und Albumin-Quotient.

Für das Serum-Albumin und den Albumin-Quotienten konnte in keiner der einzelnen Gruppen eine signifikant positive Korrelation zwischen den Parametern nachgewiesen werden. Es bestand in keiner der Gruppen eine Abhängigkeit der beiden Parameter voneinander.

- **Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen**

Tabelle 37: Korrelation Serum-Albumin und Albumin-Quotient Gruppe I

| | | Albumin Quotient | Albumin Serum |
|------------------|--|--|--------------------|
| Albumin-Quotient | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | 1 . 636</td <td>-.080 .<!--636</td--> </td> | -.080 . 636</td |
| Albumin Serum | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | -.080 . 636</td <td>1</td> | 1 |

- **Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen**

Tabelle 38: Korrelation Serum-Albumin und Albumin-Quotient Gruppe II a

| | | Albumin Quotient | Albumin Serum |
|------------------|--|---------------------------------------|---------------|
| Albumin-Quotient | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | 1 . 457</td <td>.457 .087</td> | .457 .087 |
| Albumin Serum | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | .457 .087 | 1 |

Tabelle 39: Korrelation Serum-Albumin und Albumin-Quotient Gruppe II b

| | | Albumin Quotient | Albumin Serum |
|----------------------|--|---------------------|------------------|
| Albumin- Quotient | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | 1 | .357 .079 |
| Albumin Serum | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | .357 .079 | 1 |

3.2.11.2 Korrelation Liquor-Albumin und Albumin-Quotient

Für die Darstellung der Korrelation zwischen Liquor-Albumin und Albumin-Quotient wurde ebenfalls eine einfache Regressionsanalyse durchgeführt. In der Gruppe der neurologisch symptomfreien Katzen bestand eine signifikant positive Korrelation zwischen Liquor-Albumin und Albumin-Quotienten (Pearson-Korrelation: 0,694). Dahingegen wurde keine Korrelation in der Gruppe II neurologisch erkrankte Katzen gefunden werden. Die Ergebnisse werden in den Tabellen 40 bis 42 dargestellt.

- **Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen**

Tabelle 40: Korrelation Albumin-Quotient und Albumin-Liquor Gruppe I

| | | Albumin Quotient | Albumin Liquor |
|----------------------|--|---------------------|-------------------|
| Albumin- Quotient | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | 1 | .694 ** .000 |
| Albumin Liquor | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | .694 ** .000 | 1 |

** . Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant

- **Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen**

Tabelle 41: Korrelation Albumin-Quotient und Albumin-Liquor Gruppe II a

| | | Albumin Quotient | Albumin Liquor |
|----------------------|--|---------------------|-------------------|
| Albumin- Quotient | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | 1 | .379 .355 |
| Albumin Liquor | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | .379 .355 | 1 |

Tabelle 42: Korrelation Albumin-Quotient und Albumin-Liquor Gruppe II b

| | | Albumin Quotient | Albumin Liquor |
|----------------------|--|---------------------|-------------------|
| Albumin- Quotient | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | 1 | .563 .091 |
| Albumin Liquor | Korrelation nach Pearson Signifikanz (2-seitig) | .563 .091 | 1 |

3.2.11.3 Korrelation Liquor-IgG, Serum-IgG und IgG Index

3.2.11.3.1 Korrelation Serum-IgG und IgG Index

Um zu zeigen, ob der Gehalt an Immunglobulin G im Serum einen Einfluss auf den IgG Index hat, wurden auch hier mit Hilfe der einfachen Regressionsanalyse diese beiden Parameter miteinander verglichen.

Zwischen den IgG Werten im Serum und dem IgG Index bestand in keiner der untersuchten Gruppen ein Zusammenhang. Es konnte keine positiv signifikante Korrelation bestimmt werden. Tabelle 43 bis 45 veranschaulichen die ermittelten Daten.

- **Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen**

Tabelle 43: Korrelation IgG-Serum und IgG Index Gruppe I

| | | IgG-Index | Ig G Serum |
|------------|--------------------------|-----------|------------|
| IgG-Index | Korrelation nach Pearson | 1 | -.114 |
| | Signifikanz (2-seitig) | | .501 |
| Ig G Serum | Korrelation nach Pearson | -.114 | 1 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .501 | |

- **Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen**

Tabelle 44: Korrelation IgG-Serum und IgG Index Gruppe II a

| | | IgG-Index | Ig G Serum |
|------------|--------------------------|-----------|------------|
| IgG-Index | Korrelation nach Pearson | 1 | .843 |
| | Signifikanz (2-seitig) | | .073 |
| Ig G Serum | Korrelation nach Pearson | .843 | 1 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .073 | |

Tabelle 45: Korrelation IgG-Serum und IgG Index Gruppe II b

| | | IgG-Index | Ig G Serum |
|------------|--------------------------|-----------|------------|
| IgG-Index | Korrelation nach Pearson | 1 | -.144 |
| | Signifikanz (2-seitig) | | .608 |
| Ig G Serum | Korrelation nach Pearson | -.144 | 1 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .608 | |

3.2.11.3.2 Korrelation Liquor-IgG und IgG Index

Zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen Liquor-IgG und dem IgG Index wurde ebenfalls eine einfache Regressionsanalyse durchgeführt. Auch diese Untersuchung wurde für die Gruppe I bis III, sowie den Untergruppen jeweils einzeln durchgeführt und ist in den Tabellen 46 bis 48 dargestellt.

Abb. 48 zeigt eine signifikant positive Korrelation zwischen dem Gehalt an IgG im Liquor und dem IgG Index (Pearson-Korrelation: 0,993) bei Katzen mit einer zentralnervösen FIP. Für die Gruppen I und II a konnte kein Zusammenhang zwischen diesen Werten nachgewiesen werden.

- **Gruppe I: Neurologisch gesunde Katzen**

Tabelle 46: Korrelation IgG-Liquor mit IgG Index Gruppe I

| | | IgG-Index | Ig G Liquor |
|-------------|--------------------------|-----------|-------------|
| IgG-Index | Korrelation nach Pearson | 1 | .015 |
| | Signifikanz (2-seitig) | | .932 |
| Ig G Liquor | Korrelation nach Pearson | .015 | 1 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .932 | |

- **Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen**

Tabelle 47: Korrelation IgG-Liquor mit IgG Index Gruppe II a

| | | IgG-Index | Ig G Liquor |
|-------------|--------------------------|-----------|-------------|
| IgG-Index | Korrelation nach Pearson | 1 | .943 |
| | Signifikanz (2-seitig) | | .057 |
| Ig G Liquor | Korrelation nach Pearson | .943 | 1 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .057 | |

Tabelle 48: Korrelation IgG-Liquor mit IgG Index Gruppe II b

| | | IgG-Index | Ig G Liquor |
|-------------|--------------------------|-----------|-------------|
| IgG-Index | Korrelation nach Pearson | 1 | .993** |
| | Signifikanz (2-seitig) | | .000 |
| Ig G Liquor | Korrelation nach Pearson | .993** | 1 |
| | Signifikanz (2-seitig) | .000 | |

** Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant

3.2.12 Liquorergebnisse

- **Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen**

| Comp. Nr. | Leukozyten/3 | Erythrozyten/3 | Pándy | Gesamtprotein | AQ | IgG Index |
|-----------|--------------|----------------|---------|---------------|--------|-----------|
| 38782 | 1 | 20 | negativ | 0,09 | 0,0013 | 0,4 |
| 39307 | 9 | 3 | negativ | 0,36 | 0,004 | 0,4 |
| 40942 | 2 | 15 | negativ | 0,06 | 0,001 | 0,39 |
| 39969 | 1 | 65 | negativ | 0,06 | 0,0015 | 0,43 |
| 41014 | 2 | 0 | negativ | 0,10 | 0,0013 | 0,21 |
| 41399 | 3 | 10 | negativ | 0,07 | 0,0015 | 0,41 |
| 40685 | 8 | 2 | negativ | 0,21 | 0,0029 | 0,29 |
| 42269 | 4 | 43 | negativ | 0,01 | 0,0018 | 0,32 |
| 42378 | 0 | 12 | negativ | 0,06 | 0,002 | 0,54 |
| 42862 | 4 X | 2 | negativ | 0,10 | 0,0016 | 0,45 |
| 43957 | 1 | 26 | negativ | 0,12 | 0,0020 | 0,45 |
| 45635 | 3 | 1 | negativ | 0,13 | 0,0013 | 0,53 |
| 45748 | 9 | 99 | negativ | 0,21 | 0,0012 | 0,32 |
| 45819 | 2 | 5 | negativ | 0,13 | 0,0018 | 0,38 |
| 45917 | 2 | 41 | negativ | 0,22 | 0,0044 | 0,54 |
| 38371 | 12 | 55 | negativ | 0,45 | 0,0057 | 0,48 |
| 41998 | 1 | 0 | negativ | 0,07 | 0,0012 | 0,41 |

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

| Comp. Nr. | Leuko- zyten/3 | Erythro- zyten/3 | Pándy | Gesamt- protein | AQ | IgG Index |
|-----------|-------------------|---------------------|---------|--------------------|--------|-----------|
| 38579 | 9 | 10 | negativ | 0,13 | 0,0025 | 0,53 |
| 37087 | 0 | 18 | negativ | 0,21 | 0,004 | 0,37 |
| 41647 | 7 | 8 | negativ | 0,10 | 0,001 | 0,49 |
| 37002 | 4 | 3 | negativ | 0,08 | 0,0023 | 0,51 |
| 42743 | 1 | 2 | negativ | 0,08 | 0,003 | 0,41 |
| 44428 | 12 | 65 | negativ | 0,23 | 0,0015 | 0,41 |
| 44355 | 1 | 2 | negativ | 0,17 | 0,0025 | 0,47 |
| 43954 | 0 | 3 | negativ | 0,17 | 0,0032 | 0,42 |
| 47188 | 1 | 7 | negativ | 0,11 | 0,0022 | 0,29 |
| 48223 | 7 | 11 | negativ | 0,13 | 0,0015 | 0,52 |
| 48229 | 7 | 7 | negativ | 0,07 | 0,0023 | 0,5 |
| 38139 | 1 | 0 | negativ | 0,07 | 0,0013 | 0,45 |
| 42208 | 3 | 3 | negativ | 0,09 | 0,0024 | 0,29 |
| 44822 | 1 | 1 | negativ | 0,20 | 0,0018 | 0,55 |
| 36012 | 2 | 0 | negativ | 0,06 | 0,0025 | 0,29 |
| 38281 | 1 | 11 | negativ | 0,12 | 0,0013 | 0,41 |
| 44747 | 1 | 5 | negativ | 0,21 | 0,004 | 0,33 |
| 23786 | 2 | 0 | negativ | 0,15 | 0,0018 | 0,34 |
| 46326 | 4 | 126 | negativ | 0,51 | 0,0032 | 0,43 |
| 39105 | 9 | 5 | negativ | 0,13 | 0,0026 | 0,40 |

• **Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen**

Gruppe II a ZNS Tumoren

| Comp.Nr. | Leukozyten/3 | Erythrozyten/3 | Pándy | Gesamt-protein | AQ | IgG Index |
|----------|--------------|----------------|---------|----------------|--------|-----------|
| 40976 | 15 | 34 | positiv | 1,27 | 0,0071 | 1,24 |
| 41096 | 34 | 56 | negativ | 0,08 | 0,0019 | 0,81 |
| 44177 | 13 | 445 | positiv | 1,37 | 0,01 | 0,98 |
| 46413 | 1 | 15 | negativ | 0,12 | 0,0013 | 0,41 |
| 42085 | 61 | 4160 | negativ | 0,29 | 0,0048 | 1,1 |
| 43207 | 9 | 96 | negativ | 0,66 | 0,0097 | 0,53 |
| 53220 | 0 | 2 | negativ | 0,11 | 0,0044 | 0,33 |
| 35795 | 3 | 5 | negativ | 1,1 | 0,0043 | 1,88 |

Gruppe II b ZNS FIP

| Comp.Nr. | Leukozyten/3 | Erythrozyten/3 | Pándy | Gesamt-protein | AQ | IgG Index |
|----------|--------------|----------------|---------|----------------|--------|-----------|
| 43770 | 81 | 37 | positiv | 1,11 | 0,0165 | 0,48 |
| 39776 | 258 | 1031 | positiv | 1,00 | 0,0065 | 0,55 |
| 48331 | 32 | 12 | negativ | 0,32 | 0,0034 | 0,46 |
| 47760 | 884 | 6 | negativ | 0,31 | 0,0033 | 0,47 |
| 50224 | 342 | 958 | positiv | 0,15 | 0,003 | 0,42 |
| 49345 | 32 | 12 | negativ | 0,11 | 0,0016 | 0,39 |
| 45814 | 517 | 253 | negativ | 0,10 | 0,0313 | 5,57 |
| 51024 | 48 | 1208 | negativ | 0,10 | 0,003 | 0,77 |
| 39812 | 1 | 0 | negativ | 0,10 | 0,0025 | 0,41 |
| 43047 | 81 | 37 | positiv | 0,08 | 0,002 | 0,45 |
| 50756 | 45 | 23 | negativ | 0,08 | 0,001 | 0,51 |
| 39331 | 2 | 10 | negativ | 0,07 | 0,0014 | 0,55 |
| 38984 | 1 | 20 | negativ | 0,06 | 0,0016 | 0,56 |
| 45645 | 22 | 110 | negativ | 0,22 | 0,0034 | 0,42 |
| 79125 | 387 | 27 | positiv | 1,26 | 0,018 | 1,03 |

- **Gruppe III: Extraneurale FIP**

| Comp. Nr. | Leukozyten/3 | Erythrozyten/3 | Pándy | Gesamtprotein | AQ | IgG Index |
|-----------|--------------|----------------|---------|---------------|--------|-----------|
| 40942 | 2 | 6 | negativ | 0,06 | 0,001 | 0,39 |
| 39969 | 1 | 65 | negativ | 0,06 | 0,0015 | 0,43 |
| 40685 | 0 | 2 | negativ | 0,21 | 0,0029 | 0,29 |
| 45917 | 2 | 41 | negativ | 0,22 | 0,0044 | 0,54 |
| 37087 | 0 | 18 | negativ | 0,07 | 0,001 | 0,49 |
| 37002 | 2 | 13 | negativ | 0,08 | 0,003 | 0,42 |
| 42743 | 1 | 2 | negativ | 0,08 | 0,0015 | 0,41 |
| 45261 | 11 | 253 | negativ | 0,06 | 0,0018 | 0,55 |
| 44355 | 1 | 2 | negativ | 0,17 | 0,002 | 0,41 |
| 43954 | 2 | 3 | negativ | 0,17 | 0,0025 | 0,48 |
| 38139 | 0 | 0 | negativ | 0,07 | 0,0013 | 0,45 |
| 44822 | 3 | 17 | negativ | 0,2 | 0,0018 | 0,55 |

4 DISKUSSION

Die vorliegende Arbeit beschreibt Referenzwerte im Liquor cerebrospinalis für das Gesamtprotein, den Albumin-Quotienten und den IgG Index bei der Katze. Untersucht wurden insgesamt 72 Katzen, die alle durch eine histopathologische Untersuchung eindeutig in eine der drei Gruppen -neurologisch symptomfrei, neurologisch erkrankt (Neoplasien des ZNS, zentralnervöse Form der FIP), extraneurale FIP- eingeteilt werden konnten.

37 Tiere wurden der Gruppe I neurologisch symptomfreie Katzen zugeordnet. Zusätzlich wurden bei insgesamt 23 Katzen der Gruppe II, neurologisch erkrankte Katzen, Untersuchungen der Blut-Hirn Schranke angefertigt und der Nutzen des Nachweises einer Blut-Hirn Schrankenstörung und intrathekalen IgG Synthese für die klinische Diagnosestellung betrachtet. Dazu wurde die konventionelle Liquordiagnostik (Zellzahlbestimmung, Zelldifferenzierung, Gesamtproteinbestimmung und Pándy Test) um den Albumin-Quotienten und IgG Index erweitert. Voraussetzung für die Ermittlung dieser Werte war die vorherige Bestimmung der Albumin- und IgG-Konzentrationen im Liquor und Serum der Katzen.

4.1 Referenzbereichsbestimmung

Die Analyse der Daten von Gesamtprotein, AQ oder IgG Index ergab keine Abhängigkeit von Alter, Geschlecht oder Rasse. Daher konnten alle 37 neurologisch gesunden Tiere zur Bestimmung der Referenzbereiche herangezogen werden.

Bei der Sichtung der Daten und deren graphischer Darstellung (Abb.7) konnten zwei Ausreißerwerte dokumentiert werden, die aber keine Extremwerte darstellen. Aus diesem Grund wurde auf eine Überprüfung der Extremwerte auf Ausreißer nach der Methode von HENRY und REED (1971) verzichtet.

Der Test auf Normalverteilung mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests (Abb. 3) ergab, dass eine Normalverteilung der Datenmenge nicht abgelehnt werden kann. Aufgrund dieser Normalverteilung ist die Verwendung von $\bar{x} \pm 2s$ zur Konstruktion

univariater Referenzbereiche zulässig. Wie bei der Untersuchung auf Altersabhängigkeit wäre es eigentlich sinnvoll, eine größere Anzahl an Tieren zur Ermittlung der Referenzbereiche heranzuziehen. Da die Ermittlung von Referenzbereichen aber nur bei neurologisch gesunden Katzen durchgeführt werden kann und eine Vollnarkose die Voraussetzung für die Gewinnung einer Liquorprobe ist, beschränkt sich die Anzahl der untersuchten gesunden Katzen auf 37.

Zur Beschreibung der Daten der neurologisch symptomfreien Katzen wurden in dieser Studie neben dem $\bar{x} \pm 2s$ zwei weitere Methoden herangezogen (Tab. 15). In der ersten Spalte ist die Spannweite angegeben die auch als Variationsbreite bezeichnet wird. Es handelt sich um die Angabe des kleinsten und größten gemessenen Wertes und beinhaltet alle gemessenen Werte. Diese Form der Beschreibung von Referenzwerten setzt voraus, dass die Probengewinnung von einer Population gesunder Tiere unter optimalen Bedingungen erfolgte und die Messungen im Labor absolut fehlerfrei verliefen. Die Begriffsdefinition „gesund“ kann in der Medizin aber nicht eindeutig gestellt werden, da zahlreiche Infektionskrankheiten subklinisch verlaufen können. Dies bedeutet, dass Tiere klinisch gesund erscheinen, aber auf eine Infektion mit einer Aktivierung des Immunsystems reagieren haben können. Dadurch kann es auch bei klinisch gesunden Tieren zu einer Erhöhung der Immunglobulinkonzentration und der Gesamtproteinkonzentration kommen. Diese Problematik trifft in der (Tier-) Medizin bei der Ermittlung von Referenzbereichen für viele Laborparameter zu. Es kann dadurch vorkommen, dass eigentlich kranke Tiere als „gesund“ anerkannt werden.

In dieser Studie wurde versucht durch die neuropathologische Untersuchung jedes Tieres eine größtmögliche Annäherung an das Optimum „gesund“ zu erlangen.

Als dritte Möglichkeit wurde die nicht-parametrische Referenzbereichsbestimmung mit der 95 %-Perzentiltechnik angeführt. Ein Vorteil dieser Bestimmung ist, dass keine Normalverteilung der Daten vorausgesetzt wird und diese deshalb für alle Verteilungsformen angewandt werden kann. Biologische Daten unterliegen selten einer Normalverteilung und deshalb ist die 95 %-Perzentiltechnik am besten zur Ermittlung des Referenzbereiches geeignet (BOFFIN, 1993). Nachteil dieser Methode ist, dass eine relativ große Anzahl von Messwerten benötigt wird. In

dieser Studie wurden 37 Katzenliquores untersucht. Eine Messung mit einer größeren Datenmenge wäre wünschenswert, ist aber aus den bereits genannten Gründen nicht durchführbar.

4.2. Altersabhängigkeiten

Zur Beurteilung einer Altersabhängigkeit erfolgte eine Unterteilung in zwei Hauptgruppen. Gruppe eins umfasste die Tiere, die jünger als ein Jahr waren (n = 7); Gruppe zwei beinhaltete Tiere über einem Lebensjahr (n = 30). Tabelle 16 verdeutlicht, dass es keinen Hinweis auf eine Altersabhängigkeit gab. Durch die Varianzanalyse konnte kein signifikanter Unterschied für die Messgrößen Gesamtprotein, Albumin-Quotient und IgG Index dokumentiert werden.

Da beim Menschen erst im Alter von vier Monaten die Blut-Hirn-Schranke vollständig ausgebildet wird, werden die Liquorproteinkonzentrationen in Abhängigkeit vom Alter beurteilt (MC CONELL, 1994; REIBER, 2003). Der Proteingehalt im Liquor eines Neugeborenen ist höher als beim Erwachsenen (BURTIS, 1994). Ab etwa einem Lebensjahr gleichen die Proteinkonzentrationen denen eines erwachsenen Menschen.

Beim Pferd bestimmte FURR (1994) beim Neugeborenen und dann in Tagesabständen bis zum 42. Lebensjahr Proteinkonzentrationen im Liquor von Fohlen. Er konnte analog zu den Befunden in der Humanmedizin deutliche Unterschiede in den Konzentrationen erkennen. Beim Rhesusaffen wurde dagegen keine Altersabhängigkeit ermittelt (SMITH und LACKNER, 1993). Kritisch bemerkt werden muss aber, dass in dieser Studie nur der Liquor von Tieren, die älter als ein Jahr waren, untersucht wurde. REBEL (1999) bestimmte bei 33 neurologisch gesunden Hunden die Proteinkonzentration im Liquor. Es wurde keine Altersabhängigkeit nachgewiesen.

In dem vorliegenden Patientengut konnte ebenfalls nur eine Einteilung in Tiere, die älter oder jünger als 12 Monate waren vorgenommen werden. Nur sieben Tiere der gesamten Gruppe waren jünger als 12 Monate alt, davon drei unter vier Monate. Es wäre sicherlich sinnvoll, die Altersgruppe unter einem Jahr auf eine Altersabhängigkeit zu überprüfen. Die Voraussetzung für diese Untersuchung wären jedoch größere Gruppenzahlen und eine gleichmäßigere Verteilung hinsichtlich des Alters.

In keiner der beiden Altersgruppen der vorliegenden Arbeit wurde eine Altersabhängigkeit ermittelt. Deswegen wurden alle Katzen in die Referenzgruppe aufgenommen.

4.3 Geschlechtsabhängigkeiten

Für die Varianzanalyse wurden die Katzen in eine männliche und eine weibliche Gruppe eingeteilt. Auf eine weitere Unterteilung in männlich und weiblich kastriert wurde verzichtet, da die Zahl der vergleichbaren Katzen ansonsten zu klein gewesen wäre. Die Untersuchung ergab keine signifikante Geschlechtsabhängigkeit für das Gesamtprotein, den Albumin-Quotienten oder den IgG Index. Deswegen wurden alle Katzen zur Bestimmung der Referenzbereiche herangezogen. Beim Hund konnte REBEL (1999) ebenfalls keine Geschlechtsabhängigkeit des Liquorproteingehaltes ermitteln.

4.4 Nephelometrie

Die Nephelometrie ist in der Humanmedizin die Methode der Wahl für die automatisierte und quantitative Bestimmung von Protein, Albumin und Immunglobulinen im diagnostischen Labor. Die großen Vorteile liegen in der guten Präzision, Richtigkeit und Wiederfindung der Messergebnisse (FATEH-MOGHADAM, 1987; REIBER, 1980 und 2001). Aus diesem Grund wurde die Nephelometrie auch in der vorliegenden Arbeit zur Bestimmung der Referenzwerte als Methode der Wahl herangezogen.

Die hohe Präzision wurde in mehreren Studien (REIBER, 1980; KIRCHHERR und SCHIWARA, 1985; REBEL, 1999) nachgewiesen. Für die Präzision in Serie ermittelte REIBER einen Variationskoeffizienten (VK) von 1 % für das Gesamtprotein, KIRCHHERR und SCHIWARA beschreiben einen VK von 1,4 % und REBEL von 2,7 %. SCHINDLER (2000) bestimmte für Albumin im Liquor beim Hund einen VK von 3,4 %, der dem Wert für das IgG sehr nahe kam (VK 3,2 %). Bei der Präzision von Tag zu Tag variierten die Angaben von 3 % (REBEL, 1999), 3,8 % bis 6,5 % (REIBER, 1980) und 3,2 % bis 7,0 % bei SCHINDLER (2000), aber lagen auch hier deutlich unter den geforderten 10 %. Die eigene Untersuchung bei der Katze bestätigen diese Ergebnisse.

Bezüglich der Wiederfindung fand REIBER (1980) für Albumin einen Wert von 100%, REBEL (1999) ermittelten einen Wert von 102,3 %. Bei SCHINDLER (2000) lag die Wiederfindung bei 101,3 % für das Albumin und 101,1 % für die IgG Konzentration der Verdünnungsreihen von Standardseren. Die Wiederfindung der vorliegenden Studie von 102,4 % (Gesamtprotein), 98,1 % (Albumin) und 100,9 % (IgG) stimmte mit diesen Werten gut überein. Bei den an der Medizinischen Kleintierklinik ermittelten Wiederfindungswerten fiel allerdings auf, dass höhere Proteinkonzentrationen tendenziell in geringem Umfang überschätzt wurden. Deswegen wäre es sinnvoll gewesen, die Wiederfindung auch bei höheren Konzentrationen zu bestimmen.

Nach REIBER (1980) ist ein weiterer Vorteil der Nephelometrie die gute Vergleichbarkeit der Gesamtproteinwerte mit den Werten verschiedener anderer Methoden, wie der Standardmethode nach LOWRY oder der Urinproteinbestimmung nach der Biuretmethode (KIRCHHERR und SCHIWARA, 1985). Vorteilhaft ist neben optimaler Zeitausnutzung mit hohem Probendurchsatz und sofortiger Verfügbarkeit der Messdaten (FATEH-MOGHADAM; 1987; SAUER und HIRSCHBERGER, 1992), auch der geringe Anteil der Wiederholungsmessungen, da ein großer Messbereich abgedeckt wird. Die Verwendung einer Festplatte mit vollautomatischer Speicherung bietet eine sehr gute Datensicherheit. Außerdem kann mit der Nephelometrie speziesübergreifend gearbeitet werden, d. h. es können unterschiedliche Proteine verschiedener Tierarten und auch des Menschen gleichzeitig bearbeitet werden. Dies setzt eine hohe Flexibilität des Analysegerätes voraus und ermöglicht eine vielseitige Anwendung des Nephelometers in verschiedenen Laboren.

Ein Nachteil der Nephelometrie ist der Einsatz eines relativ großen Mindest-Probenvolumens von ca. 200 µl pro Messküvette um einen reibungslosen Messablauf zu gewährleisten. Da die zu gewinnende Liquormenge bei der lebenden Katze maximal 1500 µl beträgt und davon ca. 500-800 µl für die Routinediagnostik verwendet wird, reicht die Liquormenge in manchen Fällen nicht zur vollständigen Analyse der BHS aus.

In der eigenen Studie fiel außerdem eine Anfälligkeit des Gerätes gegenüber unterschiedlichen Raumtemperaturen auf. Bei hohen Umgebungstemperaturen kam es zu gehäuften Fehlmessungen, die bei kühleren Temperaturen problemlos wiederholt werden konnten.

4.5 Ergebnisse

4.5.1 Gruppe I: Neurologisch symptomfreie Katzen

4.5.1.1 Liquorgesamtprotein

Zur Auswertung und Beurteilung der erhobenen Daten der Liquor-/Serumpaare wurden diese graphisch in Form von Box- und Whisker-Plots wie auch nach ihren Lage- und Kenngrößen tabellarisch dargestellt.

Die Ausdehnung der Box bewegte sich in sehr engen Grenzen und zeigte nur eine geringe Streuung der Gesamtprotein-Werte. Auch die Variabilität der Daten um den Median (0,13 g/l) war gering. Der Median war in der Mitte angeordnet; d. h. es liegt eine symmetrische Verteilung der Daten vor. Die erhobenen Minima (0,06 g/l) und Maxima (0,36 g/l) bestätigten Messungen von RAND et al. (1990) bei neurologisch gesunden Katzen und wurden daher als Referenzwerte betrachtet.

In der Gruppe I neurologisch symptomfreie Katzen lagen allerdings zwei Ausreißerwerte nach oben vor (Katze Nr.19: 0,45 g/l und Katze Nr.42: 0,51 g/l). Bei der pathologischen Untersuchung der Katze Nr. 19 wurden eine generalisierte Lymphadenopathie und eine Katzenschupfen-Infektion diagnostiziert. Die neuropathologische Untersuchung ergab keinen Hinweis auf eine Erkrankung des ZNS.

Infektionen mit dem Katzenschupfenkomplexes werden in 90 % der Fälle durch eine Infektion mit dem *felinen Herpesvirus* (FHV) und dem *felinen Calicivirus* (FCV) ausgelöst (NELSON, 2004). Zusätzliche Infektionen mit *Chlamydomphila felis*, *Bordetella bronchiseptica* oder *Mykoplasmen* sind beschrieben.

In der aktuellen Literatur werden nur wenige Angaben über ZNS-Infektionen mit Herpesviren bei der Katze gemacht. YANAI et al. (2003) wiesen bei experimentell infizierten Katzen das *Equine Herpesvirus 9* (EHV-9) nach. Histologisch wurde eine hochgradige Enzephalitis mit neuronaler Degeneration, perivaskulären Infiltraten und einer Gliose im Großhirn nachgewiesen. Beim Löwe beschrieben TRUYEN et al. (1990) eine disseminierte nicht-eitrige Polioenzephalomyelitis, bei der eine Beteiligung des *felinen Herpesvirus Typ 1* diskutiert wurde.

Dagegen gibt es in der Humanmedizin zahlreiche Veröffentlichungen zur *Herpes Simplex*-Enzephalitis (HSE) (WHITLEY und KIMBERLIN, 2005). Die HSE ist in der

Humanmedizin eine lebensbedrohliche Konsequenz der *Herpes Simplex Virus* Infektion. Es fehlt wie bei fast allen viralen Enzephalitiden eine frühe intrakranielle autochtone Immunglobulinsynthese (REIBER, 2001), aber sechs bis zehn Tage nach einer Infektion kommt es zur intrathekalen IgG Synthese. Eine BHS Störung liegt nicht vor. Die HSE tritt selten auf. Die Mortalität liegt ohne Therapie bei 70 %. Das Vorliegen einer Herpesenzephalitis erschien bei dieser Katze unwahrscheinlich. Das Fehlen neurologischer Symptome in der klinisch-neurologischen Untersuchung und auch die Neuropathologie ergaben keinen Hinweis auf das Vorliegen einer intrakraniellen Erkrankung. Die generalisierte Lymphknotenvergrößerung wurde als eine Reaktion auf die Katzenschnupfen-Infektion betrachtet. Die Werte des Liquor-Albumin, Albumin-Quotienten und IgG Index lagen im Referenzbereich, so dass eine intrathekale IgG Synthese, wie auch eine Permeabilitätsstörung der BHS ausgeschlossen wurde.

Auch die pathologische Untersuchung der Katze Nr. 42 ergab einen unauffälligen Befund. Eine Beteiligung des ZNS konnte histopathologisch ausgeschlossen werden. Bei der Vorstellung in der Medizinischen Kleintierklinik konnte labordiagnostisch eine Endokrinopathie in Form eines Diabetes mellitus und eine diabetische Ketoazidose diagnostiziert werden.

MC CONNELL und BIANCHINE (1994) beschrieben Veränderungen im Liquorproteinprofil im Zusammenhang mit endokrinen Stoffwechselstörungen. Eine Azidose führt aufgrund der pH-Wert Verschiebung zu einer zerebralen Vasodilatation und dadurch zu einem erhöhten zerebralen Blutfluss. Als Folge dieser Veränderung kann es zu einem erhöhten intrakraniellen Druck kommen. Beobachtungen in der Humanmedizin bestätigten diesen Pathomechanismus. KRANE und ROCKHOFF beschrieben bereits 1985 eine Gehirnschwellung als Komplikation einer diabetischen Ketoazidose bei Kindern. Durch Computertomographie konnte eine subklinische Schwellung des Gehirns diagnostiziert werden. Die Einteilung von Gehirnödemem erfolgt in drei Gruppen: Vasogen, zellulär und interstitiell. Das vasogene Ödem steht bei der diabetischen Ketoazidose im Vordergrund; da es sich aber um fließende Übergänge handelt, bleibt es selten bei nur einer Form des Ödems (KOZLER und POKORNÝ, 2003). Aus der ursprünglich rein vasogenen Art kann sich ein zelluläres Ödem entwickeln. Beide Formen führen zur Störung der Blut-Hirn Schranke und zur

Passage von physiologischerweise nicht-permeablen Molekülen. Diese Vorgänge sind eine mögliche Erklärung für die geringgradig erhöhte Proteinkonzentration im Liquor dieser Katze.

Beide Katzen gehörten unterschiedlichen Rassen an; der Altersunterschied betrug ca. zehn Jahre (6 und 16 Jahre), wobei das Alter bei der Katze Nr.19 um ein anhand der Zähne geschätzt wurde, da es ein Findlingstier war. Beide Katzen waren weiblich; Katze Nr.42 war ovariohysterektomiert. Allerdings konnte aufgrund der univariaten Varianzanalyse nach ANOVA ein Einfluss von Rasse, Alter und Geschlecht auf die Konzentration des Liquorgesamtproteins ausgeschlossen werden.

4.5.1.2 Albuminquotient

Die Sichtung der Daten für den Albuminquotienten und die graphische Darstellung anhand des Box- und Whisker-Plots ergab eine homogene Datenmenge. Es lagen keine Ausreißer- oder Extremwerte vor. Die Verteilung der Daten zeigte ähnliche Merkmale wie die der Gesamtproteinmessung. Anhand der Größe der Box war eine nur geringe Variabilität der Daten um den Median von 0,0018 zu sehen. Die geringe rechts-schiefe Verteilung der Daten ließ eine asymmetrische Ausrichtung der Daten vermuten. Es handelte sich dabei um eine rechts-schiefe Verteilung mit positiver Schiefe, d. h. die Klassenhäufigkeit steigt mit wachsendem Messwert schnell an und nimmt jenseits des Gipfels der Gauß'schen Verteilungskurve langsam ab. Dieses Verteilungsmuster wird auch als links-steil bezeichnet und kommt in der Natur häufiger als rechts-steil vor.

Die Spannweite der Daten rangierte zwischen 0,0006 (Minimum) und 0,0057 (Maximum) und wurde als Referenzwert für den Albuminquotienten bei der Katze betrachtet. Der Vergleich mit dem einzigen in der Literatur angegebenen Referenzwert des AQ bei der Katze von PODELL (1997a) zeigt keine Übereinstimmung in den Messergebnissen. Er wird als $\bar{x} \pm 2s$ Bereich mit $0,12 \pm 0,04$ beschrieben ohne Angabe der Minima und Maxima. Bei der hier vorliegenden Studie befand sich der $\bar{x} \pm 2s$ Bereich bei $0,0024 \pm 0,0012$. Die Ergebnisse von PODELL (1997a) wurden bei 5 Katzen durch Elektrophorese ermittelt. Angaben über Geschlecht, Alter und Rasse fehlen.

Eine gute Übereinstimmung ergibt der Vergleich mit den Ergebnissen des Albuminquotienten einer hauseigenen Studie (FISCHER et al., 1999) aus dem

Liquor von 20 neurologisch gesunden Hunden und auch mit den Angaben zum AQ beim Menschen. Der ermittelte $\bar{x} \pm 2s$ Referenzbereich lag bei $0,0027 \pm 0,0008$; die Spannweite bei 0,0019 bis 0,0053. Die Analyse erfolgte an dem gleichen Gerät (Nephelometer Behring 100) mit sehr ähnlichen Umweltbedingungen, da das Gerät am gleichen Standort war. Auch die Referenzstandardseren wurden von der gleichen Firma bezogen.

In der Humanmedizin gibt REIBER (2001) für den Albumin-Quotienten altersabhängige Referenzbereiche an. Der Quotient berechnet sich nach der Formel $(4 + \text{Alter}/15) \times 0,0010$. Das entspricht im Alter von 15 Jahren einen AQ von $5 \times 0,0010$, im Alter von 40 Jahren einem AQ von $6,5 \times 0,0010$ und im Alter von 60 Jahren einem AQ von $8 \times 0,0010$.

4.5.1.3 IgG Index

Die Messdaten des IgG Index wurden ebenfalls graphisch (Abb. 9) und tabellarisch (Tab. 31) zur Dokumentation der Lage- und Kenngrößen dargestellt. Es lagen keine Ausreißer- oder Extremwerte vor. Die Form des Boxplots zeigte eine noch geringere Variabilität der Daten um den Median, als es bereits beim Gesamtproteingehalt und Albuminquotienten der Fall war. Der Median lag bei 0,44 und dessen Lage ergab eine asymmetrische Verteilung der Daten mit einer rechts-schiefen Anordnung. Dies entsprach der Verteilung des Albuminquotienten mit der bereits erwähnten Interpretation. Der größte beobachtete Wert nach oben beträgt 0,6 (Maximum), der kleinste Wert nach unten 0,3 (Minimum). Beide Messdaten wurde als Referenzbereich für den IgG Index bei der Katze betrachtet.

Ein Vergleich mit den in der Literatur aufgeführten Werten für den IgG Index bei der Katze (DOW et al., 1990 und RAND et al., 1990) zeigte bei der Studie von DOW eine deutliche Diskrepanz der Ergebnisse, vor allem für den oberen Wertebereich. Die Spannweite der Arbeit von DOW betrug 0,61 bis 1,65. Die Werte wurden mit Hilfe eines ELISA von 6 Katzen einer SPF Gruppe bestimmt; Angaben über Alter, Rasse und Geschlecht fehlen. Eine bessere Übereinstimmung zeigten die Messergebnisse von RAND et al (1990). Diese Studie wurde bei 33 Katzen durchgeführt und die Messung erfolgte durch eine Immunelektrophorese. Der $\bar{x} \pm 2s$ Bereich ($0,3 \pm 0,13$) bewegte sich in der Größenordnung wie die Daten der vorliegenden Studie: $0,43 \pm 0,16$.

Aber auch hier stellte sich die Frage nach der Vergleichbarkeit der Studien aufgrund der unterschiedlichen Ausgangssituationen wie Analysemethoden, Standardseren und Zusammensetzung der Gruppen. Interessant war auch in diesem Fall die gute Übereinstimmung mit den in der hauseigenen Studie von FISCHER et al. (1999) festgelegten Werten bei 20 neurologisch gesunden Hunden und mit den für den Menschen gültigen Referenzwerten. Der IgG Index betrug beim Hund als $\bar{x} \pm 2s$ Bereich $0,4 \pm 0,3$ mit einer Spannweite von 0,1 bis 0,7. Die Messung wurde auch in diesem Fall am Behring 100 Nephelometer mit Standardseren der gleichen Firma durchgeführt.

In der Humanmedizin gelten nach REIBER (2001) IgG Indizes über $0.43 \times \text{QA}1b + 0.00084$ als pathologisch. Die graphische Beurteilung der Werte wird auch in einem Reibergramm oder Reiberdiagramm anhand einer hyperbolen Funktionskurve ermöglicht.

4.5.2 Gruppe II: Neurologisch kranke Katzen

4.5.2.1 Gruppe II a ZNS Neoplasien

Innerhalb dieser Krankheitsgruppe (n = 8) wurde in 50 % der Fälle ein erhöhtes Gesamtprotein im Liquor festgestellt. Eine Erhöhung des Albuminquotienten zeigten 37,5 % der Katzen. Der IgG Index war in 62,5 % der Fälle erhöht. Mit diesen Werten unterschieden sich die Tiere mit Tumoren in keinem Parameter signifikant von Katzen mit einer ZNS Form der FIP, aber in allen Parametern signifikant bis hoch signifikant von Gruppe I bzw. Gruppe III.

Bei den absoluten Messwerten ergab der nicht-parametrische Kruskal-Wallis Test für die Katzen mit Neoplasien im Vergleich zu den anderen Gruppen die höchsten Werte für den IgG Index, die zweithöchsten Werte im Gesamtproteingehalt und dem Albuminquotienten. In Bezug auf die absoluten Zahlen bestand kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II a und Gruppe II b im Gesamtproteingehalt und Albuminquotienten.

75 % der Katzen mit Neoplasien im ZNS hatten ein verändertes Liquorproteinprofil. Davon zeigten 12,5 % eine reine Blut-Hirn Schrankenstörung, 37,5 % eine intrathekale IgG Produktion ohne und 25 % eine intrathekale IgG Produktion mit Blut-Hirn Schrankenstörung.

Eine differenzierte Betrachtung der einzelnen Befunde stellt sich wie folgt dar:

1. Reine Blut-Hirn-Schrankenstörung bei einer Katze mit Meningiom.
2. Intrathekale IgG Produktion ohne BHS-Störung bei einer Katze mit ZNS Metastasen eines Lymphoms, einer Katze mit einem Meningiom vom fibrösen Typ und einer Katze mit einer intrakraniellen Metastase eines Plattenepithelkarzinoms.
3. Intrathekale IgG Produktion mit BHS-Störung zeigten zwei Katzen mit Meningiomen.
4. Ein unverändertes Liquorproteinprofil wurde bei einem Astrozytom WHO Grad III und einem Meningiom in Kombination mit einem auf den N. facialis übergreifendem Plattenepithelkarzinom diagnostiziert.

4.5.2.1.1 Meningiom

Bei insgesamt fünf Katzen wurde ein Meningiom diagnostiziert. Vier (80 %) davon zeigten eine BHS Störung. Bei drei Katzen konnte eine intrathekale IgG Produktion nachgewiesen werden. Der Anteil der Meningiome an der gesamten Gruppe der Katzen mit Neoplasien im ZNS betrug 62,5 % und stimmt mit den Angaben in der Literatur überein. Meningiome sind die am häufigsten auftretenden intrakraniellen Neoplasien bei der Katze (ZAKI FA und HURVITZ, 1976; LÜGINBUHL et al., 1968; PARENT et al., 1996; KLINE, 1998; TROXEL et al., 2003 und 2004). Bei über 70 % der Katzen ist das Alter beim Auftreten eines Meningioms über acht Jahre (PARENT, 1996; QUESNEL, 1997; KLINE, 1998 und TROXEL et al., 2003). Auch diese Beobachtung deckt sich mit den in dieser Studie erhobenen Daten.

Bei der Katze mit der reinen BHS-Störung ergab die Labordiagnostik einen negativen Pándy Test, eine geringe Erhöhung des Gesamtproteingehaltes und keine Erhöhung der Liquorzellzahl. Die beiden Katzen mit einer intrathekalen IgG Produktion in Kombination mit einer BHS Störung hatten beide einen positiven Pándy Test und einen deutlich erhöhten Gesamtproteingehalt im Liquor ohne Pleozytose. Im Fall des Meningioms mit intrathekalen IgG Synthese ohne BHS Störung war der Pándy Test negativ und auch Gesamtprotein und Zellzahl befanden sich im Referenzbereich. Insgesamt zeigte sich ein deutlich erhöhter

Mittelwert des Gesamtproteingehaltes (0,74 g/l) und des Albuminquotienten (0,0072) aller Katzen dieser Gruppe; der durchschnittliche Mittelwert des IgG Index war ebenfalls erhöht (0,84).

Ein Vergleich mit Ergebnissen in der Literatur gestaltete sich schwierig, da bisher keine Bestimmungen von Albuminquotient und IgG Index zur Untersuchung der Integrität der Blut-Hirn Schranke im Zusammenhang mit intrakraniellen Neoplasien bei der Katze gemacht wurden. In einer Studie von RAND und PARENT (1994) wurde der Liquor von 12 Katzen mit intrakraniellen Tumoren untersucht. Davon waren drei Katzen an einem Meningiom erkrankt. Bei insgesamt acht dieser zwölf Katzen fiel eine erhöhte Liquorproteinkonzentration auf, allerdings wurde keine Zuordnung der Laborwerte zu dem Tumortyp aufgeführt. QUESNEL und PARENT (1997) untersuchten in einer retrospektiven Studie bei 30 Katzen mit Anfällen die zugrunde liegenden Ursachen. In diesem Zusammenhang wurde bei zwei Katzen ein Meningiom diagnostiziert. Die Untersuchungsergebnisse des Liquors ergaben für drei Katzen erhöhte Gesamtproteinwerte, allerdings ohne genaue Zuordnung der Laborergebnisse zu den Neoplasien. KLINE (1998) gab an, dass die Untersuchung des Liquors im Fall einer feline intrakraniellen Neoplasie von einem Anstieg des Gesamtproteins begleitet sein kann, macht aber keine weiteren Angaben über die Art des Tumors oder die Funktion der Blut-Hirn Schranke.

4.5.2.1.2 Astrozytom

Bei der Katze mit dem Tumor und einem unverändertem Liquorproteinprofil handelte es sich um ein Astrozytom Grad III basal in der rechten Großhirnhemisphäre mit einer Ausdehnung von paramedian nach rostral in die Tiefe des Gehirnparenchyms ziehend. Die Liquordiagnostik ergab keine Veränderungen. Gesamtproteinkonzentration, Albuminquotient und IgG Index waren im Referenzbereich wie auch der Pándy Test und die Zelldifferenzierung.

Astrozytome gehören zu den Tumoren, die ihren Ursprung in der Neuroglia finden. Sie werden in der Humanmedizin nach der Weltgesundheitsorganisation in IV Grade eingeteilt. Das Astrozytom Grad III entspricht dem anaplastischen Astrozytom, es zeichnet sich durch eine hohe Malignität aus und lässt Mutationen von p53 und p16 sowie Deletionen auf Chromosom 19q erkennen (PARDO et al., 2004; BACKLUND et al., 2005).

Laut Literaturangaben ist das Astrozytom bei der Katze seltener als beim Hund (MCGRATH, 1984; DEMIERRE et al., 2002). In einer Studie von RAND (1994) über Katzen mit Erkrankungen des ZNS handelte es sich allerdings in fünf von zwölf Fällen mit intrakraniellen Neoplasien um Astrozytome. Diese Studie ergab in der gesamten Gruppe der Tiere mit Neoplasien eine Gesamtproteinerhöhung; differenzierte Angaben über die einzelnen Tumoren fehlen; IgG Index und Albuminquotient wurden nicht bestimmt. Die Angaben decken sich mit den Angaben von KLINE (1998) über Neoplasien des ZNS bei der Katze. Weitere Fallberichte beinhalteten ein subependymales Riesenzellastrozytom, ein pilozytisches Astrozytom, ein Glioblastom und ein anaplastisches Astrozytom im Rückenmark (DUNIHO et al., 2000; STIGEN et al., 2001; SANTANA et al., 2002; SATO et al., 2003). Es wurden in keinem der Fälle Untersuchungen der BHS durchgeführt und somit konnte auch hier kein Vergleich der Messwerte durchgeführt werden. DICKINSON et al. (2000) beschrieb als Tumore der Neuroglia Oligodendrogliome bei zwei Katzen. Nur bei einer Katze wurde eine deutlich erhöhte Proteinkonzentration (189 mg/dl) und eine Pleozytose ermittelt, bei beiden zeigte die Liquorzytologie maligne Zellen. Auch hier wurden keine weiteren Liquorproteinprofile bestimmt. Beim Hund konnte BICHSEL (1984) bei drei Tumoren der Neuroglia (Oligodendrogliom und Glioblastom) jeweils eine intrathekale IgG Produktion, eine BHS Störung und im dritten Fall keine BHS Störung dokumentieren. Bei keiner Studie wurde auf die Lokalisation der Neoplasien eingegangen.

Eine mögliche Ursache für das unveränderte Liquorproteinprofil bei der Katze mit dem Astrozytoms in der hier vorliegenden Studie ist die Lokalisation des Astrozytoms. Durch die basale und parenchymatöse Ausdehnung hatte es kaum Kontakt zum Liquorraum. Auch wurden keine Anzeichen für eine Liquorflußbehinderung und einem damit verbundenen Integritätsverlust der BHS Funktion gefunden, da kein Hydrocephalus occlusus und auch keine Anzeichen für ein peritumoröses Ödem vorlagen.

4.5.2.1.3 Lymphom

Die Katze mit Gehirnmastasen eines Lymphoms wies eine intrathekale IgG Synthese ohne BHS Störung auf. Die Liquoruntersuchung ergab einen negativen Pándy Test und ein normales Gesamtprotein. Die Zellzahl war moderat erhöht, in der Zelldifferenzierung präsentierten sich einzelne Lymphozyten und Monozyten, bei einer Zelle lag der Verdacht auf das Vorliegen eines neoplastischen B-Lymphozyten vor. Dieser zytologische Befund korrelierte mit dem in der Histopathologie diagnostizierten Lymphom vom blastischen Typ.

Lymphome treten bei der Katze als primäre oder sekundäre Gehirntumoren und gehäuft als extraduraler Tumor des Rückenmarks auf (ZAKI et al., 1976; SPODNICK et al., 1992 und LANE und KORNEGAY, 1994). Primäre ZNS Lymphome sind selten (CALLANAN et al., 1996); in der Mehrheit werden bei der Katze B-Zell Lymphome diagnostiziert, aber auch T-Zell Lymphome sind beschrieben (FONDEVILA et al., 1998 und STEELE et al., 1997; LAPOINTE, 1997). Nach dem Meningiom ist das multizentrische Lymphom der zweithäufigste bei der Katze vorkommende intrakranielle Tumor (ZAKI et al., 1976).

Angaben über veränderte Gesamtproteinkonzentrationen im Liquor von Lymphomkatzen werden bei NOONAN (1997), KLINE (1998) und SINGH et al. (2005) gemacht. LANE und KORNEGAY (1994) nennen einen durchschnittlichen Wert von 1,4 g/l bei Katzen mit spinalem Lymphom. Bei SINGH (2005) zeigte sich bei 66,7 % ein erhöhtes Gesamtprotein bei Katzen mit einem ZNS Lymphom. Im Liquor kann eine unspezifische Pleozytose auftreten. In der Liquorzytologie können neoplastische Lymphozyten diagnostiziert werden, das Fehlen dieser Zellen schließt aber das Vorliegen eines Lymphoms nicht aus (ROSIN et al., 1982; COUTO et al., 1984; WATERS, 1990 und LANE et al., 1994; SINGH et al., 2005). Auch bei der seltenen intravaskulären Form des Lymphoms, der malignen Angiotheliomatose, wurde bei einer Katze eine erhöhte Proteinkonzentration (0,5 g/l) im Liquor gemessen (LAPOINTE et al., 1997). In keinem der Fälle wurden Angaben über Albuminquotienten oder IgG Indizes gemacht, so dass auch hier speziell bei der Katze kein Vergleich mit Angaben zur BHS in der Literatur möglich ist. Beim Hund wiesen BICHSEL et al. (1984) und TIPOLD et al. (1993) eine intrathekale IgG Produktion beim Lymphosarkom nach. BICHSEL (1984) diagnostizierte zusätzlich eine BHS Störung.

4.5.2.1.4 Plattenepithelkarzinom

Zwei Katzen (Nr. 73 und 74) hatten als abschließende histopathologische Diagnose ein Plattenepithelkarzinom. Katze Nr. 73 litt an einer Kombination aus multiplen Meningiomen und einem Plattenepithelkarzinom, das auf den N. facialis übergriff. Pathologisch konnten zahlreiche extraaxiale kleinherdige Meningiome vom meningotheiomatösen Typ in der Meninx des linken Parietallappens und eine hochgradige Infiltration von Bindegewebe und Muskulatur mit herdförmigen Massen eines Plattenepithelkarzinoms sowie einzelne Tumoreinbrüchen in das Peri- und Endoneurium des N. facialis nachgewiesen werden. Diese Katze zeigte keine Funktionsstörung der BHS. Im Liquor waren keine Abweichungen in Zellzahl und Zytologie oder Pándy Test zu erkennen. Gesamtprotein, Albuminquotient und IgG Index befanden sich im Referenzbereich. Bei dem zweiten Plattenepithelkarzinom (Nr. 74) handelte es sich um eine Gehirnmetastase ausgehend von einem Bronchialplattenepithelkarzinom. Im dorsalen Anteil des Vermis stellte sich eine intraaxial gelagerte hyperzelluläre Umfangsvermehrung mit Nekroseherden und einem geringen peritumoralen Ödem dar. Es zeigte sich eine intrathekale IgG Produktion ohne BHS Störung. Auch hier war die restliche Liquordiagnostik (Zellzahl, Zytologie, Pándy Test) ohne Befund. Deutlich erhöht waren dagegen der IgG Index (1,88) und der Gesamtproteingehalt (1,11 g/l).

Das Plattenepithelkarzinom geht von Epithelien oder Mukosa aus und gehört aufgrund seines destruktiven Charakters zu den hoch malignen Tumoren. Die häufigsten Primärlokalisationen sind unpigmentierte Hautstellen, aber auch das Nagelbett, die Lunge, Maul- und Nasenhöhle und der Gehörgang sind in hohem Maße betroffen. Als Komplikation wurde das periphere Vestibularsyndrom bei der Katze beschrieben (INDRIERI et al., 1984; FIORITO et al., 1986; LANE et al., 1992). Keine Angaben wurden über eine Liquoruntersuchung gemacht. SALVADORI et al. (2004) beschrieben meningiale Karzinome als seltene Komplikation bei zwei Katzen nach Ohrtrand-Resektion eines Plattenepithelkarzioms. Die Liquordiagnostik ergab in diesem Fall eine mild erhöhte Proteinkonzentration.

In der Humanmedizin sind Trigemini- und Facialisparese im Zusammenhang mit Plattenepithelkarzinomen beschrieben, da es zum Einbruch in das Perineurium und zur zentripetalen Ausdehnung in Richtung des Gehirnparenchyms kommt

(BEGEMANN et al., 2003; ZHU et al., 2004). Die Liquordiagnostik ergab eine milde Pleozytose mit malignen Zellen.

In den vorliegenden Ergebnissen hatte der überwiegende Teil der Katzen mit einer Neoplasie des ZNS eine gestörte Blut-Hirn Schranke oder einen erhöhten IgG Index im Liquor. Da bisher keine spezielle weiterführende Diagnostik zur Integrität der felines BHS im Zusammenhang mit intrakraniellen Tumoren durchgeführt wurde, ist ein Vergleich mit der Literatur nicht möglich. Beim Hund wurden von BICHSEL et al. (1984), SORJONEN (1987) und TIPOLD et al. (1993) bei ZNS Tumoren leicht erhöhte IgG Indizes beobachtet. Die Funktion der Blut-Hirn Schranke war in unterschiedlichem Maße gestört. CHRISMAN (1992) gibt für ZNS Tumoren sowohl erhöhte als auch normale IgG Indizes an.

Derzeit sind bildgebende Verfahren Kernspintomographie (MRT) oder Computertomographie (CT) der Standard zur Diagnostik intrakranieller Neoplasien, wobei das MRT dem CT vorzuziehen ist (LECOUTEUR, 2001). Die Liquordiagnostik wird vermieden, solange mit bildgebenden Verfahren eine eindeutige Diagnose gestellt werden kann (ADAMO et al., 2004) und ist oft sogar kontraindiziert, da es durch die Neoplasie zu einem Anstieg des intrakraniellen Drucks kommen kann und die Gefahr einer subtentorialen Herniation mit Kompressionen der Vitalzentren im Hirnstamm gegeben ist (KORNEGAY et al., 1983). Der intrakranielle Druck liegt bei der Katze und dem Hund zwischen 5 und 10 mmHg und wird durch die drei Komponenten Blut-, Liquor- und Gehirnparenchymvolumen determiniert (SYRING, 2005). Nur in einzelnen Fällen wird eine Liquordiagnostik erforderlich, um einen fokale entzündlichen Prozess von einem intrakraniellen Tumor zu unterscheiden.

In der Humanmedizin sind Gehirntumoren in der Regel durch reine Blut-Hirn Schrankenstörungen charakterisiert. Dazu gehören primäre Gehirntumoren (Glioblastome, Astrozytome, Lymphome), aber auch sekundäre Gehirntumore wie das maligne Melanom und Lymphom (REIBER et al., 1995; FELGENHAUER et al., 1999; DENKINS et al., 2004). Beim Dysgerminom und Non-Hodgkin-Lymphom kommt es zusätzlich zur autochtonen IgG Produktion.

ZNS Neoplasien können zum vollständigen Funktionsverlust der Blut-Hirn Schranke führen (COOMBER et al., 1984).

Bis heute ist der genaue Mechanismus des Zusammenbruchs der BHS bei intrakraniellen Neoplasien nicht eindeutig geklärt. Verschiedene Versuchsmodelle in der Humanmedizin ergaben unterschiedliche Ansätze zur Erklärung des Pathomechanismus. REIBER et al., (2002) beschrieb den Integritätsverlust der tight-junctions und LIEBNER et al. (2000) die verminderte Aktivität von Claudin-1. Durch Sekretion von Wachstums-Faktoren (GF), Proteasen und Tenascin-C zeigen die Endothelzellen der BHS eine morphologische Umfunktionierung und werden zu Zellen der Angiogenese und Proliferation (CONANT et al., 1999; JONES et al, 2000; RASCHER et al., 2002). Weitere Faktoren sind Neurotrophine (NT) und Enzyme, die zu einer Auflockerung der extrazellulären Matrix und Endothelzellen führen und dadurch die BHS angreifen. Als Beispiel wird die Heparanase genannt (DENKINS et al., 2004).

Zieht man die gesamten Pathomechanismen in Betracht, so erklärt sich der hohe Anteil der BHS Störungen von 75 % bei Katzen mit einer Neoplasie des ZNS. Die IgG Synthese ist vermutlich ein Ergebnis entzündlicher peritumorale Veränderungen. Durch die Auflockerung der Matrix und den ständigen Zerfall des Tumors kommt es zur Stimulation der lokalen Mikroglia. Zusätzlich führt der Integritätsverlust der BHS zur Einwanderung von immunkompetenten Zellen und Immunglobulinsynthese. In der Humanmedizin sind bei Lymphomen und Meningiomen neben einer Pleozytose auch deutlich erhöhte Immunglobuline im Liquor beschrieben (ERNERUDH et al., 1987; WELLER et al., 1992; FELGENHAUER und BEUCHE, 1999), dabei werden erhöhte IgM Indizes, aber auch erhöhte IgG Indizes beobachtet.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten, dass es kein zuverlässiges Liquorproteinmuster gibt, das spezifisch für eine bestimmte Tumorart ist. Die Beobachtungen decken sich mit Untersuchungen in der Humanmedizin (WELLER et al., 1992; FELGENHAUER und BEUCHE et al., 1999). Die alleinige Bestimmung des Albuminquotienten und des IgG Index ist keine sinnvoll erweiterte Liquoranalyse zur Diagnosestellung einer intrakraniellen Neoplasie, da beide Parameter bei entzündlichen wie auch neoplastischen Erkrankungen erhöht sein können.

4.5.2.2 Gruppe II b ZNS FIP

Innerhalb dieser Krankheitsgruppe (n = 15) zeigten 33,4 % der Fälle eine Gesamtproteinerhöhung im Liquor. Bei 26,7 % der Katzen wurde eine Erhöhung des Albuminquotienten diagnostiziert. Der IgG Index war in 26,6 % der Fälle erhöht. Mit diesen Werten unterschied sich die Gruppe ZNS FIP nicht signifikant von der Gruppe II a, aber signifikant von der Gruppe I und Gruppe III.

Die Betrachtung der Einzelwerte ergab im nicht-parametrischen Vergleich bei der Gruppe zentralnervösen Form der FIP im Vergleich mit den anderen Gruppen die höchsten Werte bei allen Parametern. In den Boxplots zeigte sich für das Gesamtprotein, den Albuminquotient und den IgG Index eine geringere Variabilität der Werte verglichen mit denen der Neoplasien des ZNS; insgesamt war die Gruppe aber inhomogener und weist deutlich mehr Extrem- und Ausreißerwerte auf. Im Vergleich mit der Gruppe Katzen mit einer extraneurale FIP zeigte sich eine signifikant höhere Variabilität der Werte für das Gesamtprotein und den Albuminquotient. Beim IgG Index stellte sich eine fast identische Variabilität dar.

46,7 % der Katzen mit einer neuropathologischen Diagnose FIP wiesen ein verändertes Liquorproteinprofil auf. Wie bei der Gruppe der ZNS Neoplasien waren auch hier alle Befundkombinationen vertreten:

1. Keine BHS Störung bei 8 Katzen (53,3 %)
2. BHS Störung bei 2 Katzen (13,4 %)
3. Intrathekale IgG Synthese mit BHS Störung bei 2 Katzen (13,4 %)
4. Intrathekale IgG Synthese ohne BHS Störung bei 3 Katzen (19,9 %)

Die differenzierte Betrachtung des Liquors ergab für die acht Katzen ohne Störung der BHS einen negativen Pándy Test. In sieben Fällen lag eine geringe gemischtzellige Pleozytose vor. Das Gesamtprotein befand sich bei allen acht Katzen im Referenzbereich. Der Mittelwert dieser Gruppe betrug für das Gesamtprotein 0,11g/l, den AQ 0,002 und den IgG Index 0,47 und ergab damit für alle Tiere dieser Gruppe ein unauffälliges Liquorproteinprofil.

Beide Katzen mit der BHS Störung hatten einen positiven Pándy Test und ein deutlich erhöhtes Gesamtprotein (Mittelwert 1,05 g/l). In der Zelldifferenzierung

zeigte sich bei beiden Tieren eine gemischtzellige Pleozytose mit neutrophilen Granulozyten. Der IgG Index (0,54) war innerhalb des oberen Referenzbereiches und der Albuminquotient mit einem Mittelwert von 0,0115 geringgradig erhöht.

Bei den zwei Katzen mit einer intrathekalen IgG Synthese in Kombination mit einer BHS Störung war der Pándy Test in einem Fall positiv. Es lag eine gemischtzellige Pleozytose mit stark erhöhten Leukozytenzahlen vor. Die durchschnittlichen Gesamtproteinwerte waren erhöht bei 0,68 g/l; der ermittelte Albuminquotient dieser Gruppe betrug 0,025 und für den IgG Index 3,3. Diese Tiere zeigten damit die höchsten Werte der gesamten Gruppe.

Bei den drei Katzen mit einer intrathekalen IgG Produktion ohne Störung der BHS ergab der Pándy Test in allen Fällen einen negativen Befund. Eine Pleozytose lag mit Ausnahme von einer Katze bei allen Tieren vor. Das Gesamtprotein und der AQ war im Referenzbereich (0,17 g/l; 0,004). Die IgG Indizes lagen durchschnittlich bei 0,76.

4.5.3. Zellzahl

Eine Vielzahl von Autoren wies bei Katzen mit einer zentralnervösen FIP regelmäßig eine Pleozytose mit Zellzahlen über 100 Leukozyten/ μ l nach (KLINE et al., 1994; RAND et al., 1994; FOLEY et al., 1998; BARONI und HEINOLD, 1995; TIPOLD, 1997; FENNER 2000). BOETTCHER (2004) beschrieb in ihrer Arbeit signifikant höhere Leukozytenzahlen bei Katzen mit einer ZNS Form der FIP verglichen mit einer Gruppe Katzen mit anderen Krankheiten des ZNS als FIP und einer Gruppe Katzen mit FIP ohne Beteiligung des ZNS. Diese Beobachtungen stimmen mit den Befunden dieser Studie überein. Es wurden Leukozytenzahlen bis 884/3 erreicht.

Allerdings hatten in der vorliegenden Studie drei Katzen (20 %) mit einer ZNS FIP Leukozytenzahlen im Referenzbereich. Eine genaue Betrachtung der neuropathologischen Befunde zeigte in allen drei Fällen eine nur geringgradige mononukleäre Meningitis vom Typ einer FIP Infektion und wurden als beginnende Manifestation der ZNS FIP eingestuft. Die Untersuchung der Körperhöhlen ergab jedoch in allen diesen Fällen eine extraneurale FIP Manifestation. Das bedeutet, dass eine normale Zellzahl das Vorliegen einer ZNS Form der FIP nicht ausschließt. Bei einer frühen Form der ZNS FIP scheinen die Entzündungsreaktionen noch nicht auszureichen um sich in einer Pleozytose zu

manifestieren. TAMKE et al. (1988) beobachteten bei Fällen, in denen sich die Entzündungen im ZNS auf einen Fokus beschränkten, nur geringe Zellzahl- und Gesamtproteinerhöhungen. Auch fehlender Kontakt der Entzündung zu den liquorführenden Räumen ist eine mögliche Ursache für normale Liquorbefunde bei Katzen mit einer intraneuralen Manifestation der FIP. Dies ist vor allem bei tief parenchymatös gelagerten Infektionen der Fall.

4.5.4 Gesamtprotein

Zahlreiche Angaben in der Literatur berichten über eine typische Proteinerhöhung im Liquor von Katzen mit einer ZNS Form der FIP (RAND et al., 1994; BARONI et al., 1995; FENNER, 2000; SINGH et al., 2005). RAND (1994) postuliert Liquorproteinwerte über 2 g/l als deutlichen Hinweis für das Vorliegen einer ZNS Form der FIP zu interpretieren, da die Vergleichsgruppen der Studie (virale Enzephalitiden, Protozoen, Bakterien und eosinophile Meningoenzephalitiden) in keinem Fall diese hohen Proteinkonzentrationen im Liquor erreichten.

Diese Beobachtung deckte sich nur zum Teil mit den Befunden der vorliegenden Arbeit. Nur bei insgesamt fünf der 15 Tiere (33,3 %) konnte ein erhöhtes Gesamtprotein gemessen werden und nur bei zwei davon wurden Werte über 2 g/l erreicht. Diese Beobachtung korreliert mit den Ergebnissen einer Studie von FOLEY (1998), bei der nur 25 % der Katzen ein hohes Protein im Liquor aufwiesen. Die fünf Katzen der vorliegenden Arbeit mit dem veränderten Gesamtproteingehalt zeigten in der neuropathologischen Untersuchung eine Meningitis bzw. Meningoenzephalitis von lymphomonocyitären oder auch lymphoplasmagranulozytärem Charakter mit Beteiligung der Plexus choroidei. Der Schweregrad der Entzündung variierte von gering bis hochgradig und schien nicht mit der Proteinkonzentration zu korrelieren. Das zeigt, dass auch ein normaler Proteingehalt eine Infektion des ZNS mit dem pathogenen Coronavirus nicht ausschließt.

4.5.6 Blut-Hirn Schranken Funktion bei der ZNS Form der FIP

Alle Katzen mit einem erhöhten Gesamtprotein im Liquor zeigten in der Nephelometrie einen Funktionsverlust der Blut-Hirn Schranke. Bei einer gestörten BHS kommt es zum Übertritt von Serumproteinen in das Liquorkompartiment.

Mögliche Ursache für eine BHS Störung ist der Verlust der Stabilität der tight junctions durch Entzündungsvorgänge an den Gefäßen (FELGENHAUER, 1995). Ein Charakteristikum der felines infektiösen Peritonitis ist das Vorliegen einer Vaskulitis, denn es kommt durch Ablagerungen von Immunkomplexen an den Endothelien und Fixierung von Komplementfaktoren zu einer pyogranulomatösen Entzündungsreaktion an den Gefäßen und letztendlich zur Vaskulitis (ADDIE und JARRETT, 1990; SPARKES et al., 1991; REYNOLDS und MACY, 1997). Im Tiermodell für die allergische Enzephalomyelitis (HAMM et al., in Vorbereitung) zeigte sich eine verminderte Bildung von Claudin-1 und Claudin-2. Diese Zona occludens Proteine sind wichtig für die Stabilität der tight junctions.

WEBB und MUIR (2000) beschrieben, dass es bei Infektionen des ZNS zur Ausschüttung von Zytokinen aus den Leukozyten des Blutes und den Endothelzellen der BHS kommt. Diese Zytokine sind unter anderem dafür verantwortlich, dass es zur Leukozytenadhäsion kommt, die tight junctions aufgelockert werden, und es zum Zusammenbruch der BHS kommt. FOLEY et al. (2003) konnten bei Katzen mit einer ZNS Form der FIP das spezielle Muster der aktivierten Zytokine bestimmen. Durch TaqMan PCR wurden IL-1, IL-6, IL-18 in erhöhten Konzentrationen nachgewiesen. In verminderten Konzentrationen wurde IFN- γ gemessen. IL-1 β führt zu einer erhöhten Gefäßpermeabilität. IL-6 spielt eine Schlüsselrolle bei der Aktivierung der T-Zellen und Makrophagen, der Vermehrung zytotoxischer T-Zellen und der Differenzierung von Plasmazellen. Außerdem erhöht es ebenfalls die Gefäßdurchlässigkeit, reguliert akute Phase Proteine herunter und führt letzten Endes zu einer immunmedierten Zerstörung des zentralen Nervensystem (FOLEY et al., 2003). Zusätzlich wurden bei Katzen mit einer ZNS Form der FIP hohe Konzentrationen der Chemokine MIP-1 α und RANTES gefunden.

MIP-1 α wird von Makrophagen, Neutrophilen, Fibroblasten und Lymphozyten sezerniert und führt zur Einwanderung von Makrophagen, Leukozyten und auch Eosinophilen. RANTES wird von den T-Zellen produziert, aktiviert T-Memory Zellen, dendritische Zellen, NK-Zellen, eosinophile und basophile Zellen und wird bei immun-medierten Erkrankungen vermehrt ausgeschüttet. Interleukin IL-1 β und IL-6 tragen zusätzlich zur Antikörperbildung durch B-Zellen bei (FOLEY et al., 2003).

Der Schweregrad der neurologischen FIP hängt maßgeblich davon ab, wie stark das Immunsystem auf das Antigen im Gehirnparenchym reagiert. An den immunopathologischen Verhältnissen im ZNS sind sowohl die humorale, als auch die zelluläre Abwehr beteiligt. Durch die vermehrte Bildung der Zytokine wird die zelluläre Abwehr aktiviert. Vor allem die zytotoxischen T-Zellen scheinen durch CD4+ Zellen die Bildung der Granulome im ZNS zu verstärken (PALTRINIERI et al., 1998; LANE et al., 2000). Interleukin IL-1 und IL-6 führen zu einer erhöhten Durchlässigkeit der Blut-Hirn Schranke.

Spezielle Studien zur Evaluierung der BHS im Zusammenhang mit FIP wurden bisher nicht durchgeführt. WEBB und MUIR (2000) sind der Meinung, dass die BHS bei FIP gestört sei, FOLEY et al. (1998) dagegen gehen von einer intakten BHS aus. Letztere bestimmten Antikörper gegen Coronaviren in Serum und Liquor bei Katzen mit und ohne FIP Infektion. Es konnten bei keinem Kontrolltier Antikörper gegen Coronaviren im Liquor nachgewiesen werden und es konnten keine statistisch signifikanten Korrelationen zwischen Serum-Titer und Liquor-Titer erkannt werden. Zusätzlich unterschied sich das Verhältnis Serum- zu Liquorprotein vom Verhältnis Serum-Titer zu Liquor-Titer. FOLEY et al. (1998) gingen daher davon aus, dass die BHS intakt sei und es zu einer intrathekalen Immunglobulinsynthese komme. Daher wurde postuliert, dass der Nachweis von Liquor-Antikörpern zur Diagnose einer ZNS FIP herangezogen werden kann. In einer hauseigenen Studie hingegen bestimmte BOETTCHER et al. (2004) bei sechs von neun Katzen mit einer ZNS Form der FIP Antikörpertiter sowohl im Serum als auch im Liquor. Liquor- und Serumantikörper waren anders als bei FOLEY et al. (1998) statistisch signifikant miteinander korreliert. Liquor-Antikörper waren nur bei extrem hohen Serum-Antikörpern nachweisbar. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde von einer Störung der BHS bei einer ZNS FIP ausgegangen und der Nachweis von Liquor-Antikörpern als nicht diagnostisch erachtet.

In der Humanmedizin postulierte REIBER (1994) auch Liquorflussbehinderungen als eine weitere mögliche Ursache für BHS Störungen. Bei der ZNS Form der FIP kommt es fast immer zur Meningitis, Ependymitis, Periventrikulitis und Choroiditis in verschiedenen schweren Ausprägungen (KORNEGAY, 1978; SUMMERS et al, 1995; FOLEY und LEUTENEGGER, 2001). Dadurch ist die freie Zirkulation des Liquors cerebrospinalis beeinträchtigt und zusätzlich treten Resorptionsstörungen am Plexus choroideus auf. Auch der häufig beschriebene Hydrocephalus bei der

ZNS FIP steht im Zusammenhang mit einer Leptomeningitis, einer meningealen Fibrose und der Akkumulation von zellulärem Debris; er entsteht durch eine Zirkulations- und Resorptionsstörung des Liquors (FOLEY und LEUTENEGGER, 2001). Interessanterweise wurde in der vorliegenden Arbeit der zweithöchste Albuminquotient und Gesamtproteinwert bei der Katze mit dem Hydrocephalus gemessen. So wäre es also denkbar, dass die unterschiedlichen Liquorproteinprofile nicht nur durch die zugrundeliegende Entzündungsreaktion und die damit verbundene erhöhte Gefäßpermeabilität, sondern auch in Relation zum Maß der Liquorflussbehinderung zu sehen sind.

4.5.7 Produktion intrathekaler Immunglobuline

Drei von 15 Katzen mit einer ZNS FIP wiesen eine alleinige intrathekale Immunglobulinsynthese ohne Beeinträchtigung der BHS auf.

Während einer Entzündung im ZNS kommt es zur Einwanderung von immunkompetenten B-Zellen und Plasma-Zellen, die dann zur lokalen Antikörperproduktion beitragen. Nach FELGENHAUER et al. (1999) findet diese AK-Produktion zwei Wochen nach einer Infektion statt. Bis heute ist nicht eindeutig geklärt, wie das Coronavirus ins ZNS vordringt um dort als Antigen eine primär immunmedierte Abwehrreaktion auszulösen (FOLEY und LEUTENEGGER, 2001). Sicher ist, dass antigenbeladene Makrophagen im ZNS auftreten; in kleineren Mengen trifft dies auch für Lymphozyten zu (TAMMER et al., 1995, FOLEY et al., 1998). Die größte Virusmenge konnte im Bereich der Ependymitis, der Choroiditis und frei in den Ventrikeln nachgewiesen werden, kaum betroffen waren die meningealen Infiltrate. Durch PCR konnte Coronavirus-Antigen im ZNS aus Gehirnparenchym nachgewiesen werden. Interessanterweise konnte bei vier Katzen, die in der Serologie hochpositiv waren, keinerlei Coronavirus entdeckt werden. Auch der Ort der Probenentnahme scheint einen Einfluss auf die PCR Ergebnisse zu haben (FOLEY et al., 2003). An den Grenzflächen der Granulome im ZNS konnten Anti-FIP IgG und IgM produzierende B-Zellen nachgewiesen werden (KIPAR et al., 1998; PATRINIERI et al., 1998). Gebildet werden die Antikörper speziell gegen das Spike-Protein an der Oberfläche des Virus. Offenbar werden Antikörper als Reaktion auf das Virus lokal im ZNS synthetisiert. Das bedeutet, dass es bei einer systemischen Reaktion des Organismus auf die

Coronavirusinfektion auch im zentralen Nervensystem bei einer intakten BHS zu einer Immunantwort kommen kann.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lieferten Hinweise dafür, dass es bei einem Teil der Katzen mit ZNS FIP (53,3 %) sowohl zu einer BHS Störung kam, als auch zu einer rein intrathekalen Immunglobulinsynthese (13,4 %). Mit diesen Befunden wurden sowohl die Postulate der Studie von FOLEY et al. (1998) als auch von BOETTCHER et al. (2004) unterstützt. Betrachtet man die verschiedenen Pathomechanismen, die im Verlauf einer ZNS Infektion mit FIP auftreten, ist es nicht verwunderlich, dass eine Störung der BHS auftrat.

Die Frage stellt sich, warum bei einem hohen Prozentsatz der Katzen keine Veränderung im Liquorproteinprofil zu diagnostizieren war. Zwei dieser Katzen zeigten IgG Indizes am oberen Ende des Referenzbereichs (0,55; 0,56). Alle bis auf eine dieser Katzen hatten nur eine geringe Pleozytose im Liquor. Bei vier Katzen wurden histopathologisch nur geringgradige lymphozytäre Einstreuungen in die Meningen gefunden und als beginnende FIP interpretiert. Alle diese Katzen hatten pathologisch eindeutig Hinweise auf eine extraneurale FIP.

Eine mögliche Interpretation ist vor dem Hintergrund, dass es bei akuten Infektionen erst nach 2 Wochen zur Bildung von Antikörpern kommt, die Liquor- und neuropathologische Untersuchung zu einem Zeitpunkt stattgefunden hat, indem die Immunabwehr noch nicht vollständig aktiviert war. Aufgrund der nur geringen lymphozytären Entzündung kam es nicht im vollen Maße zur Ausschüttung der Zytokine. Auch wurde in keinem Fall eine gestörte Liquorzirkulation in Form eines Hydrocephalus diagnostiziert. Dadurch könnte erklärt werden, dass die BHS Funktion nicht beeinträchtigt war. Bei den zwei Katzen mit den grenzwertigen IgG Indizes wäre es sicherlich sinnvoll gewesen, eine wiederholte Bestimmung der Liquorparameter zu einem späteren Zeitpunkt durchzuführen; aus Gründen des Tierschutzes war dies aber nicht möglich.

4.5.8 Histopathologische Befunde im ZNS bei Katzen mit FIP

Die Befunde der neuropathologischen Untersuchung ergab in den meisten Fällen eine mittelere bis hochgradige gemischtzellige Meningitis mit teils granulomatösen Charakter. Oft waren auch der Plexus choroideus und das Ependym betroffen. In fünf Fällen dehnten sich die Läsionen auf das darunter liegende Gehirnparenchym

aus. In einen Fall war der Thalamus betroffen. Diese Beobachtungen deckten sich mit den Angaben der Literatur (SLAUSON und FINN, 1972; SUMMERS und CUMMINGS, 1995) bei denen zum größten Teil Veränderungen der inneren und äußeren Oberflächen des Gehirns beschrieben sind.

In einem Fall war neben der Entzündung des Plexus choroideus und der Leptomeninx auch eine hochgradige, pyogranulomatöse Veränderung der lumbalen Meninx mit Vaskulitis und perivaskulärer Schwellung der Astrozytenfortsätze des gesamten Rückenmarks auffällig. Nach einer Studie von MARIONI-HENRY et al. (2004) ist die ZNS Form der FIP eine der häufigsten Ursachen für feline Rückenmarkserkrankungen. Bei dieser Katze konnte im Gegensatz zu allen anderen Katzen dieser Studie keine Beteiligung der restlichen Organe festgestellt werden. Es handelte sich um eine ausschließlich zentralnervöse Form der feline infektiösen Peritonitis. Dieser Befund korrelierte mit den Ergebnissen von BARONI und HEINOLD (1995), die zum Teil ausschließlich Veränderungen im ZNS beschrieb. Auch FOLEY (1998) beschrieb bei vier von 16 Katzen mit FIP eine ausschließliche Beteiligung des ZNS. Als häufige Komplikation wurde ein sekundärer Hydrocephalus genannt (KRUM et al., 1975; KORNEGAY, 1978; LEGENDRE et al., 1975; FATZER, 1975; HAYASHI et al., 1980; TAMKE et al., 1988; FOLEY und LEUTENEGGER, 2001).

In der vorliegenden Studie konnte in nur einem Fall ein mittelgradiger obstruktiver Hydrocephalus internus diagnostiziert werden. Eine mögliche Ursache für die Diskrepanz zu den Literaturangaben ist ein zu geringes Patientengut. Eventuell würden größere Fallzahlen zu einer häufigeren Diagnose eines Hydrocephalus und einer spinalen Beteiligung bei der FIP führen.

Nach Angaben in der Literatur ist bei über 30 % der Katzen, die extraneurale Symptome der feline infektiösen Peritonitis zeigen, das ZNS mitbetroffen (KORNEGAY, 1978; TAMKE, 1988). Die Manifestation der FIP im ZNS geschieht häufiger im Zusammenhang mit der trockenen pyogranulomatösen Form der FIP (WOLFE, 1971; TAMKE, 1988; FOLEY et al., 1998). In der vorliegenden Arbeit zeigten 66,7 % der Katzen mit der ZNS Form der FIP eine extraneurale pyogranulomatöse Manifestation der feline infektiösen Peritonitis. Die pyogranulomatösen Infiltrate waren vor allem in den Nieren, der Leber, der Milz, aber auch in der Lunge und dem Pankreas histologisch nachweisbar. Bei 26,7 %

lag eine Kombination aus der exudativen und der pyogranulomatösen Form vor. Zwei Katzen (13,3 %) zeigten als einzige extraneurale Manifestation der FIP eine Panuveitis mit Beteiligung der vorderen und hinteren Augenkammer. Die Untersuchungsergebnisse bestätigten den in der Literatur beschriebenen Zusammenhang zwischen der trockenen Form der FIP und der Beteiligung des ZNS.

4.6 Gruppe III: Katzen mit einer extraneuralen FIP

In dieser Gruppe zeigte sich die geringste Variabilität der Messwerte. Es wurde bei keiner der erhobenen Messgrößen eine Überschreitung der Referenzwerte gemessen. Gesamtprotein, Albumin-Quotient und IgG Index waren in keinem der 12 Fälle erhöht. Die Box- und Whisker-Plots ergaben für jeden Parameter die jeweils kleinste Box. Dieses Verteilungsmuster sprach für sehr homogene Messergebnisse.

Die Ergebnisse dieser Gruppe unterschieden sich für den Gesamtproteinwert, den Albumin-Quotienten und den IgG Index hoch signifikant von denen der neurologisch erkrankten Katzen der Gruppe II. Keine signifikanten Unterschiede ergaben sich im Vergleich zur Gruppe I (neurologisch gesunde Katzen).

Anhand der Messergebnisse kann in dieser Gruppe davon ausgegangen werden, dass in keinem Fall eine Störung der Blut-Hirn Schrankenfunktion vorgelegen hat. Auch in den histopathologischen Untersuchungen konnte in keinem Fall eine Veränderung im ZNS erkannt werden. Einschränkend muß gesagt werden, dass nicht in allen Fällen das Rückenmark untersucht worden ist.

Bei allen Katzen lagen außerhalb des ZNS FIP-typische Veränderungen vor. Bei 84,6 % wurde ein Exsudat in der Bauchhöhle, z.T. in Kombination mit einem Thoraxerguss diagnostiziert. Nur zwei Katzen (15,4 %) präsentierten sich mit einer rein pyogranulomatösen Form in der histopathologischen Untersuchung ohne Anzeichen für einen Erguss.

Die Vergleichsgruppe wurde erstellt um zu sehen, ob die Diagnose einer BHS Störung in jedem Fall mit einer ZNS Manifestation der FIP korreliert ist, oder ob auch bei FIP Katzen ohne neurologische Symptome subklinisch das ZNS erkrankt ist. Dies wäre denkbar, da die Erkrankung mit einer Vaskulitis assoziiert ist und dadurch Veränderungen der BHS auftreten könnten. Zusätzlich wurden die Ergebnisse einer hauseigenen Studie von BOETTCHER (2004) zur Untersuchung

des Stellenwertes der Messung spezifischer Liquor-Antikörper für die Diagnose der ZNS Form der FIP verifiziert. In dieser Studie wurde bei vier (31 %) der Katzen, die an einer histopathologisch diagnostiziert rein extraneuralen Form der FIP erkrankt waren, Antikörper im Liquor gefunden. Mögliche Ursachen für diesen Befund ist ein Funktionsverlust der BHS oder falsch positive Liquorantikörper durch eine Blutkontamination des Liquors cerebrospinalis. In einer ähnlichen Studie von FOLEY et al. (1998) konnten dagegen bei insgesamt acht Katzen mit einer extraneuralen FIP Infektion keine Liquor Coronavirus Antikörpern diagnostiziert werden. Alle acht Katzen zeigten im Serum Coronavirus Antikörper Titer von 1:25 bis 1:1600. Bei BOETTCHER (2004) hatten drei von vier Katzen Serum-Titer über 1:4096 oder höher.

In der hier vorliegenden Studie wurde histopathologisch keine Veränderung des ZNS festgestellt und auch die Liquoruntersuchung ergab keine Abweichungen von den Referenzwerten. Durch den normalen AQ kann eine Störung der BHS bei Katzen mit einer extraneuralen FIP mit sehr großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Dies lässt aber die Frage unbeantwortet, warum Coronavirus Antikörper im Liquor fast nur bei Katzen mit sehr hohen Serumantikörpern auftraten. Mögliche Erklärungen wären ein erhöhter Diffusionsdruck der Antikörper aus dem Serum, eine Kontamination bei der Liquorentnahme oder vor allem auch das Einwandern sensibilisierter Lymphozyten in den Liquorraum (BOETTCHER et al., 2004).

Für eine intrathekale Immunglobulin-Produktion ergab sich anhand der Liquor IgG Indizes bei den untersuchten Katzen der vorliegenden Studie kein Hinweis, so dass diese Möglichkeit auch eher unwahrscheinlich erscheint. In Anlehnung an die Humanmedizin sollten sich künftige Studien auf die Berechnung des spezifischen Antikörperindex konzentrieren. Ein erhöhter Diffusionsdruck sollte bei einer intakten BHS eigentlich eine nur sehr untergeordnete Rolle spielen. Beim Menschen hat SEYFERT et al. (2003) den Einfluss des Serum IgG auf den Liquor IgG-Gehalt bei neurologisch gesunden wie auch neurologisch erkrankten Menschen untersucht und dabei eine nur minimale Korrelationen der Messgrößen ermittelt. Den größten Einfluss hat der Liquorfluss, wie auch REIBER (1994) postuliert hat. Inwieweit es bei einer subklinischen Manifestation einer ZNS Erkrankung zu Zirkulationsstörungen kommt ist schwer zu sagen. Sicher ist, dass

aufgrund der hier vorliegenden histopathologischen Untersuchungen in keinem Fall ein Hydrozephalus vorlag.

4.7 Abschließende Beurteilung

Ziel der vorliegenden Studie war die Erstellung von Referenzbereichen für das Gesamtprotein, den Albumin-Quotienten und IgG Index speziell bei der Katze. Dieses erfolgte zum einen unter dem Gesichtspunkt, dass bisher nur wenige Untersuchungen zur Integrität der BHS bei der Katze vorliegen (PODELL et al., 1997) und zum anderen um den differenzialdiagnostischen Nutzen des Liquorproteinprofils bei verschiedenen Erkrankungen des ZNS bewerten zu können.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Kombination aus konventioneller Liquordiagnostik und differenzierter Liquorproteinbestimmung eine geringfügig höhere Sensitivität aufwies als die konventionelle Liquordiagnostik alleine. Jedoch ist die Höhe des Albumin-Quotienten oder des IgG-Index nicht spezifisch für eine bestimmte Erkrankung. Außerdem zeigte sich, dass in der Gruppe der neurologisch erkrankten Tiere alle Befundkombinationen vorkamen. Sowohl bei der ZNS FIP als auch bei ZNS Neoplasien waren sowohl eine isolierte BHS Störung oder eine alleinige intrathekale IgG Synthese, als auch eine intrathekale IgG Synthese in Kombination mit einer BHS Störung möglich. Der differenzialdiagnostische Nutzen bestand also weniger in der Möglichkeit einer Einordnung in eine bestimmte Krankheitsgruppe, als in der Möglichkeit der Unterscheidung von „normal“ und „pathologisch“. Dieser Nutzen wurde in dieser Arbeit sowohl bei den ZNS Neoplasien, wie auch bei der ZNS FIP deutlich, da in beiden Gruppen in einigen Fällen ein erhöhter AQ bzw. IgG Index bei einem normalen Gesamtprotein vorlag. Anhand der hier vorliegenden Untersuchung und auch der Ergebnisse von SCHINDLER (2000) beim Hund stellt sich aber die Frage nach dem routinemäßigen Einsatz der Bestimmung des IgG Index und AQ in der Tiermedizin. Die Messungen sollten eher zur Charakterisierung spezifischer Erkrankungen des ZNS angewendet werden.

Die vorliegende Studie hat außerdem ergeben, dass die Nephelometrie eine geeignete Methode zur Aufdeckung von Blut-Hirn Schrankenstörungen und intrathekaler IgG-Produktion bei der Katze ist. Die Wiederfindungsmessungen und

Präzisionskontrollen in Serie und von Tag zu Tag ergaben eine hohe Genauigkeit und Stabilität dieses Verfahrens und bestätigen damit auch die Ergebnisse der nephelometrischen Bestimmung des AQ und des IgG Index beim Hund durch SCHINDLER (2000). Die Abweichungen bei den Wiederfindungsmessungen überschritten nicht die vorgeschriebenen 10 % und betragen im Mittel 5 %. Die Variationskoeffizienten der Präzisionsmessungen in Serie lagen bei 2,7 % bis 3,4%, die der Präzisionsmessungen von Tag zu Tag bei 3,0 % bis 7 %.

Die manuelle Bedienung des Nephelometers war sehr einfach, da es sich um ein selbsterklärendes, computergestütztes Programm handelt und jeder Bedienungsschritt im Monitor des Gerätes digital angezeigt wird. Eine Schwierigkeit bestand in der manuellen Erweiterung der Software um die Möglichkeit der tierartspezifischen Messung des Albumin Cat und IgG Cat.

In dieser Arbeit wurde erstmals ein Liquorproteinprofil für die Katze mit dem Nephelometer anhand des Albumin-Quotienten und des IgG-Index bestimmt. Nur PODELL (1997) hatte bisher den Albumin-Quotienten bei der Katze ermittelt und zur Bewertung der BHS Funktion herangezogen. DOW et al. (1990) und RAND et al. (1990) bestimmten den IgG Index bei der Katze. In der vorliegenden Arbeit wurden erstmals beide Messgrößen gleichzeitig ermittelt und deren Verwendung bei pathologischen Verhältnissen im ZNS dokumentiert.

Folgende Schlussfolgerungen konnten gezogen werden:

- Die Nephelometrie ist eine geeignete Methode zur Bestimmung des Liquor-Serum Albumin-Quotienten und des IgG Index bei der Katze.
- Der Albuminquotient und der ermittelte Referenzbereich eignen sich zur Bestimmung der Blut-Hirn Schrankenfunktion bei der Katze
- Mit der kombinierten Bestimmung des AQ und IgG Index kann anders als beim Menschen keine Unterscheidung zwischen ZNS Neoplasie und ZNS Entzündung getroffen werden.
- Bei 21,7 % der neurologisch erkrankten Katzen ergab die konventionelle Liquordiagnostik einschließlich Gesamtprotein einen unauffälligen Befund und nur der Albumin-Quotient und der IgG-Index wiesen auf eine Erkrankung des ZNS hin.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der Arbeit war, Referenzwerte für die Gesamtproteinkonzentration im Liquor, den Albumin-Quotienten und den IgG Index bei der Katze zu etablieren. In einem zweiten Schritt sollte die diagnostische Aussagekraft dieser Messungen für die Erfassung subklinischer Entzündungen im ZNS oder Blut-Hirn Schrankenstörungen bei der Katze bewertet werden.

Das Untersuchungsmaterial der Studie umfasste eine Liquorprobe und die korrespondierende Serumprobe von insgesamt 72 Katzen. Diese wurden eingeteilt in 37 neurologisch gesunde Katzen (Gruppe I; Referenzgruppe), 23 neurologisch kranke Katzen (Gruppe II), davon acht Tiere mit Gehirntumoren (Gruppe II a) und 15 Katzen mit der ZNS-Form der felines infektiösen Peritonitis (Gruppe II b), sowie 12 Katzen mit einer rein extraneuralen Form der FIP. Die Einteilung in die einzelnen Gruppen basierte neben den klinischen Untersuchungsbefunden bei allen Katzen auch auf den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung des ZNS.

Alle Messungen wurden am Behring Nephelometer 100 durchgeführt. Das Gesamtprotein wurde nach Fällung mit Trichloressigsäure, Albumin und IgG im Liquor (L) und Serum (S) immunnephelometrisch unter Verwendung von speziespezifischem anti-Albumin und anti-IgG Antikörpern gemessen. Als Kontrollen dienten humanes Liquorprotein, Standard Katzen Albumin und Standard Katzen IgG. Der Albuminquotient (AQ) und der IgG-Index wurden nach folgenden Formeln berechnet: $AQ = L\text{-Albumin}/S\text{-Albumin}$. $IgG\text{ Index} = (L\text{-IgG}/S\text{-IgG})/(L\text{-Albumin}/S\text{-Albumin})$. Der Albuminquotient wurde zur Beschreibung einer Blut-Hirn Schrankenstörung herangezogen, der IgG-Index diente der Feststellung einer intrathekalen IgG-Synthese.

In der Referenzgruppe (Gruppe I) betrug die Gesamtproteinkonzentration 0,06 bis 0,36 g/l ($0,15 \pm 0,1$), der Albuminquotient 0,0006 bis 0,0057 ($0,0024 \pm 0,0012$) und der IgG Index 0,3 bis 0,6 ($0,43 \pm 0,16$).

Bei Tieren mit einer extraneuralen FIP (Gruppe III) war im Hinblick auf die Ergebnisse kein Unterschied zur Referenzgruppe (Gruppe I) nachzuweisen. Alle Messungen befanden sich im Referenzbereich.

Bei den Katzen mit Gehirntumoren (Gruppe II a) zeigte der überwiegende Anteil der Katzen mit verändertem Liquorproteinprofil eine intrathekale IgG-Synthese (n = 5; 62,5 %), wovon zwei Katzen gleichzeitig eine gestörte Blut-Hirn Schranke aufwiesen. Eine reine Blut-Hirn Schranken-Störung wiesen lediglich zwei Katzen (25 %) auf. Bei zwei Tieren (25 %) war das Liquorproteinprofil nicht verändert.

Bei den Katzen mit einer ZNS Form der FIP (Gruppe II b) zeigten 33,3 % (n = 5) einen erhöhten IgG-Index, wovon zwei Katzen auch eine gleichzeitige Blut-Hirn-Schranken-Störung erkennen ließen. Eine reine Blut-Hirn-Schranken-Störung wiesen zwei Katzen dieser Gruppe auf (13,3 %). Bei 53,3 % der Katzen war das Liquorproteinprofil nicht verändert (n = 8).

Insgesamt konnte bei 21,7 % der neurologisch kranken Katzen ein pathologisch verändertes Liquorprofil nur anhand des Albumin-Quotienten oder IgG Index erkannt werden. Dies entsprach 29,4 % der neurologisch kranken Katzen mit einem unauffälligen Gesamtproteingehalt im Liquor.

Bei neurologisch kranken Katzen, die in der Routineuntersuchung des Liquors keine Abweichung von der Norm zeigen, stellt die Bestimmung des Albumin-Quotient und IgG Index eine sinnvolle diagnostische Ergänzung dar. Allerdings kann das Postulat, das in der Humanmedizin gestellt wurde, dass Tumoren vor allem durch eine Veränderung der Blut-Hirn Schranke und Entzündungen durch eine intrathekale IgG-Synthese charakterisiert sind, anhand dieser Ergebnisse bei der Katze nicht nachvollzogen werden. Bei Katzen mit extraneuraler FIP bestätigten Albuminquotient und IgG Index, dass keine subklinische Beteiligung des ZNS am Krankheitsprozess vorlag.

6 SUMMARY

Aim of the study was to establish reference values for total protein (TP), albumin-quotient (AQ) and IgG index in cerebrospinal fluid (CSF) in the cat. Furthermore, diagnostic value of these parameters for detection of subclinical inflammation of the central nervous system (CNS) or dysfunction of the blood brain barrier (BBB) was to be evaluated for the cat.

Corresponding CSF and serum samples of 72 cats were evaluated. In detail, 37 neurologically healthy cats (group I, reference group), 23 cats with neurological diseases (group II), including eight cats with intracranial neoplasia (group II a) and 15 cats with CNS manifestation of FIP (group II b) and 12 cats with an exclusively extraneural FIP infection were included in the study. Classification into separate groups was based on results of histopathologic examination of the CNS in each cat.

All measurements were done with the Behring Nephelometer 100. TP in CSF was determined after precipitation with trichloroacetic acid; albumin and IgG were measured in CSF and serum (S) by immunonephelometry using species specific anti-albumin and anti-IgG antibodies. Human CSF-protein, standard cat albumin and standard cat IgG served as controls. Albumin quotient (AQ) and IgG index were calculated utilizing the following formulas:

$AQ = CSF\text{-albumin} / S\text{-albumin}$; $IgG\ index = (CSF\text{-IgG}/S\text{-IgG}) / (CSF\text{-albumin}/S\text{-albumin})$. The AQ was used as an indicator for the integrity of the BBB; the IgG index described the intrathecally produced IgG fraction.

For the reference group (group I) total protein in CSF was 0,06 - 0,36 g/l ($0,15 \pm 0,1$), albumin quotient was 0,0006 - 0,0057 ($0,0024 \pm 0,0012$), and IgG index was 0,3 - 0,6 ($0,43 \pm 0,16$), respectively.

In cats with extra neural FIP (group III) there was no difference in TP, AQ and IgG index compared with the reference group (group I). All measurements were within the reference range.

In cats with intracranial neoplasia (group II a) most animals with abnormal CSF protein profile exhibited intrathecal IgG synthesis ($n = 5$; 62.5 %) and two of these showed a concurrent disturbance of the BBB. An exclusive disturbance of the BBB was only detected in two cats (25 %). In two other cats (25 %) the CSF protein

profile was unremarkable.

In cats with CNS manifestation of FIP (group II b) 33.3 % (n = 5) demonstrated an increased IgG index, two of these patients also revealed a concurrent disturbance of the BBB. Within this group two cats (13.3 %) had an isolated disruption of the BBB. The protein profile was normal in eight (53.3 %) of the cats.

In 21.7 % of all cats with neurological diseases an abnormal protein profile could only be detected by measurement of AQ or IgG index. This equals 29.4 % of the neurologically diseased cats with a normal CSF total protein.

In cats with neurological disease, which do not show abnormalities in routine CSF examination, the measurement of the AQ and the IgG index provides a reasonable diagnostic feature. However, the theory postulated in human medicine that tumours are mainly characterised by a change of BBB, and that inflammation is characterised by intrathecal IgG production could not be proven for the cat considering the results of this study.

In cats with extra neural FIP AQ and IgG index helped to confirm that no subclinical involvement of the CNS was present in the disease process.

7 ABKÜRZUNGEN

| | |
|------------|-----------------------------------|
| ACE | Angiotensin Converting Enzyme |
| AG | Antigen |
| AK | Antikörper |
| ALT | Alanin-Amino-Transferase |
| AP | Alkalische Phosphatase |
| AQ | Albuminquotient |
| ASI | Antikörper spezifischer Index |
| AST | Aspartat-Amino-Transferase |
| Art. Nr. | Artikel Nummer |
| Aqua dest. | Aqua destilatum |
| BBB | Blood Brain Barrier |
| BHS | Blut-Hirn Schranke |
| BSA | Bovines Serum Albumin |
| CK | Creatinkinase |
| CMV | Cytomegalie Virus |
| CNS | Central nervous system |
| CSF | Cerebrospinal Fluid |
| CT | Computer Tomographie |
| EHV-9 | Equines Herpesvirus 9 |
| EKH | Europäisch Kurzhaarkatze |
| ELISA | Enzym Linkend Immunosorbent Assay |
| FCV | Felines Calicivirus |
| FIP | Feline Infektiöse Peritonitis |
| FHV | Felines Herpesvirus |
| FHC | Fuchs Heterochromic Cyclitis |
| FIV | Felines Immundefizienz Virus |
| FSME | Frühsommer-Meningoenzephalitis |
| GABA | Gamma-Amino-Buttersäure |
| GF | Growth Factor |
| HIV | Humanes Immundefizienz Virus |
| HSE | Herpes Simplex Enzephalitis |
| HSV | Herpes Simplex Virus |

| | |
|-------------------|--|
| IEF | Isoelektrische Fokussierung |
| IL | Interleukin |
| Ig | Immunglobulin |
| kDa | Kilo Dalton |
| (L) | Liquor |
| LDH | Lactat Dehydrogenase |
| LMU | Ludwig-Maximilians-Universität |
| max | Maximum |
| min | Minimum |
| MRZ | Masern-, Röteln- und Zoster-Infektion |
| MTK | Medizinische Kleintierklinik |
| MRT | Magnet-Resonanz Tomographie |
| NSE | Neuronen-spezifische Enolase |
| n | Anzahl |
| obB | Ohne besonderen Befund |
| p | Signifikanzwert |
| PCR | Polymerasekettenreaktion |
| QAlb | Liquor-Serum-Quotienten der Albuminkonzentration |
| QIgG | Liquor-Serum-Quotient IgG-Konzentration |
| Q _{lim} | Oberer Referenzbereich |
| Q _{mean} | Mittlerer Referenzbereich |
| Q _{low} | Unterer Referenzbereich |
| r | Korrelationskoeffizient |
| s | Standardabweichung |
| (S) | Serum |
| s-ICAM | Soluble intercellular adhesion molecule |
| SPF | Spezifisch pathogen frei |
| SRMA | Steroid-Responsive-Meningitis-Arteriits |
| TP | Total Protein |
| VK | Variationskoeffizient |
| VZV | Varizella Zoster Virus |
| \bar{x} | Mittelwert |
| ZNS | Zentrales Nervensystem |

8 LITERATURVERZEICHNIS

Abbott NJ:

Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability;
J. Anat. (2002), 200, pp 629-638.

Ackermann H:

Sind $x \pm 2s$ Bereiche nützliche diagnostische Hilfsmittel. Medizinische Welt
1983;34:212-215

Adamo FP, Forrest L, Dubielzig R:

Canine and Feline Meningiomas: Diagnosis, Treatment, and Prognosis.
Compendium of Continuing Education, Vol 26 (5), pp 951-966, December
2004

Addie DD, Jarrett O:

Control of feline coronavirus infection in kittens. Vet Rec. 1990 Feb 17;126
(7):164

Ambudkar SV, Dey S, Hrycyna CA, Ramachandra M, Pastan I, Gottesman MM:

Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug
transporter. Annu Rev Pharmacol Toxicol 39: 361-98,1999

Andrews FM, Maddux JM, Faulk D:

Total protein, albumin quotient, IgG and IgG index determinations for horse
cerebrospinal fluid. Prog Vet Neurol 1990;1:197-204

Andrews FM, Geiser DR, Sommardahl CS, Green EM, Provenza M:

Albumin quotient, IgG concentration and IgG index determinations in
cerebrospinal fluid of neonatal foals. Am J Vet Res 1994; 55: 741-5

Andrews FM, Granstrom D, Provenza M:

Differentiation of neurologic diseases in the horse by the use of albumin
quotient and IgG index determinations. Proceedings. Ann Meet Am Assoc
Equine Pract 1995; 41:215-7

Backlund LM, Nilsson BR, Liu L, Ichimura K, Collins VP:

Mutations in Rb1 pathway-related genes are associated with poor prognosis
in anaplastic astrocytomas. Br J Cancer. 2005 Jul 11;93(1):124-30

Bagley RS:

Pathophysiologic sequelae of intracranial disease. Vet Clin North Am
26:711, 1996

Bailey CS, Higgins RJ:

Comparison of total white blood cell count and total protein content of lumbar and cisternal cerebrospinal fluid of healthy dogs. *Am J Vet Res* 1985;46:1162-5

Balda MS, Anderson JM:

Two classes of tight junctions are revealed by ZO-1 isoforms. *Am J Physiol* 264 (4 Pt1):C918-24, 1993

Baroni M, Heinold Y:

A review of the clinical diagnosis of feline infectious peritonitis viral meningoencephalomyelitis. *Progr Vet Neurol* 1995;6(3):88-94

Bauer HC, Bauer H:

Neural induction of the blood-brain barrier: still an enigma. *Cellular Mol. Neurobiol.* 20, 13-28, 2000.

Begemann M, Rosenblum MK, Loh J, Kraus D, Raizer JJ:

Leptomeningeal metastases from recurrent squamous cell cancer of the skin. *J Neurooncol.* 2003 Jul;63(3):295-8

Bichsel P, Vandeveld M, Vandeveld E, Affolter U:

Immuno-electrophoretic determination of albumin and IgG in serum and cerebrospinal fluid in dogs with neurological diseases. *Res Vet Sci* 1984;37:101-7

Bienzle D, McDonnell JJ, Stanton JB:

Analysis of cerebrospinal fluid from dogs and cats after 24 and 48 hours of storage. *J Am Vet Med Assoc.* 2000 Jun 1;216(11):1761-4

Braund KG:

Clinical Syndromes in Veterinary Neurology. Mosby Year Book Inc., Missouri 1994 386-9

Braund KG:

Inflammatory diseases of the central nervous system. In: Braund KG. *Clinical Neurology in small animals-localization, diagnosis and treatment.* International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York 2003

Brightman MW, Reese TS:

Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. *J Cell Biol* 40 (3):648-77, 1969

Boettcher I:

Untersuchung des Stellenwertes der Messung spezifischer Antikörper im Liquor cerebrospinalis für die Diagnose der ZNS-Manifestation der Felinen Infektiösen Peritonitis. Diss med vet, 2004

Boffin U:

Erweiterte Möglichkeiten der Referenzbereichsschätzung; Dissertation med vet München 1993

Broadwell RD, Sofroniew MV:

Serum proteins bypass the blood-brain fluid barriers for extracellular entry to the central nervous system. Exp Neurol 120 (2): 245-63, 1993

Burtis CA, Ashwood ER:

Amino Acids and Proteins. In Tietz: Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. WB Saunders, Philadelphia 1994: 692-730

Butt AM, Jones HC, Abbott NJ:

Electrical resistance across the blood-brain barrier in anaesthetized rats: a developmental study. J Physiol. 1990 Oct;429:47-62

Callanan JJ, Jones BA, Irvine J, Willett BJ, McCandlish IAP Jarrett O:

Histologic classification and immuno-phenotype of lymphosarcomas in cats with naturally and experimentally acquired feline immunodeficiency virus infections. Vet Pathol 33:264-272, 1996

Chapman MD, Hughes LE, Clyde WD, Namnyak S, Edward JT, Giovannoni G:

No Evidence for Production of intrathecal Immunglobulin G against Acinetobacter or Pseudomonas in Multiple Sclerosis, Eur Neurol 2005; 53:27-31

Chrisman CL:

Cerebrospinal Fluid Analysis. Vet Clin North Am (Small Anim Pract) 1992; 22:781-810

Christopher MM, Perman V, Hardy RM:

Reassessment of cytologic values in canine cerebrospinal fluid by use of cytocentrifugation. J Am Vet Med Assoc 1988; 192: 1726-9

Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH:

Cerebrospinal Fluid Analysis. In Diagnostic Cytology and Hematology of the dog and cat. Mosby, St. Louis 1999: 125-41

Cutler RWP, Averill DR:

Cerebrospinal fluid gamma globulins in canine distemper encephalitis. *Neurology* 1969; 19:1111-4

Cutler RWP, Watters GV, Hammerstad JP:

The origin and turnover rates of cerebrospinal fluid albumin and bamma-globulin in man. *J Neurol Sci* 1970; 10:259-68

Conant K, McArthur JC, Griffin DE, Sjulson L, Wahl LM, Irani DN:

Cerebrospinal fluid levels of MMP-2, 7, and 9 are elevated in association with human immunodeficiency virus dementia. *Ann Neurol.* 1999 Sep;46(3):391-8.

Cook JR, DeNicola DB:

Cerebrospinal fluid. *Vet Clin North Am (Small Anim Prac)* 1988; 18:479

Coomber BL, Stewart PA, Hayakawa K, Farrell CL, Del Maestro RF:

Quantitative morphology of human glioblastoma multiforme microvessels: structural basis of blood-brain barrier defect. *J Neuro Oncol* 1984, 5:299-307

Cornford EM, Hyman S:

Blood-brain barrier permeability to small and large molecules. *Adv Drug Deliv Rev* 36 (2-3): 145-163, 1999

Couto CG, Cullen J, Pedroia V:

Central nervous system lymphosarcoma in the dog. *J Am Vet Med Assoc* 1984; 184:809-813

Crone C, Olesen SP:

Electrical resistance of brain microvascular endothelium. *Brain Res* 241 (1): 49-55, 1982

Dawson DA, Carman J, Collins J, Hill S, Lappin MR:

Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of feline herpesvirus 1 IgG in serum, aqueous humor, and cerebrospinal fluid. *J Vet Diagn Invest.* 1998 Oct;10(4):315-9

DeLahunta A:

Cerebrospinal fluid and hydrocephalus. In *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*, 2nd ed. WB Saunders Co, Philadelphia 1983: 30-5

Demeule M, Regina A, Jodoin J, Laplante A, Dagenais C, Berthelet F, Moghrabi A, Beliveau R:

Drug transport to the brain: key roles for the efflux pump P-glycoprotein in the blood-brain barrier. *Vascul Pharmacol* 38 (6):339-48, 2002

Demierre S, Bley T, Botteron C:

Intracranial astrocytomas in eight cats: clinical and pathological findings. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2002;144:66-73

Denkins Y, Reiland J, Roy M, Sinnappah-Kang ND, Galjour J, Murry BP, Blust J:

Brain metastases in melanoma: roles of neurotrophins. *Neuro-oncol.* 2004 Apr;6(2):154-65

Derfuss T, Gürkov R, Bergh FT, Goebels N, Hartmann M, Barz C, Wilske B, Autenrieth I, Wick M, Hohlfeld R, Meinl E:

Intrathecal antibody production against *Chlamydia pneumoniae* in multiple sclerosis is part of a polyspecific immune response. *Brain*, 2001, 124,1325-1335

Dickinson PJ, Keel MK, Higgins RJ, Koblik PD, LeCouteur RA, Naydan DK, Bollen AW, Vernau W:

Clinical and pathological features of oligodendrogliomas in two cats. *Vet Pathol* 37:160-167, 2000

Dorta-Contreras AJ.

Reibergrams: essential element in cerebrospinal fluid immunological analysis. *Rev Neurol.* 1999 May 16-31;28(10):996-8

Dow SW, Poss ML, Hoover EA:

Feline immunodeficiency virus: a neurotropic lentivirus. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1990;3(7):658-68

Duniho S, Schulman FY, Morrison A, Mena H, Koestner A:

A subependymal giant cell astrocytoma in a cat. *Vet Pathol* 2000 May;37(3):275-8

Edwards G

Ivermectin: does P-glycoprotein play a role in neurotoxicity? *Filaria Journal* 2003, 2 (Suppl I):58

Ehrlich P:

Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus: eine farbenanalytische Studie. Berlin: Hirschward, 1885.

Ernerudh J, Olsson T, Berlin G, von Schenck H:

Cerebrospinal fluid immunoglobulins and beta 2-microglobulin in lymphoproliferative and other neoplastic diseases of the central nervous system. Arch Neurol. 1987 Sep;44(9):915-20

Fateh-Moghadam A:

Nephelometrie Symposium in Bad Nauheim 22./23.10.1987. Marburg, Verlag Deutsches Grünes Kreuz 1987; 11-16

Fatzer R:

Meningitis and granulomatous chorio-ependymitis in cats. Schweizer Archiv für Tierheilkunde. 1975; (11)117:633-640

Feinstein AR:

Clinical biostatistics: XXVII. The derangements of the „range of normal“. Clin Pharmacol Therapeutics 1974; 15:528-40

Felgenhauer K:

Differentiation of the humoral immune response in inflammatory diseases of the central nervous system. J Neurol 1982; 228: 223-37

Felgenhauer K:

Spezielle Pathobiochemie des Liquorkompartiments. In Greiling H und Gressner AM: Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage., Schattauer, Stuttgart 1995: 1071-85

Felgenhauer K, Thomas L:

Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen. In Labor und Diagnose. TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt 1998: 1341-59

Felgenhauer K, Beuche W:

Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen. Liquoranalytik und – zytologie, Diagnose- und Prozeßmarker. Georg-Thieme Verlag, 1999

Fenner WR:

Diseases of the brain. In: Ettinger SJ, Feldmann EC. Textbook of Veterinary Internal Medicine. 5th ed. 1. WB Saunders, Philadelphia 2000. 552-602

Fieschi C, Agnoli A:

Fractional exchange rate of albumin from cerebrospinal fluid to plasma in man. Minerva Nucl. 1964 Nov-Dec;56:344-7

Fiorito DA:

Oral and peripheral vestibular signs in a cat with squamous cell carcinoma.
J Am Vet Med Assoc. 1986 Jan 1;188(1):71-2

Fischer A, Möller-Seeling A, Hirschvogel K, Moritz A:

Nephelometrische Bestimmung des Liquor-Serum-Albuminquotienten und IgG-Index beim Hund. In 8. Jahrestagung der Fachgruppe Innere Medizin und Klinische Labordiagnostik in der DVG, München, 03/1999. Tagungsband, DVG-Verlag, Gießen 1999: 37

Fishman RA:

Exchange of albumin between plasma and cerebrospinal fluid. Am J Physiol 1953; 175: 96-8

Fishman RA:

Physiology of the cerebrospinal Fluid. In Cerebrospinal fluid of the Nervous System, 2nd ed. WB Saunders Co, Philadelphia 1992 a: 23-42

Fishman RA:

Composition of the Cerebrospinal Fluid. In Cerebrospinal fluid of the Nervous System, 2nd ed. WB Saunders Co, Philadelphia 1992 b: 183-214

Foley JE, Lapointe JM, Koblik P, Poland A, Pedersen NC :

Diagnostic features of clinical neurologic feline infectious peritonitis. J Vet Intern Med. 1998 Nov-Dec;12(6):415-23

Foley JE, Leutenegger C:

A Review of Coronavirus Infection in the Central Nervous System of Cats and Mice. J Vet Intern Med 2001; 15:438-444

Foley JE, Rand C, Leutenegger C:

Inflammation and changes in cytokine levels in neurological feline infectious peritonitis. J Feline Med Surg. 2003 Dec;5(6):313-22

Fondevila D, Vilafranca M, Pumarola M:

Primary central nervous system T-cell lymphoma in a cat. Vet Pathol. 1998 Nov;35(6):550-3

Frick E, Scheid-Seydel L:

Exchange processes between plasma and cerebrospinal fluid examined with radio-iodine labeled albumin. Klin Wochenschr. 1958 Jan 15;36(2):66-9

Fricker G, Miller:

Modulation of Drug Transporters at the Blood-Brain Barrier. *Pharmacology* 2004; 70: 169-176

Furr MO, Bender H:

Cerebrospinal fluid variables in clinically normal foals from birth to 42 days of age. *Am J Vet Res.* 1994 Jun;55(6):781-4

Furuse M, Hirase T, Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Tsukita S:

Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol* 123 (6 Pt 2): 1777-88, 1993

Ganong W:

Cerebrospinal Fluid. In *Medical Physiology*, 16th ed Prentice-Hall Int. 1993: 552-3

Garweg J, Boehnke M, Koerner F:

Restricted applicability of the polymerase chain reaction for the diagnosis of ocular toxoplasmosis. *Ger J Ophthalmol* 5: 104-108, 1996

Gherzi-Egea JF, Finnegan W, Chen JL, Fenstermacher JD:

Rapid distribution of intraventricularly administered sucrose into cerebrospinal fluid cisterns via subarachnoid velae in rat. *Neuroscience* 75 (4): 1271-88, 1996

Goldmann E:

Die äussere und innere Sekretion des gesunden und kranken Organismus im Licht der vitalen Färbung. *Beitr Klein Chir* 64:192-265, 1909.

Guyton A:

Cerebrospinal blood flow, the cerebrospinal fluid and brain metabolism. In *Basic Neuroscience*, 2nd ed. WB Saunders Co, Philadelphia 1991: 288-90

Haskins ME, McGrath JT:

Meningiomas in young cats with mucopolysaccharidosis I. *J Neuropathol Exp Neurol* 1983;42:664-670

Hayashi T, Utsumi F, Takahashi R, Fujiwara K:

Pathology of non-effusive type feline infectious peritonitis and experimental transmission. *Jpn J Vet Sci.* 1980 Apr;42(2):197-210

Henry RJ , Reed AH:

Normal values and the use of laboratory results for the detection of disease
Clinical Chemistry: Principles and Technics. R.J Henry, D.C. Cannon, J.W.
Winkelman, Editors. Edition 2: 343-371. New York: Harper&Row.1974

Hewson CJ, Luescher UA, Parent JM:

Effect of Clomipramine on monoamine metabolites in the cerebrospinal fluid
of behaviorally normal dogs. Can J Vet Res 2000; 64:123-129

Hirase T, Staddon JM, Saitou M, Ando-Akatsuka Y, Itoh M, Furuse M, Fujimoto K:
Occludin as a possible determinant of tight junction permeability in
endothelial cells. J Cell Sci 110 (Pt 14): 1603-13, 1997

Hochwald GM , Wallenstein M:

Exchange of albumin between blood, cerebrospinal fluid and brain in the
cat. Am J Physiol 1967a; 212: 1199-204

Hochwald GM , Wallenstein MC:

Exchange of gamma globulin between blood, cerebrospinal fluid and brain
in the cat. Exp Neurol 1967b; 19: 115-26

Hochwald GM, Wallenstein MC, Mathews ES:

Exchange of protein between blood and spinal subarachnoid fluid. Am J
Physiol 1969c; 217: 348-53

Indrieri RJ, Taylor RF:

Vestibular dysfunction caused by squamous cell carcinoma involving the
middle ear and inner ear in two cats. J Am Vet Med Assoc. 1984 Feb
15;184(4):471-3

Janzer RC, Raff MC:

Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. Nature
325 (6101): 253-7, 1987

Johansson M, Berg M, Berg AL:

Humoral immune response against Borna disease virus (BDV) in
experimentally and naturally infected cats. Vet Immunol Immunopathol.
2002 Nov;90(1-2):23-33

Johnson GC, Fenner WR, Krakowka S:

Production of immunoglobulin G and increased antiviral antibody in
cerebrospinal fluid of dogs with delayed-onset canine distemper viral
encephalitis. J Neuroimmunol 1988; 17: 237-51

- Johnston M, Zakharov A, Papaiconomou C, Salmasi G, Armstrong D
 Evidence of connections between cerebrospinal fluid and nasal lymphatic vessels in humans, non-human primates and other mammalian species
 Cerebrospinal Fluid Res. 2004;1:2
- Jones FS, Jones PL:
 The tenascin family of ECM glycoproteins: structure, function and regulation during embryonic development and tissue remodeling. Dev Dyn. 218,235-258, 2000
- Keller H:
 Liquoranalytik. In Keller H: Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1991: 262-81
- Kim RB, Fromm MF, Wandel C, Leake B, Wood AJ, Roden DM, Wilkinson GR:
 The drug transporter P-glycoprotein limits oral absorption and brain entry of HIV-1 protease inhibitors. J Clin Invest 101 (2): 289-94, 1998
- Kipar A, Bellmann S, Kremendahl J, Kohler K, Reinacher M:
 Cellular composition, coronavirus antigen expression and production of specific antibodies in lesions in feline infectious peritonitis. Vet Immunol Immunopathol. 1998 Oct 23;65(2-4):243-57
- Kirchherr H, Schiwara HW:
 Quantitative Proteinbestimmung im Harn mit einer empfindlichen Streulichtmethode. J Clin Chem Clin Biochem 1985; 23 (2): 57-62
- Klatzo I, Miquel J, Ferris PJ, Prokop JD, Smith DE:
 Observations on the passage of the fluorescein labeled serum proteins from the cerebrospinal fluid. J Neuropathol Exp Neurol. 1964 Jan;23:18-35
- Kleine TO, Damm T:
 Distinct heterogeneity of IgG immune response in cerebrospinal fluid (CSF) detected by isoelectric focusing (IEF) with extended immunofixation. Brain Res Bull. 2003 Aug 15;61(3):309-20
- Kline K:
 Feline Epilepsy. Clin Tech Small Anim Pract, Vol 13;(3): 152-158, 1998
- Kline KL, Joseph RJ, Averill DR:
 Feline infectious peritonitis with neurologic involvement: clinical and pathological findings in 24 cats. J Am Anim Hosp Assoc 1994; 30:111-118

Kniesel U, Wolburg H:

Tight junctions of the blood-brain barrier. *Cell Mol Neurobiol* 20(1):57-76, 2000

Kornegay JN:

Feline infectious peritonitis: the central nervous system form. *J Am Anim Hosp Assoc* 1978; 14:580-584

Kornegay JN:

Cerebrospinal fluid collection, examination and interpretation. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1981;3:85-90

Kozler P, Pokorny J:

Altered Blood-Brain Barrier Permeability and Its Effect on the Distribution of Evans Blue and Sodium Fluorescein in the Rat Brain Applied by Intracarotid Injection, *Physiol. Res.* 52: 607-614, 2003

Kraft W, Dürr U:

Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 5. überarbeitete Auflage, Schattauer Verlag, 1999

Krane EJ, Rockoff MA:

Subclinical brain swelling in children during treatment of diabetic ketoacidosis. *N Engl J Med.* 1985 May 2;312(18):1147-51

Krum S, Johnson K, Wilson J:

Hydrocephalus associated with the non-effusive form of feline infectious peritonitis. *J Am Vet Med Assoc* 1975; 167:746-748

Küffner H, Wittenberg R:

Datenanalyse für statistische Auswertung. Eine Einführung in SPSS, BMDP und SAS. Verlag Gustav Fischer, Stuttgart, 1985

Kusuhara H, Sugiyama Y:

Efflux transport systems for drugs at the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier (Part 1). *Drug Discov Today* 6 (3): 150-156, 2001

Kusuhara H, Sugiyama Y:

Efflux transport systems for drugs at the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier (Part 2). *Drug Discov Today* 6 (4): 206-212, 2001

Lane SB, Kornegay JN, Duncan JR, Oliver JE Jr:

Feline spinal lymphosarcoma: a retrospective evaluation of 23 cats. *J Vet Intern Med* 1994; 8:99-104

Lane TE, Liu MT, Chen BP, Asensio VC, Samawi RM, Paoletti AD, Campbell IL, Kunkel SL, Fox HS, Buchmeier MJ:

A central role for CD4(+) T cells and RANTES in virus-induced central nervous system inflammation and demyelination. *J Virol.* 2000 Feb;74(3):1415-24

Lapointe JM, Higgins RJ, Kortz GD, Bailey CS, Moore PF:

Intravascular malignant T-cell lymphoma (malignant angioendotheliomatosis) in a cat. *Vet Pathol.* 1997 May;34(3):247-50

Lappin MR, Chavkin MJ, Munana KR, Cooper CM:

Feline ocular and cerebrospinal fluid *Toxoplasma gondii*-specific humoral immune responses following specific and nonspecific immune stimulation. *Vet Immunol Immunopathol.* 1996 Dec;55(1-3):23-31

LeCouteur R:

Tumors of the nervous system, in Withrow SJ, McEwen EG (eds): *Small Animal Oncology*, ed 3. Philadelphia, WB Saunders, 2001, pp 500-531

Lee YM, Jeong CH, Koo SY, Son MJ, Song HS, Bae SK, Raleigh, JA, Chung HY, Yoo:

Determination of hypoxic region by hypoxia marker in developing mouse embryos in vivo: A possible signal for vessel development. *Dev. Dyn.* 220: 175-186, 2001

Legendre AM, Whitenack DL:

Feline infectious peritonitis with spinal cord involvement in two cats. *J Am Vet Med Assoc* 1975; 167:31-32

Liebner S, Fischmann A, Rascher G, Duffner F, Grote EH, Kalbacher H, Wolburg H: Claudin-1 and claudin-5 expression and tight junction morphology are altered in blood vessels of human glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol (Berl)* 100 (3): 323-31, 2000

Lippincott SW, Korman S, Lax LC, Corcoran C:

Transfer rates of gamma globulin between cerebrospinal fluid and blood plasma. (Results obtained on a series of multiple sclerosis patients.) *J Nucl Med* 1965; 6: 632-44

- Lima VM, Goncalves ME, Ikeda FA, Luvizotto MC, Feitosa MM:
Anti-leishmania antibodies in cerebrospinal fluid from dogs with visceral leishmaniasis. *Braz J Med Biol Res.* 2003 Apr;36(4):485-9. Epub 2003 Apr 8
- Lin DS, Bowman DD, Jacobson RH:
Antibody responses to *Toxoplasma gondii* antigens in aqueous and cerebrospinal fluids of cats infected with *T. gondii* and FIV. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 1992 Oct;15(4):293-9.
- Link H:
Immunoglobulin G and low molecular weight protein in human cerebrospinal fluid. Chemical and immunological characterisation with special reference to multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1967; 43 (Suppl. 28)
- Löscher W, Potschka H:
Blood-Brain Barrier Active Efflux Transporters: ATP-Binding Cassette Gene Family. *NeuroRx.* 2005 Jan;2(1):86-98
- Löscher W, Schwartz-Porsche D:
Low levels of gamma-aminobutyric acid in cerebrospinal fluid of dogs with epilepsy. *J Neurochem.* 1986 Apr;46(4):1322-5
- Lorenz RJ, Vollmar J:
Grundbegriffe der Biometrie, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag 1992
- Luginbuhl H, Fankhauser R, McGrath J:
Spontaneous neoplasms of the nervous system in animals In: Krayenbuhl H, Maspes P and Sweet W, eds. *Progress in neurological surgery.* Basel: Karger, 1968;85-164
- Marioni-Henry K, Vite CH, Newton AL:
Prevalence of diseases of the feline spinal cord. *J Vet Intern Med* 2004; 18:851-858
- Mayhew IG, Beal CR:
Techniques of analysis of cerebrospinal fluid. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1980 Feb;10(1):155-76
- Meinck HM, Ricker K, Hülser PJ, Schmid E, Peiffer J, Solimena M:
Stiff man syndrome: clinical and laboratory findings in eight patients. *J Neurol* 1994; 241:157-66

McConnell H, Bianchine J:

Cerebrospinal fluid dynamics. In Cerebrospinal Fluid in Neurology and Psychiatry. Chapman & Hall Medical, London 1994 a: 5-33

McConnell H, Bianchine J:

Composition of CSF. In Cerebrospinal Fluid in Neurology and Psychiatry. Chapman & Hall Medical, London 1994 b: 43-109

McGrath J:

Morphology and classification of brain tumors in domestic animals. In: Proceedings of Brain tumors in man and animals 1984

McReynolds C, Macy D:

Feline infectious peritonitis. Part I. Etiology and diagnosis. Comp Cont Educ Pract 1997; 19(9): 1007-1014

McReynolds C, Macy D:

Feline infectious peritonitis. Part II. Treatment and prevention. Comp Cont Educ Pract 1997; 19 (10): 1111-1116

Miller MM, Sweeney CR, Russell GE, Sheetz RM, Morrow JK:

Effects of blood contamination of cerebrospinal fluid on western blot analysis for detection of antibodies against *Sarcocystis neurona* and on albumin quotient and immunoglobulin G index in horses. J Am Vet Med Assoc 1999; 215: 67-71

Mitic LL, Anderson JM:

Molecular architecture of tight junctions. Annu Rev Physiol 60: 121-42, 1998

Munana KR, Lappin MR, Powell CC, Cooper CM, Chavkin MJ:

Sequential measurement of *Toxoplasma gondii*-specific antibodies in the cerebrospinal fluid of cats with experimentally induced toxoplasmosis. Progr Vet Neurol 1995; 6(1): 27-31

Morita K, Sasaki H, Furuse M, Tsukita S:

Endothelial claudin: claudin-5/TMVCF constitutes tight junction strands in endothelial cells. J Cell Biol 147 (1): 185-94, 1999

Nicholson C:

Signals that go with the flow. Trends Neurosci 1999; 22:143-45

Noonan M, Kline KL, Meleo K:

Lymphoma of the Central Nervous System: A Retrospective Study of 18 Cats. The Compendium 10: 497-503, 1997

Olby NJ, Sharp NJ, Munana KR, et al.:

Chronic and acute compressive spinal cord lesions in dogs due to intervertebral disc herniation are associated with elevation in lumbar cerebrospinal fluid glutamate concentration. *J Neurotrauma* 1999; 16:1215-1224.

Oliver JE, Lorenz MD, Kornegay JN:

Handbook of veterinary neurology, 3rd ed. WB Saunders Co, Philadelphia 1997: 93

Otto M, Stein H, Szudra A, Zerr I, Bodemer M, Gefeller O, Poser S, Kretzschmar HA, Mader M, Weber T:

S-100 protein concentration in the cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol.* 1997 Sep;244(9):566-70

Paltrinieri S, Cammarata MP, Cammarata G, Comazzi S:

Some aspects of humoral and cellular immunity in naturally occurring feline infectious peritonitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 1998 Oct 23;65(2-4):205-20

Papaiconomou C, Zakharov A, Azizi N, Djenic J, Johnston M:

Reassessment of the pathways responsible for cerebrospinal fluid absorption in the neonate. *Childs Nerv Syst.* 2004 Jan;20(1):29-36. Epub 2003 Nov 6

Pardo FS, Hsu DW, Zeheb R, Efir JT, Okunieff PG, Malkin DM:

Mutant, wild type, or overall p53 expression: freedom from clinical progression in tumours of astrocytic lineage. *Br J Cancer.* 2004 Nov 1;91(9):1678-86

Pardridge WM:

Blood-brain transport of nutrients. Introduction. *Fed Proc* 1986; 45: 2047-9

Pardridge WM:

Blood-brain barrier biology and methodology. *J Neurovirol.* 1999 Dec;5(6):556-69

Phillips TR, Prospero-Garcia O, Puaoli DL, Lerner DL, Fox HS, Olmsted RA, Bloom FE:

Neurological abnormalities associated with feline immunodeficiency virus infection. *J Gen Virol.* 1994 May;75 (Pt 5):979-87

Podell M, Hayes K, Oglesbee M, Mathes L:

Progressive encephalopathy associated with CD4/CD8 inversion in adult FIV-infected cats. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1997a Aug 15;15 (5):332-40

Podell M, Hadjiconstantinou M:

Cerebrospinal fluid gamma-aminobutyric acid and glutamate values in dogs with epilepsy. *Am J Vet Res.* 1997b May;58 (5):451-6

Quentin CD, Reiber H:

Analysis of aqueous humor in intraocular toxoplasmosis. *Ophthalmologe.* 1997 Oct;94(10):728-31

Quentin CD, Reiber H:

Fuchs heterochromic cyclitis: rubella virus antibodies and genome in aqueous humor. *Am J Ophthalmol.* 2004 Jul;138(1):46-54

Quesnel AD, Parent JM, McDonell W:

Clinical management and outcome of cats with seizure disorders: 30 cases (1991-1993). *J Am Vet Med Assoc.* 1997 Jan 1;210(1):72-7

Rand JS, Parent J, Jacobs R, Johnson R:

Reference Intervals for feline cerebrospinal fluid: biochemical and serologic variables, Ig G concentration, and electrophoretic fractionation. *Am J Vet Res* 1990; 51 (7): 1049-54

Rand JS, Parent J, Jacobs R, Percy D:

Reference intervals for feline cerebrospinal fluid: cell counts and cytologic features. *Am J Vet Res* 1990; 51 (7): 1044-1048

Rand JS, Parent J, Jacobs R:

Clinical, cerebrospinal fluid, and histological data from thirty-four cats with primary noninflammatory disease of the central nervous system. *Can Vet J* 1994; 35 (3): 174-181

Rand JS, Parent J, Jacobs R, Johnson R:

Clinical, cerebrospinal fluid, and histological data from twenty-seven cats with primary inflammatory disease of the central nervous system; *Can Vet J* Vol 35 (3): 103-110

- Rascher G, Fischmann A, Kröger S, Duffner F, Grote EH, Wolburg H:
Extracellular matrix and the blood-brain barrier in glioblastoma multiforme:
spatial segregation of tenascin and agrin. *Acta Neuropathol.* 104, 85-91,
2002
- Rascher G, Wolburg H:
The tight junction of the leptomeningial blood-cerebrospinal fluid during
development. *J Brain Res.*, 38:525-540, 1997
- Rebel K:
Quantitative Proteinbestimmung im Liquor des Hundes. Dissertation med
vet, 1999
- Reese TS, Karnovsky MJ:
Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous
peroxidase. *J. Cell Biol.* 34: 207-217; 1967
- Reiber H:
Eine schnelle und einfache nephelometrische Bestimmungsmethode für
Protein im Liquor cerebrospinalis. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980;
18:123.127
- Reiber H:
Liquordiagnostik. *Diag u Lab* 1987; 37: 63-72
- Reiber H:
Aktuelle Methoden der Liquoranalytik. *Lab Med* 1988; 12: 101-9
- Reiber H:
Liquorproteindiagnostik. In Thomas L et al.: *Proteindiagnostik, Diagnose und
Therapiekontrolle.* Hrsg. Behringwerke AG, Frankfurt 1991: 142-5
- Reiber H:
External quality assessment in clinical neurochemistry: survey of analysis
for cerebrospinal fluid (CSF) proteins based on CSF/ serum quotients.
Clin Chem 1995 b; 41: 256-63
- Reiber H:
Cerebrospinal fluid - physiology, analysis and interpretation of protein
patterns for diagnosis of neurological diseases. *Mult Scler* 1998; 4: 99-107

Reiber H:

Proteins in cerebrospinal fluid and blood: barriers, CSF flow rate and source-related dynamics. *Restor Neurol Neurosci.* 2003;21(3-4):79-96

Reiber H, Davey B:

Desert Storm syndrome and immunization. *Arch Intern Med.* 1996 Jan 22;156(2):217

Reiber H, Felgenhauer K:

Protein transfer at the blood-cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. *Clin Chim Acta* 1987; 163: 319-28

Reiber H, Peter JB:

Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci.* 2001 Mar 1;184(2):101-22

Reiber H, Wick M:

Ausgewählte Methoden der Liquordiagnostik und Klinischen Neurochemie. Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie, e.V., 2004

Reisner IR, Mann JJ, Stanley M, et al.:

Comparison of Cerebrospinal-Fluid Monoamine Metabolite Levels in Dominant-Aggressive and Nonaggressive Dogs. *Brain Res* 1996; 714:57-64

Reynolds C., Macy D:

Feline infectious peritonitis. Part I. Etiology and diagnosis. *Compend Contin Educ Pract Vet*, 1997, 19 s 1007-1016

Roulet A, Puel O, Gesta S, Lepage J, Drag M, Soll M, Alvinerie M, Pineau T:

MDR 1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *European Journal of Pharmacology* 460 (2003) 85-91

Roumen B, Paula DD :

Role of the CNS microvascular pericyte in the blood-brain barrier
J. Neurosci. Res. 53:637-644, 1998

Rosin A:

Neurologic disease associated with lymphosarcoma in ten dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 181:50-53

Rostasy K, Reiber H, Pohl D, Lange P, Ohlenbusch A, Eiffert H, Maass M, Hanefeld F; Rubin LL, Staddon JM:

Chlamydia pneumoniae in children with MS: frequency and quantity of intrathecal antibodies. *Neurology*. 2003 Jul 8;61(1):125-8. The cell biology of the blood-brain barrier. *Annu Rev Neurosci* 22: 11-28, 1999

Salvadori C, Cantile C, Arispici M:

Meningeal carcinomatosis in two cats. *J Comp Pathol*. 2004 Aug-Oct;131 (2-3):246-51

Sant'Ana FJ, Serakides R, Graca DL:

Pilocytic astrocytoma in a cat. *Vet Pathol*. 2002 Nov;39(6):759-61

Sato T, Nakamura A, Shibuya H, Shirai W, Koie H:

Cerebral high-grade astrocytoma (glioblastoma) in a cat.

J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med. 2003 Jun;50(5):269-71

Sauer UG, Hirschberger J:

Cellulose- Acetatfolien- Elektrophorese, radiale Immundiffusion und Nephelometrie. Methodenvergleich im Rahmen der Albuminbestimmung *Tierärztl. Praxis* 1992; 20: 110-3

Scheld WM:

Drug delivery to the central nervous system: General principles and relevance to therapy for infections of the central nervous system. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (Suppl 7): 1669-90

Scherrmann JM:

Drug delivery to brain via the blood-brain barrier. *Vascul Pharmacol* 38 (6): 349-54, 2002

Schindler T:

Der differenzialdiagnostische Nutzen des IgG-Index und des Albuminquotienten bei neurologisch erkrankten Hunden. *Dissertation med vet*; 2000

Schinkel AH, Wagenaar E, Mol CA, van Deemter L:

P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. *J Clin Invest* 97 (11): 2517-24, 1996

Schliep G, Felgenhauer K:

Serum-CSF protein gradients, the blood-CSF barrier and the local immune response. *J Neurol* 1978; 218: 77-96

Schlote D:

Liquorproteinuntersuchungen an neurologisch gesunden und zentralnervös erkrankten Rindern. *Diss med vet Hannover* 1988

Seyfert S, Faulstich A:

Is the blood-CSF barrier altered in disease? *Acta Neurol Scand.* 2003 Oct;108(4):252-6

Silverman, JA:

Multi-drug resistance transporters. *Pharm. Biotechnol.* 12:353-386, 1999

Simpson JA, Fitch W:

Cerebrospinal fluid: formation, composition and pressures. In *Applied Neurophysiology*. Butterworth, Cambridge 1988: 316-21

Singh M, Foster DJ, Child G, Lamb WA:

Inflammatory cerebrospinal fluid analysis in cats: clinical diagnosis and outcome. *J Feline Med Surg.* 2005 Apr;7(2):77-93

Slauson DO, Finn JP:

Meningoencephalitis and panophthalmitis in feline infectious peritonitis. *J Am Vet Med Assoc* 1972

Smith MO, Lackner AA:

Effects of sex, age, puncture site and blood contamination on the clinical chemistry of cerebrospinal fluid in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Am J Vet Res* 1993; 54: 1845-50

Song HS, Son MJ, Lee YM, Kim WJ, Lee SW, Kim CW, Kim KW:

Oxygen tension regulates the maturation of the blood-brain barrier. *Biochem Biophys Res Commun* 290 (1): 325-31, 2002

Sorjonen DC, Cox NR, Swango LJ:

Electrophoretic determination of albumin and gamma globulin concentrations in the cerebrospinal fluid of dogs with encephalomyelitis attributable to canine distemper virus infection: 13 cases (1980-1987). *JAVMA* 1989; 195: 977-80

- Sparkes AH, Gruffydd-Jones TJ, Harbour DA:
Feline infectious peritonitis: a review of clinicopathological changes in 65 cases, and a critical assessment of their diagnostic value. *Vet Rec.* 1991 Sep 7;129(10):209-12
- Spranger M, Schwab S, Krempien S, Winterholler M, Steiner T, Hacke W:
Excess glutamate levels in the cerebrospinal fluid predict clinical outcome of bacterial meningitis. *Arch Neurol.* 1996 Oct;53(10):992-6
- Spodnick GJ, Berg J, Moore FM:
Spinal lymphoma in cats: 21 cases (1976-1989). *J Am Vet Med Assoc* 1992; 200:373-376
- Statz A, Felgenhauer K:
Development of the blood-CSF barrier. *Develop Med Child Neurol* 1983; 25: 152
- Steele KE, Saunders GK, Coleman GD:
T-cell-rich B-cell lymphoma in a cat. *Vet Pathol* 34:47-49, 1997
- Steinberg SA, Vandeveld M:
A comparative study of two methods of cytological evaluation of spinal fluid in domestic animals. *Folia Vet Lat.* 1974 Apr-Jun;4(2):235-50
- Stigen O, Ytrehus B, Eggertsdottir AV:
Spinal cord astrocytoma in a cat. *J Small Anim Pract.* 2001 Jun;42(6):306-10
- Stocker H, Sicher D, Rüschi P, Lutz H:
Referenzwerte im Liquor cerebrospinalis bei Kälbern im Alter von vier bis acht Wochen. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, Seite 283-288, Band 144, 2002, Heft 6
- Strazielle N, Ghersi-Egea JF:
Choroid Plexus in the Central Nervous System: Biology and Physiopathology. *J Neuropath and Exp Neurology* 2000, Vol. 59, No. 7: 561-574
- Strazielle N, Ghersi-Egea JF:
Implication of blood-brain interfaces in cerebral drug metabolism and drug metabolite disposition, in: Williams, GM, Aruoma OI (Eds.), *Molecular Drug Metabolism and Toxicology*, OICA International, London, pp. 181-200, 2000

Suckling AJ, Reiber H, Kirby JA, Rumsby MG:

Blood-cerebrospinal fluid barrier permeability changes in guinea pigs inoculated for chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis or with adjuvant alone. *Prog Clin Biol Res* 1984; 146: 75-80

Summers BA, Cummings JE de Lahunta A:

Veterinary Neuropathology. Mosby, S. Louis, MO, 1995

Summers BA, Whitaker JN, Appel MJ.

Demyelinating canine distemper encephalomyelitis: measurement of myelin basic protein in cerebrospinal fluid. *J Neuroimmunol.* 1987 Mar;14(2):227-33

Suzuki H, Terasaki T, Sugiyama Y:

Role of efflux transport across the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier on the disposition of xenobiotics in the central nervous system. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 25:257-285, 1997

Syring RS:

Assessment and Treatment of Central Nervous System Abnormalities in the Emergency Patient. , *Vet Clin Small Anim* 35 (2005), 343-358

Tamke PG, Peterson MG, Dietze AE:

Acquired hydrocephalus and hydromelia in a cat with feline infectious peritonitis: a case report and brief review. *Can Vet J* 1988; 29:997-1000

Tammer R, Evensen O, Lutz H, Reinacher M:

Immunohistological demonstration of feline infectious peritonitis virus antigen in paraffin-embedded tissues using feline ascites or murine monoclonal antibodies. *Vet Immunol Immunopathol.* 1995 Nov;49(1-2):177-82

Terryberry J, Sutjita M, Shoenfeld Y, Gilburd B, Tanne D, Lorber M, Alosachie I, Barka N, Lin HC, Youinou P, et al:

Myelin- and microbe-specific antibodies in Guillain-Barre syndrome. *J Clin Lab Anal.* 1995;9(5):308-19

Thompson EJ:

The CSF proteins: a biochemical approach. Amsterdam: Elsevier; 1988

Thompson SJ, Koszdin K, Bernards CM:

Opiate-induced analgesia is increased and prolonged in mice lacking P-glycoprotein. *Anesthesiology* 92 (5): 1392-9, 2000

Tibbling G, Link H, Öhman S:

Principles of albumin and IgG analysis in neurological disorders. I. Establishment of reference values. Scand J Clin Lab Invest 1977; 37: 385-390

Tipold A:

Entzündungen im Zentralnervensystem. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1997

Tipold A, Pfister H, Vandeveld M:

Determination of the IgG index for the detection of intrathecal immunoglobulin synthesis in dogs using an ELISA. Res Vet Sci 1993; 54: 40-4

Tipold A, Pfister H, Zurbriggen A, Vandeveld M:

Intrathecal synthesis of major immunoglobulin classes in inflammatory diseases of the canine CNS. Vet Immunol Immunopathol 1994; 42: 149-59

Tourtellotte WW:

What is multiple sclerosis? Laboratory criteria for diagnosis. In Davidson AN, Humphrey JH, Liversedge AL: Multiple Sclerosis Research. Elsevier, New York 1975: 9-26

Trepel M:

Liquor, Ventrikelsystem und Hirnhäute. In Neuroanatomie: Struktur und Funktion. Urban und Schwarzenberg 1995: 223-9

Troxel MT, Vite CH, Massicotte C, McLear RC, Van Winkle TJ, Glass EN, Tiches D, Dayrell-Hart B:

Magnetic resonance imaging features of feline intracranial neoplasia: retrospective analysis of 46 cats. J Vet Intern Med. 2004 Mar-Apr;18(2):176-89

Troxel MT, Vite CH, Van Winkle TJ, Newton AL, Tiches D, Dayrell-Hart B, Kapatkin AS, Shofer FS, Steinberg SA:

Feline intracranial neoplasia: retrospective review of 160 cases (1985-2001).

J Vet Intern Med. 2003 Nov-Dec;17(6):850-9

Truyen U, Stockhofe-Zurwieden N, Kaaden OR, Pohlenz J.

A case report: encephalitis in lions. Pathological and virological findings. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 1990 Feb;97(2):89-91

- Tsuji A, Tamai I:
Organic anion transporters. *Pharm Biotechnol* 12: 471-91, 1999
- Vandeveld M, Johann Lang A, Fankhauser R:
Veterinärmedizinische Neurologie, Verlag Paul Parey, Berlin 2000
- Vandeveld M, Fankhauser R:
Einführung in die veterinärmedizinische Neurologie, Verlag Paul Parey,
Berlin 1987: 66
- Vandeveld M, Zurbriggen A, Steck A, Bichsel P:
Studies on the intrathecal humoral immune response in canine distemper
encephalitis. *J Neuroimmunol* 1986; 11: 41-51
- Vitaliani R, Mason W, Ances B, Zwerdling T, Jiang Z, Dalmau J:
Paraneoplastic encephalitis, psychiatric symptoms, and hypoventilation in
ovarian teratoma. *Ann Neurol.* 2005 Oct;58(4):594-604
- Waters DJ, Hayden DW:
Intramedullary spinal cord metastasis in the dog. *J Vet Intern Med* 1990;
4:207-215
- Webb AA, Muir GD:
The blood-brain barrier and its role in inflammation. *J Vet Intern Med* 14 (4):
399-411, 2000
- Weller M, Stevens A, Sommer N, Schabet M, Wietholter H:
Humoral CSF parameters in the differential diagnosis of hematologic CNS
neoplasia. *Acta Neurol Scand.* 1992 Aug;86(2):129-33
- Whitley RJ, Kimberlin DW:
Herpes simplex-encephalitis children and adolescents. *Semin Pediatr Infect
Dis.* 2005 Jan;16(1):17-23
- Wolburg H, Lippoldt A:
Tight junctions of the blood-brain barrier: Development, composition and
regulation. *Vascul Pharmacol* 38 (6): 323-37, 2002
- Wolfe L, Griesemer R:
Feline infectious peritonitis: review of gross and histopathologic lesions. *J
Am Vet Med Assoc* 1971; 158:987-993
- Yanai T, Tujioka S, Sakai H, Fukushi H, Hirai K, Masegi T.:
Experimental infection with equine herpesvirus 9 (EHV-9) in cats. *J Comp
Pathol.* 2003 Feb-Apr;128(2-3):113-8

Zakharov A, Papaiconomou C, Johnston M:

Lymphatic vessels gain access to cerebrospinal fluid through unique association with olfactory nerves. *Lymphat Res Biol.* 2004;2(3):139-46

Zaki FA, Hurvitz AI:

Spontaneous neoplasms of the central nervous system of the cat. *J Small Anim Pract* 1976; 17:773-782

Zerr I, Bodemer M, Racker S, Grosche S, Poser S, Kretzschmar HA, Weber T:

Cerebrospinal fluid concentration of neuron-specific enolase in diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet.* 1995 Jun 24;345(8965):1609-10

Zheng W, Aschner M, Ghersi-Egea JF:

Brain barrier systems: a new frontier in metal neurotoxicological research. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2003 Oct 1;192(1):1-11

Zhong Y, Enomoto K, Isomura H, Sawada N, Minase T, Oyamada M, Konishi Y:

Localization of the 7H6 antigen at tight junctions correlates with the paracellular barrier function of MDCK cells. *Exp Cell Res* 214 (2): 614-20, 1994

Zhu JJ, Padillo O, Duff J, Hsi BL, Fletcher JA, Querfurth H:

Cavernous sinus and leptomeningeal metastases arising from a squamous cell carcinoma of the face: case report. *Neurosurgery.* 2004 Feb;54(2):492-8; discussion 498-9

9 LEBENSLAUF

Geburtstag: 08.02.1971
 Geburtsort: Bochum
 Staatsangehörigkeit: Deutschland
 Familienstand: ledig

Eltern: Vater: Dieter Steinberg, Diplom-Ingenieur
 Mutter: Christin Steinberg, geb. Risse

Schulbesuch: 1977 – 1981 Grundschule Denzlingen
 1981 – 1990 Gymnasium Denzlingen
 1990 Abitur

Ausbildung: 1991 – 1993 Ausbildung zur Veterinärmedizinischen-
 Assistentin am Tierhygienischen Institut, Freiburg i. Br.

Studium: 1995 – 2000 Studium der Veterinärmedizin an der
 Ludwig-Maximilian-Universität München

Approbation: 15.11.2000

Berufstätigkeit: 1993 – 1995 Medizinisch Technische Assistentin am
 Institut für Humanpathologie, Dr Rau, Merzhausen
 2001 Beginn des Promotionsstudiums an der Ludwig-
 Maximilians-Universität München
 2002 – 2004 Wissenschaftliche Mitarbeiterin Ludwig-
 Maximilians-Universität München
 2004 Beginn der Ausbildung zum Diplomate des
 European College of Veterinary Neurology (ECVN)
 unter Anleitung von PD Dr. med. vet. A. Fischer an der
 Ludwig-Maximilians-Universität, München

10 DANKSAGUNG

Ich möchte meiner Doktormutter PD Dr. Andrea Fischer für die Überlassung des Themas und ihre Betreuung herzlich danken. Ohne ihre Hilfe wäre die Fertigstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Kraft und Fr. Prof. Dr. Hartmann für die Finanzierung der Arbeit.

Meinen Eltern, meiner Schwester Claudia und meiner Nichte Lena danke ich für die jahrelange finanzielle Unterstützung und den Glauben an mich.

Mein besonderer Dank gilt meinem Stiefvater Herbert Liedtke, dessen einzigartige geistige Schärfe im hohen Alter mich immer wieder tief beeindruckt hat und mich moralisch in der Fertigstellung dieser Doktorarbeit sehr unterstützt hat.

Auch bei den Mitarbeitern der Medizinischen Kleintierklinik möchte ich für die besondere Zusammenarbeit bedanken. Speziell meiner ehemaligen „Mitreiterin“ Irene Boettcher danke ich für die aufmunternden Worte. Bianka Schulz danke ich für den immerwährenden Optimismus. Ulrike Müller für ihre freundliche und sehr fachliche Unterstützung bei der Formatierung.

Dem Team der Neurologie Simone Schriefl, Susanne Walter und vor allem Karina „Cameron“ Heck danke ich für die tolle Zusammenarbeit! (Humor ist wenn man trotzdem lacht...!).

Vor allem in der Endphase wäre ohne Britta Schnabel und den Studenten der Neurologie Rotation, insbesondere Angie Hagn die Fertigstellung der Doktorarbeit nicht möglich gewesen.

Meinen Freunden, vor allem Natalie Häussler und Christiane Kafarnik danke ich für die fortwährende Motivation, Unterstützung und Begleitung durch sämtliche Höhen und Tiefen des Lebens. Danke, Mädels!

Bei den Mitarbeitern des Instituts für Pathologie bedanke ich mich für die pathologische Untersuchung; insbesondere ohne die herausragende fachliche Kompetenz von Dr. Kaspar Matiasek und Dr. Birgit Stiersdorfer wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Das obere Labor verdient besonderen Dank für die Mühen und Umstände die ich durch die Lagerung meiner zahlreichen Proben und Messungen gemacht habe.

David Rummel und Anne Kunz aus dem Institut für Statistik gebührt besonderer Dank für die Betreuung der statistischen Auswertung.

Ganz besonderen Dank auch an Kathrin Hirschvogel, die mir die Geheimnisse der Nephelometrie nähergebracht hat!