

**Untersuchungen zur differenzialdiagnostischen Bedeutung
des IgG-Index und Albuminquotienten
bei neurologisch erkrankten Hunden**

Thomas Schindler

Aus der Medizinischen Tierklinik
Lehrstuhl für Innere Krankheiten, Dermatologie und Neurologie der kleinen Haustiere
sowie für klinische Labordiagnostik
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Katrin Hartmann

**Untersuchungen zur differenzialdiagnostischen Bedeutung
des IgG-Index und Albuminquotienten bei neurologisch erkrankten Hunden**

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

von
Thomas Schindler
aus Mannheim

München 2003

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. R. Stolla

1. Referentin: Priv.-Doz. Dr. A. Fischer

2. Referent: Prof. Dr. W. Rambeck

1. Korreferent: Univ.-Prof. Dr. W. Schmahl

2. Korreferent: Univ.-Prof. Dr. U. Matis

3. Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. F. Sinowatz

Tag der Promotion: 18. Juli 2003

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|------------|---|-----------|
| I. | EINLEITUNG | 1 |
| II. | LITERATUR | 3 |
| 1 | LIQUOR CEREBROSPINALIS | 3 |
| 1.1 | Physiologie des Liquors | 3 |
| 1.1.1 | Produktion des Liquors | 3 |
| 1.1.2 | Zirkulation des Liquors | 4 |
| 1.1.3 | Absorption des Liquors | 4 |
| 1.2 | Funktion des Liquors | 5 |
| 1.3 | Zusammensetzung des Liquors | 7 |
| 2 | BLUT-HIRN-SCHRANKE | 8 |
| 3 | LIQUORDIAGNOSTIK | 10 |
| 3.1 | Morphologische Untersuchungen | 10 |
| 3.2 | Klinisch-chemische Untersuchungen | 11 |
| 3.3 | Mikrobiologisch-serologische Untersuchungen | 13 |
| 4 | GESAMTPROTEINBESTIMMUNG IM LIQUOR CEREBROSPINALIS DES HUNDES | 14 |
| 5 | DIFFERENZIERTE PROTEINBESTIMMUNG IM LIQUOR CEREBROSPINALIS — LIQUORPROTEINPROFIL | 17 |
| 5.1 | Albumingehalt im Liquor | 17 |
| 5.2 | Albuminquotient und Blut-Hirn-Schrankenstörung | 18 |
| 5.3 | Immunglobulingehalt im Liquor und intrathekale Immunglobulinproduktion | 22 |

| | | |
|-------------|--|-----------|
| 6 | KLINISCHE BEDEUTUNG DES LIQUORPROTEINPROFILS IN DER HUMANMEDIZIN | 25 |
| 6.1 | Blut-Hirn-Schrankenfunktion | 25 |
| 6.2 | Intrathekale IgG-Produktion | 27 |
| 7 | KLINISCHE BEDEUTUNG DES LIQUORPROTEINPROFILS IN DER TIERMEDIZIN, INSBESONDERE BEIM HUND | 30 |
| 7.1 | Blut-Hirn-Schrankenfunktion | 30 |
| 7.2 | Intrathekale IgG-Produktion | 31 |
| III. | EIGENE UNTERSUCHUNGEN | 34 |
| 1 | MATERIAL UND METHODIK | 34 |
| 1.1 | Material | 34 |
| 1.1.1 | Einteilung nach Krankheitsgruppen | 35 |
| 1.1.2 | Probengewinnung | 37 |
| 1.1.2.1 | Liquor | 37 |
| 1.1.2.2 | Serum | 38 |
| 1.1.3 | Probenlagerung | 38 |
| 1.1.4 | Geräte und Lösungen | 38 |
| 1.1.4.1 | Nephelometrie | 38 |
| 1.2 | Methodik | 39 |
| 1.2.1 | Nephelometrie | 39 |
| 1.2.1.1 | Vorbereitung von Proben, Standards, Kontrollen und Präzipitationsmitteln | 39 |
| 1.2.1.2 | Kalibration | 40 |
| 1.2.1.2.1 | Gesamtprotein | 40 |
| 1.2.1.2.2 | Albumin | 41 |
| 1.2.1.2.3 | IgG | 42 |
| 1.2.1.3 | Kontrollmessungen | 42 |
| 1.2.1.3.1 | Wiederfindung | 42 |
| 1.2.1.3.2 | Präzisionskontrollen in Serie | 43 |
| 1.2.1.3.3 | Präzisionskontrollen von Tag zu Tag | 43 |
| 1.2.1.3.4 | Richtigkeitskontrollen | 43 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1.2.1.4 | Messung der Liquor- und Serumproben | 44 |
| 1.2.2 | Auswertung der Messergebnisse | 45 |
| 1.2.2.1 | Gesamtprotein | 45 |
| 1.2.2.2 | Liquoralbumin | 45 |
| 1.2.2.3 | Liquor-IgG | 46 |
| 1.2.2.4 | IgG-Quotient | 46 |
| 1.2.2.5 | Albuminquotient | 46 |
| 1.2.2.6 | IgG-Index | 46 |
| 1.2.3 | Statistische Auswertung | 46 |
| 2 | ERGEBNISSE | 48 |
| 2.1 | Kontrollmessungen | 48 |
| 2.1.1 | Wiederfindung | 48 |
| 2.1.2 | Präzisionskontrollen in Serie | 50 |
| 2.1.3 | Präzisionskontrollen von Tag zu Tag | 51 |
| 2.1.4 | Richtigkeitskontrollen | 53 |
| 2.2 | Messung der Liquor-Serum-Paare | 53 |
| 2.2.1 | Gesamtproteingehalt des Liquors | 54 |
| 2.2.2 | Albumingehalt des Liquors | 56 |
| 2.2.3 | Albuminquotient | 58 |
| 2.2.4 | IgG-Gehalt des Liquors | 60 |
| 2.2.5 | IgG-Index | 62 |
| 2.3 | Korrelieren Gesamtproteingehalt und Liquorproteinprofil? | 64 |
| 2.3.1 | Gesamtproteingehalt erhöht | 64 |
| 2.3.2 | Gesamtproteingehalt nicht erhöht | 66 |
| 2.4 | Einteilung nach Befunden | 68 |
| 2.4.1 | Unverändertes Liquorproteinprofil | 68 |
| 2.4.2 | Isolierte Blut-Hirn-Schrankenstörung | 69 |
| 2.4.3 | Intrathekale IgG-Produktion | 70 |
| 2.4.3.1 | Intrathekale IgG-Produktion mit Blut-Hirn-Schrankenstörung | 71 |
| 2.4.3.2 | Intrathekale IgG-Produktion ohne Blut-Hirn-Schrankenstörung | 72 |
| 2.4.4 | Übersichtstabelle zu 2.4.1 bis 2.4.3.2 | 73 |

IV

IV. DISKUSSION 74

V. ZUSAMMENFASSUNG 94
SUMMARY 96

VI. LITERATURVERZEICHNIS 98

DANKSAGUNG 120

LEBENS LAUF 121

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|----------|---|
| AQ | Albuminquotient |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| CEA | karzinoembryonales Antigen |
| CSF | Zerebrospinalflüssigkeit |
| EAE | experimentelle allergische Enzephalitis |
| ELISA | enzyme-linked immuno sorbent assay |
| Entz. | Entzündung |
| FSME | Frühsommermeningoenzephalitis |
| GME | granulomatöse Meningoenzephalitis |
| HIV | humanes Immundefizienzvirus |
| Id. Ep. | Idiopathische Epilepsie |
| IgA | Immunglobulin A |
| IgG | Immunglobulin G |
| IgG-Ind. | IgG-Index |
| IgM | Immunglobulin M |
| LEM | Leukenzephalomyelopathie |
| MS | Multiple Sklerose |
| o. b. B. | ohne besonderen Befund |
| orth. K. | orthopädische Krankheit |
| PEM | Polioenzephalomyelopathie |
| RIA | Radioimmunassay |
| SRM | steroidresponsive Meningitis |
| SRMA | steroidresponsive Meningitis-Arteriitis |
| SSPE | subakute sklerosierende Panenzephalitis |
| Tbc | Tuberkulose |
| TCA | Trichloressigsäure |
| ZNS | Zentralnervensystem |

I. EINLEITUNG

Der Liquor cerebrospinalis ist eine klare, zell- und metabolitenarme Flüssigkeit. Pathologische Veränderungen im Zentralnervensystem ziehen jedoch sehr häufig Änderungen in der Zusammensetzung des Liquors, vor allem in Zell- und Proteingehalt, nach sich. Deshalb kommt der Analyse des Liquors für die klinische Neurologie größte Bedeutung zu. Schon die konventionelle Liquordiagnostik, bestehend aus Zellzählung, Zelldifferenzierung und quantitativer Gesamtproteinbestimmung, hilft in vielen Fällen bei der Differenzialdiagnose. Eine Proteinerhöhung ist aber relativ unspezifisch. Ihr kann einerseits eine Blut-Hirn-Schrankenstörung und daraus resultierende Albuminerhöhung zugrunde liegen, wie sie häufig bei primären Hirntumoren gesehen wird. Sie kann aber auch durch eine intrathekale IgG-Produktion bedingt sein, die vor allem in Verbindung mit Entzündungen im Zentralnervensystem auftritt. Auch Kombinationen aus beiden Befunden sind möglich.

Die Multiple-Sklerose(MS)-Forschung war und ist der entscheidende Schrittmacher für die differenzierte Proteinbestimmung im Liquor beim Menschen. In der MS-Diagnostik gehören die Messung des Albumin- und IgG-Gehalts in Liquor und Serum, aber auch der qualitative Nachweis oligoklonaler Immunglobulinbanden im Liquor neben der konventionellen Liquordiagnostik längst zum Standard. Der Albuminquotient - definiert als Quotient aus Liquoralbumingehalt und Serumalbumingehalt - ist dabei Methode der Wahl, um die Blut-Hirn-Schranke zu beurteilen. Für den quantitativen Nachweis intrathekal gebildeten IgGs stehen zahlreiche meist auf der Basis empirischer Daten entwickelte mathematische Modelle quasi gleichwertig zur Verfügung.

Der Nachweis einer intrathekalen IgG-Produktion und die Beurteilung der Blut-Hirn-Schranke halten nach und nach auch Einzug in die Liquordiagnostik in der Tiermedizin. Dort wird als mathematisches Modell zum quantitativen Nachweis intrathekal gebildeten IgGs nur der IgG-Index nach Link und Tibbling (Tibbling et al., 1977) verwendet, als Maß der Blut-Hirn-Schrankenfunktion entweder der Albuminquotient oder auch nur der absolute Albumingehalt des Liquors.

Die Routine-Liquordiagnostik beim Hund beschränkt sich zumeist noch auf die konventionelle Liquordiagnostik - Zellzählung, Zelldifferenzierung und semiquantitative oder zum Teil quantitative Gesamtproteinbestimmung. Es gibt aber Arbeiten, die die intrathekale IgG-Produktion und die Blut-Hirn-Schranke bei verschiedenen oder bestimmten neurologischen Erkrankungen beschreiben und Referenzwerte vorstellen. Dabei wurde als Maß der Blut-Hirn-Schrankenfunktion meist der absolute Albumingehalt des Liquors verwendet, der in der Humanmedizin gegenüber dem Albuminquotienten als weniger sensitiv gilt. Eine gemeinsame Beurteilung des IgG-Index und des Albuminquotienten wurde bisher nicht durchgeführt.

In der vorliegenden Arbeit soll der diagnostische Nutzen des IgG-Index und Albuminquotienten beim neurologisch erkrankten Hund beurteilt und der Frage nachgegangen werden, ob die Bestimmung dieser beiden Parameter eine sinnvolle Erweiterung der konventionellen Liquordiagnostik darstellt.

II. LITERATUR

1 LIQUOR CEREBROSPINALIS

1.1 Physiologie des Liquors

1.1.1 Produktion des Liquors

Der Liquor cerebrospinalis wird größtenteils vom isoprismatischen Ependym der Plexus choroidei gebildet. Diese Plexus befinden sich in allen vier Ventrikeln. Daneben gelten als weitere Produktionsstätten das Ependym der Ventrikel, die Blutgefäße der Pia-Arachnoidea und die Pia-Glia-Membran. Bis zu 70% des Liquors wird von den Plexusepithelien und etwa 30% außerhalb der Ventrikel produziert (Simpson und Fitch, 1988).

Liquor wird über Ultrafiltration aus dem Blut und durch aktive Transportmechanismen im Plexusepithel und in den endothelialen Zellen der zerebralen Kapillaren gebildet. Der Plexus choroideus ist ein blumenkohlartiges Gebilde aus Kapillarschlingen, bedeckt von einem einschichtigen isoprismatischen Ependym, das in die Ventrikel hinein ragt. Die Sekretion von Flüssigkeit durch den Plexus choroideus wird von einem aktiven Transport von Natriumionen durch die epithelialen Zellen gestützt (Guyton, 1991). 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. Sie bilden eine semipermeable Membran, die aktiv und selektiv Stoffe transportiert (DeLahunta, 1983 a; Simpson und Fitch, 1988).

Die Produktionsrate des Liquors variiert in Abhängigkeit von Spezies und Bestimmungsmethode beträchtlich. So schwanken die Angaben beim Menschen zwischen 0,34 ml/min (Guyton, 1991) und 0,5 ml/min (DeLahunta, 1983 a), 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/min (DeLahunta, 1983 a) und 0,02 ml/min (Braund, 1994). Beim Menschen ist zudem bekannt, dass die Liquorproduktion pränatal (Mollgard und Saunders, 1986) nahe des Geburtstermins beginnt und bis zum vierten Lebensmonat ihren Höhepunkt erreicht hat (Reiber, 1998).

1.1.2 Zirkulation des Liquors

Der Liquor cerebrospinalis fließt von den Seitenventrikeln zum III. Ventrikel und von da über den Aquaeductus mesencephali in den IV. Ventrikel. Den IV. Ventrikel verläßt er über die beiden Aperturales laterales ventriculi IV, beim Menschen über eine zusätzliche Apertura mediana ventriculi IV. Diese mediane Öffnung gibt es beim Hund und bei der Katze nicht, vermutlich auch bei keinem anderen Haussäugetier. Er gelangt so in die Cisterna magna, ein großer flüssigkeitsgefüllter Raum hinter der Medulla und neben dem Cerebellum. Die Cisterna magna ist Teil des Subarachnoidalraums (Cavum leptomeningicum). Im Cavum leptomeningicum verteilt sich der Liquor als äußerer Flüssigkeitsmantel über die gesamte Oberfläche des zentralen Nervensystems (Böhme, 1991).

Der Fluss des Liquors wird durch die Pulsation des Blutes in den Plexus choroidei und durch den Zilienbesatz des Ependyms erreicht. Dadurch kann beim Menschen trotz aufrechter Haltung der Liquorfluss sowohl in cranialer als auch in caudaler Richtung bewerkstelligt werden (DeLahunta, 1983 a).

Bei Stillstand oder sehr starker Behinderung der Liquorzirkulation kommt es nach einer gewissen Zeit zu serumähnlichen Liquorproteinwerten. Dies wird als Sperrliquor oder Liquorstop bezeichnet (Felgenhauer und Thomas, 1998).

1.1.3 Absorption des Liquors

Der zentrale Ort der Absorption von Liquor aus dem Cavum leptomeningicum ins Blut sind die arachnoidalen Zotten (Villi arachnoideales). Diese befinden sich in den Sinus venosi und in den zerebralen Venen. Ansammlungen dieser Zotten bezeichnet man

als „arachnoidale Granulationen“ (Granula meningica). Die arachnoidalen Zotten sind eine Verlängerung der Arachnoidea und des Subarachnoidalraums und ragen fingerähnlich in die Sinus hinein. Die endothelialen Zellen, die die Zotten bedecken, besitzen Öffnungen, die einen relativ freien Fluss von Liquor und Proteinmolekülen ins venöse Blut erlauben (Guyton, 1991). Durch die hydrostatische Druckdifferenz zwischen Liquor und Sinus venosus wird der Liquor gegen die arachnoidalen Zotten bewegt. Die Zotten fungieren als „Ein-Klappen-System“, das sich öffnet, sobald der Druck im Liquor größer wird als der venöse Druck. Ist der venöse Druck größer, schließen diese Klappen. Liquorfluss findet somit nur in einer Richtung statt und zwar vom Liquorraum in Richtung Blutgefäßsystem (DeLahunta, 1983 a).

Absorption von Liquor findet auch an den Venen und Lymphbahnen in der Nähe von Spinalnerven statt. Die Produktion des Liquors erfolgt unabhängig vom intracraniellen Druck. Die Absorption ist der bestimmende homöostatische Mechanismus zur Regulation des intracraniellen Drucks (DeLahunta, 1983 a). Beim Menschen beginnt die Absorption des Liquors bei einem Druck von 7 cm H₂O und steigt linear bei einer Rate von 7,6 µl/min bis zu einem Druck von 25 cm H₂O, wobei die Absorptionsrate dann 90 ml/h betragen würde. Ein Gleichgewicht zwischen Bildung und Absorption stellt sich bei 11 cm H₂O ein (McConnell und Bianchine, 1994 a).

1.2 Funktion des Liquors

McConnell und Bianchine (1994 a) beschreiben als die vier wesentlichen Funktionen des Liquors:

1. Mechanischer Schutz
2. Intrazerebrale Transportfunktion
3. Aufbau eines inneren Milieus
4. Lymphatisches System

Zu 1.

Der Liquor stellt ein unverzichtbares Flüssigkeitskissen mit Pufferfunktion für das druck- und stoßempfindliche Gehirn dar. So reduziert er beispielsweise das tatsächliche Gewicht eines Gehirns von 1500 g auf ein Effektivgewicht von 50 g, mit dem es den Schädelknochen aufliegt (Fishman, 1992 a; McConnell und Bianchine, 1994 a; Trepel, 1995). Die Arachnoidea wird durch die Oberflächenspannung einer dünnen Liquorschicht an der Dura gehalten. Ohne den Schutz durch Liquor und Meningen würde das Gehirn schon bei kleinen Traumata erheblichen Schaden nehmen. Die Bedeutung des Liquors verdeutlicht in diesem Zusammenhang das Auftreten starker Schmerzen beim Verlust an Liquorvolumen (Ganong, 1993).

Zu 2.

Als Transportmedium für Metabolite, Hormone (hypothalamische Peptide) und Neurotransmitter (DeLahunta, 1983 a) sorgt der Liquor für die Versorgung des Extrazellulärraums des Gehirns durch Homöostase und intrazerebrale Transportvorgänge. Dem Liquor kommt dabei eine entscheidende Rolle bei der Regulation von Schmerz, Schlaf und vielfältigen Verhaltensweisen zu. Als nutritives Transportmedium hat der Liquor eine geringere Bedeutung (McConnell und Bianchine, 1994 a).

Zu 3.

Der Liquor hat eine wichtige Funktion im Aufbau und in der Aufrechterhaltung eines chemischen Milieus im zentralen Nervensystem. Zwischen Liquor und Extrazellulärflüssigkeit des Gehirns und Rückenmarks befindet sich lediglich eine dünne Lage ependymal-glialer und pia-glialer Zellen. Über den Virchow-Robinschen perivaskulären Raum steht er in direktem Kontakt mit dem Extrazellulärraum und erlaubt so eine freie Diffusion einiger gelöster Stoffe. Die Hirn-Liquor-Schranke garantiert die unterschiedliche chemische Zusammensetzung des Extrazellulär- und Liquorraums. Sie schützt das Gehirn vor großen Schwankungen in der chemischen Zusammensetzung des Plasmas und vor toxischen Molekülen. So ist der Liquor gegenüber Schwankungen der Natrium-, Magnesium- und Calciumkonzentration im Blut außerordentlich resistent. Jedoch bewirken Veränderungen der Konzentrationen dieser Ionen im Liquor sehr wohl Veränderungen des Blutdrucks und der Herzfrequenz. Desweiteren haben selbst geringe Schwankungen der

Ionenkonzentrationen im Liquor erhebliche Auswirkungen auf den zerebralen Blutfluss und den Metabolismus des zentralen Nervensystems (McConnell und Bianchine, 1994 a).

Zu 4.

Im Gehirn fehlen typische lymphatische Einrichtungen zur Beseitigung metabolischer Substanzen. Man nimmt an, dass metabolische Endprodukte und Toxine beim Menschen in den Liquor transportiert und über die arachnoidalen Zotten in den duralen Sinus beseitigt werden (Fishman, 1992 a; McConnell und Bianchine, 1994 a). Der Liquor übernimmt somit die Rolle eines lymphatisch funktionierenden Systems. Bei vielen Säugetierarten werden Substanzen durch den Subarachnoidalraum über die cribriformen Platten in die nasale Mukosa transportiert. Ob es diesen Mechanismus auch beim Menschen gibt ist noch nicht gesichert (Rosenberg, 1990).

1.3 Zusammensetzung des Liquors

Der physiologische Liquor cerebrospinalis ist eine klare, farblose, protein- und zellarme Flüssigkeit. Er besteht zu 99% aus Wasser. Verglichen mit Plasmaultrafiltrat beinhaltet Liquor weniger Protein, welches zum größten Teil aus Albumin besteht. Es wird von 30% bis 70% Albuminanteil am Gesamtliquorprotein beim Hund berichtet (Krakowka et al., 1981). Sorjonen (1987) stellte in einer Studie an zehn gesunden Hunden einen Anteil von 31% bis 44% fest. Nach McConnell und Bianchine (1994 b) besteht Liquorprotein beim Menschen zu 56 – 76% aus Albumin, daneben finden sich in größeren Mengen noch Präalbumin (2 – 7%), α -1-Globulin (2 – 7%), α -2-Globulin (3,5 – 12%), β -Globulin (8 – 18%) und γ -Globulin (5 – 12%). Auch der Anteil an Glucose, Kalium und Calcium ist im Liquor geringer als im Plasma, während es sich bei Chlorid, Natrium und vor allem Magnesium genau anders herum verhält (DeLahunta, 1983 a; Guyton, 1991). Der physiologische Zellgehalt wird beim Menschen mit 0 – 5 Leukozyten/ μ l angegeben (McConnell, 1994), ebenso beim Hund und bei der Katze (DeLahunta, 1983 b; Oliver et al., 1997; Kraft und Dürr, 1995). Dabei handelt es sich ausschließlich um mononukleäre Zellen (Vandeveld

und Spano, 1977; Christopher et al., 1988; Jamison und Lumsden, 1988; Chrisman, 1992).

Beim Menschen bestehen lokale Konzentrationsgradienten für Liquorproteine, mit niedrigen Werten in den Ventrikeln, mittleren Werten in der Cisterna magna und den höchsten Werten im Lumbalsack (Weisner und Bernhardt, 1978). Auch bestehen Unterschiede im Proteingehalt des Liquors in Abhängigkeit von der gewonnenen Probenmenge insofern, als mit zunehmender Menge die Proteinkonzentration sinkt (Blennow et al., 1993 a). Diese Autoren betonen, dass es demnach wichtig ist, sowohl die Punktionsstelle als auch die zu untersuchenden Volumina zu standardisieren. Eine signifikant höhere Proteinkonzentration im Lumballiquor wird auch bei Hund (Bailey und Higgins, 1985; Chrisman, 1992), Katze (Hochwald et al., 1969; Chrisman, 1992), Rind (Grottker et al., 1982) und Rhesusaffe (Smith und Lackner, 1993) beschrieben, im Gegensatz zum Pferd (Mayhew et al., 1977). Bailey und Higgins (1985) berichten beim Hund auch von einem signifikant niedrigeren Zellgehalt des Lumballiquors gegenüber dem zisternalen. Bei einem Liquorprobenvolumen von zweimal zwei Millilitern besteht beim Hund kein Unterschied in der Proteinkonzentration zwischen den ersten und den unmittelbar danach genommenen zweiten zwei Millilitern (Bailey und Higgins, 1985).

2 BLUT-HIRN-SCHRANKE

Die Passage von Molekülen und Zellen aus dem arteriellen Blut in das Hirnparenchym und in den Liquorraum ist eingeschränkt. Verantwortlich hierfür sind die Blut-Hirn-Schranke und die Blut-Liquor-Schranke. Der Begriff Blut-Hirn-Schranke wird benutzt, um beide Schranken zu beschreiben, da diese sehr ähnlich sind (DeLahunta, 1983 a).

Das Konzept der Blut-Hirn-Schranke umfasst die Betrachtung mehrerer Faktoren, die den bidirektionalen Austausch zwischen Blut, Gehirn und Liquor kontrollieren. Der Begriff „Schranke“ ist zu vermeiden, wenn nicht klar ist, auf welches Molekül sich die Schrankenfunktion bezieht, da zum Beispiel dem Austausch von Proteinen ein

anderer Mechanismus zugrunde liegt, als dies bei Ionen oder organischen Substanzen der Fall ist (Fishman, 1992 a).

Die Blut-Hirn-Schranke wird von nicht fenestrierten Endothelzellen, die durch sogenannte „tight junctions“ oder auch „zonula occludens“ untereinander verbunden sind, gebildet. Sie ist selektiv permeabel. Der Transport von Substanzen durch diese Schranke kann passiv und aktiv erfolgen. Die Diffusion von Molekülen durch die Blut-Hirn-Schranke ist abhängig von ihrer elektrischer Ladung, ihrer Lipophilie und ihrem Molekulargewicht (Cornford und Hyman, 1999). Verallgemeinert lässt sich sagen, dass ein nicht ionisiertes, lipophiles Molekül geringen Molekulargewichts durch die Blut-Hirn-Schranke hindurchdiffundieren kann (Scheld, 1989).

Innerhalb der zerebralen Endothelzellen gibt es zahlreiche Transportsysteme, so zum Beispiel für Glukose, Aminosäuren, Purine, Nukleoside, Thiamin, Cholin und auch für Zytokine (Dick und Harik, 1986; Pardridge, 1986; Drewes und Singh, 1988; Spector, 1990; Dermietzel und Krause, 1991; Farrell und Pardridge, 1991; McLay et al., 1997; Pan et al., 1997 a und b). Daneben konnten spezifische Rezeptoren für Glukose, Serotonin und Transferrin nachgewiesen werden (Barker und Billingham, 1977). Ein weiterer wichtiger Mechanismus der Blut-Hirn-Schranke ist der aktive Transport von Substanzen aus dem ZNS hinaus. Bekannt ist in diesem Zusammenhang das P-Glykoprotein, eine ATP-abhängige Pumpe auf dem Endothel der Blut-Hirn-Schranke, das für die Beseitigung bestimmter Substanzen aus dem ZNS ins Blutkreislaufsystem verantwortlich ist (Thiebaut et al., 1987; Cordon-Cardo et al., 1989). Genannt werden Ivermectin, Vinblastin, Cyclosporin A und Digoxin (Schinkel, 1999).

Die Blut-Hirn-Schranke des Neugeborenen ist wesentlich durchlässiger als die des Erwachsenen (Statz und Felgenhauer, 1983; Reiber, 1995 b). In der Humanmedizin wird empfohlen, bei der Beurteilung der Blut-Hirn-Schranke das Lebensalter zu berücksichtigen.

3 LIQUORDIAGNOSTIK

Keller (1991) unterteilt die Liquordiagnostik in drei Komponenten:

3.1 Morphologische Untersuchungen

Dazu zählt die optische Beurteilung des Liquors nach Farbe und Klarheit sowie die Zellzählung und Zelldifferenzierung.

Normaler Liquor ist wasserklar und nicht verfärbt. Rötliche Verfärbungen können auf eine iatrogen bedingte Blutung hinweisen oder sind Zeichen von Blutungen oder Entzündungen innerhalb des ZNS. Xanthochromie kann bei alten Blutungen, schwerem Ikterus oder Blutabbauprozessen auftreten.

Die Zellzählung erfolgt mit der Zählkammer nach Fuchs-Rosenthal innerhalb von 30 Minuten nach Liquorentnahme. Da die Zählkammer ein Volumen von 3,2 µl hat, wird die Zellzahl um den Faktor 1/3 auf 1 µl korrigiert (Felgenhauer und Thomas, 1998). Der normale Zellgehalt liegt beim Menschen bei 0 – 5 Leukozyten/µl (McConnell, 1994), ebenso beim Hund und bei der Katze (DeLahunta, 1983 b; Oliver et al., 1997; Kraft und Dürr, 1995). Die Zellzahl ist erhöht bei destruktiven Prozessen und sehr stark erhöht bei entzündlichen, vor allem bakteriellen Erkrankungen des zentralen Nervensystems (Vandeveldde und Fankhauser, 1987).

Die Zelldifferenzierung wird nach vorausgehender Zellkonzentrierung durchgeführt. Die Zentrifugation in der Zytozentrifuge ist hierfür die geeignetste Methode, da die Morphologie der Zellen am besten erhalten bleibt (Christopher et al., 1988). Im normalen Liquor befinden sich nur mononukleäre Zellen (Vandeveldde und Spano, 1977; Christopher et al., 1988; Jamison und Lumsden, 1988; Chrisman, 1992) und keine Erythrozyten. Eine überwiegend neutrophile Pleozytose ist ein Hinweis auf eine bakterielle Infektion oder eine akute Malazie. Überwiegend mononukleäre Pleozytose tritt auf bei viralen Infektionen und destruktiven Prozessen, eine lymphoplasmazytäre Pleozytose bei chronisch bakteriellen Infektionen und eine Eosinophilie bei parasitären oder protozoären Infektionen (Vandeveldde und Fankhauser, 1987).

Eventuell vorhandene Erythrozyten bedeuten entweder eine Blutkontamination oder eine frische Blutung im zentralen Nervensystem. Für Liquorproben, die blutkontaminiert sind, schlagen Bailey und Higgins (1985) eine Korrektur für Zellzahl und Proteingehalt im Liquor vor. Bei blutkontaminierten Liquorproben, die > 500 Erythrozyten/ μl enthalten, erhöht sich die Leukozytenzahl um 1 Leukozyt/ μl und die Proteinkonzentration um 0,5 mg/dl.

3.2 Klinisch-chemische Untersuchungen

Die klinisch-chemische Analyse des Liquors beinhaltet die Bestimmung von Elektrolyten, einigen anderen Substraten wie zum Beispiel Glukose und Tumormarkern und vor allem des Gesamtproteingehalts und der Proteinzusammensetzung. Die Bestimmung des Gesamtproteingehalts, des Albumins und der Immunglobuline im Liquor sind im Rahmen der neurologischen Diagnostik beim Menschen unverzichtbare Messgrößen. Die übrigen klinisch-chemischen Parameter, zum Beispiel Glukose oder Laktat, sind zweitrangig (Keller, 1991).

Das Gesamteiweiß kann semiquantitativ (Pandy, 1910) sowie quantitativ nach einer Vielzahl chemischer Methoden bestimmt werden. In der Humanmedizin haben sich nephelometrische und photometrische Analysemethoden zur Gesamtproteinbestimmung etabliert (Reiber, 1987). Der Gesamtproteinbestimmung kommt in der Humanmedizin allerdings eine eher orientierende Funktion für die Verdünnungsschritte der immunchemischen Einzelproteinanalysen und weniger eine klinische Bedeutung zu (Reiber, 1988).

Erhöhte Proteinkonzentrationen im Liquor sieht man bei Schrankenstörungen, bei Veränderungen des Plasmaproteingehalts oder bei lokaler Immunglobulinproduktion im zentralen Nervensystem (Fishman, 1992 b). Ein Anstieg des Gesamtproteins im Liquor kann Folge einer bakteriell oder viral bedingten Entzündung, einer Infektion durch Protozoen und Pilze oder einer Neoplasie sein. Der Proteingehalt kann normal oder erhöht sein bei traumatischen, degenerativen oder vaskulären Läsionen im zentralen Nervensystem (Coles, 1986) sowie bei endokrinen Erkrankungen

(Myxödem, diabetische Neuropathie, Hypoparathyreoidismus), metabolisch bedingten Erkrankungen (Urämie, Hypercalcämie, Dehydratation), toxischen Ursachen (Ethanol, Isopropanol) und Obstruktion der Liquorzirkulation (Tumor, Abszess, o. ä.) (McConnell und Bianchine, 1994 b).

Die Bestimmung von Albumin und Immunglobulinen ermöglicht die Aussage, ob einer Proteinerhöhung eine Schrankenstörung oder eine lokale Immunglobulinproduktion zugrunde liegt. Als Permeabilitätsparameter für die Funktionskontrolle der Blut-Hirn-Schranke hat sich in der Humanmedizin der Liquor-Serum-Quotient der Albuminkonzentration etabliert (Tibbling et al., 1977). Erkrankungen, die mit reinen Schrankenstörungen einhergehen, sind nach Reiber und Felgenhauer (1987) und Felgenhauer und Thomas (1998) primäre Hirntumore, Infarkte, Polyneuropathien, Hirntraumen mit Ausnahme von Blutungen in den Subarachnoidalraum, Systematrophien des Nervensystems und atrophierende Prozesse des Großhirns sowie das Initialstadium akuter Meningitiden.

Eine Schrankenstörung führt zwangsläufig auch zu vermehrtem Transfer von Immunglobulinen. Zur Unterscheidung zwischen intrathekal und extrathekal produzierten Immunglobulinen dient die isoelektrische Fokussierung. Bei intrathekal produzierten Immunglobulinen zeigt sich ein oligoklonales Muster im Bereich der Gammaglobuline (Reiber und Felgenhauer, 1987; Reiber, 1988; Keller, 1991). Für die quantitative Bestimmung intrathekal gebildeter Immunglobuline wurden die verschiedensten Rechenmodelle vorgestellt, auf die in Kapitel 6.2 näher eingegangen werden soll. Intrathekale Immunglobulinproduktion wird beschrieben bei Multipler Sklerose, Neurosyphilis, chronisch entzündlichen Erkrankungen und akut verlaufenden Infektionen, wie durch Viren der Herpes- und Paramyxogruppe verursachten Krankheiten (Reiber und Felgenhauer, 1987; Felgenhauer und Thomas, 1998).

Beim Hund kommt eine intrathekale Immunglobulinproduktion bei GME, steroidresponsiver Meningitis (SRM), chronischer Staupeenzephalitis, FSME, Toxoplasmose, protozoärer Enzephalitis, bakterieller Meningoenzephalitis und viralen Enzephalitiden unbekannter Ursache vor. Sie kann vorkommen bei Tumoren, Rückenmarkskompressionen, sowie degenerativen und vaskulären Erkrankungen des

ZNS (Bichsel et al., 1984; Vandeveldel et al., 1986; Johnson et al., 1988; Tipold et al., 1993 und 1994).

Beim Menschen hat der Nachweis einer lokalen Synthese von karzinoembryonalem Antigen (CEA) Bedeutung in der Tumordiagnostik erlangt. Der Nachweis gilt als Hinweis auf eine Karzinom-Metastase (Reiber, 1988; Felgenhauer und Thomas, 1998).

3.3 Mikrobiologisch-serologische Untersuchungen

Der Nachweis von Bakterien und Pilzen im Liquor erfolgt durch die Gramfärbung oder durch Ansetzen einer Liquorkultur (Keller, 1991; Felgenhauer und Thomas, 1998). Für viele erregerbedingte Entzündungen des zentralen Nervensystems beim Menschen ist der Nachweis von spezifischen Antikörpern bedeutsam, so beispielsweise für die HIV-Enzephalitis, Neuroborreliose und Toxoplasmose. Dies erfolgt über die Berechnung des Antikörper-Index, welcher das Verhältnis von erregerspezifischem Antikörperquotient zum Gesamt-Immunglobulinquotient charakterisiert (Reiber, 1991). In der Tiermedizin wird der Antikörper-Index als Nachweismethode im Liquor bei Staupe und FSME postuliert.

4 GESAMTPROTEINBESTIMMUNG IM LIQUOR CEREBROSPINALIS DES HUNDES

Die Verfahren zur Bestimmung des Proteingehalts im Liquor lassen sich unterscheiden in semiquantitative und quantitative Methoden. Die semiquantitativen Methoden, hier vor allem die Pandy-Reaktion, sind aufgrund ihrer einfachen Durchführung in der klinischen Praxis eher üblich, dafür aber weniger sensitiv und stellen nur eine Annäherung dar. Dagegen sind die quantitativen Methoden zwar aufwändiger durchzuführen, dafür aber sensitiver und sie bieten den Vorteil der Vergleichbarkeit der ermittelten Werte (Wright, 1978; Burtis und Ashwood, 1994; Rebel, 1999).

Proteine besitzen eine elektrische Ladung und wandern deshalb im elektrischen Feld. Diese physikalischen Eigenschaften macht man sich bei der Elektrophorese und der isoelektrischen Fokussierung zu Nutzen, um die Proteine aufzutrennen und die einzelnen Fraktionen nachzuweisen. Immunologische Nachweismethoden wie zum Beispiel die Immunelektrophorese, die Immunfixation, die radiale Immundiffusion oder der Radio-Immuno-Assay (RIA) stützen sich dagegen darauf, dass Antikörper mit Antigenen Präzipitate in Gel oder in Lösung bilden oder an festen Phasen eine Antigen-Antikörperreaktion eingehen können (Halliwell und Gorman, 1989; Lammers, 1991; Tizard, 1996).

Proteine können aufgrund ihrer chemischen und immunologischen Eigenschaften quantitativ bestimmt werden. Proteine haben die Eigenschaft, im sauren Milieu zu denaturieren und auszufallen, so dass sich anschließend durchfallendes Licht streuen lässt, was die Grundlage der Nephelometrie, der TCA-Methode und der Turbidimetrie ist. Auch Antigen-Antikörperkomplexe können auf diese Art quantitativ bestimmt werden. Eine andere chemische Eigenschaft wird bei photometrischen quantitativen Bestimmungsmethoden wie der Coomassie-Brilliant-Blau-Methode genutzt. An den Aminogruppen (NH_4 -Gruppen) der Proteine können Ionen gebunden werden, die dann Farbkomplexe bilden, deren Intensität photometrisch bestimmt werden kann (Keller, 1991; Burtis und Ashwood, 1994).

Liquor weist wesentlich niedrigere Gesamtproteinkonzentrationen auf als Serum. Er kann relativ hohe Konzentrationen an potenziellen Störfaktoren wie endogene Metabolite oder Medikamente enthalten, woraus sich spezielle Probleme bei der Proteindiagnostik des Liquors ergeben können (Reiber, 1991).

Der Referenzbereich für den Gesamtproteingehalt im Liquor des Hundes wird in der Literatur nicht einheitlich angegeben. Die unterschiedlichen Angaben sind durch unterschiedliche Entnahmestellen des Liquors, verschiedene Analysemethoden und statistische Auswertungen des Referenzbereichs begründet. Einen Überblick über die in der Literatur aufgeführten Referenzbereiche geben die Tabellen 1 und 2.

Tabelle 1: Referenzwerte für Gesamtprotein im Liquor des Hundes in Abhängigkeit vom Entnahmeort

| Zisternaler Liquor (mg/dl) | Lumballiquor (mg/dl) | Literatur |
|---------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| < 14 | < 29 | Bailey und Higgins, 1985 |
| 10 - 27 | < 45 | Chrisman, 1992 |
| < 25 | < 45 | Braund, 1994 |
| < 30 | < 45 | Russbridge, 1997 |
| 10 - 25 | < 40 | Cowell et al., 1999 |

Tabelle 2: Referenzwerte für Gesamtprotein im zisternalen Liquor des Hundes

| Proteingehalt (mg/dl) | Methode | Probenanzahl | Literatur |
|--|---|--------------|-------------------------------|
| 11 – 55 ² (27,5) ¹ | k. A. | 50 | Fankhauser, 1954 |
| 7 – 24 ² | Trichloressigsäure, turbidimetrisch | 77 | Wilson, 1976 |
| 13 – 42 ² (17,67 ± 3,67) ³ | k. A. | 9 | Jordan, 1977 |
| 29,9 ¹ | Mikro-Lowry | 10 | Sorjonen et al., 1981 |
| 15,5 – 42,0 ² (27,6 ± 1,1) ³ | Bio-Rad | 23 | Krakowka et al., 1981 |
| 17,7 ± 4,7 ³ | Trichloressigsäure, turbidimetrisch | 10 | Carakostas et al., 1983 |
| < 25 ⁴ | k. A. | k. A. | DeLahunta, 1983 a |
| 28,3 ± 2,37 ³ | k. A. | k. A. | Keller und Freudiger, 1984 |
| 3 – 23 ² (13,7 ± 4,7) ³ | Coomassie-Blau- Methode | 15 | Bailey und Higgins, 1985 |
| 23 – 35 ² (27 ± 4,2) ³ | Bio-Rad | 10 | Sorjonen, 1987 |
| < 25 ⁴ | k. A. | k. A. | Duncan et al., 1987 |
| 10 – 30 ² | Ponceau-S-Rot dye-binding | 50 | Jamison und Lumbsden, 1988 |
| < 20 – 25 ⁴ | Coomassie-Blau- Methode | k. A. | Cook und DeNicola, 1988 |
| 10 – 25 ² | Spektralphotometer | k. A. | Chrisman, 1991 |
| 14 ¹ | k. A. | k. A. | Braund, 1994 |
| 16 ± 11 ³ | Benzethoniumchlorid, turbidimetrisch | 21 | Hurt und Smith, 1997 |
| < 30 ⁴ | k. A. | k. A. | Russbridge, 1997 |
| < 25 ⁴ | k. A. | k. A. | Oliver et al., 1997 |
| 10,4 – 28,5 ² (19,45 ± 7,9) ⁵ (12,6 – 24,6) ⁶ | Coomassie-Blau- Methode | 33 | Rebel, 1999 |
| 11,3 – 32,4 ² (20,31 ± 8,7) ⁵ (12,3 – 27,4) ⁶ | Nephelometrie | 33 | Rebel, 1999 |

¹: Mittelwert

²: (min – max)

³: Mittelwert ± Standardabweichung

⁴: obere Messbereichsgrenze

⁵: Mittelwert ± doppelte Standardabweichung

⁶: 95%-Perzentilbereich

k. A.: keine Angaben

5 DIFFERENZIERTE PROTEINBESTIMMUNG IM LIQUOR CEREBROSPINALIS — LIQUORPROTEINPROFIL

5.1 Albumingehalt im Liquor

Anhand isotopmarkierten Albumins konnte Fishman (1953) zeigen, dass bei Hunden ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Blut- und Liquoralbumin besteht. Frick und Scheid-Seydel (1958 a) 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 bei gesunden oder kranken Individuen. Da ein großes Spektrum an ZNS-Krankheiten, auch solcher mit hochgradiger Blut-Hirn-Schrankenstörung, abgedeckt wurde, konnte bewiesen werden, dass das Liquoralbumin ausschließlich aus dem Blut stammt. Auch Cutler (1967 a) kommt zu diesem Ergebnis. Ebenso verhält es sich bei der Katze, wie Hochwald und Wallenstein (1967 a) zeigen konnten. Vier bis zwanzig Stunden nach intravenöser Gabe von J^{131} -Albumin stellte sich auch hier ein Gleichgewicht ein. Alle diese Studien zeigen zudem, dass das Albumin auch wieder über das Blut aus dem Liquor entfernt wird.

Es ist heute eine anerkannte Tatsache, dass das gesamte Albumin in normalem sowie pathologischem Liquor alleine aus dem Blut stammt.

Die Albuminkonzentration im Liquor gesunder Individuen ist in erster Linie abhängig von der Albuminkonzentration im Serum. Ein erhöhter Albumingehalt im Liquor wird beim Hund von mehreren Autoren als Hinweis auf eine Blut-Hirn-Schrankenstörung angesehen (Krakowka et al., 1981; Bichsel et al., 1984; Vandavelde et al., 1986).

Tabelle 3: Referenzwerte für den Albumingehalt im Liquor des Hundes

| Albumingehalt (mg/dl) | Methode | Probenanzahl | Literatur |
|---|----------------------------|--------------|--------------------------|
| 5,8 – 18,9 ¹ (10,28 ± 0,8) ² | Rocket-Immunelektrophorese | 23 | Krakovka et al., 1981 |
| 7,5 – 27,6 ¹ (17,1 ± 6,7) ² | Rocket-Immunelektrophorese | 21 | Bichsel et al., 1984 |
| 5,0 – 11,8 ¹ (8,6 ± 2,8) ³ | Nephelometrie | 19 | Fischer et al., 1999 |

¹: (min – max)

²: Mittelwert ± Standardabweichung

³: Mittelwert ± doppelte Standardabweichung

5.2 Albuminquotient und Blut-Hirn-Schrankenstörung

Der Albuminquotient als Quotient aus Liquoralbumingehalt und Serumalbumingehalt ist ein adäquater und zuverlässiger Parameter zur Beurteilung der Blut-Hirn-Schrankenfunktion (Tibbling et al., 1977). Laut Felgenhauer (1999) hat sich der Albuminquotient als der zuverlässigste Parameter für den aktuellen Zustand der Blut-Hirn-Schranke erwiesen, vorausgesetzt, dass ein „steady-state“-Gleichgewicht zwischen Blut- und Liquorkompartiment besteht und dass beide Proben zur gleichen Zeit entnommen worden sind. Das Albumin eignet sich zur Beurteilung dieser Schranke, weil es die notwendigen Voraussetzungen einer Testsubstanz erfüllt, nicht im ZNS synthetisiert und nicht im ZNS katabolisiert zu werden (Tourtellotte, 1970; Tourtellotte und Ma, 1978).

Mit der Charakterisierung des Liquor-Serum-Quotienten als methodenunabhängiger Wert wurde zudem eine wichtige Grundlage für die Vergleichbarkeit der Daten von Labor zu Labor gelegt (Reiber, 1995 b).

Eine erhöhte Albuminkonzentration im Liquor bei unveränderter Albuminkonzentration im Serum zeigt eine erhöhte Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke oder eine Störung des Liquorflusses an und wird in einem erhöhten Albuminquotienten widerspiegelt (Papadopoulos et al., 1984). Auch Felgenhauer (1995) sieht die Ursachen einer Blut-Hirn-Schrankenstörung entweder in einer Steigerung der Gefäßpermeabilität in den Grenzschichten des Liquorkompartiments oder in einer Verringerung des Flüssigkeitsumsatzes.

Dieser traditionellen Beschreibung stellt Reiber (1994) eine neue Theorie, abgeleitet aus empirischen Daten und den Diffusionsgesetzen, entgegen: Die Zunahme der Proteinkonzentration im Liquor kann alleine auf einen reduzierten Liquorumsatz zurückgeführt werden, ohne dass eine morphologische Änderung der für die Diffusion von Proteinen relevanten Strukturen zwischen Blut und Liquor nötig ist. Die Konsequenz des verlangsamten Liquorflusses ist dabei die Verschiebung der Diffusionsgradienten und damit eine Steigerung der Geschwindigkeit, mit der Makromoleküle die Schranke passieren. Verantwortlich für den reduzierten Liquorfluss können sein:

1. Reduzierte Liquorproduktion im Plexus choroideus
2. Liquorflussbehinderung im Subarachnoidalraum
3. Behinderung der Drainage ins venöse Blut durch die Arachnoidalzotten

Bei der Etablierung von Referenzwerten für den Menschen in Abhängigkeit vom Alter fällt zunächst ein starker Abfall der Werte bis zu einem Alter von vier bis sechs Monaten auf, ab dann besteht allerdings eine positive Korrelation des Albuminquotienten mit dem Alter (Ganrot und Laurell, 1974; Tibbling et al., 1977; Blennow et al., 1993 b; Reiber, 1995 b; Felgenhauer, 1999).

Tabelle 4: Albuminquotienten einer Referenzgruppe aus 93 Personen, in fünf Altersgruppen unterteilt (Tibbling et al., 1977)

| Altersgruppe (Jahre) | Anzahl (♂ / ♀) | Albuminquotient (x 10⁻³)¹ |
|-----------------------------|-----------------------|--|
| 17 – 30 | 4 / 17 | 3,7 ± 1,0 |
| 31 – 40 | 7 / 11 | 4,0 ± 1,1 |
| 41 – 50 | 10 / 12 | 4,6 ± 1,3 |
| 51 – 60 | 10 / 11 | 5,5 ± 1,7 |
| 61 – 77 | 3 / 8 | 5,6 ± 1,7 |

¹: Mittelwert ± Standardabweichung

Tabelle 5: Albuminquotienten einer Referenzgruppe aus 105 Personen, in zwei Altersgruppen unterteilt (Blennow et al., 1993 b)

| Altersgruppe (Jahre) | Anzahl | Albuminquotient (x 10⁻³)¹ |
|-----------------------------|---------------|--|
| 18 – 44 | 21 | 4,7 ± 1,2 |
| 45 – 88 | 84 | 5,9 ± 2,1 |

¹: Mittelwert ± Standardabweichung

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

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

Tabelle 7: Altersbezogene Referenzwerte für den Albuminquotienten beim Menschen

(Felgenhauer, 1999)

| Alter | Albuminquotient (x 10⁻³) |
|---------------------------|--|
| 30. Schwangerschaftswoche | 50 |
| Geburt | 25 |
| 1 Monat | 15 |
| 6 Monate | 5 |
| 20 Jahre | 5 |
| 40 Jahre | 7 |
| 60 Jahre | 8 |

Diese positive Korrelation des Albuminquotienten mit dem Alter können Smith und Lackner (1993) bei Rhesusaffen nicht bestätigen. Andrews et al. (1994) haben den Albuminquotienten bei 15 Fohlen im Alter von bis zu zehn Tagen bestimmt und bestätigen mit ihren Ergebnissen Rossdale et al. (1979 und 1982), dass die Werte beim Fohlen höher als die beim erwachsenen Pferd sind.

Referenzwerte für den Hund wurden von Sorjonen (1987) und Fischer et al. (1999) bestimmt. Dabei wurden unterschiedlich große Referenzgruppen und unterschiedliche Analysemethoden verwendet. Eine Übersicht gibt Tabelle 8. Bei Hunden existieren bisher keine altersabhängigen Referenzwerte.

Tabelle 8: Referenzwerte für den Albuminquotienten bei Hunden

| Albuminquotient (x 10⁻³) | Methode | Probenanzahl | Literatur |
|--|-----------------------------------|---------------------|----------------------|
| 2,2 ± 0,5 ¹ (1,7 – 3,0) ² | Elektrophorese / Densitometrie | 10 | Sorjonen, 1987 |
| 2,7 ± 0,8 ³ (1,56 – 3,45) ² | Nephelometrie | 19 | Fischer et al., 1999 |

¹: Mittelwert ± Standardabweichung

²: (min – max)

³: Mittelwert ± doppelte Standardabweichung

5.3 Immunglobulingehalt im Liquor und intrathekale Immunglobulinproduktion

Die drei Immunglobuline A, G und M treten wie alle anderen Proteine entsprechend ihrer hydrodynamischen Größe durch die Blut-Hirn-Schranke hindurch. Der Immunglobulingehalt des Liquors ist abhängig vom Immunglobulingehalt des Serums und von der Selektivität der Blut-Hirn-Schranke. Er wird sich erhöhen, wenn die Blut-Hirn-Schranke in einen Krankheitsprozess einbezogen ist, da ein biologischer Filter in solch einem Fall in der Regel an Selektivität verliert.

In Studien mit J¹³¹- bzw. J¹²⁵-markiertem Serum-IgG beim Menschen konnte gezeigt werden, dass das Liquor-IgG bei Patienten mit physiologischer IgG-Konzentration im Liquor alleine aus dem Serum stammt. Bei pathologisch erhöhten Liquor-IgG-Konzentrationen zeigte sich allerdings, dass das vermehrte IgG nicht aus dem Serum stammen konnte, sondern intrathekal gebildet werden musste (Frick und Scheid-

Seydel, 1958 b; Cutler et al., 1967 b und 1970). Die Hypothese, dass das gesamte Liquor-IgG bei gesunden Individuen ausschließlich aus dem Blut stammt, unterstützt auch die Studie von Hochwald und Wallenstein (1967 b). Sie beobachteten den Austausch von intravenös verabreichtem J^{131} -IgG zwischen Blut, Liquor und Gehirn bei der Katze.

Im Gegensatz zu Albumin kann ein erhöhter Immunglobulingehalt im Liquor also auch durch eine Synthese im Liquorkompartiment („intrathekal“) bedingt sein. Diese lokal synthetisierten Immunglobuline zeigen bei elektrophoretischer Trennung ein anderes Fraktionierungsmuster als die Immunglobuline im Serum. Diese sogenannten oligoklonalen Immunglobulin-Banden, erstmals entdeckt von Lowenthal et al. (1960), lassen sich qualitativ besonders zuverlässig mit der isoelektrischen Fokussierung darstellen (Delmotte und Gonsette, 1977).

Die intrathekalen Immunglobuline stammen aus Plasmazellen, die bei akuten Infektionen ab der zweiten Woche ihre Antikörper sezernieren. Die humorale Reaktion erreicht nach zwei bis vier Wochen ihren Höhepunkt. Es gibt Infektionen des Zentralnervensystems, wie zum Beispiel Neurosyphilis oder Herpesenzephalitis, bei denen die Antikörpersynthese auch nach erfolgreicher Behandlung erst nach Jahren bis Jahrzehnten abklingt. In dieser Zeit ist eine erneute Behandlung nicht erforderlich (Felgenhauer, 1999). Die Lymphozyten, die für die intrathekale Immunglobulinproduktion verantwortlich sind, wandern dazu in Gehirn und Rückenmark ein (Tipold et al., 1993).

Eine Verschiebung der Produktion von IgM-Antikörpern zu IgG-Antikörpern, wie sie im Serum bei akuten Infektionen beobachtet wird („Nossal-Switch“), tritt im Verlauf von entzündlichen Erkrankungen des Zentralnervensystems, auch den akuten Formen, beim Menschen nicht auf. Damit sind die Relationen der intrathekal synthetisierten Immunglobulinklassen nicht im Sinne einer Akuität eines entzündlichen Prozesses interpretierbar. Es kann in diesem Zusammenhang also weniger von einem Verlaufs-typischen als von einem Krankheits-typischen Bild gesprochen werden (Reiber, 1995 a; Felgenhauer, 1999). So wird eine reine IgG-Synthese beispielsweise bei der HIV-Enzephalitis und bei subakuter sklerosierender Panenzephalitis (SSPE) und eine reine IgA-Synthese bei Meningitis tuberculosa

gesehen. Eine 2-Klassen-Reaktion, bei der die IgG-Synthese die IgM-Synthese dominiert, wird bei Multipler Sklerose beobachtet, während sich bei einer Virusmeningitis diese beiden Immunglobulinklassen die Waage halten. Die isolierte Synthese von IgM und IgA lässt bei Fehlen anderer Entzündungszeichen ein intrazerebrales Myelom vermuten. Eine IgG-Dominanz in einer 3-Klassen-Reaktion deutet auf Neurosyphilis, eine IgM-Dominanz auf Neuroborreliose und eine IgA-Dominanz auf Adrenoleukodystrophie, besonders die infantile, rasch progrediente Form (Korenke et al., 1997), hin (Felgenhauer, 1999).

Auch im Zentralnervensystem des Hundes findet ein Wechsel von der IgM- zur IgG-Produktion, wie er bei der gewöhnlichen humoralen Immunantwort erwartet wird (Tizard, 1996), nicht statt. So konnte bei Hunden, die an chronischen Erkrankungen wie chronischer Staupeenzephalitis (Cutler und Averill, 1969) oder GME litten, neben der erwarteten intrathekalen IgG-Produktion auch eine intrathekale IgM-Produktion nachgewiesen werden. Bei SRMA werden zusätzlich zur IgG-Produktion besonders hohe IgA-Antikörperspiegel gesehen. Insgesamt scheint die intrathekale Synthese von IgM und IgA bei Hunden mit entzündlichen Erkrankungen des Zentralnervensystems, ähnlich dem Menschen, recht häufig vorzukommen. Diese kann ihre Ursache in einer andauernden Stimulation durch ein Antigen oder in einem fehlenden regulierenden Mechanismus zur Hemmung der aktivierten B-Zellen haben (Tipold et al., 1994).

6 KLINISCHE BEDEUTUNG DES LIQUORPROTEINPROFILS IN DER HUMANMEDIZIN

6.1 Blut-Hirn-Schrankenfunktion

Der Albuminquotient wird heutzutage allgemein als Maß der Blut-Hirn-Schrankenfunktion anerkannt (Schliep und Felgenhauer, 1978; Blennow et al., 1994) und wurde von einer europäischen Expertengruppe als der beste Indikator einer Blut-Hirn-Schrankenstörung akzeptiert (Andersson et al., 1994).

Erkrankungen, die mit einer reinen Schrankenstörung ohne lokaler Immunglobulinsynthese einhergehen, sind:

- Initialstadium akuter Meningitiden,
- Hirntraumen,
- Polyneuropathien (Ausnahmen: akute Neuroborreliose, paraneoplastische Polyneuropathien),
- Infarkte (Ausnahmen: Infarkte bei septischer Embolie und Arteriitis),
- Primäre Hirntumore (Ausnahmen: Dysgerminom, Non-Hodgkin-Lymphom, operierte Tumore),
- Systematrophien des Nervensystems und atrophisierende Prozesse des Großhirns (Felgenhauer, 1999).

Die Feststellung einer Schrankenstörung alleine ist ein eher unspezifischer Indikator pathologischer ZNS-Prozesse. Der Schweregrad der Störung besitzt allerdings eine gewisse differenzialdiagnostische Bedeutung (Wick et al., 1987):

Tabelle 9: Blut-Hirn-Schranke bei entzündlichen Erkrankungen des ZNS (Felgenhauer, 1999)

| Schrankenstörung Albuminquotient x 10 ⁻³ | Keine | Leicht | Mittel | Schwer | |
|--|-------|--------|--------|--------|-------|
| | < 8 | 8-20 | 20-50 | 50-100 | > 100 |
| SSPE (n = 8) | 100% | | | | |
| Varizellenenzephalitis (n = 12) | 92% | 8% | | | |
| HIV-Enzephalitis (n = 13) | 85% | 15% | | | |
| Neurosyphilis (n = 16) | 75% | 25% | | | |
| Multiple Sklerose (n = 155) | 72% | 28% | | | |
| Zosterganglionitis (n = 87) | 72% | 28% | | | |
| Adrenoleukodystrophie (n = 26) | 70% | 30% | | | |
| Kollagenosen (n = 26) | 62% | 38% | | | |
| Herpesenzephalitis (n = 16) | 46% | 54% | | | |
| Virusmeningitis (n = 121) | 63% | 32% | 5% | | |
| Opportunistische Infektionen (n = 25) | 48% | 44% | 8% | | |
| Neurosarkoidose (n = 6) | 33% | 16% | 51% | | |
| Guillain-Barré-Syndrom (n = 60) | 22% | 42% | 32% | 4% | |
| Neuroborreliose (n = 54) | 19% | 44% | 33% | 4% | |
| Bakterielle Meningitis: | | | | | |
| • Meningokokken (n = 18) | | | 43% | 43% | 14% |
| • Pneumokokken (n = 21) | | | 38% | 31% | 31% |
| • Mycobact. tuberculosis (n = 21) | | | 42% | 16% | 42% |

Wick et al. (1987) zählen zu den ZNS-Erkrankungen mit leichter Schrankenstörung (Albuminquotienten von $7,5 - 10 \times 10^{-3}$):

- Enzephalitiden
- Multiple Sklerose (10 – 20% der Patienten)
- Tumore
- Degenerative Erkrankungen

mit mittelschwerer Schrankenstörung (Albuminquotienten von $10 - 30 \times 10^{-3}$):

- Virale Meningitiden und Meningoenzephalitiden
- Meningoradikulitis Bannwarth
- Neurosyphilis
- Tumore
- Blutungen
- Polyradikulitis
- Vaskulitis

mit schwerer Schrankenstörung (Albuminquotienten $> 30 \times 10^{-3}$):

- Eitrige Meningitis
- Tbc-Meningitis
- Intraspinale Raumforderungen
- Polyradikulitis
- Guillain-Barré-Syndrom
- Subarachnoidalblutung.

6.2 Intrathekale IgG-Produktion

Bereits 1948 wurde von Kabat et al. postuliert, dass es bei bestimmten Krankheiten eine extravaskuläre Quelle für das Liquor-IgG unabhängig vom Serum-IgG geben muss. Besonderes Augenmerk richtete er dabei auf die Multiple Sklerose. Weitergehende Untersuchungen bestätigten, dass bei Multipler Sklerose eine

intrathekale IgG-Produktion stattfindet (Kabat et al., 1950; Frick und Scheid-Seydel, 1958 b; Lippincott et al., 1965; Link, 1967; Cutler et al., 1970; Laterre et al., 1970; Link und Müller, 1971; Schliep und Felgenhauer, 1978). Das für Multiple Sklerose typische Liquorproteinprofil besteht in einer Erhöhung des IgG-Gehalts. Diese Erhöhung wird jedoch nicht, oder nur geringgradig im Blut gesehen. Für die Praxis gilt, dass, Neurosyphilis ausgenommen, Multiple Sklerose mit Abstand die häufigste Ursache für eine IgG-Synthese im ZNS ist (Tourtellotte, 1970).

Der Nachweis einer intrathekalen IgG-Produktion bei intakter oder nur geringgradig gestörter Blut-Hirn-Schranke hat eine sehr hohe diagnostische Bedeutung für Multiple Sklerose (Felgenhauer, 1982). Dazu stehen grundsätzlich zwei Möglichkeiten zur Verfügung: zum einen der quantitative Nachweis mit Hilfe eines der zahlreich entwickelten mathematischen Modelle und zum andern der qualitative Nachweis oligoklonaler Banden mittels Elektrophorese oder isoelektrischer Fokussierung.

Mathematische Modelle auf der Basis theoretischer Überlegungen und empirischer Erkenntnisse sind von verschiedenen Autoren entwickelt worden: Modelle nach Reiber (1979 und 1995 a) und Reiber und Felgenhauer (1987), Intrathekale Syntheserate nach Tourtellotte (1975), IgG-Index nach Link und Tibbling (Tibbling et al., 1977), IgG extended index (Öhman et al., 1989), Log IgG-Index (Luxton et al., 1990), Modell nach Schuller (Schuller et al., 1987), IGGPROD (Blennow et al., 1993 c). Davon werden in der Humanmedizin in der Routinediagnostik die Intrathekale Syntheserate nach Tourtellotte, das Modell nach Reiber und Felgenhauer und der IgG-Index nach Link und Tibbling verbreitet angewendet (Wick et al., 1987).

Beim qualitativen Nachweis oligoklonaler Banden wird die isoelektrische Fokussierung der Elektrophorese vorgezogen, da sie eine höhere Empfindlichkeit und eine wegen der höheren Trennschärfe klarere Interpretierbarkeit der Ergebnisse zeigt (Wick et al., 1987). Delmotte und Gonsette (1977) und Livrea et al. (1981) schreiben dieser Methode eine hohe Spezifität und eine hohe Sensitivität zu. Andere Autoren halten die isoelektrische Fokussierung für die zurzeit sensitivste Nachweismethode für oligoklonale Immunglobulinbanden (Laurenzi und Link, 1978; Schipper et al., 1984;

Andersson et al., 1994) oder sprechen ihr bei der Diagnose Multiple Sklerose den höchsten diagnostischen Wert zu, um oligoklonale IgG-Banden im Liquor nachzuweisen (Poloni et al., 1979).

Eine europäische Expertengruppe für Multiple Sklerose empfiehlt die Kombination aus quantitativem und qualitativem Nachweis. Sie erarbeitete einen Konsens über die wichtigsten Methoden in der Liquordiagnostik, um Multiple Sklerose nachzuweisen: neben der Zellzählung und –differenzierung sind dies die Gesamtproteinbestimmung im Liquor, die Albumin- und Immunglobulinbestimmung in Liquor und Serum und der qualitative Nachweis oligoklonaler Immunglobulinbanden im Liquor durch isoelektrische Fokussierung (Andersson et al., 1994).

Intrathekale IgG-Synthese wird aber auch bei anderen Krankheiten des zentralen Nervensystems gesehen, wie zum Beispiel bei akuter und chronischer Meningoenzephalitis (Kabat et al., 1950), SSPE (Cutler et al., 1967 b; Link et al., 1972; Schliep und Felgenhauer, 1978; Tourtellotte et al., 1981; Silva et al., 1981 und 1985), Neurosyphilis (Schliep und Felgenhauer, 1978; Vartdal et al., 1982), tuberkulöser Meningitis (Prabhakar et al., 1990), FSME (Kaiser und Holzmann, 2000), bei Patienten mit systemischem Lupus erythematosus und ZNS-Disfunktion (Winfield et al., 1983; Hirohata et al., 1985) und bei Bandscheibenvorfall (Rao und Boker, 1987). Einen Überblick gibt auch Tabelle 9:

Tabelle 10: Vorkommen humoraler Immunantworten im Liquor cerebrospinalis des Menschen bei unterschiedlichen entzündlichen ZNS-Prozessen (Wick et al., 1987)

| Humorale intrathekale Immunreaktion | |
|---|---|
| ohne Schrankenstörung | mit Schrankenstörung |
| <ul style="list-style-type: none"> • Multiple Sklerose • Chronische Enzephalitiden einschließlich „slow-virus“-Infektionen • Neurosyphilis (parenchymatöse Formen) • Chronische Lyme-Borreliose | <ul style="list-style-type: none"> • Virale Meningoenzephalitiden • Meningoradikulitis Bannwarth • Tbc-Meningitis • Neurosyphilis (meningovaskuläre Formen) • Sarkoidose mit ZNS-Befall • Kollagenosen mit ZNS-Befall |

7 KLINISCHE BEDEUTUNG DES LIQUORPROTEINPROFILS IN DER TIERMEDIZIN, INSBESONDERE BEIM HUND

7.1 Blut-Hirn-Schrankenfunktion

Auch in der Tiermedizin findet der Albuminquotient als Maß der Blut-Hirn-Schrankenfunktion Verwendung, beispielsweise beim Meerschweinchen als Labortier (Suckling et al., 1984), beim Rind (Schlote, 1988), beim Pferd (Andrews et al., 1990 und 1995; Miller et al., 1999) und Fohlen (Andrews et al., 1994).

Beim Hund wird von vielen Autoren allein der Albumingehalt im Liquor als Indikator einer Blut-Hirn-Schrankenstörung verwendet (Bichsel et al., 1984; Vandeveldel et al., 1986; Sorjonen et al., 1989), seltener der Albuminquotient (Sorjonen, 1987).

Blut-Hirn-Schrankenstörungen wurden beim Hund bei folgenden Erkrankungen festgestellt:

- Entzündung:
 - Staupe: leichte Schrankenstörung bei akuter und chronischer Form (Bichsel et al., 1984); leichte Schrankenstörung bei chronischer, leichte bis mittlere Schrankenstörung bei akuter Form (Sorjonen et al., 1989); keine bis leichte Schrankenstörung (Sorjonen, 1987); leichte Schrankenstörung bei entzündlicher Demyelinisierung, nicht aber bei nicht-entzündlicher Demyelinisierung (Vandeveldel et al., 1986)
 - GME: schwere Schrankenstörung (Bichsel et al., 1984; Sorjonen, 1987)
 - Metastatische eitrige Enzephalitis: schwere Schrankenstörung (Bichsel et al., 1984)
- ZNS-Tumor: schwere Schrankenstörung (Bichsel et al., 1984; Sorjonen, 1987)
- Degenerative Myelopathie: mittlere Schrankenstörung (Bichsel et al., 1984)
- Rückenmarkskompression: leichte Schrankenstörung (Bichsel et al., 1984; Sorjonen, 1987).

Referenzwerte für den Liquoralbumingehalt sind in Tabelle 3, Kapitel 5.1 und Referenzwerte für den Albuminquotienten in Tabelle 8, Kapitel 5.2 angegeben.

7.2 Intrathekale IgG-Produktion

Da nicht alle Infektionen oder Entzündungen im Zentralnervensystem mit einer Pleozytose einhergehen, bietet in diesen Fällen der Nachweis einer intrathekalen IgG-Produktion große diagnostische Hilfe (Bichsel et al., 1984; Tipold et al., 1993). Die Differenzierung verschiedener Formen oder Akuitätsstadien von Krankheiten, wie beispielsweise der Staupe, wird durch die Bestimmung des IgG-Index erleichtert (Bichsel et al., 1984; Vandeveldde 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).

Ähnlichkeiten in der humoralen neuroimmunologischen Reaktion von bestimmten Tieren und dem Menschen, lassen diese Tiere als nützliche Modelle zur Erforschung der intrathekalen humoralen Immunantwort erscheinen. Ähnlichkeiten bestehen beispielsweise zwischen „experimental allergic encephalomyelitis“ (EAE) bei Kaninchen (Whitacre et al., 1981), Meerschweinchen (Mehta et al., 1981; Iivanainen et al., 1982; Rostami et al., 1982), Lewis-Ratten (Whittaker und Whitacre, 1984) und Rhesusaffen (Chu et al., 1984) und Multipler Sklerose. Auch zwischen Hund und Mensch werden bei chronischer Staupeenzephalitis („delayed-onset canine distemper“) und SSPE (Johnson et al., 1988) und bei steroidresponsiver Meningitis und verschiedenen vermutlich immunmedierten Krankheiten (Tipold et al., 1994) ähnliche immunologische Reaktionen im Zentralnervensystem gesehen.

Als mathematisches Modell zum Nachweis einer intrathekalen IgG-Produktion wird in der Tiermedizin der IgG-Index nach Link und Tibbling (Tibbling et al., 1977) verwendet. Für den Hund wurden von verschiedenen Autoren Referenzwerte bestimmt:

Tabelle 11: Referenzwerte für den IgG-Index beim Hund

| IgG-Index | Methode | Probenanzahl | Literatur |
|---|-------------------------------|---------------------|----------------------|
| 0,38 ± 0,24 ¹ 0,15 – 0,9 ² | Rocket-Immunelektrophorese | 21 | Bichsel et al., 1984 |
| 0,6 ± 0,1 ¹ | Single radial immunodiffusion | 9 | Johnson et al., 1988 |
| 0,7 ± 0,3 ¹ 0,2 – 1,3 ² | ELISA | 23 | Tipold et al., 1993 |
| 0,4 ± 0,3 ³ 0,31 – 1,01 ² | Nephelometrie | 19 | Fischer et al., 1999 |

¹: Mittelwert ± Standardabweichung

²: (min – max)

³: Mittelwert ± doppelte Standardabweichung

Beim Hund wird eine intrathekale IgG-Produktion bei den folgenden Erkrankungen des Zentralnervensystems beschrieben:

- Entzündung:
 - Staupe: Cutler und Averill (1969) und Sorjonen (1987) beschreiben eine deutliche Erhöhung der IgG-Konzentration im Liquor von Hunden mit Staupe. Sorjonen et al. (1989) unterscheiden Leukenzephalomyelopathie (LEM) und Polioenzephalomyelopathie (PEM) als Resultat einer Staupe. Sie sehen eine Erhöhung der IgG-Konzentration im Liquor von Hunden mit LEM, aber nicht bei Hunden mit PEM. Diese Autoren vermuten, dass die erhöhte IgG-Konzentration intrathekalen Ursprungs ist. Bichsel et al. (1984), Johnson et al. (1988) und Tipold et al. (1993 und 1994) stellen einen erhöhten IgG-Index bei Hunden mit chronischer Staupe fest, während er bei Hunden mit akuter Staupe nicht oder in wenigen Fällen nur mild erhöht ist. Vandavelde et al. (1986) sehen die IgG-Index-Erhöhung bei Staupe-Infektionen mit entzündlicher Demyelinisierung im Gegensatz zu nicht-entzündlicher Demyelinisierung.

- GME: Sorjonen (1987) schreibt, die von ihm festgestellte Erhöhung der IgG-Konzentration im Liquor könnte eine intrathekale Produktion darstellen. Andere Autoren zeigen eine Erhöhung des IgG-Index bei GME (Bichsel et al., 1984; Tipold et al., 1993 und 1994).
- Steroidresponsive Meningitis (SRM): Tipold et al. (1993 und 1994) sehen erhöhte IgG-Indizes bei SRM.
- Andere: Ferner wurden bei Protozoen-Enzephalitiden (Bichsel et al., 1984; Tipold et al., 1993 und 1994), Mitteleuropäischer Zeckenzephalitis, viralen Enzephalitiden unbekannter Ursache, bakteriellen Enzephalitiden (Tipold et al., 1993 und 1994), sowie bei Gehirn-Abszess und akuter und chronischer Polyradikuloneuritis (Tipold et al., 1993) erhöhte IgG-Indizes beobachtet.
- Tumor: Die Erhöhung der IgG-Konzentration im Liquor bei einem hochgradig invasiven nasalen Karzinom, einem metastatischen Karzinom im Kleinhirn und einem zerebralen Meningeom mit deutlicher Entzündungsreaktion könnten bedeuten, dass bei einigen Tumoren intrathekale IgG-Produktion auftritt (Sorjonen, 1987). Bichsel et al. (1984) stellen eine Erhöhung des IgG-Index bei einem Meningeom mit deutlicher Entzündungsreaktion, einem Lymphosarkom und einem Oligodendrogliom, Tipold et al. (1993) bei einem Lymphom, einer Histiozytosis X und zwei Meningeomen mit Entzündungsreaktion fest.
- Rückenmarkskompression: Der IgG-Index kann geringgradig erhöht sein (Tipold et al., 1993).
- Degenerative Erkrankungen: Bichsel et al. (1984) beschreiben einen Fall von degenerativer Myelopathie mit IgG-Index-Erhöhung.
- Vaskuläre Erkrankungen: Bei ischämischer Myelopathie durch fibrocartilaginöse Embolie kann eine IgG-Index-Erhöhung auftreten (Bichsel et al., 1984; Tipold et al., 1993).

ZNS-Tumore, degenerative Erkrankungen, Rückenmarkskompression und vaskuläre Erkrankungen haben normale oder nur leicht erhöhte IgG-Indizes (Bichsel et al., 1984; Tipold et al., 1993).

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1 MATERIAL UND METHODIK

1.1 Material

Untersucht wurden für diese Arbeit 122 Liquor-Serum-Paare neurologisch erkrankter Hunde, die eindeutig einer der unter 1.1.1 angegebenen Krankheitsgruppen zugeordnet werden konnten. Die Liquor-Serum-Paare wurden im Rahmen der neurologischen Diagnostik im Zeitraum 13.11.1998 bis 14.12.2000 entnommen. Die untersuchten Hunde sind unterschiedlicher Rasse, unterschiedlichen Alters und unterschiedlichen Geschlechts. Sie stammen aus dem Patientengut der Medizinischen Tierklinik (n = 62) und der Chirurgischen Tierklinik (n = 58) der Ludwig-Maximilians-Universität München und der privaten Tierarztpraxis von Dr. Thomas Gödde (n = 2).

Alle Hunde wurden einer klinischen und einer neurologischen Untersuchung unterzogen, desweiteren wurden das Blutbild, charakteristische Serumwerte, der Harnstatus und im Einzelfall weitere differenzialdiagnostisch relevante Parameter bestimmt. Zusätzlich wurden bei einzelnen Hunden, abhängig von den vorhandenen Problemen und Befunden, die verschiedenen bildgebende Verfahren, Röntgen, Sonographie, Computertomographie und Kernspintomographie angewandt.

Die routinemäßige Liquoruntersuchung bestand aus Zellzahlbestimmung in der Zählkammer nach Fuchs-Rosenthal, Zelldifferenzierung (durchgeführt im Institut für Neuropathologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München), Pandyprobe und Gesamtproteinbestimmung am Nephelometer.

1.1.1 Einteilung nach Krankheitsgruppen

Die 122 Hunde wurden fünf verschiedenen für die neurologische Diagnostik relevanten Krankheitsgruppen zugeordnet. Die der Einteilung zugrunde liegenden Diagnosestandards sind im folgenden angegeben.

- **Entzündung**

Dieser Krankheitsgruppe wurden 33 Hunde zugeordnet. Bei diesen Hunden wurde eine erhöhte Zellzahl im Liquor (> 5 Leukozyten/ μl) festgestellt und/oder die Entzündung wurde durch die histopathologische Untersuchung des Gehirns nachgewiesen. In drei Fällen in denen die Zellzahl im Referenzbereich lag und in einem Fall, in dem keine Zellzahlbestimmung vorlag, wurde die Zuordnung aufgrund der typischen klinischen Symptomatik und des diagnostischen Ausschlussverfahrens auch ohne histopathologischer Untersuchung ausreichend abgesichert. Es handelte sich um drei White-Dog-Shaker-Diseases und eine Polyradikulitis.

Morphologisch lagen im einzelnen vor: gemischtzellige Entzündungen ($n = 13$), lymphozytäre Entzündungen ($n = 9$), granulozytäre Entzündungen ($n = 5$) und lympho-monozytäre Entzündungen ($n = 5$) des Gehirns. Bei einem Hund lag keine Zelldifferenzierung vor.

Eine ätiologische Diagnose lag in 15 Fällen vor. So waren unter den 13 gemischtzelligen Entzündungen zwei granulomatöse Meningoenzephalitiden (GME) und zwei steroid-responsive Meningitiden-Arteriitiden (SRMA), unter den neun lymphozytären Entzündungen befanden sich drei Frühsommer-Meningoenzephalitiden (FSME) und drei White-Dog-Shaker-Diseases und unter den fünf lympho-monozytären Entzündungen vier Staupeenzephalitiden. In dem Fall der fehlenden morphologischen Diagnose konnte eine Polyradikulitis nachgewiesen werden.

- **Tumor**

Dieser Krankheitsgruppe wurden elf Hunde zugeordnet. Die Diagnosen basierten auf den Befunden der makroskopischen und histopathologischen Untersuchung des Gehirns oder Rückenmarks. Alle elf Hunde litten an einem Tumor im Gehirn.

Bei den Hunden, bei denen eine histopathologische Untersuchung der veränderten Gehirnstruktur durchgeführt wurde, konnten nachgewiesen werden: malignes Lymphom (n = 3), Gliom (n = 1), Hypophysentumor (n = 1), Ependymom (n = 1), Okulomotorius-Neurinom (n = 1), Plexuskarzinom (n = 1) und Metastasen eines primären Lungentumors (n = 1).

- **Bandscheibenvorfall**

Dieser Krankheitsgruppe wurden 37 Hunde zugeordnet. Der Befund basierte auf Myelographie, Computertomographie oder pathologischer und histopathologischer Untersuchung des Rückenmarks.

- **Orthopädische Krankheiten**

Dieser Krankheitsgruppe wurden 20 Hunde zugeordnet. Durch Röntgenuntersuchungen des Bewegungsapparats wurden zum Beispiel Coxarthrosen, Frakturen, Luxationen oder Osteolysen festgestellt. Auf eine genauere Differenzierung dieser Krankheitsgruppe wurde im Rahmen dieser Arbeit verzichtet.

- **Idiopathische Epilepsie**

Die idiopathische Epilepsie wurde bei 21 Hunden diagnostiziert. Bei diesen Hunden konnte eine ZNS-Entzündung oder ein Gehirntumor differenzialdiagnostisch ausgeschlossen werden, da weder Zellzahlerhöhungen im Liquor noch Auffälligkeiten im Computertomogramm des Gehirns vorhanden waren. Besondere Beachtung fanden aber auch Alter und Rasse, sowie Krankheitsverlauf dieser Hunde.

1.1.2 Probengewinnung

1.1.2.1 Liquor

Der Liquor wurde atlantooccipital entnommen. Die Hunde befanden sich während der Liquorpunktion in Narkose. Die Narkoseeinleitung erfolgte mit Diazepam und Propofol und wurde teilweise mit Propofol, teilweise mit Isofluran (Inhalationsnarkose, Isofluran/ Sauerstoff) aufrechterhalten. Die Hunde wurden in rechte Seitenlage gelegt, anschließend der Bereich zwischen Protuberantia occipitalis und den Atlasflügeln ausgeschoren, mit Alkohol gereinigt und desinfiziert. Die Liquorpunktion erfolgte grundsätzlich unter sterilen Kautelen. Der Kopf des Hundes wurde von einem Helfer im rechten Winkel ventroflexiert und leicht nach kranial gezogen, wobei sich die Wirbelsäule parallel zum Behandlungstisch befand. Die Punktionsstelle liegt auf der Schnittstelle der Verbindungslinie der cranialen Atlasflügel und der darauf gebildeten Senkrechten durch die Protuberantia occipitalis. Man schiebt die Liquorpunktionskanüle mit Mandrin (Spinocan[®], Firma Braun, Melsungen, 0,73 x 75 mm/ 22G x 3'') millimeterweise senkrecht zur Haut durch die Muskulatur vor, bis man die Cisterna magna erreicht. Dann wird der Mandrin gezogen und der Liquor tropft ab. Bestand am Anfang eine geringe Blutbeimengung, wurden die ersten Tropfen verworfen, bis der Liquor klar erschien. Der Liquor wurde steril mit einer 5ml-Spritze (Lot.Nr. 98F 0801 AR, Firma Braun, Melsungen) aufgefangen. Um Blutungen zu vermeiden, wurde nicht aspiriert. Man konnte gefahrlos zwei Milliliter Liquor abtropfen lassen, bei größeren Hunden bis zu drei Milliliter.

Der Liquor wurde sofort weiterverarbeitet. 600 µl wurden für eine Zelldifferenzierung ins Institut für Neuropathologie der Tierärztlichen Fakultät der LMU München, Vorstand Prof. Dr. Schmahl, geschickt.

Im Labor der Medizinischen Tierklinik der LMU München wurde die Pandy-Probe und Zellzählung (Erythrozyten und Leukozyten) durchgeführt. Der restliche Liquor wurde in Aliquots zu je 300 µl portioniert und gekühlt gelagert.

1.1.2.2 Serum

Zur Serumgewinnung wurde venöses Blut aus der Vena cephalica antebrachii oder der Vena saphena lateralis verwendet. Dazu wurde im Bereich der Punktionsstelle das Fell rasiert, die Hautstelle mit Alkohol gereinigt und desinfiziert. Das Blut wurde dann entweder mit einer Punktionskanüle (Sterican[®], Firma Braun, Melsungen, 0,90 x 40 mm/ 20G x 1 1/2“) oder einer Braunüle (Vasofix[®], Firma Braun, Melsungen, 1,1 x 33 mm/ 20G 1 1/4“ oder 0,9 x 25 mm/ 22 G 1“) in ein Serumröhrchen (5 ml, Firma Sarstedt, Nürnberg) entnommen, zentrifugiert und das Serum in Aliquots zu je 300 µl portioniert und gekühlt gelagert.

1.1.3 Probenlagerung

Jeweils eines der Liquor- bzw. Serumprobengefäße (Reaktionsgefäß 1,5 ml mit Deckel, Firma Seidel Medizin-Technik, Buchendorf) wurde bis zur Bestimmung des Gesamtproteins und des Albumin- und IgG-Gehaltes am Nephelometer innerhalb von einer Woche ab Probengewinnung im Kühlschrank bei 4°C gelagert. Die restlichen Aliquots (Mikroröhre 2 ml mit Verschuß Nr. 72.693, Firma Sarstedt, Nürnberg) wurden bei -20°C bzw. -70°C tiefgefroren.

1.1.4 Geräte und Lösungen

1.1.4.1 Nephelometrie

Zur Ausstattung dieser Messmethode gehören die folgenden Geräte und Reagenzien:

- Nephelometer BN 100 (Firma Behringwerke AG, Marburg)
- N-Reaktionspuffer für die Nephelometrie (Behringwerke AG, Marburg, OUMS 60/61)
- N-Diluens für die Nephelometrie (Behringwerke AG, Marburg, OUMT 60/61)
- BN-Additiv-Waschlösung (Behringwerke AG, Marburg, OQKY 61)
- N-Probenmagazine (Behringwerke AG, Marburg, OVCM 30)
- NA-Küvettensegmente (Behringwerke AG, Marburg, OVCM 10/11)

- 20%ige Trichloressigsäure, Art.-Nr. 1.09415.0500 (Firma Bender & Hobein, München)
- Sheep anti-Dog IgG-heavy chain specific, Lot Number A40-118-4, Bethyl Laboratories, Inc. (Paesel & Lorei, Hanau)
- Goat anti-Dog Albumin, Lot Number A40-113-2, Bethyl Laboratories, Inc. (Firma Paesel & Lorei, Hanau)
- N-Protein-Standard SY (Behringwerke AG, Marburg, OQIM 13)
- Dog IgG, Purified Immunoglobulin (Nr. I-4006, Firma Sigma, München), Kalibration
- Dog Albumin, Fatty Acid Free (Nr. A-3184, Firma Sigma, München), Kalibration
- N/T-Protein-Kontrolle SL/L (Behringwerke AG, Marburg, OQIN 13)
- Hunde IgG (Nr. 004-0102, Firma Rockland, Gilbertsville), Kontrolle
- Hunde Albumin (Firma Sigma, München), Kontrolle
- Aqua bidest. (Firma Spicker, München)
- 0,9%ige NaCl-Lösung
- Hubkolbenpipette
- Pipettenspitzen

1.2 Methodik

1.2.1 Nephelometrie

1.2.1.1 Vorbereitung von Proben, Standards, Kontrollen und Präzipitationsmitteln

Als Proben wurden die im Laufe einer Woche gesammelten Liquor-Serum-Paare von Hunden mit neurologischer Symptomatik verwendet. Als Standards dienten für die Gesamtproteinbestimmung im Liquor flüssiger Humanliquor (74,2 g/l Gesamtprotein), für die IgG-Bestimmung Hunde-IgG (1000 mg/l) und für die Albuminbestimmung Hundalbumin (2500 mg/dl). Dazu wurde im Vorfeld lyophilisiertes Hunde-IgG in der entsprechenden Menge 0,9%iger NaCl-Lösung bzw. lyophilisiertes Hundalbumin in der entsprechenden Menge Aqua bidest. gelöst und in Aliquots zu 200 µl bei -20°C eingefroren. Zur Kontrolle wurden die Human-Proteinstandards der Firma Sigma

(15 mg/dl, 30 mg/dl und 50 mg/dl Gesamtprotein), Hunde-IgG (1000 mg/l), Hundalbumin (2500 mg/dl) ein Hundeliquorpool und ein Hundeserumpool verwendet. Die Pools wurden im Vorfeld aus nicht mehr benötigten Liquor-beziehungsweise Serumproben, die im Rahmen der Routinediagnostik ins Labor der I. MTK gesendet wurden, gebildet und in Aliquots zu 300 µl bei -20°C eingefroren. Die Mengen von 200 bzw. 300 µl sind erforderlich, um ein luftblasenfreies und damit fehlerfreies Pipettieren des Nephelometers gewährleisten zu können. Präzipitationsmittel waren 20%ige Trichloressigsäure für die Gesamtprotein-, schwere Ketten spezifisches Anti-Hunde-IgG für die IgG- und Anti-Hundalbumin für die Albuminbestimmung. Der Standard und die Kontrollen für die Gesamtproteinbestimmung, sowie die Präzipitationsmittel wurden im Kühlschrank (4°C) aufbewahrt. Die eingefrorenen Proben, Standards und Kontrollen wurden im Kühlschrank aufgetaut und dann wie die dort gelagerten Materialien auf Zimmertemperatur erwärmt. Um Trübungen durch Kryoglobuline auszuschließen wurden die eingefrorenen Proben grundsätzlich bei 3000 Umdrehungen pro Minute fünf Minuten lang zentrifugiert und nur der Überstand weiterverwendet. Kryoglobuline, bei denen es sich um beim Einfrieren und Wiederauftauen entstehende Ausfällungen handelt, führen zur Trübung der Lösung, damit zu verstärkter Streuung von Licht und letztendlich zu erhöhten Messergebnissen.

1.2.1.2 Kalibration

Um exakte, vergleichbare Messergebnisse zu gewährleisten, wurden die Eichkurven des Nephelometers für die Gesamtprotein-, IgG- und Albuminmessung vor jeder Messserie, das heißt alle sieben Tage, neu erstellt.

1.2.1.2.1 Gesamtprotein

Für die Erstellung der Eichkurve wurde der N-Protein-Standard SY der Behringwerke AG, Marburg verwendet. Er enthält 7420 mg/dl Gesamtprotein. Als Fällungsmittel diente 20%ige Trichloressigsäure. Damit wurde die Referenzkurve vollautomatisch erstellt.

Dazu wurden die vom Nephelometer berechneten Mengen an Proteinstandard und Trichloressigsäure in das entsprechende Probengefäß der Standardserenkassette beziehungsweise der Reagenzienkassette pipettiert. Vom Nephelometer wurden selbständig sieben Verdünnungen des Liquorstandards mit N-Diluens von 1:20 bis 1:1280 anhand eines Messprogramms hergestellt, die Proteinkonzentrationen 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, 1:320, 1:640 und 1:1280 des humanmedizinischen Messprogramms wurden dabei übernommen. Damit lag der Messbereich bei 5,8 – 320 mg/dl Gesamtprotein.

1.2.1.2.2 Albumin

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

Dazu wurden die vom Nephelometer berechneten Mengen an Albuminstandard und Präzipitationsmittel 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 in das Messprogramm des Nephelometers einprogrammiert, da keine entsprechende Vorgabe des für die Humanmedizin entwickelten Standardmessprogramms vorhanden war. Damit lag der Messbereich bei 1,9 – 31 mg/dl Albumin.

1.2.1.2.3 IgG

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

Dazu wurden die vom Nephelometer berechneten Mengen an IgG-Standard und Präzipitationsmittel 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 in das Messprogramm des Nephelometers einprogrammiert, da keine entsprechende Vorgabe des für die Humanmedizin entwickelten Standardmessprogramms vorhanden war. Damit lag der Messbereich bei 3,1 – 50 mg/l IgG.

1.2.1.3 Kontrollmessungen

Um die Genauigkeit der verwendeten Messmethode zu bestimmen und während der gesamten Studiendauer zu gewährleisten, wurden verschiedene Kontrollverfahren durchgeführt:

1.2.1.3.1 Wiederfindung

Von einem IgG- beziehungsweise Albuminstandard mit bekannter Konzentration wurden Verdünnungsreihen angefertigt und im Nephelometer gemessen. Die gemessenen Werte durften um höchstens zehn Prozent von den tatsächlichen Werten abweichen. Verwendet wurden hierzu ein Hunde-IgG-Standard der Firma Rockland, Gilbertsville in einer Konzentration von 7000 mg/l und ein

Hundealbuminstandard der Firma Sigma, München in einer Konzentration von 2500 mg/dl.

1.2.1.3.2 Präzisionskontrollen in Serie

Von einer Liquorprobe wurde zehn Mal direkt hintereinander die IgG- und Albuminkonzentration gemessen. Von den gemessenen Werten wurden Mittelwerte, Minima, Maxima, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten (Standardabweichung x 100 / Mittelwert) bestimmt. Die Variationskoeffizienten, bezogen auf Mittelwert und Standardabweichung, durften höchstens zehn Prozent betragen.

1.2.1.3.3 Präzisionskontrollen von Tag zu Tag

Die IgG- und Albuminkonzentration einer Liquor- und einer Serumprobe wurden an zehn verschiedenen Tagen gemessen. Auch in diesem Fall wurden Mittelwerte, Minima, Maxima, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten (Standardabweichung x 100 / Mittelwert) bestimmt. Die Variationskoeffizienten, bezogen auf Mittelwert und Standardabweichung, durften höchstens zehn Prozent betragen.

1.2.1.3.4 Richtigkeitskontrollen

Vor der Probenmessung wurde grundsätzlich eine Messung von Kontrollen durchgeführt. Als Kontrollen dienten die Human-Proteinstandards der Firma Sigma, München mit 15 mg/dl, 30 mg/dl und 50 mg/dl, canines IgG der Firma Rockland, Gilbertsville in einer Konzentration von 1000 mg/l und canines Albumin der Firma Sigma, München in einer Konzentration von 2500 mg/dl. Wenn der Messwert der Kontrollen um mehr als zehn Prozent vom Sollwert ab, wurde die Messung wiederholt. Zusätzlich wurden vor jeder Probenmessung die IgG-, Albumin- und Gesamtproteinkonzentration eines Aliquots aus einem Pool von Hundeliquor und die IgG- und Albuminkonzentration eines Aliquots aus einem Pool von Hundeserum bestimmt. Die prozentualen Abweichungen dieser Konzentrationen von zuvor durch

zehnmaliges Messen hintereinander erhaltenen Durchschnittskonzentrationen durften ebenfalls zehn Prozent nicht überschreiten.

1.2.1.4 Messung der Liquor- und Serumproben

Das vollautomatische Messprogramm des Nephelometers wurde um die Möglichkeit der IgG- und Albuminbestimmung aus Liquor und Serum beim Hund 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. Die Messung verlief folgendermaßen:

Zunächst erfolgte die Eingabe der Probenanzahl und der zu bestimmenden Parameter. 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 gespült. Die Reaktionsansätze wurden in den optischen Strahlengang gedreht und gemessen.

Die Messung erfolgte nach der sogenannten Fixed-Time-Methode. Das ist eine Bestimmungsmethode, die sich aus der Differenzbildung zweier zeitlich versetzt gewonnener Messwerte zusammensetzt. Nach Pipettierung aller Reaktionspartner in

die Messküvette wurde der erste Messwert (Gesamtblindwert) nach etwa zehn Sekunden ermittelt. Der zweite Messwert wurde nach einer Inkubationszeit von sechs Minuten erfasst. Die aus diesen Messwerten ermittelte Streulichtzunahme wurde vom Terminal aufbereitet und in der entsprechenden Konzentrationseinheit ausgegeben.

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 wurden 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.

1.2.2 Auswertung der Messergebnisse

Als Messergebnisse des Nephelometers lagen der Gesamtproteingehalt des Liquors sowie der IgG- und Albumingehalt von Liquor und Serum vor.

1.2.2.1 Gesamtprotein

Zur Beurteilung des Gesamtproteingehalts wurde der Referenzbereich aus der Dissertation von Rebel (1999) übernommen. Er beinhaltet Werte ≤ 30 mg/dl.

1.2.2.2 Liquoralbumin

Der hier verwendete Referenzbereich wurde in einer hauseigenen Studie an 19 gesunden Beagles ermittelt. Er beinhaltet Werte $\leq 11,4$ mg/dl (Fischer et al., 1999).

1.2.2.3 Liquor-IgG

Als obere Grenze des Referenzbereichs für den IgG-Gehalt im Liquor wurde 15,3 mg/l aus vorgenannter Studie übernommen (Fischer et al., 1999).

Die IgG- und Albumingehalte von Liquor und Serum wurden in eine Excel-Tabelle übertragen und darin die folgenden zusätzlichen Parameter berechnet.

1.2.2.4 IgG-Quotient

Der IgG-Quotient ist definiert als der Quotient aus IgG-Gehalt im Liquor und IgG-Gehalt im Serum. Er wird im folgenden zur Berechnung des IgG-Index verwendet und hat isoliert betrachtet keine weitere Aussagekraft.

1.2.2.5 Albuminquotient

Der Albuminquotient ist definiert als der Quotient aus Albumingehalt im Liquor und Albumingehalt im Serum. Der Referenzbereich wurde in der hauseigenen Studie an 19 gesunden Beagles ermittelt und beinhaltet Werte $\leq 3,5 \times 10^{-3}$ (Fischer et al., 1999). Der Albuminquotient dient als Indikator für eine Bluthirnschrankenstörung.

1.2.2.6 IgG-Index

Der IgG-Index nach Link und Tibbling (Tibbling et al., 1977) ist definiert als Quotient aus IgG-Quotient und Albuminquotient. Auch dieser Referenzbereich wurde in der schon erwähnten Studie an 19 gesunden Beagles ermittelt und liegt bei Werten $\leq 0,7$ (Fischer et al., 1999). Der IgG-Index dient als Indikator einer intrathekalen IgG-Produktion.

1.2.3 Statistische Auswertung

Die Krankheitsgruppen wurden untereinander in den Parametern Gesamtproteingehalt, Liquoralbumingehalt, Albuminquotient, IgG-Gehalt im Liquor

und IgG-Index verglichen. Dazu wurden die absoluten Werte in Punktwolken 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 dann durch die nichtparametrischen Kruskal-Wallis-Test und Mann-Whitney-Test.

Zusätzlich wurden die Krankheitsgruppen anhand des Anteils ihrer veränderten Werte verglichen. Dazu wurde der Chi-Quadrat-Test, auch Unabhängigkeitstest, angewendet. Der Einzelvergleich der Gruppen untereinander erfolgte mit dem Exakten Test nach Fisher.

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

2 ERGEBNISSE

2.1 Kontrollmessungen

Die Ergebnisse der Kontrollmessungen wurden in eine Excel-Tabelle übertragen und die für die einzelnen Kontrollverfahren relevanten zusätzlichen Parameter bestimmt:

2.1.1 Wiederfindung

Bei der Kontrolle auf Wiederfindung wurden die gemessenen Konzentrationen einer Verdünnungsreihe eines IgG-Standards der Firma Rockland, Gilbertsville und eines Albuminstandards der Firma Sigma, München mit den theoretischen Werten verglichen. Von jeder Verdünnungsstufe wurde die Wiederfindungsgenauigkeit und die prozentuale Abweichung vom Sollwert bestimmt.

Die Wiederfindungsgenauigkeit der IgG-Messungen lag im Mittel bei 101%, die prozentuale Abweichung war nie größer als 10% und lag im Mittel bei 4,7%.

Tabelle 12: Wiederfindung anhand einer Verdünnungsreihe eines IgG-Standards

| Sollwert (mg/l) | Istwert (mg/l) | Wiederfindung | Abweichung |
|------------------------|-----------------------|----------------------|-------------------|
| 7000 | 6981 | 99,7% | 0,3% |
| 3500 | 3709 | 106,0% | 6,0% |
| 1750 | 1745 | 99,7% | 0,3% |
| 875 | 948 | 108,3% | 8,3% |
| 437,5 | 477 | 109,0% | 9,0% |
| 225,8 | 219 | 97,0% | 3,0% |
| 114,8 | 112 | 97,6% | 2,4% |
| 57,9 | 53 | 91,5% | 8,5% |
| Mittelwert | | 101,1% | 4,7% |

Für die Albuminmessungen ergaben die Werte eine mittlere Wiederfindungsgenauigkeit von 101,3% und eine mittlere Abweichung von 4,2%, wobei kein Einzelwert um mehr als 10% vom Sollwert abwich.

Tabelle 13: Wiederfindung anhand einer Verdünnungsreihe eines Albuminstandards

| Sollwert (mg/dl) | Istwert (mg/dl) | Wiederfindung | Abweichung |
|-------------------------|------------------------|----------------------|-------------------|
| 2500 | 2467 | 98,7% | 1,3% |
| 1250 | 1231 | 98,5% | 1,5% |
| 625 | 582 | 93,1% | 6,9% |
| 312,5 | 329,4 | 105,4% | 5,4% |
| 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 | 22,6 | 109,2% | 9,2% |
| 10,4 | 10,8 | 103,8% | 3,8% |
| Mittelwert | | 101,3% | 4,2% |

2.1.2 Präzisionskontrollen in Serie

Die IgG- und Albuminkonzentration einer Liquorprobe wurden zehn Mal direkt hintereinander gemessen. Von den Messergebnissen wurden Mittelwerte, Minima, Maxima, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten bestimmt.

Der Variationskoeffizient für die IgG-Konzentrationen betrug 3,2%, der für die Albuminkonzentrationen 3,4%.

Tabelle 14: Präzision in Serie einer Liquorprobe

| Messung | IgG (mg/l) | Albumin (mg/dl) |
|----------------------------------|-------------------|------------------------|
| 1 | 41 | 15,8 |
| 2 | 42 | 15,9 |
| 3 | 43 | 16,4 |
| 4 | 43 | 15,3 |
| 5 | 45 | 15,4 |
| 6 | 40 | 16,9 |
| 7 | 42 | 15,8 |
| 8 | 42 | 16,4 |
| 9 | 43 | 17 |
| 10 | 44 | 16,1 |
| Mittelwert (mg/l) | 42,5 | 16,1 |
| Minimum (mg/l) | 40 | 15,3 |
| Maximum (mg/l) | 45 | 17 |
| Standardabweichung (mg/l) | 1,4 | 0,5 |
| Variationskoeffizient (%) | 3,2 | 3,4 |

2.1.3 Präzisionskontrollen von Tag zu Tag

Die IgG- und Albuminkonzentration einer Liquor- und einer Serumprobe wurden an zehn verschiedenen Tagen gemessen. Auch davon wurden Mittelwerte, Minima, Maxima, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten bestimmt.

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

Tabelle 15: Präzision einer Liquorprobe von Tag zu Tag

| Datum | IgG (mg/l) | Albumin (mg/dl) |
|----------------------------------|-------------------|------------------------|
| 23.05.00 | 19 | 10,5 |
| 30.05.00 | 19 | 10,7 |
| 06.06.00 | 16 | 10,4 |
| 13.06.00 | 20 | 10 |
| 20.06.00 | 20 | 10,1 |
| 04.07.00 | 19 | 9,9 |
| 12.07.00 | 19 | 10,9 |
| 13.07.00 | 21 | 10,6 |
| 18.07.00 | 20 | 10,2 |
| 27.07.00 | 21 | 10,8 |
| Mittelwert | 19,4 | 10,4 |
| Minimum | 16 | 9,9 |
| Maximum | 21 | 10,9 |
| Standardabweichung | 1,4 | 0,3 |
| Variationskoeffizient (%) | 7,0 | 3,2 |

Bei der Serumprobe ergaben sich Variationskoeffizienten von 5,3% für die IgG-Konzentrationen und 3,1% für die Albuminkonzentrationen.

Tabelle 16: Präzision einer Serumprobe von Tag zu Tag

| Datum | IgG (mg/l) | Albumin (mg/dl) |
|----------------------------------|-------------------|------------------------|
| 23.05.00 | 29420 | 3446 |
| 30.05.00 | 29420 | 3261 |
| 06.06.00 | 30030 | 3498 |
| 13.06.00 | 33000 | 3374 |
| 20.06.00 | 32250 | 3157 |
| 04.07.00 | 31840 | 3200 |
| 12.07.00 | 29800 | 3258 |
| 13.07.00 | 30580 | 3328 |
| 18.07.00 | 31220 | 3398 |
| 27.07.00 | 34700 | 3369 |
| Mittelwert | 31226,0 | 3328,9 |
| Minimum | 29420 | 3157 |
| Maximum | 34700 | 3498 |
| Standardabweichung | 1644,6 | 103,2 |
| Variationskoeffizient (%) | 5,3 | 3,1 |

2.1.4 Richtigkeitskontrollen

Die Messergebnisse der Standards durften um nicht mehr als 10% vom Sollwert abweichen, sonst wurde die Messung wiederholt.

Für den IgG-Standard ergaben sich über den gesamten Messzyklus eine mittlere Wiederfindungsgenauigkeit von 100,2% und eine mittlere Abweichung von 3,7%, wobei kein Einzelwert 10% übertraf.

Für den Albuminstandard lagen die Werte bei 100,7% mittlerer Wiederfindungsgenauigkeit und 5,3% mittlerer Abweichung. Auch bei diesen Messungen wich kein Wert um mehr als 10% vom Sollwert ab.

Die Messergebnisse der Proteinstandards wurden nicht dokumentiert.

Für die Messungen des Liquor- und Serumpools galt: die prozentuale Abweichung von Messung zu Referenzwert durfte nicht mehr als 10% betragen, sonst wurde die Messung wiederholt.

2.2 Messung der Liquor-Serum-Paare

Der Test auf Homogenität der Varianzen und der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest ergaben mit einer Signifikanz von $p < 0,001$ für alle folgenden Parameter – Gesamtproteingehalt des Liquors, Albumingehalt des Liquors, Albuminquotient, IgG-Gehalt des Liquors und IgG-Index – keine Normalverteilung.

2.2.1 Gesamtproteingehalt des Liquors

Bei 38 (31%) der untersuchten 122 Hunde war der Liquorproteingehalt höher als 30 mg/dl. Das waren 70% der Entzündungen, 73% der Tumore, 14% der Bandscheibenvorfälle, 10% der orthopädischen Krankheiten und 0% der idiopathischen Epilepsien.

Der Chi-Quadrat-Test hatte eine Signifikanz von $p < 0,001$. Das heißt, es bestand ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen bezogen auf ihren Anteil an veränderten Werten.

Der Einzelvergleich der Gruppen mit dem Exakten Test nach Fisher ergab hoch signifikante Unterschiede zwischen Entzündung bzw. Tumor und Bandscheibenvorfall, orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie ($p < 0,01$).

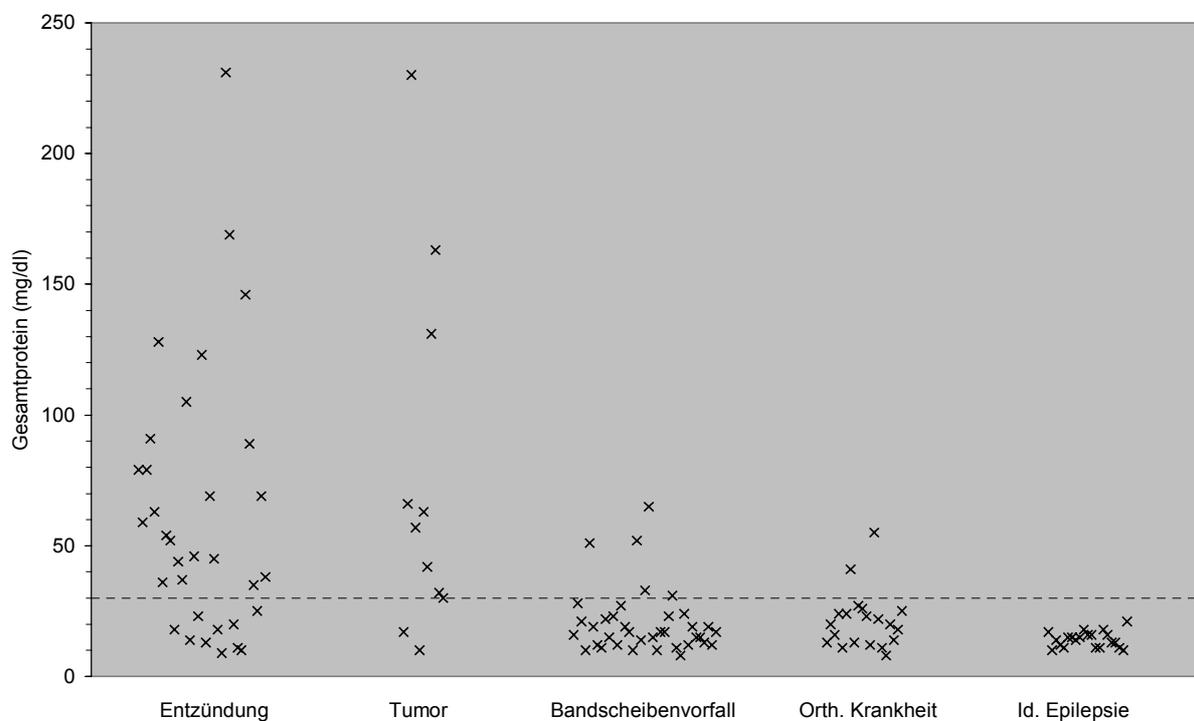


Abbildung 1: Vergleichende Darstellung des Gesamtproteingehalts im Liquor. Die gestrichelte Linie zeigt die obere Grenze des Referenzbereichs (30 mg/dl) an.

Tabelle 17: Gesamtproteingehalt des Liquors (in mg/dl)

| Krankheitsgruppe | Entz. | Tumor | Vorfall | Orth. K. | Id. Ep. |
|---------------------------|-------|-------|---------|----------|---------|
| Mittelwert | 62,1 | 76,5 | 20,4 | 21,2 | 14,1 |
| Median | 46,0 | 57,0 | 17,0 | 20,0 | 14,0 |
| Standardabweichung | 50,5 | 66,1 | 12,3 | 10,8 | 2,9 |
| Minimum | 9,0 | 10,0 | 8,0 | 8,0 | 10,0 |
| Maximum | 231,0 | 230,0 | 65,0 | 55,0 | 21,0 |

Der Kruskal-Wallis-Test ergab einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen auf Basis der absoluten Messwerte ($p < 0,001$) und für die Höhe der Werte die Rangfolge Tumor > Entzündung > orth. Krankheit > Bandscheibenvorfall > idiopath. Epilepsie.

Im Einzelvergleich der Krankheitsgruppen durch den Mann-Whitney-Test zeigten sich hoch signifikante Unterschiede zwischen Entzündung bzw. Tumor einerseits und Bandscheibenvorfall, orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie andererseits ($p < 0,01$). Außerdem bestanden signifikante Unterschiede zwischen Bandscheibenvorfall bzw. orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie ($p < 0,05$).

2.2.2 Albumingehalt des Liquors

34 Hunden (28%) wiesen eine Erhöhung des Albumingehalts im Liquor auf. Das waren 61% der Entzündungen, 64% der Tumore, 11% der Bandscheibenvorfälle, 15% der orthopädischen Krankheiten und 0% der idiopathischen Epilepsien.

Der Chi-Quadrat-Test hatte eine Signifikanz von $p < 0,001$. Das heißt, es bestand ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen bezogen auf ihren Anteil an veränderten Werten.

Der Einzelvergleich der Gruppen mit dem Exakten Test nach Fisher ergab hoch signifikante Unterschiede zwischen Entzündung bzw. Tumor und Bandscheibenvorfall und idiopathischer Epilepsie und zwischen Entzündung und orthopädischer Krankheit ($p < 0,01$). Außerdem zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Tumor und orthopädischer Krankheit ($p < 0,05$).

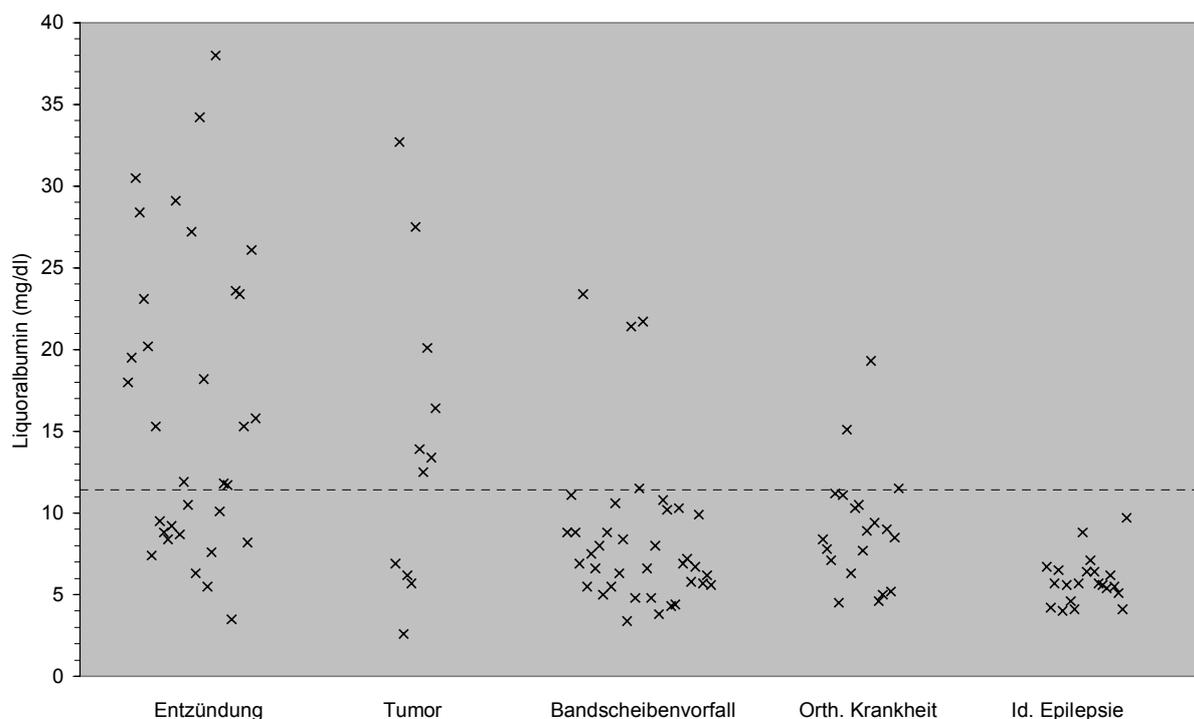


Abbildung 2: Vergleichende Darstellung des Liquoralbumingehalts. Die gestrichelte Linie zeigt die obere Grenze des Referenzbereichs (11,4 mg/dl) an.

Tabelle 18: Liquoralbumingehalt (in mg/dl)

| Krankheitsgruppe | Entz. | Tumor | Vorfall | Orth. K. | Id. Ep. |
|---------------------------|-------|-------|---------|----------|---------|
| Mittelwert | 16,5 | 14,4 | 8,4 | 9,1 | 5,9 |
| Median | 15,3 | 13,4 | 6,9 | 8,7 | 5,7 |
| Standardabweichung | 9,1 | 9,0 | 4,6 | 3,5 | 1,4 |
| Minimum | 3,5 | 2,6 | 3,4 | 4,5 | 4,0 |
| Maximum | 38,0 | 32,7 | 23,4 | 19,3 | 9,7 |

Der Kruskal-Wallis-Test ergab einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen auf Basis der absoluten Messwerte ($p < 0,001$) und für die Höhe der Werte die Rangfolge Entzündung > Tumor > orth. Krankheit > Bandscheibenvorfall > idiopath. Epilepsie.

Im Einzelvergleich der Krankheitsgruppen durch den Mann-Whitney-Test zeigten sich hoch signifikante Unterschiede zwischen Entzündung einerseits und Bandscheibenvorfall und orthopädischer Krankheit andererseits, sowie zwischen Entzündung, Tumor, Bandscheibenvorfall bzw. orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie ($p < 0,01$). Außerdem bestand ein signifikanter Unterschied zwischen Tumor und Bandscheibenvorfall ($p < 0,05$).

2.2.3 Albuminquotient

Bei 37 (30%) der untersuchten Hunde war der Albuminquotient erhöht. Das waren 70% der Entzündungen, 64% der Tumore, 14% der Bandscheibenvorfälle, 10% der orthopädischen Krankheiten und 0% der idiopathischen Epilepsien.

Der Chi-Quadrat-Test hatte eine Signifikanz von $p < 0,001$. Das heißt, es bestand ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen bezogen auf ihren Anteil an veränderten Werten.

Der Einzelvergleich der Gruppen mit dem Exakten Test nach Fisher ergab hoch signifikante Unterschiede zwischen Entzündung bzw. Tumor und Bandscheibenvorfall, orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie ($p < 0,01$).

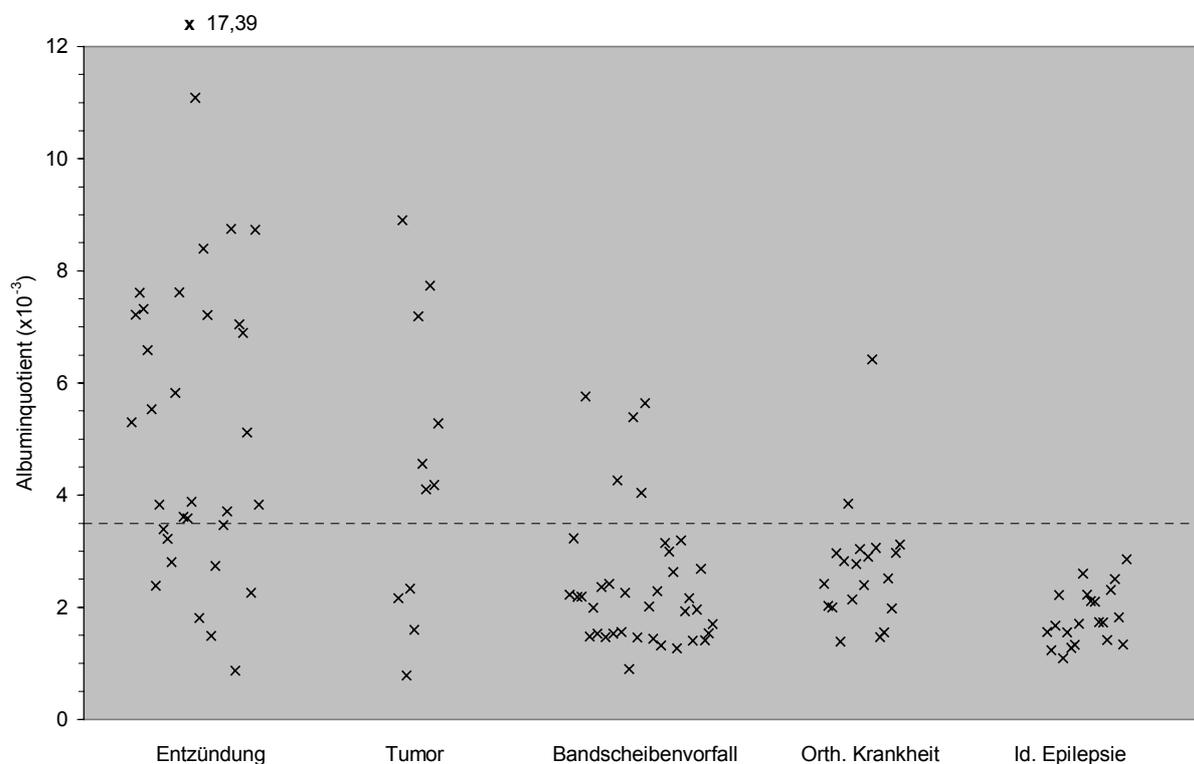


Abbildung 3: Vergleichende Darstellung des Albuminquotienten. Die gestrichelte Linie zeigt die obere Grenze des Referenzbereichs ($3,5 \times 10^{-3}$) an.

Tabelle 19: Albuminquotient ($\times 10^{-3}$)

| Krankheitsgruppe | Entz. | Tumor | Vorfall | Orth. K. | Id. Ep. |
|---------------------------|-------|-------|---------|----------|---------|
| Mittelwert | 5,47 | 4,44 | 2,40 | 2,69 | 1,83 |
| Median | 5,12 | 4,18 | 2,16 | 2,65 | 1,73 |
| Standardabweichung | 3,23 | 2,53 | 1,21 | 1,06 | 0,48 |
| Minimum | 0,87 | 0,79 | 0,90 | 1,39 | 1,09 |
| Maximum | 17,39 | 8,90 | 5,76 | 6,42 | 2,86 |

Der Kruskal-Wallis-Test ergab einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen auf Basis der absoluten Messwerte ($p < 0,001$) und für die Höhe der Werte die Rangfolge Entzündung > Tumor > orth. Krankheit > Bandscheibenvorfall > idiopath. Epilepsie.

Im Einzelvergleich der Krankheitsgruppen durch den Mann-Whitney-Test zeigten sich hoch signifikante Unterschiede zwischen Entzündung einerseits und Bandscheibenvorfall und orthopädischer Krankheit andererseits, sowie zwischen Entzündung, Tumor bzw. orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie ($p < 0,01$). Außerdem bestand ein signifikanter Unterschied zwischen Tumor und Bandscheibenvorfall ($p < 0,05$).

2.2.4 IgG-Gehalt des Liquors

64 Hunde (52%) zeigten einen erhöhten IgG-Gehalt im Liquor. Das waren 88% der Entzündungen, 82% der Tumore, 43% der Bandscheibenvorfälle, 45% der orthopädischen Krankheiten und 5% der idiopathischen Epilepsien.

Der Chi-Quadrat-Test hatte eine Signifikanz von $p < 0,001$. Das heißt, es bestand ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen bezogen auf ihren Anteil an veränderten Werten.

Der Einzelvergleich der Gruppen mit dem Exakten Test nach Fisher ergab hoch signifikante Unterschiede zwischen Entzündung einerseits und Bandscheibenvorfall, orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie andererseits, sowie zwischen Tumor, Bandscheibenvorfall bzw. orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie ($p < 0,01$). Außerdem zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Tumor und Bandscheibenvorfall ($p < 0,05$).

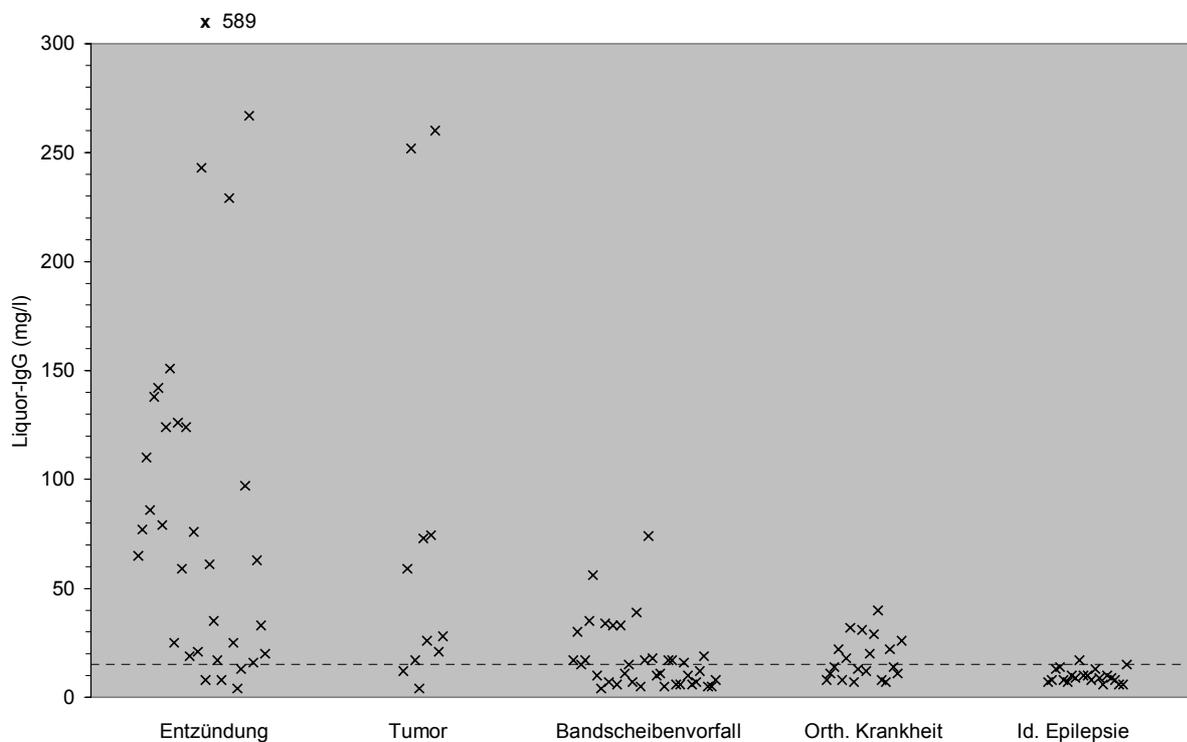


Abbildung 4: Vergleichende Darstellung des IgG-Gehalts im Liquor. Die gestrichelte Linie zeigt die obere Grenze des Referenzbereichs (15,3 mg/l) an.

Tabelle 20: IgG-Gehalt des Liquors (in mg/l)

| Krankheitsgruppe | Entz. | Tumor | Vorfall | Orth. K. | Id. Ep. |
|---------------------------|-------|-------|---------|----------|---------|
| Mittelwert | 95,5 | 75,1 | 17,4 | 17,7 | 9,7 |
| Median | 65,0 | 28,0 | 12,0 | 14,0 | 9,0 |
| Standardabweichung | 110,9 | 88,3 | 15,1 | 9,5 | 3,0 |
| Minimum | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 7,0 | 6,0 |
| Maximum | 589,0 | 260,0 | 74,0 | 40,0 | 17,0 |

Der Kruskal-Wallis-Test ergab einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen auf Basis der absoluten Messwerte ($p < 0,001$) und für die Höhe der Werte die Rangfolge Entzündung > Tumor > orth. Krankheit > Bandscheibenvorfall > idiopath. Epilepsie.

Im Einzelvergleich der Krankheitsgruppen durch den Mann-Whitney-Test zeigten sich hoch signifikante Unterschiede zwischen Entzündung bzw. Tumor und Bandscheibenvorfall, zwischen Entzündung und orthopädischer Krankheit, sowie zwischen Entzündung, Tumor bzw. orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie ($p < 0,01$). Außerdem bestand ein signifikanter Unterschied zwischen Tumor und orthopädischer Krankheit ($p < 0,05$).

2.2.5 IgG-Index

Bei 29 Hunden (24%) lag eine Erhöhung des IgG-Index vor. Das waren 67% der Entzündungen, 36% der Tumore, 8% der Bandscheibenvorfälle und 0% der orthopädischen Krankheiten und idiopathischen Epilepsien.

Der Chi-Quadrat-Test hatte eine Signifikanz von $p < 0,001$. Das heißt, es bestand ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen bezogen auf ihren Anteil an veränderten Werten.

Der Einzelvergleich der Gruppen mit dem Exakten Test nach Fisher ergab hoch signifikante Unterschiede zwischen Entzündung einerseits und Bandscheibenvorfall, orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie andererseits, sowie zwischen Tumor und idiopathischer Epilepsie ($p < 0,01$). Außerdem zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Tumor und Bandscheibenvorfall bzw. orthopädischer Krankheit ($p < 0,05$).

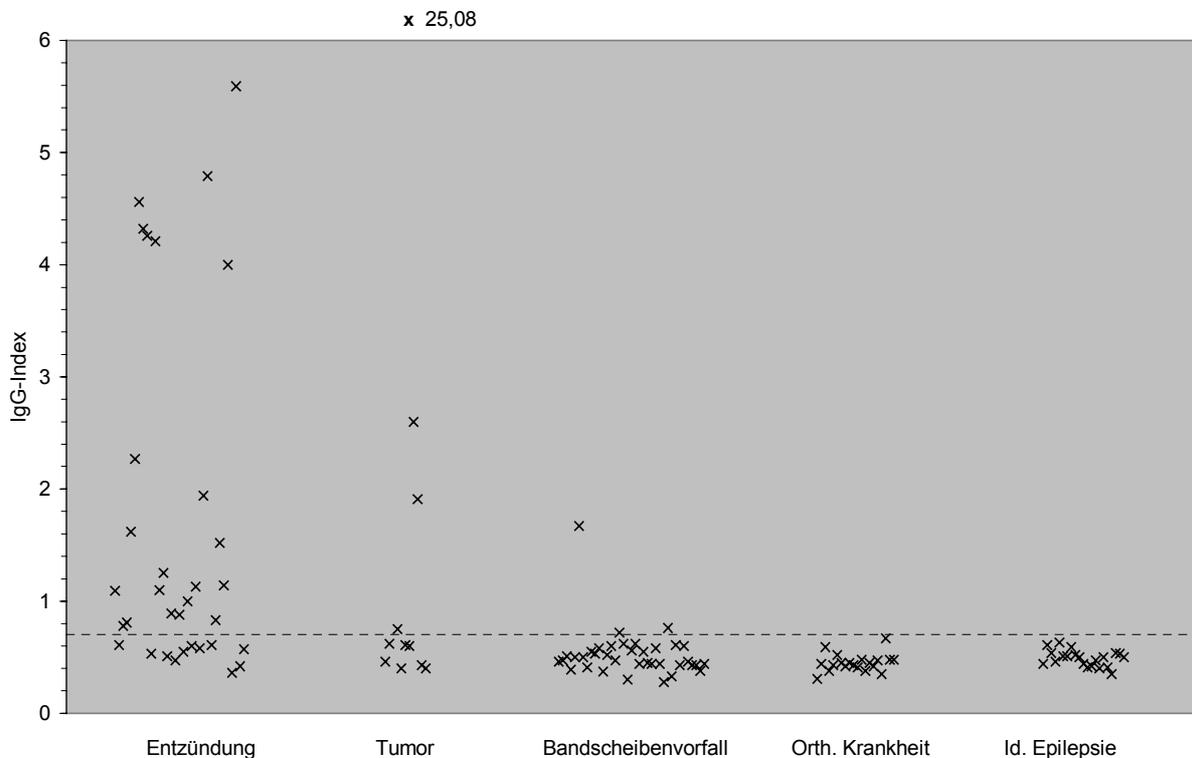


Abbildung 5: Vergleichende Darstellung des IgG-Index. Die gestrichelte Linie zeigt die obere Grenze des Referenzbereichs (0,7) an.

Tabelle 21: IgG-Index

| Krankheitsgruppe | Entz. | Tumor | Vorfall | Orth. K. | Id. Ep. |
|---------------------------|--------------|--------------|----------------|-----------------|----------------|
| Mittelwert | 1,69 | 3,08 | 0,52 | 0,45 | 0,49 |
| Median | 1,00 | 0,61 | 0,47 | 0,45 | 0,50 |
| Standardabweichung | 1,55 | 6,99 | 0,22 | 0,08 | 0,07 |
| Minimum | 0,36 | 0,40 | 0,28 | 0,31 | 0,35 |
| Maximum | 5,59 | 25,08 | 1,67 | 0,67 | 0,63 |

Der Kruskal-Wallis-Test ergab einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen auf Basis der absoluten Messwerte ($p < 0,001$) und für die Höhe der Werte die Rangfolge Entzündung > Tumor > Bandscheibenvorfall > idiopath. Epilepsie > orth. Krankheit.

Im Einzelvergleich der Krankheitsgruppen durch den Mann-Whitney-Test zeigten sich hoch signifikante Unterschiede zwischen Entzündung einerseits und Bandscheibenvorfall, orthopädischer Krankheit und idiopathischer Epilepsie andererseits ($p < 0,01$). Außerdem bestand ein signifikanter Unterschied zwischen Tumor und orthopädischer Krankheit ($p < 0,05$).

2.3 Korrelieren Gesamtproteingehalt und Liquorproteinprofil?

2.3.1 Gesamtproteingehalt erhöht

38 (31%) der in dieser Arbeit betrachteten 122 Hunde wiesen einen erhöhten Gesamtproteingehalt im Liquor auf. Davon wiesen 37 Hunde (30%) auch ein verändertes Liquorproteinprofil im Sinne einer Erhöhung des Albuminquotienten oder des IgG-Index auf.

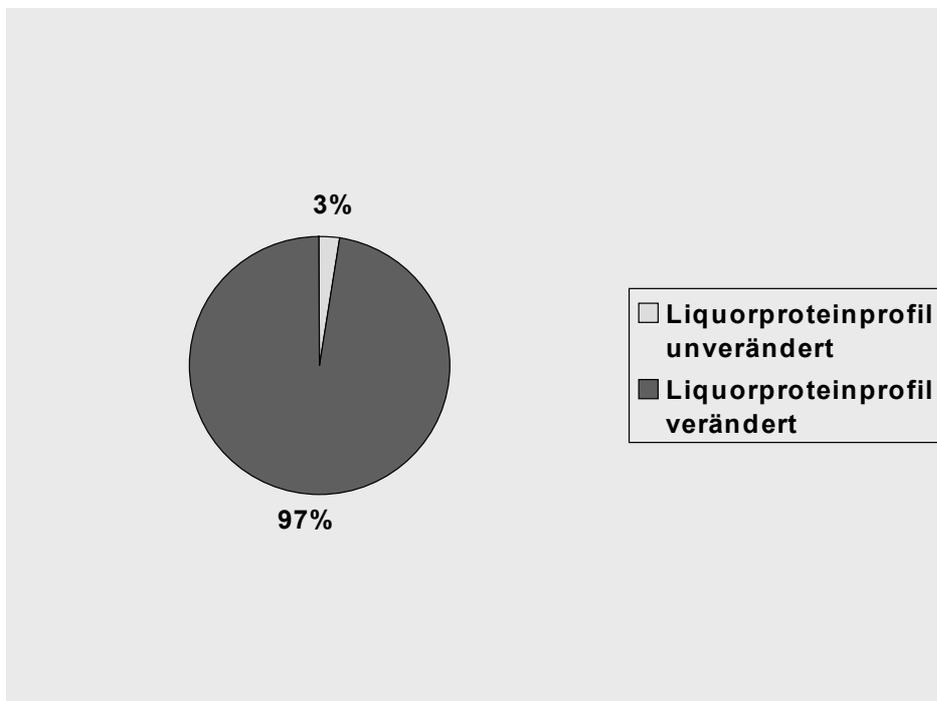


Abbildung 6: Relative Anteile des veränderten bzw. nicht veränderten Liquorproteinprofils bei erhöhtem Gesamtproteingehalt im Liquor

Bei den Hunden, die übereinstimmend einen erhöhten Gesamtproteingehalt im Liquor und ein verändertes Liquorproteinprofil aufwiesen, handelte es sich um 23 Hunde mit Entzündung, acht mit einem Tumor im Gehirn, vier mit einem Bandscheibenvorfall und zwei mit einer orthopädischen Krankheit.

Die ZNS-Entzündungen waren im einzelnen neun gemischtzellige, vier granulozytäre, fünf lymphozytäre, drei lympho-monozytäre und eine Entzündung

ohne morphologischer Diagnose. Darunter waren drei FSMEs, zwei Staupeenzephalitiden, zwei GMEs, eine SRMA, eine White-Dog-Shaker-Disease und eine Polyradikuloneuritis.

Eine histopathologische Untersuchung der Tumore im Gehirn wurde in fünf Fällen durchgeführt, dabei wurden zwei maligne Lymphome, ein Ependymom, ein Hypophysentumor und in einem Fall Metastasen eines Lungentumors festgestellt. Die anderen Tumore wurden nur makroskopisch dargestellt.

Bei dem einen Hund, der einen erhöhten Gesamtproteingehalt im Liquor bei unverändertem Liquorproteinprofil aufwies, handelte es sich um einen Hund, der an einem Bandscheibenvorfall litt. Die Erhöhung war geringgradig (31 mg/dl).

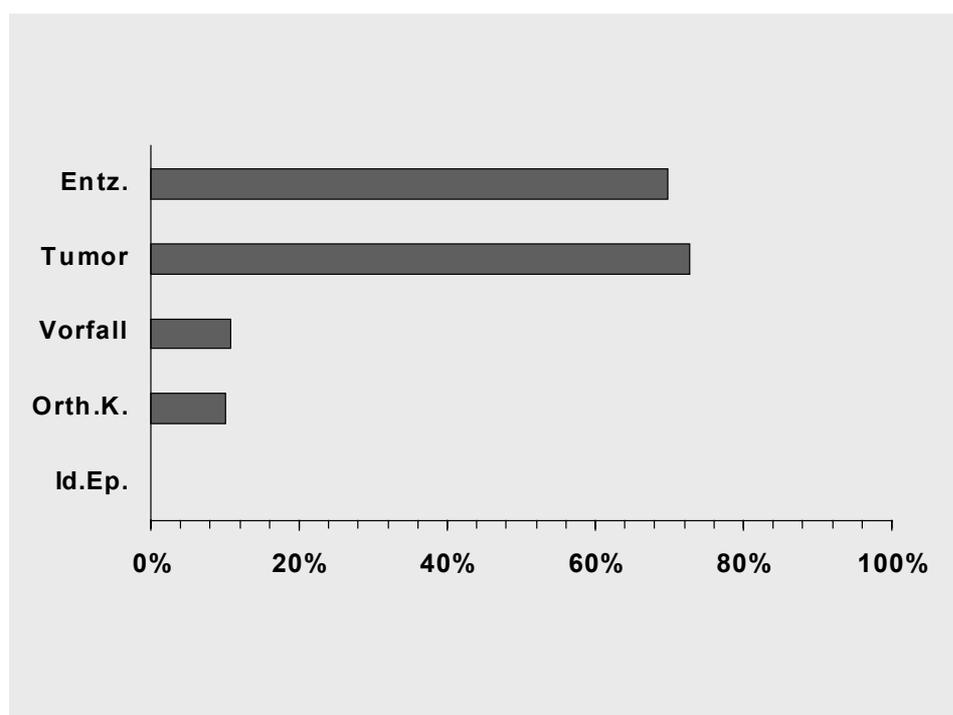


Abbildung 7: Relative Anteile innerhalb der Krankheitsgruppen bei verändertem Liquorproteinprofil und erhöhtem Gesamtproteingehalt im Liquor

2.3.2 Gesamtproteingehalt nicht erhöht

Bei 84 der 122 Hunde (69%) befand sich der Liquorproteingehalt im Referenzbereich, wiederum 72 davon (59%) wiesen auch ein unverändertes Liquorproteinprofil auf. Bei den verbleibenden zwölf Hunden lag jedoch in fünf Fällen eine isolierte Blut-Hirn-Schrankenstörung, in sechs Fällen eine intrathekale IgG-Produktion ohne Blut-Hirn-Schrankenstörung und in einem Fall eine intrathekale IgG-Produktion mit Blut-Hirn-Schrankenstörung trotz unauffälligen Gesamtproteingehalts im Liquor vor.

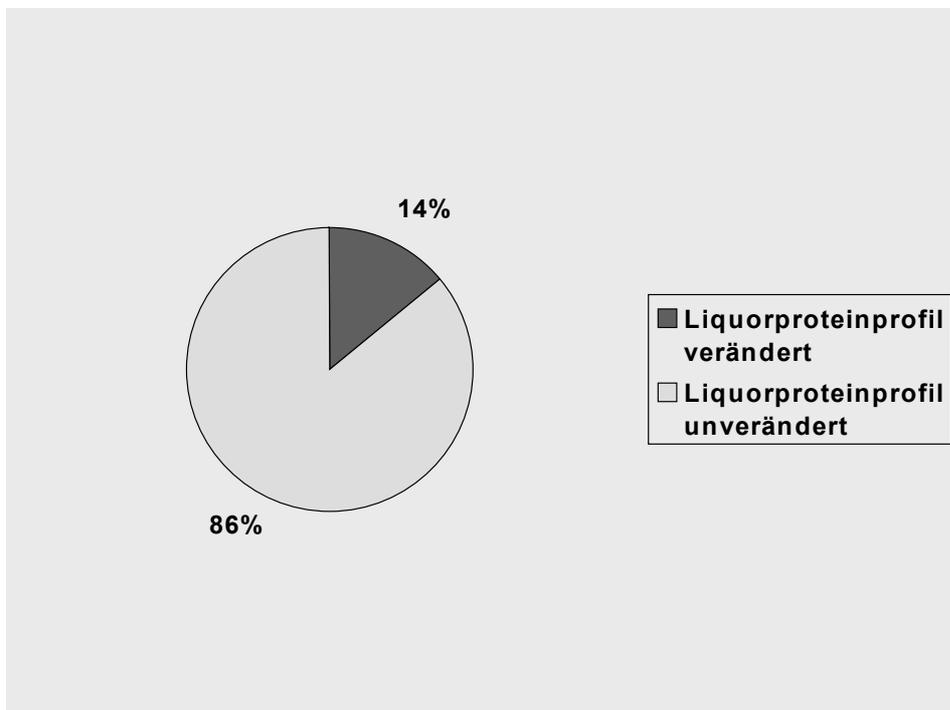


Abbildung 8: Relative Anteile des veränderten bzw. nicht veränderten Liquorproteinprofils bei unverändertem Gesamtproteingehalt im Liquor

Unter den Hunden, die sowohl im Liquorproteingehalt als auch im Liquorproteinprofil unauffällig waren, befanden sich 28 Hunde mit Bandscheibenvorfall, alle 21 Hunde mit idiopathischer Epilepsie, 18 Hunde mit orthopädischer Krankheit, drei Hunde mit ZNS-Entzündung und zwei Hunde mit Gehirn-Tumor. Das waren 100% der idiopathischen Epilepsien, 90% der orthopädischen Krankheiten, 76% der Bandscheibenvorfälle, 18% der Tumoren und 9% der Entzündungen.

Die Entzündungen konnten als eine granulozytäre, eine lympho-monozytäre (Staupeenzephalitis) und eine gemischtzellige Entzündung dargestellt werden.

Bei den beiden Tumoren wurde ein Gliom und ein Okulomotorius-Neurinom diagnostiziert.

Von den zwölf Hunden, die Ihre Liquorproteinveränderung nur im Liquorproteinprofil zeigten, litten sieben an einer ZNS-Entzündung, vier an einem Bandscheibenvorfall und einer an einem Tumor im Gehirn.

Es handelte sich um drei gemischtzellige (eine SRMA), drei lymphozytäre (zwei White-Dog-Shaker-Diseases) und eine lympho-monozytäre Entzündung (Staupeenzephalitis)

und um ein Plexuskarzinom.

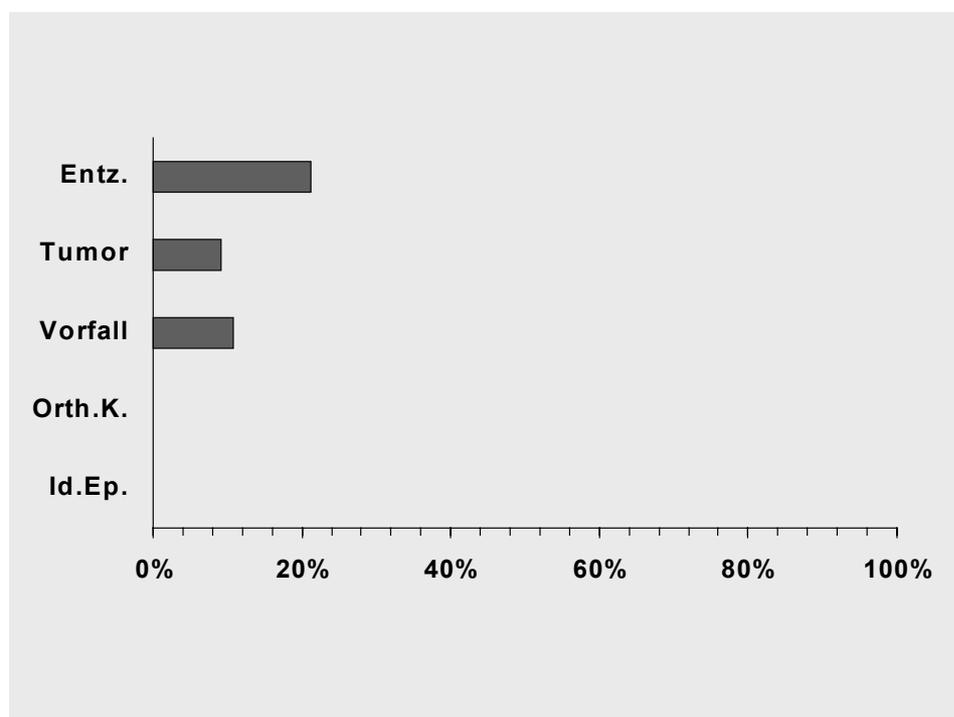


Abbildung 9: Relative Anteile innerhalb der Krankheitsgruppen bei verändertem Liquorproteinprofil trotz unveränderten Gesamtproteingehalts im Liquor

2.4 Einteilung nach Befunden

Basierend auf den Parametern Albuminquotient und IgG-Index fand eine Einteilung in Befundgruppen statt. Dabei wurden unterschieden: Hunde mit unverändertem Liquorproteinprofil, Hunde mit isolierter Blut-Hirn-Schrankenstörung und Hunde mit intrathekalen IgG-Produktion mit und ohne Blut-Hirn-Schrankenstörung. Die Verteilung der einzelnen Krankheitsgruppen innerhalb dieser Befundgruppen wird im weiteren dargestellt.

2.4.1 Unverändertes Liquorproteinprofil

Ein unverändertes Liquorproteinprofil, das heißt Albuminquotient und IgG-Index im Referenzbereich, wiesen 73 (60%) der in dieser Studie betrachteten Hunde auf. 29 dieser Hunde hatten einen Bandscheibenvorfall, 21 eine idiopathische Epilepsie, 18 eine orthopädische Krankheit, drei eine ZNS-Entzündung und zwei einen Tumor im Gehirn.

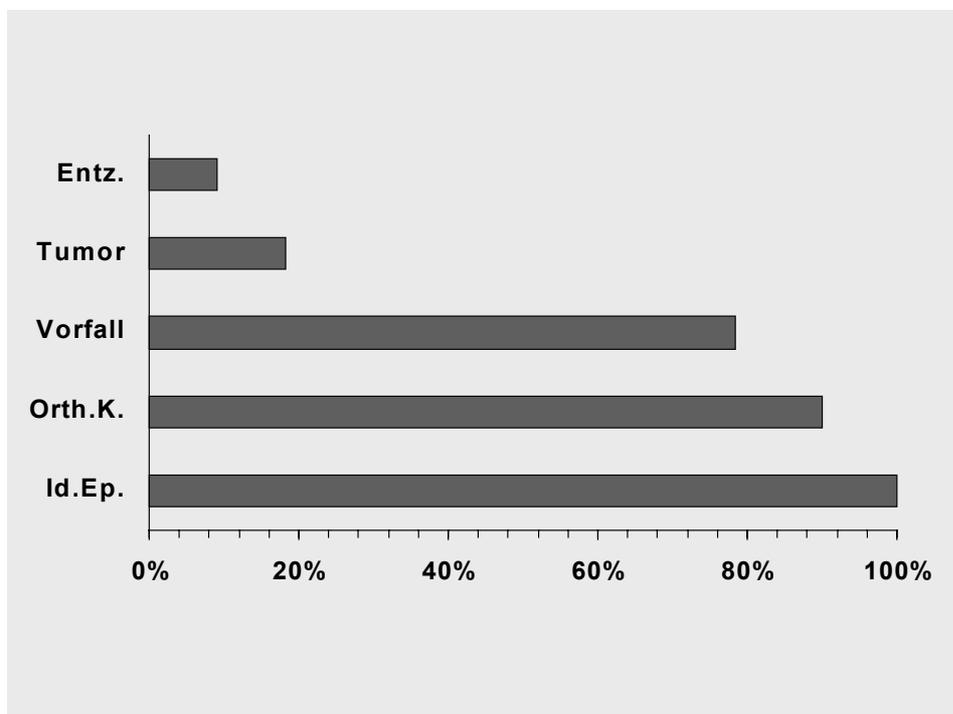


Abbildung 10: Relative Anteile innerhalb der Krankheitsgruppen bei unverändertem Liquorproteinprofil

Bei den Entzündungen konnte man eine granulozytäre, eine lympho-monozytäre (Staupeenzephalitis) und eine gemischtzellige Entzündung unterscheiden.

Bei den Tumoren wurde ein Gliom und ein Okulomotorius-Neurinom festgestellt.

2.4.2 Isolierte Blut-Hirn-Schrankenstörung

Eine Bluthirnschrankenstörung aufgrund eines erhöhten Albuminquotienten bei normalem IgG-Index wurde 20 Hunden (16%) zugesprochen. Bei diesen Hunden wurden acht ZNS-Entzündungen, fünf Tumore im Gehirn, fünf Bandscheibenvorfälle und zwei orthopädische Krankheiten diagnostiziert.

Als Entzündungen lagen drei granulozytäre, drei gemischtzellige (eine SRMA), eine lymphozytäre und eine lympho-monozytäre Entzündung vor.

Bei den Tumoren handelte es sich um zwei maligne Lymphome, ein Plexuskarzinom und einen Hypophysentumor. Der fünfte Tumor wurde nicht differenziert.

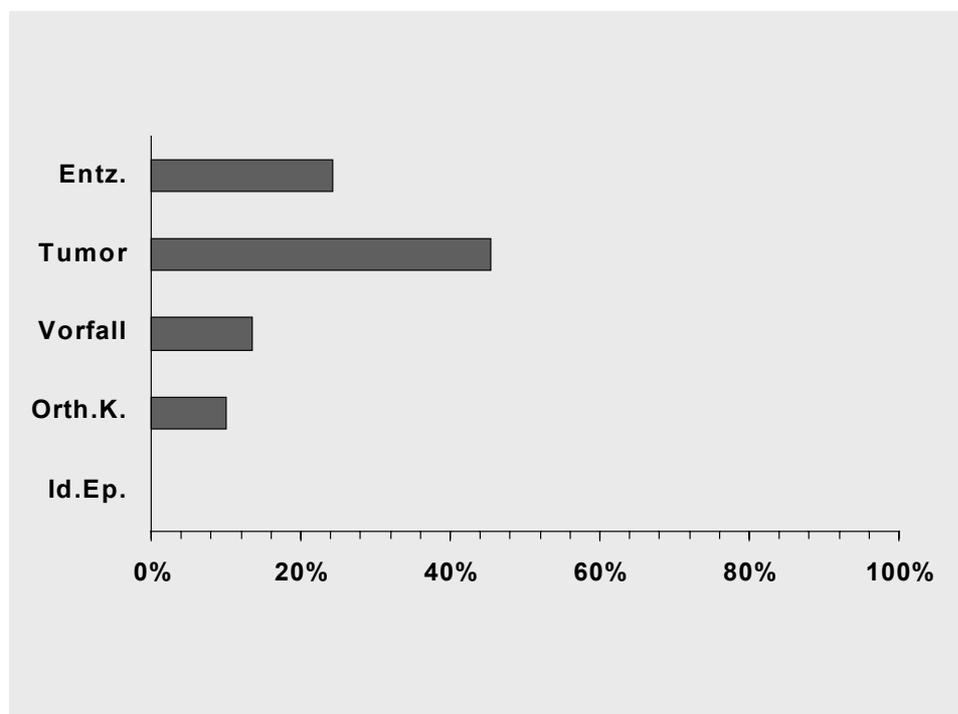


Abbildung 11: Relative Anteile innerhalb der Krankheitsgruppen bei isolierter Blut-Hirn-Schrankenstörung

2.4.3 Intrathekale IgG-Produktion

Ein erhöhter IgG-Index und somit eine intrathekale IgG-Produktion wurde bei 29 Hunden (24%) festgestellt. Das waren sowohl Hunde, die eine intrathekale IgG-Produktion mit Blut-Hirn-Schrankenstörung, als auch Hunde, die eine intrathekale IgG-Produktion ohne Blut-Hirn-Schrankenstörung aufwiesen. Bei diesen 29 Hunden wurden 22 Entzündungen, vier Tumore im Gehirn und drei Bandscheibenvorfälle diagnostiziert.

Bei den Entzündungen handelte es sich um neun gemischtzellige (eine SRMA und zwei GMEs), acht lymphozytäre (drei FSMEs und drei White-Dog-Shaker-Diseases), drei lympho-monozytäre (drei Staupeenzephalitiden) und eine granulozytäre Entzündung. In einem Fall lag keine morphologische Diagnose vor (Polyradikulitis). Die Tumore waren ein Ependymom, Metastasen eines Lungentumors und zwei Tumore ohne weitere histopathologische Abklärung.

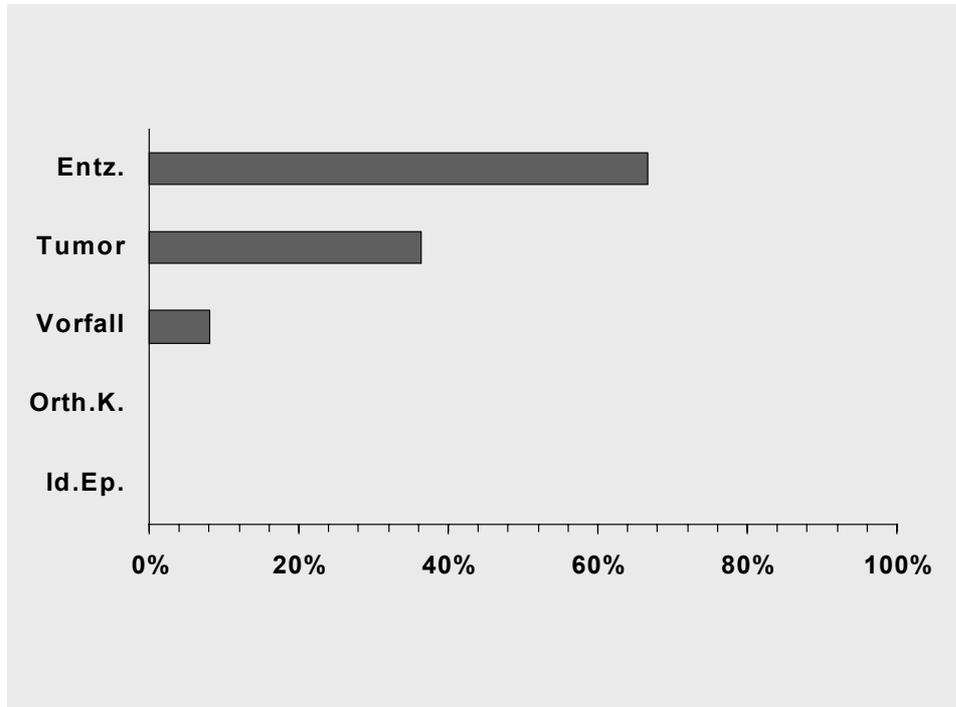


Abbildung 12: Relative Anteile innerhalb der Krankheitsgruppen bei intrathekaler IgG-Produktion

In der Befundgruppe „Intrathekale IgG-Produktion“ wurden weiter unterschieden:

2.4.3.1 Intrathekale IgG-Produktion mit Blut-Hirn-Schrankenstörung

Von den 29 Hunden mit intrathekaler IgG-Produktion wiesen 17 Hunde (59% bzw. 14% von allen Hunden) einen erhöhten IgG-Index bei gleichzeitiger Erhöhung des Albuminquotienten auf. Das waren 15 Hunde mit Entzündung und zwei Hunde mit Tumor im Gehirn.

Bei den Entzündungen handelte es sich um neun gemischtzellige Entzündungen, drei lymphozytäre, eine lympho-monozytäre, eine granulozytäre und eine Entzündung ohne morphologische Diagnose. Eine ätiologische Diagnose konnte in acht Fällen gestellt werden: zwei FSMEs, zwei GMEs, eine Staupeenzephalitis, eine SRMA und eine Polyradikuloneuritis.

Einer der beiden Tumore wurde nur makroskopisch festgestellt, bei dem anderen handelte es sich um Metastasen eines Lungentumors.

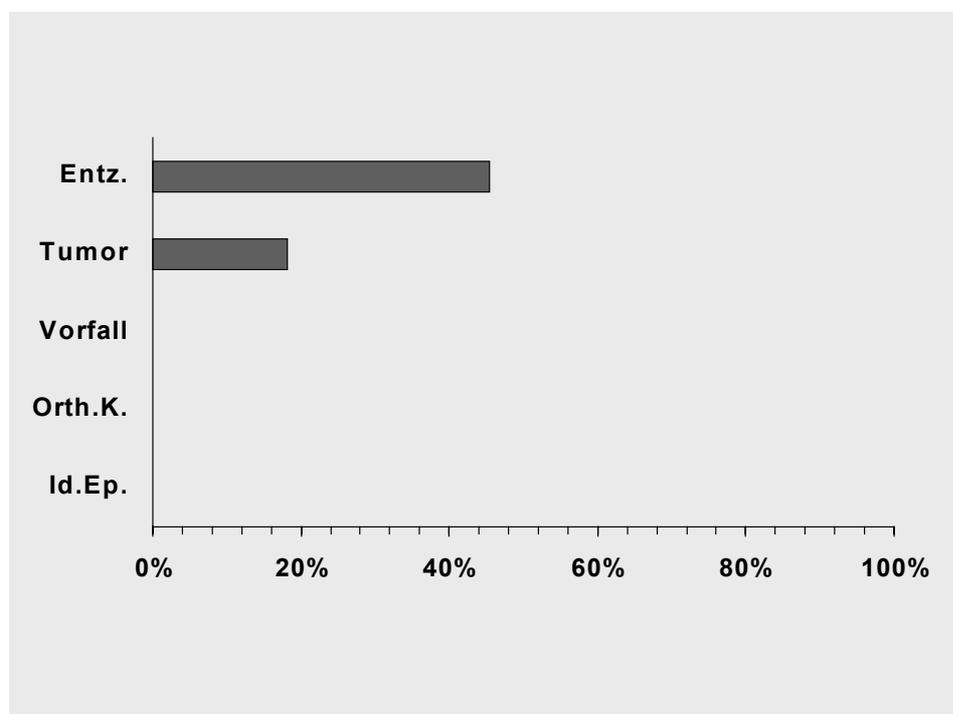


Abbildung 13: Relative Anteile innerhalb der Krankheitsgruppen bei intrathekaler IgG-Produktion mit Blut-Hirn-Schrankenstörung

2.4.3.2 Intrathekale IgG-Produktion ohne Blut-Hirn-Schrankenstörung

Diese restlichen zwölf Hunde mit intrathekaler IgG-Produktion (41% bzw. 10% von allen Hunden) wiesen eine Erhöhung des IgG-Index ohne Erhöhung des Albuminquotienten auf. Darunter fielen sieben Hunde mit ZNS-Entzündung, drei Hunde mit Bandscheibenvorfall und zwei Hunde mit Tumor im Gehirn.

Bei den Entzündungen wurden morphologisch fünf lymphozytäre und zwei lymphomonozytäre Entzündungen nachgewiesen. Drei dieser Hunde litten an White-Dog-Shaker-Disease, zwei an Staupeenzephalitis und einer an FSME. Bei dem siebten Hund konnte keine ätiologische Diagnose gestellt werden.

Einer der Tumore war ein Ependymom, der andere Tumor wurde nicht weiter differenziert.

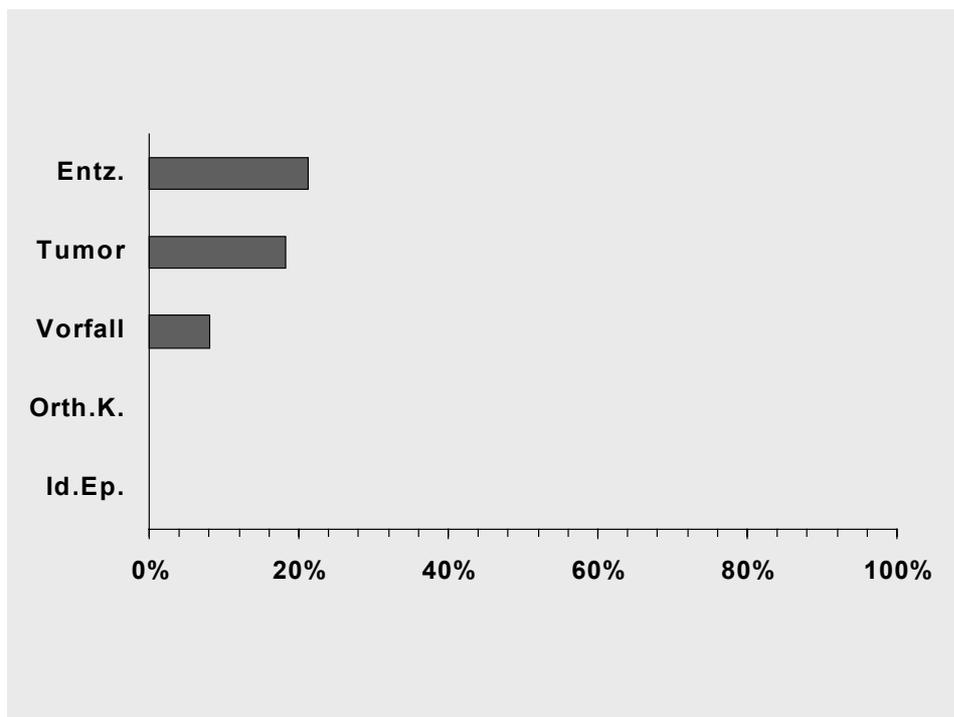


Abbildung 14: Relative Anteile innerhalb der Krankheitsgruppen bei intrathekaler IgG-Produktion ohne Blut-Hirn-Schrankenstörung

2.4.4 Übersichtstabelle zu 2.4.1 bis 2.4.3.2

Tabelle 22: Übersichtstabelle über die relativen Anteile innerhalb der Krankheitsgruppen für die einzelnen Befunde

| Befund | Krankheitsgruppe | | | | |
|---|------------------|-------|---------|----------|---------|
| | Entz. | Tumor | Vorfall | Orth. K. | Id. Ep. |
| AQ u. IgG-Ind. o.b.B. n = 73 (s. 2.4.1) | 9% | 18% | 78% | 90% | 100% |
| Nur AQ erhöht n = 20 (s. 2.4.2) | 24% | 46% | 14% | 10% | 0% |
| IgG-Index erhöht n = 29 (s. 2.4.3) | 67% | 36% | 8% | 0% | 0% |
| IgG-Ind. u. AQ erhöht n = 17 (s. 2.4.3.1) | 46% | 18% | 0% | 0% | 0% |
| Nur IgG-Ind. erhöht n = 12 (s. 2.4.3.2) | 21% | 18% | 8% | 0% | 0% |

IV. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurde der differenzialdiagnostische Nutzen des Nachweises einer Blut-Hirn-Schrankenstörung und intrathekalen IgG-Produktion bei neurologisch erkrankten Hunden untersucht. Dazu wurde, zusätzlich zur konventionellen Liquordiagnostik, der Albumin- und IgG-Gehalt in Liquor und Serum von 122 Hunden nephelometrisch bestimmt und daraus der Albuminquotient und IgG-Index berechnet. Zur konventionellen Liquordiagnostik zählten Zellzahlbestimmung, Zelldifferenzierung, Pandy-Test und quantitative Gesamtproteinbestimmung. Alle 122 Hunde konnten eindeutig einer von fünf Krankheitsgruppen – Entzündung, Tumor, Bandscheibenvorfall, orthopädische Krankheit, idiopathische Epilepsie – zugeordnet werden.

Ein Ergebnis dieser Arbeit ist, dass die Bestimmung eines Liquorproteinprofils – bestehend aus Albuminquotient als Indikator einer Blut-Hirn-Schrankenstörung und IgG-Index als Indikator einer intrathekalen IgG-Produktion - eine sinnvolle Erweiterung der konventionellen Liquordiagnostik beim Hund darstellt.

Bei zwölf der 122 Hunde (10%) konnten pathologische Veränderungen im Liquor nur anhand des veränderten Liquorproteinprofils aufgezeigt werden, während der Gesamtproteingehalt im Liquor unauffällig erschien. Dazu zählten zwei Hunde mit White-Dog-Shaker-Disease, einer mit SRMA, einer mit Staupe, zwei mit gemischtzelliger und einer mit lymphozytärer Entzündung ohne ätiologischer Diagnose, ein Hund mit Plexuskarzinom und vier Hunde mit Bandscheibenvorfall. Alle diese Hunde hatten auch einen negativen Pandy-Test und überwiegend eine unauffällige Zellzahl.

Die beiden Hunde mit White-Dog-Shaker-Disease hatten einen Gesamtproteingehalt im Liquor von 10 mg/dl bzw. 18 mg/dl und keine Zellzahlerhöhung. Die Veränderung ihres Liquorproteinprofils bestand in einer alleinigen Erhöhung des IgG-Index (1,13 bzw. 1,52).

Bei dem Hund mit SRMA betrug der Gesamtproteingehalt im Liquor 20 mg/dl, die Zellzahl war jedoch hochgradig erhöht. Der Veränderung seines Liquorproteinprofils lag eine leichte Erhöhung des Albuminquotienten zugrunde ($3,71 \times 10^{-3}$).

Der Hund mit Staupe hatte einen Gesamtproteingehalt im Liquor von 11 mg/dl und keine Zellzahlerhöhung, ein Befund, wie er für akute nicht-entzündliche demyelinisierende Staupe nicht untypisch ist (Greene und Appel, 1998). Bei diesem Hund bestand die Veränderung des Liquorproteinprofils in einer deutlichen Erhöhung des Albuminquotienten ($8,75 \times 10^{-3}$) und einer geringgradigen Erhöhung des IgG-Index (0,83).

Von den drei Hunden ohne ätiologische Diagnose hatten die beiden mit gemischtzelliger Entzündung einen Gesamtproteingehalt im Liquor von 14 mg/dl bzw. 23 mg/dl, aber beide eine Pleozytose. Bei beiden wurde eine leichte Erhöhung des Albuminquotienten festgestellt ($3,62 \times 10^{-3}$ bzw. $3,88 \times 10^{-3}$). Der Hund mit lymphozytärer Entzündung hatte einen Gesamtproteingehalt im Liquor von 25 mg/dl und auch eine Pleozytose. Bei ihm war der IgG-Index deutlich erhöht (5,59).

Bei dem Hund mit Plexuskarzinom war der Gesamtproteingehalt im Liquor mit 30 mg/dl grenzwertig und die Zellzahl unauffällig. Der Albuminquotient war jedoch deutlich erhöht ($5,28 \times 10^{-3}$).

Die vier Hunde mit Bandscheibenvorfall hatten Gesamtproteingehalte im Liquor von 19 mg/dl, 10 mg/dl, 8 mg/dl und 27 mg/dl, bei unauffälliger Zellzahl. Bei dreien war die Veränderung des Liquorproteinprofils auf eine überwiegend geringgradige Erhöhung des IgG-Index zurückzuführen (1,67 bzw. 0,72 bzw. 0,76) bei dem vierten auf eine leichte Erhöhung des Albuminquotienten ($4,26 \times 10^{-3}$).

Andererseits war, wenn das Gesamtprotein im Liquor erhöht war, zu 97% auch das Liquorproteinprofil verändert. Die Ausnahme war ein Hund mit Bandscheibenvorfall. Dieser Hund hatte eine grenzwertige Erhöhung des Gesamtproteingehalts im Liquor (31 mg/dl), während das Liquorproteinprofil, der Pandy-Test und die Zellzahl unauffällig waren.

Im Auftreten von intrathekalen IgG-Produktion und Blut-Hirn-Schrankenstörung bei den einzelnen Krankheitsgruppen herrschte große Übereinstimmung mit anderen Arbeiten. Die Details werden im nachfolgenden besprochen.

- Entzündung (n = 33)

Innerhalb dieser Krankheitsgruppe wurde in 70% der Fälle eine Gesamtproteinerhöhung im Liquor festgestellt. Eine Liquoralbuminerhöhung zeigten 61% und eine Erhöhung des Albuminquotienten 70% der Hunde. Der IgG-Gehalt im Liquor war in 88%, der IgG-Index in 67% der Fälle erhöht. Mit diesen Werten unterschieden sich Entzündungen in keinem Parameter signifikant von Tumoren, aber in allen Parametern hoch signifikant von den anderen Krankheitsgruppen.

Für die absoluten Messwerte ergab der nichtparametrische Kruskal-Wallis-Test bei Entzündungen im Vergleich mit den anderen Krankheitsgruppen die höchsten Werte in allen Parametern außer dem Gesamtproteingehalt im Liquor. Der Wert beim Gesamtproteingehalt lag knapp unterhalb dessen der Tumore. Auch in Bezug auf die absoluten Werte gab es keine signifikanten Unterschiede zu Tumoren, aber hoch signifikante Unterschiede zu allen anderen Krankheitsgruppen.

91% der Hunde mit Entzündungen hatten ein auffälliges Liquorproteinprofil. Das waren 24% mit einer reinen Blut-Hirn-Schrankenstörung, 21% mit intrathekaler IgG-Produktion ohne und 46% mit intrathekaler IgG-Produktion mit Schrankenstörung.

- Eine reine Blut-Hirn-Schrankenstörung wurde bei einer SRMA und bei drei granulozytären, zwei gemischtzelligen, einer lymphozytären und einer lymphomonozytären Entzündung, für die keine ätiologischen Diagnosen vorlagen, gesehen.
- Intrathekale IgG-Produktion ohne Schrankenstörung zeigten alle drei White-Dog-Shaker-Diseases, zwei Staupe, eine FSME und eine lymphozytäre Entzündung ohne ätiologische Diagnose.
- Intrathekale IgG-Produktion mit Schrankenstörung zeigten alle zwei GMEs, zwei FSMEs, eine SRMA, eine Staupe, eine Polyradikulitis und sechs gemischtzellige, eine lymphozytäre und eine granulozytäre Entzündung ohne ätiologische Diagnose.
- Ein unverändertes Liquorproteinprofil wurde bei einer Staupe und einer gemischtzelligen und einer granulozytären Entzündung ohne ätiologischer Diagnose gesehen.

Besonders interessant sind die drei Hunde mit White-Dog-Shaker-Disease. Alle drei hatten keine Pleozytose, einen negativen Pandy-Test und zwei auch einen unauffälligen Gesamtproteingehalt im Liquor, der dritte einen geringgradig erhöhten Wert. Aber bei allen dreien konnte eine intrathekale IgG-Produktion ohne Blut-Hirn-Schrankenstörung nachgewiesen werden. Die IgG-Indizes waren im Durchschnitt deutlich erhöht (2,40), Gesamtprotein im Liquor und Albuminquotient unauffällig (21,3 mg/dl; $1,58 \times 10^{-3}$).

Als mögliche Ursachen der White-Dog-Shaker-Disease werden Viren oder „immunmedierte“ Prozesse diskutiert (Oliver et al., 1997); bei beiden ist eine intrathekale IgG-Produktion durchaus denkbar. Die Beobachtung, dass bei dieser Krankheit das Gesamtprotein im Liquor nicht oder nur geringgradig erhöht ist, wurde auch von Fenner (2000) gemacht. Die Blut-Hirn-Schranke und intrathekale IgG-Produktion bei White-Dog-Shaker-Disease wurden von anderen Autoren bisher nicht beurteilt.

In der Humanmedizin wurden ähnliche Beobachtungen bei Virusenzephalitiden und Autoimmunprozessen wie beispielsweise systemischem Lupus erythematoses mit ZNS-Beteiligung gemacht. Bei diesen Erkrankungen wurde sehr häufig eine intrathekale IgG-Produktion festgestellt, aber keine oder eine nur leichte Blut-Hirn-Schrankenstörung, sowie keine oder eine nur geringgradige Erhöhung des Gesamtproteins im Liquor und keine oder eine nur geringgradige Pleozytose (Winfield et al., 1983; Hirohata et al., 1985; Graef et al., 1994; Felgenhauer, 1999). Bei sehr schweren Läsionen des ZNS sahen Winfield et al. (1983) jedoch auch bei systemischem Lupus erythematoses sekundär eine deutliche Schrankenstörung.

Von den drei Hunden mit FSME zeigten alle eine intrathekale IgG-Produktion, davon zwei mit Blut-Hirn-Schrankenstörung. Einer davon hatte eine hochgradige Pleozytose, aber einen negativen Pandy-Test. Von den anderen beiden lag keine Zellzählung und kein Pandy-Test vor. Der Gesamtproteingehalt im Liquor war bei allen dreien deutlich erhöht. Die Mittelwerte des Gesamtproteins im Liquor, Albuminquotienten und IgG-Index waren deutlich erhöht und die höchsten aller in dieser Arbeit vorkommenden Entzündungen (164 mg/dl; $9,39 \times 10^{-3}$; 2,51).

Auch Tipold et al. (1993 und 1994) haben eine intrathekale IgG-Produktion bei FSME beschrieben, die Blut-Hirn-Schranke dabei aber nicht beurteilt.

Beim Menschen geht die FSME ebenfalls mit einer Pleozytose, Blut-Hirn-Schrankenstörung und intrathekaler IgG-Produktion einher (Kaiser und Holzmann, 2000).

Vier Hunde mit Staupeenzephalitis wurden untersucht. Zwischen akuter und chronischer Form wurde nicht differenziert. Drei Hunde hatten eine intrathekale IgG-Produktion, einer davon mit Blut-Hirn-Schrankenstörung. Eine Erhöhung des Gesamtproteingehalts im Liquor und ein positiver Pandy-Test lagen nur bei den beiden Hunden mit isolierter intrathekaler IgG-Produktion vor. Eine Pleozytose wurde nur in einem Fall nachgewiesen, bei einem der Hunde mit isolierter intrathekaler IgG-Produktion. Der Hund mit unauffälligem Liquorproteinprofil war auch in allen anderen Liquoruntersuchungen unauffällig. Der Mittelwert des Gesamtproteingehalts im Liquor war nicht erhöht (29 mg/dl), der des Albuminquotienten leicht erhöht ($4,42 \times 10^{-3}$) und der des IgG-Index deutlich erhöht (2,47) und der zweithöchste aller beurteilten Entzündungen.

Ähnliche Ergebnisse wurden in der Literatur berichtet. Vandeveldet al. (1986) sahen eine intrathekale IgG-Produktion ohne oder mit leichter Schrankenstörung bei Staupe mit entzündlicher Demyelinisierung. Bei Staupe mit nicht-entzündlicher Demyelinisierung konnten sie weder intrathekale IgG-Produktion noch Schrankenstörung feststellen. Bichsel et al. (1984), Johnson et al. (1988) und Tipold et al. (1993 und 1994) wiesen eine intrathekale IgG-Produktion in allen Fällen chronischer Staupe nach und keine oder nur eine geringgradige intrathekale IgG-Produktion bei akuter Staupe. Keine Schrankenstörungen beziehungsweise in einem Drittel der Fälle leichte Schrankenstörungen sahen Bichsel et al. (1984) bei akuter und chronischer Staupe. Im Gegensatz dazu und auch zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit beobachteten Sorjonen et al. (1989) bei allen Hunden mit Staupe Schrankenstörungen, am deutlichsten bei akuter Staupe.

Zwischen chronischer Staupe und SSPE beim Menschen, beide durch ein Morbillivirus verursacht, bestehen viele Gemeinsamkeiten in den pathologischen Auswirkungen auf das ZNS (Johnson et al., 1988). In Bezug auf die lokale Immunglobulinproduktion und die Blut-Hirn-Schranke wurde auch bei SSPE vor allem eine intrathekale IgG-Produktion gesehen, leichte Schrankenstörungen konnten aber nicht ausgeschlossen werden (Schliep und Felgenhauer, 1978; Silva et al., 1985; Reiber, 1998; Felgenhauer, 1999).

In beiden Fällen von GME wurde eine intrathekale IgG-Produktion mit Blut-Hirn-Schrankenstörung nachgewiesen. Beide hatten einen erhöhten Gesamtproteingehalt im Liquor und Pleozytose, nur einer einen positiven Pandy-Test. Die Mittelwerte des Gesamtproteins im Liquor, Albuminquotienten und IgG-Index waren leicht erhöht (58 mg/dl; $5,56 \times 10^{-3}$; 1,09).

Damit übereinstimmende Beobachtungen wurden in der Literatur nur zur intrathekalen IgG-Produktion gemacht. Tipold et al. (1993 und 1994) sahen bei allen ihren Hunden mit GME eine intrathekale IgG-Produktion, bei einem eine besonders hohe. Die Blut-Hirn-Schranke wurde von ihnen nicht beurteilt. Bichsel et al. (1984) untersuchten zwei Hunde mit GME und fanden bei einem eine isolierte intrathekale IgG-Produktion, bei dem anderen eine massive isolierte Schrankenstörung. Auch Sorjonen (1987) stellte massive Schrankenstörungen bei GME fest.

Zwei Hunde mit SRMA wurden beurteilt. Einer hatte eine intrathekale IgG-Produktion mit Blut-Hirn-Schrankenstörung, einen deutlich erhöhten Gesamtproteingehalt im Liquor, einen zweifach positiven Pandy-Test und eine Pleozytose. Der andere hatte eine isolierte Blut-Hirn-Schrankenstörung und eine deutliche Pleozytose, aber einen unauffälligen Gesamtproteingehalt im Liquor und Pandy-Test. Die Mittelwerte des Gesamtproteins im Liquor, Albuminquotienten und IgG-Index waren leicht erhöht (74 mg/dl; $4,62 \times 10^{-3}$; 1,44).

Dagegen stellten Tipold et al. (1993 bzw. 1994) bei fünf von sechs beziehungsweise bei elf von zwölf Hunden mit SRM eine intrathekale IgG-Produktion fest. Die Blut-Hirn-Schranke wurde dabei nicht beurteilt.

Auch bei „immun-medierten“ Enzephalitiden des Menschen wurde, wie schon erwähnt, in den meisten Fällen eine intrathekale IgG-Produktion gesehen. Schrankenstörungen können vereinzelt vorkommen, sind dann aber eher leicht (Winfield et al., 1983; Hirohata et al., 1985; Graef et al., 1994).

Der eine Hund mit Polyradikulitis hatte eine intrathekale IgG-Produktion mit dominierender Blut-Hirn-Schrankenstörung und eine Gesamtproteinerhöhung im Liquor. Von ihm lag keine Zellzählung und kein Pandy-Test vor. Der Gesamtproteingehalt im Liquor lag bei 69 mg/dl, der Albuminquotient bei $8,40 \times 10^{-3}$ und der IgG-Index geringgradig erhöht bei 1,0.

Auch Murray und Cuddon (2002) stellten Blut-Hirn-Schrankenstörungen bei Hunden mit Polyradikulitis fest, allerdings nur in lumbalem Liquor. Sie verglichen den zisternalen und lumbalen Liquor von 15 Hunden mit Polyradikulitis mit dem von zehn gesunden Kontrollhunden. Die Hunde mit Polyradikulitis hatten im lumbalen Liquor einen signifikant höheren Mittelwert des Albuminquotienten als die Kontrollgruppe, nicht aber im zisternalen. Im IgG-Index gab es sowohl im zisternalen als auch im lumbalen Liquor keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Tipold et al. (1993) haben eine Erhöhung des IgG-Index bei einem Hund mit Polyradikulitis beschrieben, den Grad der Erhöhung jedoch nicht beurteilt. Auch die Blut-Hirn-Schranke wurde dabei nicht untersucht.

Die akute Polyradikulitis beim Hund wird als Tiermodell für die akute axonale Form des Guillain-Barré-Syndroms beim Menschen betrachtet. Schwellungen im Bereich der Spinalwurzeln führen bei Guillain-Barré-Syndrom zu Liquorabflussbehinderungen und damit zu teilweise hochgradigen Erhöhungen des Albuminquotienten. Ein typisches Bild ist dabei die albuminozytologische Dissoziation, eine Erhöhung des Proteingehalts, vor allem des Albumins, bei normaler Zellzahl, am deutlichsten zu sehen im lumbalen Liquor. Eine intrathekale IgG-Produktion findet dabei nicht statt (Schliep und Felgenhauer, 1978; Reiber, 1995 a; Felgenhauer, 1999; Murray und Cuddon, 2002).

Die 18 Entzündungen unbekannter Ätiologie verteilten sich morphologisch auf neun gemischtzellige, fünf granulozytäre, drei lymphozytäre und eine lympho-monozytäre Entzündung.

Bei den neun gemischtzelligen Entzündungen wurde in acht Fällen eine Blut-Hirn-Schrankenstörung festgestellt, in sechs Fällen mit zusätzlicher intrathekaler IgG-Produktion. Alle sechs hatten eine Gesamtproteinerhöhung im Liquor, fünf eine Pleozytose und zwei einen positiven Pandy-Test. In zwei Fällen wurde eine isolierte Blut-Hirn-Schrankenstörung festgestellt. Beide hatten eine Pleozytose, aber einen unauffälligen Liquorproteingehalt und Pandy-Test. Im verbleibenden Fall lag trotz leichter Pleozytose keine Veränderung des Liquorproteinprofils vor. Auch das Gesamtprotein im Liquor und der Pandy-Test waren unauffällig. Die Mittelwerte des Gesamtproteins im Liquor, Albuminquotienten und IgG-Index waren leicht erhöht (65 mg/dl; $5,49 \times 10^{-3}$; 1,50).

Von den fünf granulozytären Entzündungen verliefen vier mit Blut-Hirn-Schrankenstörung, davon eine zusätzlich mit intrathekaler IgG-Produktion. Diese vier hatten eine Gesamtproteinerhöhung im Liquor, alle fünf eine Pleozytose und einen negativen Pandy-Test. Die Mittelwerte des Gesamtproteins im Liquor und Albuminquotienten waren leicht erhöht (51 mg/dl; $5,40 \times 10^{-3}$) und der des IgG-Index unauffällig (0,66).

Bei den drei lymphozytären Entzündungen wurde eine intrathekale IgG-Produktion ohne und eine mit Blut-Hirn-Schrankenstörung, sowie eine isolierte Schrankenstörung festgestellt. Die Hunde mit Schrankenstörung hatten auch eine Gesamtproteinerhöhung im Liquor, alle drei eine Pleozytose und einen negativen Pandy-Test. Die Mittelwerte des Gesamtproteins im Liquor und Albuminquotienten waren leicht (44,3 mg/dl; $5,35 \times 10^{-3}$), der des IgG-Index deutlich erhöht (2,60).

Die lympho-monozytäre Entzündung verlief mit einer isolierten Blut-Hirn-Schrankenstörung, bei erhöhtem Liquorprotein, Pleozytose und negativem Pandy-Test. Der Gesamtproteingehalt im Liquor lag bei 69 mg/dl, der Albuminquotient bei $8,73 \times 10^{-3}$ und der IgG-Index bei 0,42.

Bei Entzündungen aller Zelltypen wurden in der vorliegenden Arbeit sowohl intrathekale IgG-Produktionen als auch Blut-Hirn-Schrankenstörungen festgestellt, wobei die Schrankenstörungen immer überwogen. Diese Beobachtung machten auch Bichsel et al. (1984).

In der Humanmedizin werden dagegen bei bakteriellen Enzephalitiden (dominant granulozytäres Zellbild) mittlere bis schwere Schrankenstörungen bis hin zu Schrankenzusammenbrüchen und bei viralen Enzephalitiden (dominant mononukleäres Zellbild) keine bis leichte Schrankenstörungen gesehen. Eine intrathekale IgG-Produktion kommt in beiden Fällen vor (Reiber, 1995 a; Felgenhauer, 1999).

- Tumor (n = 11)

Innerhalb dieser Krankheitsgruppe wurde in 73% der Fälle eine Gesamtproteinerhöhung im Liquor festgestellt. Eine Liquoralbuminerhöhung zeigten 64% und eine Erhöhung des Albuminquotienten auch 64% der Hunde. Der IgG-Gehalt im Liquor war in 82%, der IgG-Index in 36% der Fälle erhöht. Mit diesen Werten unterschieden sich Tumore in keinem Parameter signifikant von

Entzündungen, aber in allen Parametern außer dem Liquor-IgG signifikant bis hoch signifikant von den anderen Krankheitsgruppen. Im Liquor-IgG unterschieden sich Tumore signifikant von Bandscheibenvorfällen und hoch signifikant von idiopathischer Epilepsie.

Für die absoluten Messwerte ergab der nichtparametrische Kruskal-Wallis-Test bei Tumoren im Vergleich mit den anderen Krankheitsgruppen die höchsten Werte im Gesamtproteingehalt des Liquors, die zweithöchsten in allen anderen Parametern. Auch in Bezug auf die absoluten Werte gab es keine signifikanten Unterschiede zu Entzündungen. Signifikante bis hoch signifikante Unterschiede bestanden im Gesamtproteingehalt und IgG-Gehalt im Liquor zu allen anderen Krankheitsgruppen, im Liquoralbumingehalt und Albuminquotient zu Bandscheibenvorfällen und idiopathischer Epilepsie, sowie im IgG-Index zu orthopädischen Krankheiten.

82% der Hunde mit Tumor hatten ein auffälliges Liquorproteinprofil. Das waren 46% mit einer reinen Blut-Hirn-Schrankenstörung, 18% mit intrathekalen IgG-Produktion ohne und 18% mit intrathekalen IgG-Produktion mit Schrankenstörung.

- Eine reine Blut-Hirn-Schrankenstörung wurde bei zwei malignen Lymphomen, einem Hypophysentumor, einem Plexuskarzinom und einem nicht weiter differenzierten Tumor im Gehirn gesehen.
- Intrathekale IgG-Produktion ohne Schrankenstörung zeigten ein Ependyom und ein nicht weiter differenzierter Tumor im Gehirn.
- Intrathekale IgG-Produktion mit Schrankenstörung zeigten ein malignes Lymphom und Gehirnmastasen eines Lungentumors.
- Ein unverändertes Liquorproteinprofil wurde bei einem Gliom und einem Okulomotorius-Neurinom gesehen.

Drei Hunde mit malignem Lymphom wurden untersucht. Alle drei zeigten eine Blut-Hirn-Schrankenstörung, davon einer mit zusätzlicher intrathekalen IgG-Produktion. Dieser hatte einen positiven Pandy-Test und deutlich erhöhten Gesamtproteingehalt im Liquor, aber keine Pleozytose. Die anderen beiden hatten einen leicht erhöhten Gesamtproteingehalt im Liquor, einen negativen Pandy-Test, einer eine Pleozytose und der andere einen unauffälligen Zellgehalt. Die Mittelwerte des Gesamtproteins im

Liquor und Albuminquotienten waren leicht bis deutlich ($97,3 \text{ mg/dl}$; $7,94 \times 10^{-3}$), der des IgG-Index leicht erhöht (1,05).

Auch Bichsel et al. (1984) wiesen bei einem Lymphosarkom eine intrathekale IgG-Produktion mit Blut-Hirn-Schrankenstörung nach. Von Tipold et al. (1993) wurde eine intrathekale IgG-Produktion bei Lymphom beschrieben, die Blut-Hirn-Schranke dabei aber nicht beurteilt.

Von den Hunden mit Tumoren der Neuroglia hatte einer ein Gliom und einer ein Ependymom.

Bei dem Hund mit Gliom wurden keinerlei Veränderungen des Liquors festgestellt. Auffallend war der Hund mit Ependymom. Er hatte eine isolierte intrathekale IgG-Produktion, Pleozytose und dreifach positiven Pandy-Test. Das Gesamtprotein im Liquor war hochgradig erhöht (230 mg/dl), ebenso der IgG-Index ($25,08$), während der Albuminquotient sehr niedrig war ($0,79 \times 10^{-3}$). Bei diesem Hund wurde der mit großem Abstand höchste IgG-Index - der nächstfolgende Wert war $5,59$ - aller beteiligten Hunde gemessen. In der Sektion konnte eine Kompression der angrenzenden Hirnareale mit sekundärer Entzündung festgestellt werden. Doch es ist fraglich, ob die Entzündungsreaktion und die unmittelbare Nachbarschaft des Tumors zum Liquorkompartiment ausreichen, um diesen extrem hohen IgG-Index zu erklären. Der betroffene Hund hatte mit einem Liquoralbumingehalt von $2,6 \text{ mg/l}$ und einem Albuminquotienten von $0,79 \times 10^{-3}$ die niedrigsten Werte aller untersuchten Hunde; in der Referenzgruppe von Fischer et al. (1999) wurden bei gesunden Hunden 5 mg/l und $1,56 \times 10^{-3}$ als niedrigste Werte gemessen. Womöglich hat die extreme Höhe dieses IgG-Index also auch mathematische Gründe. Auf diesen Aspekt wird an späterer Stelle noch intensiver eingegangen.

Bei Tumoren der Neuroglia wurden die intrathekale IgG-Produktion und die Blut-Hirn-Schranke auch von Bichsel et al. (1984) beurteilt. Sie untersuchten drei Hunde mit Oligodendrogliom und einen mit Glioblastom. Ihre Ergebnisse gleichen denen des gerade beschriebenen Glioms, nicht aber denen des Ependymoms. Bei einem Hund mit Oligodendrogliom wiesen sie eine leichte intrathekale IgG-Produktion, bei einem zweiten eine leichte Schrankenstörung nach. Der dritte und der Hund mit Glioblastom zeigten weder eine intrathekale IgG-Produktion noch eine Schrankenstörung.

Ein Hund mit Hypophysentumor hatte eine isolierte Blut-Hirn-Schrankenstörung. Die Zellzahl war unauffällig, der Pandy-Test negativ, der Gesamtproteingehalt im Liquor und der Albuminquotient waren leicht erhöht (32 mg/dl; $4,18 \times 10^{-3}$).

Bichsel et al. (1984) untersuchten einen Hund mit hypophysärem Retikulosarkom. Dieser hatte keine intrathekale IgG-Produktion, aber auch keine Schrankenstörung.

Auch bei einem Hund mit Plexuskarzinom wurde eine isolierte Blut-Hirn-Schrankenstörung festgestellt. Es lag keine Pleozytose, ein negativer Pandy-Test, keine Erhöhung des Liquorproteins (30 mg/dl) und ein leicht erhöhter Albuminquotient ($5,28 \times 10^{-3}$) vor.

Ein Hund mit Gehirnmetastasen eines Lungentumors wies eine intrathekale IgG-Produktion mit Blut-Hirn-Schrankenstörung auf. Er hatte eine unauffällige Zellzahl, einen negativen Pandy-Test, einen deutlich erhöhten Gesamtproteingehalt im Liquor und IgG-Index (131 mg/dl; 2,60) und einen leicht erhöhten Albuminquotienten ($4,11 \times 10^{-3}$).

Bei einem Hund mit Okulomotorius-Neurinom wurden keinerlei Veränderungen des Liquors festgestellt.

Von zwei Hunden mit nicht weiter differenziertem Tumor im Gehirn hatte einer eine isolierte Blut-Hirn-Schrankenstörung und der andere eine isolierte intrathekale IgG-Produktion. Beide hatten keine Pleozytose, einen negativen Pandy-Test und leicht erhöhtes Gesamtprotein im Liquor (42 mg/dl bzw. 57 mg/dl). Der eine hatte einen leicht erhöhten Albuminquotienten ($4,56 \times 10^{-3}$), der andere einen leicht erhöhten IgG-Index (0,75).

In der vorliegenden Arbeit hatten alle Hunde mit ZNS-Tumor außer dem mit Ependymom normale oder nur leicht erhöhte IgG-Indizes. Die Blut-Hirn-Schranke war häufig leicht gestört. Damit übereinstimmende Beobachtungen beim IgG-Index machten sowohl Bichsel et al. (1984) als auch Tipold et al. (1993). Bei der Beurteilung der Blut-Hirn-Schranke stellten Bichsel et al. (1984) und Sorjonen (1987) aber eher schwere Störungen fest.

Dagegen werden in der Humanmedizin bei primären Hirntumoren, mit der Ausnahme von Dysgerminom und Non-Hodgkin-Lymphom, reine Schrankenstörungen beschrieben (Schliep und Felgenhauer, 1978; Reiber, 1980; Reiber, 1995 a; Felgenhauer, 1999). Felgenhauer (1999) beurteilte die Blut-Hirn-Schrankenstörung bei Glioblastomen als leicht, die bei Lymphomen und Metastasen als mittel.

Bei sechs der elf Hunde mit Tumor war die Zellzahl unauffällig und das Gesamtprotein im Liquor zum Teil deutlich erhöht, bei fünf davon auch das Liquoralbumin. Diese albuminozytologische Dissoziation ist typisch für stenosierende Tumore des Zentralnervensystems, beim Menschen auch für das Guillain-Barré-Syndrom.

- Bandscheibenvorfall (n = 37)

Innerhalb dieser Krankheitsgruppe wurde in 14% der Fälle eine Gesamtproteinerhöhung im Liquor festgestellt. Eine Liquoralbuminerhöhung zeigten 11% und eine Erhöhung des Albuminquotienten ebenfalls 11% der Hunde. Der IgG-Gehalt im Liquor war in 43%, der IgG-Index in 8% der Fälle erhöht. Mit diesen Werten unterschieden sich Bandscheibenvorfälle in keinem Parameter signifikant von orthopädischen Krankheiten, aber in allen Parametern signifikant bis hoch signifikant von Entzündungen und Tumoren, im Liquor-IgG auch signifikant von idiopathischer Epilepsie.

Für die Höhe der absoluten Messwerte ergab der nichtparametrische Kruskal-Wallis-Test bei Bandscheibenvorfällen im Vergleich mit den anderen Krankheitsgruppen Rang drei im IgG-Index und Rang vier in allen anderen Parametern. Auch in Bezug auf die absoluten Werte gab es keine signifikanten Unterschiede zu orthopädischen Krankheiten. Signifikante bis hoch signifikante Unterschiede bestanden im Gesamtproteingehalt und Albumingehalt im Liquor zu Entzündungen, Tumoren und idiopathischer Epilepsie, im Albuminquotient und IgG-Gehalt im Liquor zu Entzündungen und Tumoren, sowie im IgG-Index zu Entzündungen.

22% der Hunde mit Bandscheibenvorfall hatten ein auffälliges Liquorproteinprofil. Das waren 14% (fünf Hunde) mit einer reinen Blut-Hirn-Schrankenstörung und 8% (drei Hunde) mit einer reinen intrathekalen IgG-Produktion.

- Die fünf Hunde mit isolierter Blut-Hirn-Schrankenstörung hatten leicht erhöhte Albuminquotienten ($4,04 \times 10^{-3}$ bis $5,76 \times 10^{-3}$). Vier davon hatten ein leicht erhöhtes Gesamtprotein im Liquor (33 mg/dl bis 65 mg/dl), einer einen positiven Pandy-Test und keiner eine Pleozytose.
- Bei den drei Hunden mit intrathekalen IgG-Produktion waren die IgG-Indizes leicht erhöht (0,72 bis 1,67), Gesamtprotein im Liquor, Pandy-Test und Zellzahl aber unauffällig.
- Von den 29 Hunden ohne Liquorproteinveränderung hatten alle einen unauffälligen Pandy-Test und keine Pleozytose, aber einer eine leichte Erhöhung des Gesamtproteingehalts im Liquor (31 mg/dl).

Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen anderer Autoren überein. So stellten auch Bichsel et al. (1984) isolierte leichte Blut-Hirn-Schrankenstörungen bei drei von zehn Hunden mit Bandscheibenvorfall fest. Sorjonen (1987) berichtete ebenfalls von leichten Schrankenstörungen bei Hunden mit Bandscheibenvorfall, ohne eine intrathekale IgG-Produktion zu berücksichtigen. Tipold et al. (1993) fanden bei Hunden mit Bandscheibenvorfall überwiegend normale, zum Teil leicht erhöhte IgG-Indizes, die Blut-Hirn-Schranke wurde dabei nicht beurteilt.

Auch beim Menschen beschrieben Schliep und Felgenhauer (1978) Blut-Hirn-Schrankenstörungen bei zervikalem Bandscheibenvorfall. Der Grad der Störung hing vom Ausmaß des Vorfalls ab, wobei ein zusätzlicher vaskulärer Einfluss nicht ausgeschlossen werden konnte. Ob eine intrathekale IgG-Produktion stattfand, beurteilten sie nicht. Rao und Boker (1987) sahen bei 8% ihrer Patienten mit lumbalem Bandscheibenvorfall eine intrathekale IgG-Produktion mit Blut-Hirn-Schrankenstörung.

- Orthopädische Krankheiten (n = 20)

Innerhalb dieser Krankheitsgruppe wurde in 10% der Fälle eine Gesamtproteinerhöhung im Liquor festgestellt. Eine Liquoralbuminerhöhung zeigten

15% und eine geringgradige Erhöhung des Albuminquotienten 10% der Hunde. Der IgG-Gehalt im Liquor war in 45%, der IgG-Index jedoch in keinem Fall erhöht. Mit diesen Werten unterschieden sich orthopädische Krankheiten in keinem Parameter signifikant von Bandscheibenvorfällen, aber in allen Parametern hoch signifikant von Entzündungen. Sie unterschieden sich signifikant bis hoch signifikant in allen Parametern außer dem IgG-Gehalt im Liquor von Tumoren und im IgG-Gehalt im Liquor hoch signifikant von idiopathischer Epilepsie.

Für die Höhe der absoluten Messwerte ergab der nichtparametrische Kruskal-Wallis-Test für orthopädische Krankheiten im Vergleich mit den anderen Krankheitsgruppen Rang fünf im IgG-Index und Rang drei in allen anderen Parametern. Auch in Bezug auf die absoluten Werte gab es keine signifikanten Unterschiede zu orthopädischen Krankheiten. Hoch signifikante Unterschiede bestanden in allen Parametern zu Entzündungen, signifikante bis hoch signifikante Unterschiede im Liquorproteingehalt, Liquor-IgG-Gehalt und IgG-Index zu Tumoren, sowie im Liquorproteingehalt, Liquoralbumingehalt, Albuminquotient und Liquor-IgG-Gehalt zu idiopathischer Epilepsie.

10% der Hunde mit orthopädischer Krankheit hatten ein auffälliges Liquorproteinprofil. Das waren zwei Hunde mit einer isolierten Blut-Hirn-Schrankenstörung.

- Beide Hunde mit isolierter Blut-Hirn-Schrankenstörung hatten einen leicht erhöhten Albuminquotienten ($3,85 \times 10^{-3}$ bzw. $6,42 \times 10^{-3}$), eine leichte Erhöhung des Gesamtproteingehalts im Liquor (41 mg/dl bzw. 55 mg/dl), aber keine Veränderung im Pandy-Test und in der Zellzahl.
- Von den 18 Hunden ohne Liquorproteinveränderung zeigte keiner Auffälligkeiten im Gesamtproteingehalt im Liquor, im Pandy-Test und in der Zellzahl.

Die Blut-Hirn-Schranke und intrathekale IgG-Produktion wurde von anderen Autoren bei orthopädischen Krankheiten nicht beurteilt.

Die Krankheitsgruppe „orthopädische Krankheiten“ war als Kontrollgruppe gedacht, da in dieser Gruppe keine Veränderung des Liquorproteinprofils zu erwarten war.

Spricht dann dieses Ergebnis gegen die Spezivität des Albuminquotienten als Indikator einer Blut-Hirn-Schrankenstörung?

Bei beiden Hunden mit erhöhtem Albuminquotienten konnten die orthopädischen Befunde, eine hochgradige beidseitige Coxarthrose und eine Subluxation im rechten Hüftgelenk, die Schrankenstörung nicht erklären. Auch eine Myelographie ergab in beiden Fällen keinen pathologischen Befund. Bei beiden Hunden war allerdings auch der Gesamtproteingehalt im Liquor erhöht. Das deutet auf eine parallel verlaufende zweite Erkrankung hin, die den pathologischen Liquorbefund womöglich hätte erklären können, zum Zeitpunkt der Untersuchungen aber nicht nachweisbar war. Die Kritik muss also eher an der Auswahl der Kontrollgruppe ansetzen als an der Eignung des Albuminquotienten als Indikator einer Blut-Hirn-Schrankenstörung.

- Idiopathische Epilepsie (n = 21)

Innerhalb dieser Krankheitsgruppe waren der Gesamtproteingehalt im Liquor, der Liquoralbumingehalt, der Albuminquotient und der IgG-Index in keinem Fall erhöht. 5% der Hunde zeigten eine Erhöhung des IgG-Gehalts im Liquor. Mit diesen Werten unterschied sich idiopathische Epilepsie hoch signifikant in allen Parametern von Entzündungen und Tumoren und im Liquor-IgG-Gehalt von Bandscheibenvorfällen und orthopädischen Krankheiten.

Für die Höhe der absoluten Messwerte ergab der nichtparametrische Kruskal-Wallis-Test für idiopathische Epilepsie im Vergleich mit den anderen Krankheitsgruppen Rang vier im IgG-Index und Rang fünf in allen anderen Parametern. In Bezug auf die absoluten Werte gab es hoch signifikante Unterschiede zu Entzündungen in allen Parametern, zu Tumoren und orthopädischen Krankheiten in allen Parametern außer dem IgG-Index, sowie signifikante bis hoch signifikante Unterschiede zu Bandscheibenvorfällen im Liquorproteingehalt und Liquoralbumingehalt.

Kein Hund mit idiopathischer Epilepsie hatte ein auffälliges Liquorproteinprofil, was so auch erwartet wurde. Ein Hund hatte eine leichte Erhöhung des IgG-Gehalts im Liquor (17 mg/l), sonst waren alle Liquoruntersuchungen in dieser Krankheitsgruppe unauffällig. Von anderen Autoren wurde das Liquorproteinprofil bei Hunden mit idiopathischer Epilepsie bisher nicht beurteilt.

Hat die Bestimmung des Liquorproteinprofils einen differenzialdiagnostischen Nutzen?

Die Ergebnisse zeigen, dass die Kombination aus konventioneller Liquordiagnostik und differenzierter Proteinbestimmung im Liquor eine höhere Sensitivität aufweist als die konventionelle Liquordiagnostik alleine. Die Höhe der Werte und die Anzahl veränderter Werte des IgG-Index oder Albuminquotienten sind jedoch nicht für bestimmte Krankheiten oder Krankheitsgruppen spezifisch. Der differenzialdiagnostische Nutzen besteht also weniger in der Möglichkeit einer Zuordnung zu einer bestimmten Krankheit als in der Möglichkeit der Unterscheidung von „unverändert“ und „verändert“. Dieser Nutzen wird in dieser Arbeit besonders am Beispiel der Hunde mit White-Dog-Shaker-Disease und idiopathischer Epilepsie deutlich.

Wünschenswert wäre gewesen vor allem bei den Entzündungen häufiger auch eine ätiologische Diagnose zu haben. Da die Hunde aber alle aus dem normalen Patientengut der Kliniken stammten, waren die diagnostischen Möglichkeiten teilweise durch den Wunsch der Patientenbesitzer limitiert. Das kann sicher in einzelnen Fällen auch dazu geführt haben, dass bei eigentlich multimorbiden Tieren letztendlich nur eine Krankheit erkannt wurde. Außerdem führten die strengen Kriterien bei der Zuteilung zu einer Krankheitsgruppe dazu, dass zahlreiche Hunde in dieser Arbeit keine Berücksichtigung fanden, obwohl ein Verdacht auf eine bestimmte Krankheit bestand. Dazu zählten beispielsweise viele Hunde, bei denen zwar die Anamnese, die neurologische Untersuchung und die Computertomographie den Verdacht auf einen Tumor nahe legten, aber keine (histo-) pathologische Untersuchung des betroffenen Bereichs durchgeführt werden konnte. Das erklärt die geringe Anzahl der Tumore in dieser Arbeit.

Die Krankheitsgruppen Entzündung und Tumor sind in sich sehr inhomogen. Es wäre sicherlich sinnvoller nicht die Krankheitsgruppen sondern nur die einzelnen Krankheiten vergleichend zu betrachten. Aus genannten Gründen ist die Anzahl der einzelnen Krankheiten in dieser Arbeit aber sehr niedrig, so dass keine repräsentativen Aussagen hätten getroffen werden können. Daher wurde sich darauf beschränkt, Tendenzen aufzuzeigen. Diese Tendenzen zu verifizieren, könnte das Ziel zukünftiger Untersuchungen sein.

Die Höhe des IgG-Gehalts im Liquor ist von drei Faktoren abhängig, dem IgG-Gehalt im Serum, dem Status der Blut-Hirn-Schranke und von der intrathekalen IgG-Produktion. Der absolute IgG-Gehalt im Liquor kann deshalb nicht als Indikator einer intrathekalen IgG-Produktion in Erwägung gezogen werden. Stattdessen wurden in der Humanmedizin zahlreiche mathematische Modelle entworfen, von denen die Intrathekale Syntheserate nach Tourtellotte (1975), das Modell nach Reiber und Felgenhauer (1987) und der IgG-Index nach Link und Tibbling (Tibbling et al., 1977) in der Routinediagnostik verbreitet angewendet werden. 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. Der IgG-Index dagegen ist ein rein mathematisches Modell, entwickelt auf der Grundlage theoretischer Überlegungen.

In der Tiermedizin wird deshalb zum quantitativen Nachweis intrathekal gebildeten IgGs der IgG-Index verwendet. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen sehr anschaulich, dass der IgG-Index das Auftreten einer intrathekalen IgG-Produktion deutlich besser eingrenzt als der 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 erwartungsgemäß keiner dieser Hunde eine Erhöhung des IgG-Index.

Poloni et al. (1979) machen darauf aufmerksam, dass der Berechnung des IgG-Index die Bestimmung von vier Proteinkonzentrationen zugrunde liegt, die als vier unabhängige, mit einem gewissen Grad an Ungenauigkeit behaftete Variablen angesehen werden können. Alleine ein niedriges Liquoralbumin oder Serum-IgG bei sonst normalen Werten reicht aus, den IgG-Index zu erhöhen. Ein Problem, das von Bichsel et al. (1984) bei gesunden Hunden und in der vorliegenden Arbeit bei einem Hund mit Ependymom beobachtet wurde. In der Humanmedizin wird unter anderem aus solchen Gründen heutzutage die Kombination aus quantitativem IgG-Nachweis und qualitativem Nachweis oligoklonaler Immunglobulinbanden mittels isoelektrischer Fokussierung als Standard in der MS-Diagnostik formuliert (Andersson et al., 1994). Inwieweit das auch eine sinnvolle Ergänzung der IgG-Index-Bestimmung beim Hund darstellen könnte, müsste in entsprechenden Versuchsreihen untersucht werden.

Die übrigen Ergebnisse dieser Arbeit und die Vergleiche mit den anderen Autoren sprechen jedoch dafür, dass der IgG-Index auch alleine geeignet ist, intrathekale IgG-Produktion beim Hund nachzuweisen. Der in dieser Arbeit verwendete Referenzbereich von 0,1 - 0,7 (Fischer et al., 1999), der niedriger als die in vergleichbaren Arbeiten verwendeten Referenzbereiche (Bichsel et al., 1984; Vandeveldel et al., 1986; Johnson et al., 1988; Tipold et al., 1993 und 1994), aber ähnlich den Referenzbereichen beim Menschen ist (Tibbling et al., 1977; Poloni et al., 1979; Souverijn et al., 1991; Öhmann et al., 1992; Syndulko et al., 1993; Blennow et al., 1994; Felgenhauer, 1999), erscheint als für die klinische Anwendung geeignet.

Krakowka et al. (1981), Bichsel et al. (1984) und Vandeveldel et al. (1986) berichten von einer großen Variation der Albuminkonzentrationen im Liquor bei gesunden Hunden, die nicht eng mit den Serumalbuminkonzentrationen korrelieren und ziehen deshalb den absoluten Albumingehalt im Liquor als Maß der Blut-Hirn-Schranke dem Albuminquotienten vor. Diese Erfahrung konnte in der vorliegenden Arbeit nicht geteilt werden. Akzeptiert man die Hunde mit idiopathischer Epilepsie als Kontrollgruppe, kommt man zu ähnlichen Ergebnissen wie Fischer et al. (1999) bei gesunden Hunden. Der absolute Albumingehalt im Liquor lag zwischen 4 mg/dl und 9,7 mg/dl (5 und 11,8 mg/dl), der Mittelwert bei 5,9 mg/dl (8,6 mg/dl) und die Standardabweichung bei 1,4 mg/dl (1,4 mg/dl). Für den Albuminquotienten ergaben sich Werte zwischen $1,09 \times 10^{-3}$ und $2,86 \times 10^{-3}$ ($1,56 \times 10^{-3}$ und $3,45 \times 10^{-3}$), ein Mittelwert von $1,8 \times 10^{-3}$ ($2,7 \times 10^{-3}$) und eine Standardabweichung von $0,5 \times 10^{-3}$ ($0,4 \times 10^{-3}$). Die Angaben in Klammern geben die Referenzwerte von Fischer et al. (1999) wieder.

Vielmehr scheint der Albuminquotient dem absoluten Albumingehalt als Indikator einer Schrankenstörung überlegen. Bei 33 Hunden bestand zwischen beiden Parametern eine Übereinstimmung in den erhöhten Werten, bei fünf Hunden jedoch nicht. Bei drei Hunden mit gemischtzelliger Entzündung, davon eine GME, und bei einem Hund mit Bandscheibenvorfall gab nur der Albuminquotient Hinweise auf eine Schrankenstörung, während der Liquoralbumingehalt unauffällig war. Sowohl bei GME, als auch bei Bandscheibenvorfällen berichten aber auch andere Autoren von einer Schrankenstörung (Bichsel et al., 1984; Sorjonen, 1987). Umgekehrt verhielt es sich bei dem fünften Hund. Dieser hatte einen erhöhten Liquoralbumingehalt bei einem unauffälligen Albuminquotienten. Der Hund litt an einer orthopädischen

Erkrankung (Zustand nach Implantatentfernung am rechten Knie), bei der eine Schrankenstörung eindeutig ausgeschlossen werden konnte. Auch dieser Fall spricht also wie schon die vier vorherigen für die Überlegenheit des Albuminquotienten gegenüber dem absoluten Albumingehalt als Indikator einer Blut-Hirn-Schrankenstörung.

In der Humanmedizin wird der Albuminquotient längst als der beste Indikator einer Blut-Hirn-Schrankenstörung akzeptiert (Schliep und Felgenhauer, 1978; Andersson et al., 1994; Blennow et al., 1994). Die Bedenken von Krakowka et al. (1981), Bichsel et al. (1984) und Vandeveldel et al. (1986) gegenüber der Anwendung des Albuminquotienten als Maß der Blut-Hirn-Schrankenfunktion beim Hund haben sich in dieser Arbeit nicht bestätigt. Vielmehr lassen die Ergebnisse und die Vergleiche mit anderen Autoren den Albuminquotient auch beim Hund als geeigneten Indikator einer Blut-Hirn-Schrankenstörung und den verwendeten Referenzbereich ($1,9 - 3,5 \times 10^{-3}$) von Fischer et al. (1999) als für die klinische Anwendung geeignet erscheinen. Dieser Referenzbereich liegt deutlich unter den in der Humanmedizin verwendeten Referenzbereichen (Wick et al., 1987; Felgenhauer, 1999).

Die Nephelometrie hat sich als eine geeignete Methode zur Aufdeckung von Blut-Hirn-Schrankenstörungen und intrathekaler IgG-Produktion beim Hund erwiesen. Wiederfindungsmessungen und Präzisionskontrollen in Serie und von Tag zu Tag konnten eine hohe Genauigkeit und Stabilität dieses Verfahrens aufzeigen. Die Abweichungen bei den Wiederfindungsmessungen waren nie größer als 10% und betragen im Mittel 5%. Die Variationskoeffizienten der Präzisionsmessungen in Serie lagen bei 3%, die der Präzisionsmessungen von Tag zu Tag bei 3 – 7%. Die Durchführung der Messungen ist sehr einfach, wenn die zu messenden Parameter einmal in das Computerprogramm des Geräts eingegeben sind.

Allerdings ist die Nephelometrie nicht zur Messung einzelner Proben geeignet. Dazu ist sie zu kostenintensiv, da eine störungsfreie Messung relativ große Totvolumen an Antiseren benötigt und diese teuer sind. Außerdem muss, wenn das Nephelometer nicht in einem klimatisierten Raum steht, aufgrund der Temperaturabhängigkeit der Antigen-Antikörper-Reaktion an jedem Messtag neu kalibriert werden, was den Zeit- und Kostenaufwand zusätzlich deutlich erhöht. Als nachteilig hat sich auch das mit 300 µl recht große Mindestvolumen der Proben herausgestellt.

In dieser Arbeit wurde erstmals ein Liquorproteinprofil beim Hund anhand des IgG-Index und des Albuminquotienten bestimmt. In allen bisherigen Arbeiten wurde dazu entweder nur der IgG-Index oder der IgG-Index beziehungsweise der IgG-Gehalt des Liquors zusammen mit dem absoluten Liquoralbumingehalt verwendet.

Es konnte gezeigt werden:

- Der IgG-Index und der verwendete Referenzbereich eignen sich als Indikator einer intrathekalen IgG-Produktion beim Hund.
- Der Albuminquotient und der verwendete Referenzbereich eignen sich als Indikator einer Blut-Hirn-Schrankenstörung beim Hund.
- Die Nephelometrie ist eine geeignete Methode zur Bestimmung dieser beiden Parameter.
- Die Bestimmung des IgG-Index und Albuminquotienten ist eine sinnvolle Ergänzung der Routinediagnostik. Bei 14% der Hunde, bei denen der Gesamtproteingehalt im Liquor keine Veränderung aufzeigte, konnten der IgG-Index und der Albuminquotient jedoch einen pathologischen Liquorbefund aufdecken.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der differenzialdiagnostische Nutzen des IgG-Index und des Albuminquotienten bei neurologisch erkrankten Hunden beurteilt und der Frage nachgegangen, ob die Bestimmung dieser beiden Parameter eine sinnvolle Erweiterung der konventionellen Liquordiagnostik darstellt. Der IgG-Index diene als Indikator einer intrathekalen IgG-Produktion und der Albuminquotient als Indikator einer Blut-Hirn-Schrankenstörung.

Von 122 Hunden wurden die Albumin- und IgG-Konzentrationen in Liquor und Serum nephelometrisch bestimmt und daraus der Albuminquotient und IgG-Index berechnet. Zur konventionellen Liquordiagnostik gehörten Zellzählung, Zelldifferenzierung, Pandy-Test und quantitative Proteinbestimmung. Alle 122 Hunde konnten einer von fünf Krankheitsgruppen zugeordnet werden: Entzündung (n = 33), Tumor (n = 11), Bandscheibenvorfall (n = 37), orthopädische Krankheit (n = 20) und idiopathische Epilepsie (n = 21).

Bei 10% aller untersuchten Hunde (12 von 122) konnte der pathologische Liquorbefund nur durch den IgG-Index oder Albuminquotienten aufgedeckt werden, während das Gesamtprotein unauffällig war. Dies entsprach 14% aller Hunde mit unauffälligem Gesamteiweiß. Darunter befanden sich Hunde mit White-Dog-Shaker-Disease, Staupe, SRMA und Plexuskarzinom. Andererseits, wenn bei einem Hund das Gesamtprotein im Liquor erhöht war, so war zu 97% auch der IgG-Index oder der Albuminquotient erhöht.

Von den Hunden aus der Gruppe der Entzündungen zeigten 67% eine Erhöhungen des IgG-Index und 70% eine Erhöhungen des Albuminquotienten. Bei 46% der Tiere waren beide Parameter erhöht. Die höchsten Veränderungen waren bei den Hunden mit FSME zu beobachten. Hunde mit White-Dog-Shaker-Disease waren die einzigen, die ausschließlich eine Erhöhung des IgG-Index aufwiesen. Von den Tumor-Patienten zeigten 36% eine Erhöhung des IgG-Index und 64% eine Erhöhung des Albuminquotienten. Bei 18% der Tiere waren beide Parameter erhöht. Bei einem Ependymom wurde der höchste aller IgG-Indizes gemessen. Patienten mit

Bandscheibenvorfällen hatten zu 8% eine geringgradige Erhöhung des IgG-Index, zu 14% eine geringgradige Erhöhung des Albuminquotienten und nie eine Kombination aus beiden. Von den Hunden mit orthopädischen Krankheiten war bei zweien (10%) eine leichte Erhöhung des Gesamtproteingehalts im Liquor und des Albuminquotienten festzustellen, die mit dem orthopädischen Befund nicht zu erklären war und eine zusätzliche neurologische Krankheit indizierte. Bei idiopathischer Epilepsie traten erwartungsgemäß keine Veränderungen auf.

Auch wenn es zwischen einzelnen Krankheitsgruppen zum Teil hoch signifikante Unterschiede gab, so unterschied sich eine Gruppe in den beiden Parametern doch nie signifikant von allen Krankheitsgruppen – weder in der absoluten Höhe ihrer Werte, noch im Anteil an veränderten Werten.

Bei Hunden mit neurologischem Befund, ohne erhöhtem Gesamtprotein, können IgG-Index und Albuminquotient helfen, einen pathologischen Liquorbefund überhaupt zu erkennen. Aus diesem Grund wird die IgG-Index- und Albuminquotient-Bestimmung in Zukunft eine nützliche Erweiterung der routinemäßig durchgeführten Diagnostik von neurologisch erkrankten Hunden darstellen.

SUMMARY

Investigation of IgG index and albumin quotient for the differential diagnosis of dogs with neurological diseases

In the present study the benefit of IgG index and albumin quotient for the differential diagnosis in dogs with neurological diseases was investigated. The question whether the determination of these two parameters is a convenient extension of the conventional cerebrospinal fluid (CSF) examination was explored. The IgG index served as an indicator for intrathecal IgG synthesis, the albumin quotient as an indicator for disturbances in the blood-brain barrier.

The concentrations of albumin and IgG in CSF and serum of 122 dogs were determined with the help of nephelometry, followed by the calculation of the albumin quotient and IgG index. The conventional CSF examination included cell count, cell morphology, Pandy's test, and protein content. All 122 dogs could be categorized into five different groups according to the clinical and pathological findings: inflammatory diseases (n = 33), tumors (n = 11), disc prolaps (n = 37), orthopedic diseases (n = 20), and idiopathic epilepsy (n = 21).

In 10% of the examined dogs (12 of 122), pathological findings of the cerebrospinal fluid could only be exposed with the help of IgG index or albumin quotient, with the total protein level being normal. This result was equivalent to 14% of the dogs with normal total protein levels. Among these patients were dogs with white dog shaker disease, distemper, steroid responsive meningitis arteritis, and plexus carcinoma. On the other side, dogs with increased CSF total protein had a 97% chance of increased IgG index or albumin quotient.

67% of the dogs with inflammatory diseases showed an increase in IgG index and 70% an increase in albumin quotient. In 46% of these animals both parameters were elevated. Maximum changes were observed in dogs with central European tick-borne encephalitis. Dogs with white dog shaker disease were the only ones to exhibit an exclusive increase in the IgG index. 36% of the patients with tumors showed an

increase in IgG index and 64% an increase in albumin quotient. In 18% of the animals both parameters were elevated. The highest level of all IgG indices was obtained in a patient with an ependymoma. Patients with disc prolapse showed in 8% of the cases a mild increase in IgG index and in 14% a mild increase in albumin quotient, but never a combination of both. In dogs with orthopedic diseases, two (10%) had a slight increase in CSF total protein and albumin quotient, which could not be explained with the orthopedic findings and which indicated an additional neurological disease. As expected, no changes occurred with idiopathic epilepsy. Even when there were highly significant differences between the single groups of patients, one group never differed significantly from all of the others groups in both parameters – neither in absolute levels nor in the proportion of altered values.

In dogs with neurological symptoms without increased levels of protein, IgG index and albumin quotient can help to identify pathological findings of the cerebrospinal fluid. In the future, the determination of IgG index and albumin quotient will be an useful extension of the routinely used CSF examination in dogs with neurological diseases.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

Andersson M, Alvarez-Cermeno J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J:
Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report.
J Neurol Neurosurg Psychiatry 1994; 57: 897-902

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

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

Barker CF, Billingham RE:
Immunologically privileged sites. Adv Immunol 1977; 25: 1-54

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

Blennow K, Fredman P, Wallin A, Gottfries CG, Langström G, Svennerholm L:
Protein analysis in cerebrospinal fluid: I. Influence of concentration gradients for
proteins on cerebrospinal fluid / serum albumin ratio.
Eur Neurol 1993 a; 33: 126-8

Blennow K, Fredman P, Wallin A, Gottfries CG, Karlsson I, Langström G, Skoog I,
Svennerholm L, Wikkelsö C:
Protein analysis in cerebrospinal fluid: II. Reference values derived from healthy
individuals 18 - 88 years of age. Eur Neurol 1993 b; 33: 129-33

Blennow K, Fredman P, Wallin A, Gottfries CG, Skoog I, Wikkelsö C, Svennerholm L:
Protein analysis in cerebrospinal fluid: III. Relation to blood-cerebrospinal fluid
barrier function for formulas for quantitative determination of intrathecal IgG
production. Eur Neurol 1993 c; 33: 134-42

Blennow K, Fredman P, Wallin A, Gottfries CG, Frey H, Pirttilä T, Skoog I, Wikkelsö C,
Svennerholm L:
Formulas for the quantitation of intrathecal IgG production: their validity in the
presence of blood-brain barrier damage and their utility in multiple sclerosis.
J Neurol Sci 1994; 121: 90-6

Böhme G:

Zentralnervensystem. In Nickel R, Schummer A, Seiferle E: Lehrbuch der
Anatomie der Haustiere. Bd. 4. Nervensystem, Sinnesorgane, endokrine
Drüsen, 3. Aufl. Verlag Paul Parey, Berlin 1991: 194

Braund KG:

Clinical Syndroms in Veterinary Neurology. Mosby Year Book Inc.,
Missouri 1994: 368-9

Burtis CA, Ashwood ER:

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

Carakostas MC, Gossett KA, Watters JW, McWilliams PS:

Effects of metrizamide myelography on cerebrospinal fluid analysis in the dog.
Vet Radiol 1983; 24: 267-70

Chrisman CL:

Special ancillary investigations. In Problems in Small Animal Neurology.
Lea & Febiger, Philadelphia 1991: 82-8

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

Chu A, Leon M, Nerurkar L, Iivanainen M, Namba M, London W, Madden D, Sever J:

Oligoclonal IgG bands in the cerebrospinal fluid of monkeys with experimental
allergic encephalomyelitis. Prog Clin Biol Res 1984; 146: 347-52

Coles EH:

Cerebrospinal Fluid. In Veterinary Clinical Pathology. WB Saunders,
Philadelphia 1986: 267-78

Cook JR, DeNicola DB:

Cerebrospinal fluid. Vet Clin North Am [Small Anim Pract] 1988; 18: 479

Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Casals D:

Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at
blood-brain barrier sites. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 695-8

Cornford EM, Hyman S:

Blood-brain barrier permeability to small and large molecules.
Adv Drug Deliv Rev 1999; 36: 145-63

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, Deuel RK, Barlow CF:

Albumin exchange between plasma and cerebrospinal fluid. Arch Neurol 1967 a; 17: 261-70

Cutler RWP, Watters GV, Hammerstad JP, Merlen E:

Origin of cerebrospinal fluid gamma globulin in subacute sclerosing leukoencephalitis. Arch Neurol 1967 b; 17: 620-8

Cutler RWP, Watters GV, Hammerstad JP:

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

DeLahunta A:

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

DeLahunta A:

Cerebrospinal fluid and hydrocephalus. In Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology, 2nd ed. WB Saunders Co, Philadelphia 1983 b: 44-5

Delmotte P, Gonsette R:

Biochemical findings in multiple sclerosis. IV. Isoelectric focusing of the CSF gamma globulins in multiple sclerosis (262 cases) and other neurological diseases (272 cases). J Neurol 1977; 215: 27-37

Delpech B, Lichtblau E:

Etude quantitative des immunoglobulines G et de l'albumine du liquide céphalo-rachidien. Clin Chim Acta 1972; 37: 15-23

Dermietzel R, Krause D:

Molecular anatomy of the blood-brain barrier as defined by immunocytochemistry. Int Rev Cytol 1991; 127: 57-109

Dick AP, Harik SI:

Distribution of the glucose transporter in the mammalian brain. J Neurochem 1986; 46: 1406-11

Drewes LR, Singh AK:

Choline transport and metabolism in soman- or sarin-intoxicated brain. J Neurochem 1988; 50: 868-75

Duncan JR, Oliver JE, Mayhew IG:

Laboratory Examinations. In Veterinary Neurology. WB Saunders, Philadelphia 1987: 57-64

Fankhauser H:

Der Liquor cerebrospinalis in der Veterinärmedizin. Zentralbl Veterinärmed (A) 1954: 136-59

Farrell CL, Pardridge WM:

Blood-brain barrier glucose transporter is asymmetrically distributed on brain capillary endothelial luminal and abluminal membranes: An electron microscopic immunogold study. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 5779-83

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:

Messgrößen der neurologischen Labordiagnostik. In: Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen: Liquoranalytik und -zytologie, Diagnose- und Prozessmarker. Thieme, Stuttgart 1999: 37-78

Felgenhauer K, Thomas L:

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

Fenner WR:

Diseases of the brain. In Ettinger SJ, Feldman EC: Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat, 5th ed. WB Saunders, Philadelphia 2000: 552-602

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

Frick E, Scheid-Seydel L:

Untersuchungen mit J131-markiertem Albumin über Austauschvorgänge zwischen Plasma und Liquor cerebrospinalis.

Klin Wochenschr 1958 a; 36: 66-9

Frick E, Scheid-Seydel L:

Untersuchungen mit J131-markiertem Gammaglobulin zur Frage der Abstammung der Liquoreiweißkörper. Klin Wochenschr 1958 b; 36: 857-63

Frydén A, Link H, Norrby E:

Cerebrospinal fluid and serum immunoglobulins and antibody titers in mumps meningitis and aseptic meningitis of other etiology.

Infect Immun 1978; 21: 852-61

Ganong W:

Cerebrospinal Fluid. In Medical Physiology, 16th ed.

Prentice-Hall Int. 1993: 552-3

Ganrot K, Laurell CB:

Measurement of IgG and albumin content of cerebrospinal fluid and its interpretation. Clin Chem 1974; 20: 571-3

Graef IT, Henze T, Reiber H:

Polyspezifische Immunreaktion im ZNS bei Autoimmunerkrankungen mit ZNS-Beteiligung. Zeitschrift für ärztl Fortbildung 1994; 88: 587-91

Greene CE, Appel MJ:

Canine Distemper. In Greene CE: Infectious diseases of the dog and cat, 2nd ed., WB Saunders, Philadelphia 1998: 9-22

Grottker S, Marten J, Rüdiger B:

Vergleichende Untersuchungen postokzipital und lumbar entnommener Liquorproben. In 12. Weltkongreß für Rinderkrankheiten, Amsterdam. Kongr Ber 1982: 869-73

Guyton A:

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

Halliwell REW, Gorman NT:

Veterinary Clinical Immunology. WB Saunders, Philadelphia 1989

Hirohata S, Hirose S, Miyamoto T:

Cerebrospinal fluid IgM, IgA and IgG indexes in systemic lupus erythematosus. Arch Intern Med 1985; 145: 1843-6

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 1969; 217: 348-53

Hurtt AE, Smith MO:

Effects of iatrogenic blood contamination on results of cerebrospinal fluid analysis in clinically normal dogs and dogs with neurologic disease. J Am Vet Med Assoc 1997; 211: 866-7

Iivanainen M, Driscoll B, Richert J, Leon M, Chu A, Kies M, Brown B, Wallen W, Madden D, Sever J:

Oligoclonal IgG in the cerebrospinal fluid of guinea pigs with experimental encephalomyelitis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1982; 171: 272

Jamison EM, Lumdsden JH:

Cerebrospinal fluid analysis in the dog: methodology and interpretation. *Semin Vet Med Surg* 1988; 3: 122-32

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

Jordan JE:

Normal laboratory values in beagle dogs of twelve to eighteen months of age. *Am J Vet Res* 1977; 38: 509-13

Kabat EA, Glusman M, Knaub V:

Quantitative estimation of the albumin and gamma globulin in normal and pathologic cerebrospinal fluid by immunochemical methods. *Am J Med* 1948; 4: 653-62

Kabat EA, Freedman DA, Murray JP, Knaub V:

A study of the crystalline albumin, gamma globulin and total protein in the cerebrospinal fluid of one hundred cases of multiple sclerosis and in other diseases. *Am J Med Sci* 1950; 219: 55-64

Kaiser R, Holzmann H:

Laboratory findings in tick-borne encephalitis -- correlation with clinical outcome. *Infection* 2000 Mar-Apr; 28: 78-84

Keller H:

Liquoranalytik. In Keller H: Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1991: 262-81

Keller P, Freudiger U:

Enzymaktivitäten im Urin, im Liquor cerebrospinalis, in der Gallenblase, im Speichel und im Ejakulat des Hundes. Kleintierpraxis 1984; 29: 15-34

Korenke GC, Reiber HO, Hunnemann DH, Hanefeld F:

Intrathecal IgA synthesis in x-linked cerebral adrenoleukodystrophy. J Child Neurol 1997; 12: 314-20

Kraft W, Dürr U:

Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 3. Aufl. Schattauer, Stuttgart 1995: 214-5

Krakowka S, Fenner W, Miele JA:

Quantitative determination of serum origin cerebrospinal fluid proteins in the dog. Am J Vet Res 1981; 42: 1975-7

Lammers H:

Methodik. In Thomas L et al.: Proteindiagnostik, Diagnose und Therapiekontrolle. Hrsg. Behringwerke AG, Frankfurt 1991

Laterre EC, Callawaert A, Heremans JF:

Electrophoretic morphology of gamma globulins in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis and other diseases of the nervous system. Neurology 1970; 20: 982

Laurenzi MA, Link H:

Comparison between agarose gel electrophoresis and isoelectric focusing of CSF for demonstration of oligoclonal immunoglobulin bands in neurological disorders. Acta Neurol Scandinav 1978; 58: 148-56

Lefvert AK, Link H:

IgG production within the central nervous system: a critical review of proposed formulae. *Ann Neurol* 1985; 17: 13-20

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)

Link H:

Immunoglobulin abnormalities in the Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Sci* 1973; 18: 11-23

Link H, Müller R:

Immunoglobulins in multiple sclerosis and infections of the nervous system. *Arch Neurol* 1971; 25: 326

Link H, Panelius M und Salmi AA:

Measles antibodies and immunoglobulins in serum and cerebrospinal fluid in subacute sclerosing panencephalitis. *Acta Neur Scand* 1972; Suppl 51: 385-7

Link H, Tibbling G:

Principles of albumin and IgG analysis in neurological disorders. II. Relation of the concentration of the proteins in serum and cerebrospinal fluid. *Scand J Clin Lab Invest* 1977; 37: 391-396

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

Livrea P, Trojana M, Simone IL, Zimatere GB, Lamontanara G, Leante R:

Intrathecal IgG synthesis in multiple sclerosis: comparison between isoelectric focusing and quantitative estimation of CSF-IgG. *J Neurol* 1981; 224: 159-69

Lowenthal A, van Sande M, Karcher D:

The differential diagnosis of neurological diseases by fractionating electrophoretically the CSF G-globulins. *J Neurochem* 1960; 6: 56

Luxton RW, McLean BN, Thompson EJ:

Isoelectric focusing versus quantitative measurements in the detection of intrathecal local synthesis of IgG. *Clin Chim Acta* 1990; 187: 297-308

Mayhew IG, Beal CR:

Techniques of analysis of cerebrospinal fluid.
Vet Clin North Am 1980; 10:155-75

Mayhew IG, Whitlock RH, Tasker JB:

Equine cerebrospinal fluid: Reference values of normal horses.
Am J Vet Res 1977; 38: 1271-4

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

McLay RN, Kimura M, Banks WA, Kastin AJ:

Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor crosses the blood-brain and blood-spinal cord barriers. *Brain* 1997; 120: 2083-91

Mehta PD, Lassmann H, Wisniewski HM:

Immunologic studies of chronic relapsing EAE in guinea pigs: Similarities to multiple sclerosis. *J Immunol* 1981; 127: 334

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

Mollgard K, Saunders NR:

The development of the human blood-brain and blood-CSF barriers.

Neuropath Appl Neurobiol 1986; 12: 337-58

Murray M, Cudden PA:

Cerebrospinal fluid analysis in acute canine polyradiculoneuritis: albumin quotient and immunoglobulin G index determination using polyacrylamide gel electrophoresis. ACVIM 2002

Öhman S, Forsberg P, Nelson N, Vrethem M:

An improved formula for the judgement of intrathecally produced IgG in the presence of blood brain barrier damage. Clin Chim Acta 1989; 181: 265-72

Öhman S, Ernerudh J, Forsberg P, Henriksson A, von Schenck H, Vrethem M:

Comparison of seven formulae and isoelectrofocusing for determination of intrathecally produced IgG in neurological diseases:

Ann Clin Biochem 1992; 29: 405-10

Oliver JE, Lorenz MD, Kornegay JN:

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

Pan W, Banks WA, Kastin AJ:

Blood-brain barrier permeability to ebiratide and TNF in acute spinal cord injury.

Exp Neurol 1997a; 146: 367-73

Pan W, Banks WA, Kastin AJ:

Permeability of the blood-brain and blood-spinal cord barriers to interferons.
J Neuroimmunol 1997b; 76: 105-11

Pandy K:

Über eine neue Eiweißprobe für die Cerebrospinalflüssigkeit.
Neurol Zentralblatt 1910; 29: 915-9

Papadopoulos NM, Costello R, Kay AD, Cutler NR, Rapoport SI:

Combined immunochemical and electrophoretic determinations of proteins in
paired serum and cerebrospinal fluid samples. Clin Chem 1984; 30: 1814-6

Pardridge WM:

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

Poloni M, Rocchelli B, Scelsi R, Pinelli P:

Intrathecal IgG synthesis in multiple sclerosis and other neurological diseases:
a comparative evaluation by IgG-Index and isoelectric focusing.
J Neurol 1979; 221: 245-55

Prabhakar S, Basha A, Bhagyalakshmi G, Oommen A:

Blood-brain-barrier and intrathecal immunoglobulin changes in tuberculous
meningitis and demyelinating disorders: a preliminary report from a South
Indian hospital. Acta Neurol Scand 1990; 81: 448-51

Rao ML, Boker DK:

Cerebrospinal fluid and serum levels of albumin, IgG, IgA and IgM in patients
with intracranial tumors and lumbar disc herniation.
Eur Neurol 1987; 26: 241-5

Rebel K:

Quantitative Proteinbestimmung im Liquor des Hundes. Diss med vet
München 1999

Reiber H:

Quantitative Bestimmung der lokal im Zentralnervensystem synthetisierten Immunglobulin G-Fraktion des Liquors [Calculation of the IgG fraction of cerebrospinal fluid locally synthesized in the central nervous system (author's transl)]. J Clin Chem Clin Biochem 1979; 17: 587-91

Reiber H:

The discrimination between different blood-CSF barrier dysfunctions and inflammatory reactions of the CNS by recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid. J Neurol 1980; 224: 89-99

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:

Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) -- a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases.
J Neuro Sci 1994; 122: 189-203

Reiber H:

Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. Lab Med 1995 a; 19: 444-62

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, 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

Rosenberg GA:

Brain Fluids and Metabolism. Oxford University Press, New York 1990

Rossdale PD, Falk M, Jeffcott LB:

A preliminary investigation of cerebrospinal fluid in newborn foals as an aid to the study of cerebral damage. *J Reprod Fertil* 1979; 27 (Supl.): 593-9

Rossdale PD, Cash RSG, Leadon DP:

Biochemical constituents of cerebrospinal fluid in premature and full term foals. *Equine Vet J* 1982; 14: 134-8

Rostami A, Lisak R, Blanchard N, Guerrero F, Zweimann B, Pleasure D:

Oligoclonal IgG in the cerebrospinal fluid of guinea pigs with acute experimental allergic encephalomyelitis. *J Neurol Sci* 1982; 53: 433

Russbridge C:

Collection and interpretation of cerebrospinal fluid in cats and dogs. *In Practice* June 1997: 322-31

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

Schinkel AH:

P-glycoprotein, a gatekeeper in the blood-brain barrier.

Adv Drug Deliv Rev 1999; 36: 179-94

Schipper HI, Kruse H, Reiber H:

Silver staining of oligoclonal IgG subfractions in cerebrospinal fluid after isoelectric focusing in thin layer polyacrylamide gels. Sci Tools 1984; 41: 5-6

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

Schuller EAC, Benabdallah S, Sagar HJ, Reboul JAM, Tömpe LC:

IgG synthesis within the central nervous system. Comparison of three formulas. Arch Neurol 1987; 44: 600-4

Silva CA, Rio ME und Cruz C:

Protein pattern of the cerebrospinal fluid of 30 patients with subacute sclerosing panencephalitis (SSPE). Acta Neur Scand 1981; 63: 255-66

Silva CA, Rio ME und Cruz C:

Local immunoglobulin synthesis and blood-brain barrier assessment in subacute sclerosing panencephalitis. Eur Neurol 1985; 24: 128-33

Simpson JA, Fitch W:

Cerebrospinal fluid: formation, composition and pressures. In Applied Neurophysiology. Butterworth, Cambridge 1988: 316-21

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

Solberg HE:

Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5.

Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. Clin Chim Acta 1987; 170: 13-32

Sorjonen DC:

Total protein, albumin quota and electrophoretic patterns in cerebrospinal fluid of dogs with central nervous system disorders. Am J Vet Res 1987; 48: 301

Sorjonen DC, Warren JN, Schultz RD:

Qualitative and quantitative determination of albumin, IgG, IgM and IgA in normal cerebrospinal fluid of dogs. J Am Anim Hosp Assoc 1981; 17: 833-9

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

Souverijn JHM, Serrée HMP, Peet R, Grenzebach Smit W, Bruyn GW:

Intrathecal immunoglobulin synthesis. Comparison of various formulae with the 'gold standard' of isoelectric focusing. J Neurol Sci 1991; 102: 11-6

Spector R:

Drug transport in the central nervous system: role of carriers.

Pharmacology 1990; 40: 1-7

Statz A, Felgenhauer K:

Development of the blood-CSF barrier.

Develop Med Child Neurol 1983; 25: 152

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

Syndulko K, Tourtellotte WW, Conrad AJ, Izquierdo G:

Trans-blood-brain-barrier albumin leakage and comparisons of intrathecal IgG synthesis calculations in multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 1993; 46: 185-92

Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H et al.:

Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 7735-8

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, 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

Tizard IR:

Veterinary Immunology. An Introduction. WB Saunders, Philadelphia 1996

Tourtellotte W:

On cerebrospinal fluid immunoglobulin-G (IgG) quotients in multiple sclerosis and other diseases -- a review and a new formula to estimate the amount of IgG synthesized per day by the central nervous system. *J Neurol Sci* 1970; 10: 279-304

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

Tourtellotte WW, Ma BI:

Multiple sclerosis: the blood-brain barrier and the measurement of de novo central nervous system IgG synthesis. Neurology 1978; 28: 76-83

Tourtellotte WW, Ma BI, Brandes DB:

Quantification of de novo central nervous system IgG measles antibody synthesis in SSPE. Ann Neurol 1981; 9: 551-6

Trepel M:

Liquor, Ventrikelsystem und Hirnhäute. In Neuroanatomie: Struktur und Funktion. Urban und Schwarzenberg 1995: 223-9

Vandeveld M, Fankhauser R:

Einführung in die veterinärmedizinische Neurologie, Verlag Paul Parey, Berlin 1987: 66

Vandeveld M, Spano JS:

Cerebrospinal fluid cytology in canine neurologic disease. Am J Vet Res 1977; 38: 1827-32

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

Vartdal F, Vandvik B, Michaelsen TE:

Neurosyphilis: intrathecal synthesis of oligoclonal antibodies to Treponema pallidum. Ann Neurol 1982; 11: 35-40

Weisner B, Bernhardt W:

Protein fractions of lumbar, cisternal and ventricular cerebrospinal fluid.
J Neurol Sci 1978; 37: 205-14

Whitacre CC, Mattson DH, Paterson PY, Roos RP, Peterson DJ, Arnason BGW:
Cerebrospinal fluid and serum oligoclonal IgG bands in rabbits with
experimental allergic encephalomyelitis. Neurochem Res 1981; 6: 87

Whittaker KM, Whitacre CC:

Oligoclonal IgG in lewis rats with experimental allergic encephalomyelitis.
Prog Clin Biol Res 1984; 146: 335-40

Wick M, Fateh-Moghadam A, Knedel M:

Bedeutung proteinanalytischer Untersuchungen im Liquor cerebrospinalis. In
Fateh-Moghadam A: Nephelometrie Symposium.
Verlag Deutsches Grünes Kreuz, 1987: 193-209

Wilson JW:

Canine cerebrospinal fluid: Normal composition. Minn Vet 1976; 16: 25-6

Winfield JB, Shaw M, Silverman LM, Eisenberg RA, Wilson HA, Koffler D:

Intrathecal IgG synthesis and blood-brain barrier impairment in patients with
systemic lupus erythematosus and central nervous system dysfunction.
Am J Med 1983; 74: 837-44

Wright JA:

Evaluation of cerebrospinal fluid in the dog.
The Veterinary Record 1978; 103: 48-51

DANKSAGUNG

Frau PD Dr. Andrea Fischer für die Überlassung des Themas und die einzigartige Betreuung und Unterstützung, ohne die die Anfertigung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre

Herrn Prof. Dr. Wilfried Kraft und allen Mitarbeitern der Medizinischen Tierklinik der LMU München

Dem Laborpersonal der Medizinischen Tierklinik der LMU München

Frau Katrin Hirschvogel

Frau Prof. Dr. Ulrike Matis und den Mitarbeitern der Radiologie der Chirurgischen Tierklinik der LMU München

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Schmahl und den Mitarbeitern des Instituts für Neuropathologie

Herrn Dr. Helmut Küchenhoff und Frau Susanne Stampf vom Statistischen Beratungslabor der LMU München

Frau Dr. Nicola Zink

Herrn Dr. Thomas Gödde

Meinem Bruder Georg

Meinen Eltern, die mir diese Dissertation überhaupt erst ermöglicht haben

Euch und Ihnen allen herzlichen Dank!

LEBENS LAUF

Name: Thomas Schindler
Geburtsdatum: 29.11.1964
Geburtsort: Mannheim
Staatsangehörigkeit: Deutsch
Eltern: Ewald Schindler
 Luitgard Schindler, geb. Kengelbach

Schul Ausbildung

1971 – 1975 Grundschule Friedrichschule in Plankstadt
 1975 – 1984 Hebelgymnasium Schwetzingen
 Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Zivildienst

1985 – 1986 Rettungshelfer in der DRK-Rettungswache Schwetzingen

Universitätsausbildung

1986 – 1988 Studium der Architektur an der Universität Karlsruhe (TH)
 1989 – 1991 Studium der Mathematik an der Ruprecht-Karls-Universität
 Heidelberg
 1991 – 1998 Studium der Tiermedizin an der LMU München
 10/1998 Approbation als Tierarzt

Berufliche Tätigkeit

12/1998 – 04/2003 Dissertation und Mitarbeit an der Medizinischen Tierklinik
 der LMU München
 04/2001 – 10/2001
 und
 04/2002 – 10/2002 Mitarbeiter der Firma Merial GmbH, Hallbergmoos