

**Korrelative histopathologische Charakterisierung immun-
mediierter Polyneuropathien in einer europäischen
Katzenpopulation**

von Ninja Caren Christina Kolb

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

**Korrelative histopathologische Charakterisierung immun-
mediierter Polyneuropathien in einer europäischen
Katzenpopulation**

von Ninja Caren Christina Kolb

aus Scherzingen (Schweiz)

München 2023

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Institut für Tierpathologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Kaspar Matiasek

Mitbetreuung durch: Dr. Marco Rosati

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

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

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Kaspar Matiasek

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Lutz S. Göhring
Priv.-Doz. Dr. Bianka Schulz
Univ.-Prof. Dr. Johann Maierl
Univ.-Prof. Dr. Markus Meißner

Tag der Promotion: 22. Juli 2023

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</u>	<u>III</u>
<u>I. EINLEITUNG.....</u>	<u>1</u>
<u>II. LITERATURÜBERSICHT</u>	<u>3</u>
2.1. ALLGEMEINER AUFBAU DES PERIPHEREN NERVEN UND ZIELSTRUKTUREN FÜR DAS IMMUNSYSTEM	3
2.2. AUSGEWÄHLTE MORPHOLOGISCHE REAKTIONSMUSTER DES PERIPHEREN NERVEN UND DES SKELETTMUSKELS ALS EFFEKTORORGAN AUF LICHTMIKROSKOPISCHER EBENE	5
2.3. FUNKTIONELLE VERSUS STRUKTURELLE EINTEILUNG VON NEUROPATHIEN	10
2.4. ÜBERBLICK ÜBER DIE KLINISCHE PRÄSENTATION UND DIAGNOSTIK FELINER NEUROMUSKULÄRER ERKRANKUNGEN	11
2.5. FELINE POLYNEUROPATHIEN	12
2.6. IMMUN-MEDIIERTE POLYNEUROPATHIEN BEI ANDEREN TIERARTEN	18
2.7. AUSGEWÄHLTE BEISPIELE IMMUN-MEDIierter POLYNEUROPATHIEN DES MENSCHEN.....	21
2.8. PATHOPHYSIOLOGIE HUMANER IMMUN-MEDIierter NEUROPATHIEN	24
2.9. FORSCHUNGSBEDARF ZUR IN DER VETERINÄRMEDIZIN	27
<u>III. PUBLIKATION.....</u>	<u>30</u>
<u>IV. DISKUSSION</u>	<u>45</u>
4.1. EPIDEMIOLOGIE UND SIGNALEMENT	45
4.2. SUBFORMEN UND VERGLEICHBARKEIT.....	46
4.3. KLINISCHE PRÄSENTATION UND DIAGNOSTISCHE ABSICHERUNG	49
4.4. URSÄCHLICHE ASSOZIATIONEN	51
4.5. THERAPIE UND PROGNOSE	53
4.6. DATENERFASSUNG, METHODIK, LIMITATIONEN UND AUSBLICKE.....	54
<u>V. ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>58</u>

<u>VI. SUMMARY</u>	60
<u>VII. PUBLIKATIONEN UND BEITRÄGE AUF WISSENSCHAFTLICHEN TAGUNGEN</u>	62
7.1. PUBLIKATIONEN IN JOURNALEN MIT PEER-REVIEW-VERFAHREN, DIE IM RAHMEN DER DOKTORARBEIT ANGEFERTIGT WURDEN	62
7.2. PRÄSENTATIONEN AUF WISSENSCHAFTLICHEN FACHTAGUNGEN.....	62
<u>VIII. LITERATURVERZEICHNIS</u>	64
<u>IX. ANHANG</u>	73
9.1. METHODISCHE ERGÄNZUNGEN	73
9.2. MATERIALIEN	74
<u>X. DANKSAGUNG</u>	77

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AIDP	Akute inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie
AMAN	Akute motorische axonale Neuropathie
AMSAN	Akute motorische und sensorische axonale Neuropathie
CIDP	Chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie
CSF	Zerebrospinalflüssigkeit
EAN	Experimentelle autoimmune Neuritis
EKH	Europäische Kurzhaarkatzen
EMG	Elektromyografie
GBS	Guillain-Barré-Syndrom
IMPN	Immun-medierte Polyneuropathie
IVIG	Intravenös verabreichte Immunglobuline
Ln.	Lymphonodus
LOS	Lipooligosaccharide
MFS	Miller-Fisher-Syndrom
MRT	Magnetresonanztomographie
NF	Neurofascin
NLG	Nervenleitgeschwindigkeit
N.	Nervus
Nn.	Nervi
PN	Polyneuropathie
PNS	Peripheres Nervensystem
ZNS	Zentrales Nervensystem
%	Prozent

I. EINLEITUNG

Immun-medierte Polyneuropathien (IMPN) sind sowohl beim Menschen, beispielsweise in Form des Guillain-Barré Syndroms (GBS) und der chronischen inflammatorischen demyelinisierenden Polyneuropathie (CIDP) (1), als auch bei Katze und Hund, beschrieben worden und werden hinsichtlich ihrer Immunpathogenese in zahlreichen Studien miteinander verglichen (2-14).

Aufgrund der häufigen, histopathologisch gestellten Diagnose (bis zu 59% der Einsendungen des Nervenmaterials) der IMPN im neuropathologisch spezialisierten veterinärmedizinischen Labor (4) und den wenigen Studien größerer feliner Populationen (mehr als 10 Individuen) mit IMPN (3, 4), ergibt sich hier ein relevanter Forschungsbedarf.

Es fehlen bisher breiter angelegte Studien der Erkrankung IMPN unter Einbeziehung unterschiedlicher Rassen und Kreuzungen im Hinblick auf histologische Untersuchungen des peripheren Nervens und Skelettmuskels, die mit klinisch-prognostischen Werten korreliert werden. Bei Katzen wurde bisher davon ausgegangen, dass Tiere bestimmter Rassen prädisponiert sind (3, 4) und bei Sibirischen Katzen eine hereditäre Komponente zu tragen kommt (15).

Bei Haussäugetieren wird die Nervenbiopsie im Gegensatz zum Menschen als diagnostisches Mittel häufig eingesetzt, insbesondere bei unklarer klinischer Präsentation. Die Diagnose des GBS und der CIDP stützt sich vornehmlich auf die klinische Präsentation, sowie elektrophysiologische Untersuchungen und die Liquordiagnostik. Biopsien sind nicht Teil der Standarddiagnostik und werden lediglich bei untypischer klinischer Präsentation oder Therapieresistenz im Falle der CIDP als diagnostisches Mittel eingesetzt (1). Die experimentelle autoimmune Neuritis (EAN) dient als Tiermodell, welches in Maus, Ratte, Kaninchen und Meerschwein induziert werden kann (1, 16). Histopathologisch festgestellte Veränderungen am Nerven von Hund und Katze im Zuge einer spontan auftretenden, nicht experimentell induzierten IMPN erlauben somit wertvolle Rückschlüsse auf die humanen Erkrankungen (4).

Ziel dieser Studie war es, in einer großen Population europäischer Katzen, die IMPN histologisch zu evaluieren und mittels Clusteranalyse eine objektivierte Gruppierung der Schädigungsmuster zu erstellen und diese mit klinischen Parametern zu korrelieren (17). Die Ergebnisse dieser Studie wurden für die Veröffentlichung in einen

histologisch orientierten Artikel und einen Artikel mit klinischem Schwerpunkt unterteilt (17, 18). Die klinischen Aspekte der Partnerpublikation von van Renen et al. (18) werden im Folgenden sowohl in der Literaturübersicht als auch in der Diskussion mit einbezogen.

Aufgrund der klinischen Relevanz des Themas und des histomorphologischen Ansatzes der Studie wird im Folgenden näher auf den allgemeinen Aufbau und ausgewählte morphologische Schädigungsmuster des Nervens eingegangen.

II. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Allgemeiner Aufbau des peripheren Nervens und Zielstrukturen für das Immunsystem

Die äußere Umhüllung des peripheren Nervens wird als Epineurium bezeichnet und schließt die einzelnen Faszikel des Nervens ein (19). Wenn nach Nervenverzweigungen nur noch ein Faszikel vorhanden ist, findet sich kein Epineurium mehr (20). Die Faszikel wiederum sind einzeln eingefasst vom Perineurium, welches die Zugfestigkeit des Nerven sichert (19). Innerhalb der Faszikel umgibt das Endoneurium als feines Bindegewebsnetz die einzelnen Nervenfasern (19, 21). Die Nervenfasern bestehen aus einem Axon, welches von einer Myelinscheide umgeben sein kann (20). Eine schematische Darstellung des peripheren Nervens findet sich in Abbildung 1.

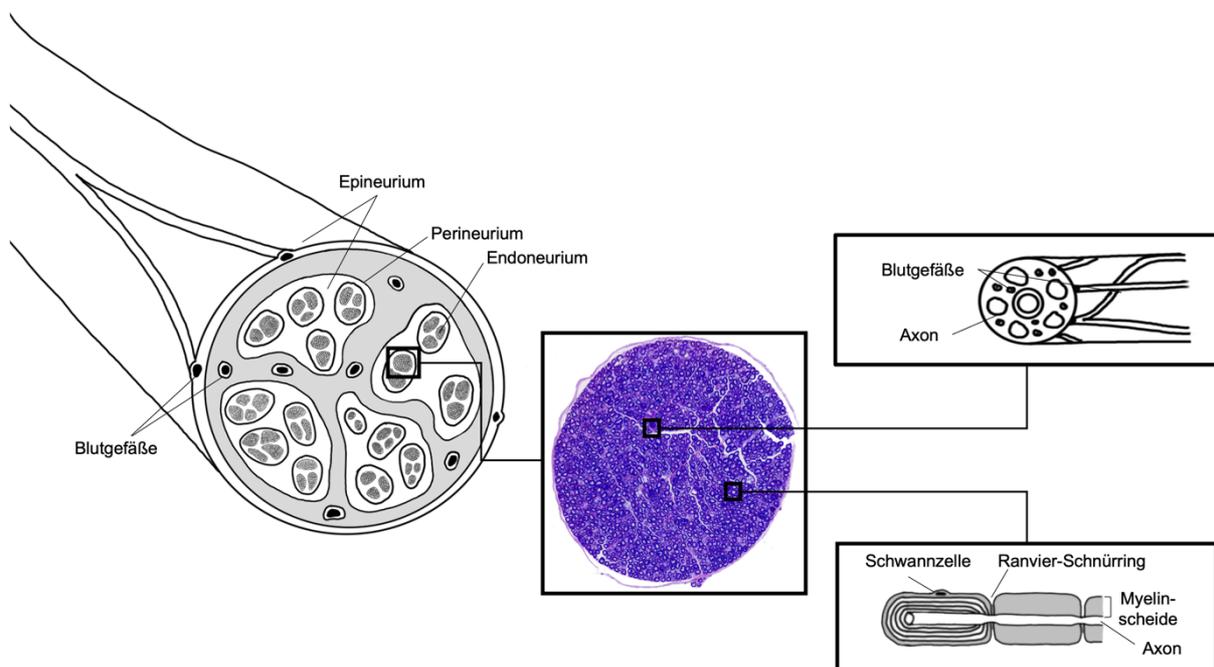


Abbildung 1. Schematische Darstellung des peripheren Nervens mit myelinisierten und unmyelinisierten Fasern, nach der Darstellung von Lee et al. (19), modifiziert.

Die Membran des Axons wird als Axolemm bezeichnet. Außerhalb desselben findet sich zunächst der periaxonale Raum nach Klebs und dann die umgebende Schwannzelle. Schwannzellen unterteilen Axone in einzelne Gruppen und können bei großen Fasern eine Myelinscheide bilden. Die Myelinscheide erlaubt hierbei durch ihre elektrische Isolierfunktion im Hinblick auf das Axon die schnelle, diskontinuierliche

(saltatorische) Weiterleitung einer Depolarisation (20). Dabei myelinisiert eine Schwannzelle ein einzelnes Axon über eine bestimmte Distanz und bildet damit das Internodium. Die Dicke der Myelinscheide ist proportional zum Axondurchmesser. Im Durchmesser größere Axone besitzen eine dickere Myelinschicht, kleine Axone weisen eine dünnere Myelinschicht auf. Dagegen werden mehrere unmyelinisierte Axone von einer nicht aufgerollten Schwannzellmembran und dem Zytoplasma der Schwannzelle umgeben (21). Die Ranvier-Schnürringe bilden die Lücken zwischen zwei myelinisierten Internodien und erlauben den extrazellulär-intrazellulären Austausch von Ionen infolge des Aktionspotentials am Schnürring und damit dessen lokale Repolarisation (20, 21).

In den meisten peripheren Nerven findet sich eine Mischung aus myelinisierten und unmyelinisierten Nervenfasern, wobei die meisten Axone mit mehr als 3 μm Durchmesser myelinisiert sind. (20). Eine mögliche Einteilung der peripherer Nervenfasern erfolgt hinsichtlich ihres Durchmessers und der Nervenleitgeschwindigkeit in drei Klassen A, B und C und sind in der Tabelle 1 zusammengefasst (21).

KLASSE/ TYP	NERVENFASER- DURCHMESSER	DICKE DER MYELIN- SCHEIDE	NERVENLEITGE- SCHWINDIGKEIT	FUNKTION
Aα	Groß (5-20 μm)	Dick	Schnell (30-120 m/s) Schnell (35-75 m/s)	Somatomotorisch Somatische Propriozeption
Aβ	Mittelgroß (6-12 μm)	Mitteldick	Mittelschnell (5-30 m/s)	Somatische Propriozeption Somatische Thermozeption
Aδ	Klein (2-5 μm)	Mitteldick		Somatische Nozizeption
B	Klein (1-3 μm)	Dünn	Langsam (3-14 m/s)	Autonom präganglionär
C	Klein (0.1-1 μm)	Unmyelinisiert	Sehr langsam (≤ 2 m/s)	Autonom postganglionär Viszerale Nozizeption Viszerale Thermozeption

Tabelle 1. Unterteilung der peripheren Nerven in Klassen basierend auf der Größe, Nervenleitgeschwindigkeit und Funktion, entnommen aus und modifiziert nach Lanigan, Russell (21).

Ein weiteres Element des feinstrukturellen Aufbaus der Myelinscheide sind die Schmidt-Lanterman Einkerbungen, welche aus einer kontinuierlichen Spirale aus Schwannzellzytoplasma hervorgehen, die vom äußeren Anteil der Schwannzelle mit deren Zellkern nach innen zum paraaxonalen Teil der Schwannzelle hin verläuft und dabei einen Winkel von ca. 9° gesehen zur Längsachse des Axons einnehmen. Die Schmidt-Lanterman Einkerbung erlaubt somit den Austausch von Substanzen zwischen den verschiedenen Zytoplasmaanteilen der Myelinscheide-bildenden

Schwanzzelle. Die Anzahl der Einkerbungen korreliert wiederum mit dem Durchmesser des Axons: Je größer der Axondurchmesser ist, desto mehr Schmidt-Lanterman Einkerbungen finden sich. Ähnlich verhält es sich mit dem Abstand zwischen zwei Ranvier-Schnürringen, die ungefähr proportional zur Dicke der Myelinscheide sind. Histologisch hängt das gesehene Bild im Querschnitt also davon ab, an welcher Stelle die periphere Nervenfasern getroffen wird. In der paranodalen Region, wenn also ein Ranvier-Schnürring naht, kann das Axon kreuzförmig erscheinen, wodurch Furchen in der umgebenden Myelinscheide entstehen. Im Bereich des Schnürrings beträgt der Axondurchmesser dann nur ein Drittel oder ein Sechstel verglichen mit dem internodalen Bereich (20). Besonders gut können die Ranvier-Schnürringe in Nervenfaserspinnpräparaten identifiziert werden (20), bei denen mit Osmiumtetroxid geschwärzte Nervenfasern gezupft, auf einen Objektträger aufgezogen und lichtmikroskopisch betrachtet werden (4). Hier kann eine longitudinale Feinbeurteilung des internodalen, nodalen, paranodalen und juxtapanodalen Bereichs erfolgen (4).

Die Blutversorgung des Nervens wird durch oberflächlich aufliegende und zwischen den Faszikeln liegende Blutgefäße gewährleistet. Die Blutgefäße penetrieren den Nerven in unregelmäßigen Abständen. Endoneuriale Kapillaren stellen dabei die semipermeable Blut-Nervenschranke dar bestehend aus dem Endothel und mehreren Schichten von perineuralem Bindegewebe. Im Vergleich zum zentralen Nervensystem, in dem Astrozytenfortsätze die Blut-Hirnschranke mitgestalten, ist die Blut-Nervenschranke empfänglicher für Penetrationen beispielsweise durch infektiöse Agentien (21).

2.2. Ausgewählte morphologische Reaktionsmuster des peripheren Nervens und des Skelettmuskels als Effektororgan auf lichtmikroskopischer Ebene

2.2.1. Anzeichen axonaler Schädigung

Axonale Degeneration

Wenn das Axon eines peripheren Nervens Schaden nimmt, beispielsweise durch Traumata, Einklemmen/Durchtrennen oder Ischämie, geht der distal befindliche Teil des Axons unter und kann sich im weiteren zeitlichen Verlauf regenerieren (20). Das

erste lichtmikroskopisch sichtbare Anzeichen der axonalen Degeneration ist ein Zerfall des Axons gefolgt von der Formation von Ellipsoiden im Internodium (22).

Die axonale Degeneration wurde von Augustus Waller beschrieben und daher als Wallersche Degeneration benannt (20), die in unterschiedliche Stadien nach dem zeitlichen Verlauf eingeteilt werden kann (23). Das klassische Beispiel hierfür ist ein akuter, fokaler, mechanischer Insult im Sinne einer Durchtrennung des Nervens (24). Innerhalb von 24 Stunden beginnt das distal gelegene Axonsegment zu degenerieren, wobei Schwellungen auftreten, welche degenerierte Organellen enthalten, die nach ca. 48 Stunden sichtbar werden (20, 24). Es formen sich internodal Ellipsoide, welche üblicherweise von den Schmidt-Lanterman Kerben begrenzt werden und aus Axonfragmenten und Myelinresten bestehen (22). Wenn der Zelldebris durch Makrophagen abgeräumt ist, formen sich sogenannte Büngner-Banden bestehend aus proliferierenden Schwannzellen, wobei auch Fibroblasten in den Regenerationsprozess involviert sind (20, 24, 25). Gleichartige Veränderungen finden sich auch proximal des Insults über die Länge mehrerer Internodien. Unter günstigen Bedingungen können sich Ausläufer des axonalen Stumpfes bilden und entlang der Schwannzellbanden zum distalen Ende gelangen, wobei am Ende nur ein axonaler Spross zuungunsten der anderen Sprosse regeneriert wird. Die Remyelinisierung erfolgt durch Schwannzellen, wobei die neu gebildete Myelinscheide dünner im Vergleich zum ursprünglichen Zustand ist, die Länge des Nodiums ist variabel und insgesamt kürzer. Gelingt die axonale Regeneration nicht, persistieren die Schwannzellbanden und es entsteht eine endoneuriale Fibrose. Ob die Regeneration gelingt, hängt vom Zusammenspiel zwischen Axon und Schwannzellen, der Teilungsfähigkeit und metabolischen Belastbarkeit von Schwannzellen und dem Erhaltungszustand der Basalmembran um das Axon ab (24).

Axonale Schwellung

Axonale Schwellungen sind die Folge einer Akkumulation von Teilen des Zytoskeletts und der Organellen, welche den axonalen Transport unterbricht. In toxikologischen Studien konnte diese Art der Schädigung auf die Quervernetzung von Proteinen zurückgeführt werden. Die axonale Schwellung tritt asymmetrisch paranodal auf, wobei immer der proximal vor dem Ranvier-Schnürring gelegene Teil betroffen ist. Der distal der axonalen Schwellungen gelegene Anteil der Nervenfasern kann im weiteren Verlauf degenerieren (22).

2.2.2. Demyelinisierung und Remyelinisierung

Die Demyelinisierung bezeichnet den Verlust von kompaktem Myelin und kann das Internodium oder den paranodalen Bereich des peripheren Nerven betreffen (23). Zumeist tritt eine segmentale Demyelinisierung auf (20), was den Verlust von Myelin innerhalb des Internodiums bezeichnet (23) und für eine primärere Schädigung des Myelins oder der Schwannzelle spricht (22). Die segmentale Demyelinisierung ist zuerst in Nervenfaserspinnpräparaten als paranodaler Verlust des Myelins sichtbar, da dieser Anteil die größte Entfernung zum ernährenden Schwannzellkern aufweist, welcher sich mittig im Internodium befindet. Im späteren zeitlichen Verlauf werden Schwellungen der Myelinscheide und Anteile ohne Myelin sichtbar (22). Diese „nackten“ Axone können ebenso im Semidünnschnitt lichtmikroskopisch gesehen werden und bleiben bei der segmentalen Demyelinisierung in der Regel intakt außer bei hochgradigen Fällen, in denen es zu einer sekundären axonalen Degeneration kommen kann (20). Die Erhaltung des Axons ermöglicht die Remyelinisierung (22), welche nach wenigen Tagen beginnt und nach zwei Wochen bereits weit fortgeschritten ist (20). Im Zuge dessen erscheint das Internodium verkürzt und weist lediglich eine dünne Myelinscheide auf (20, 22). Im Semidünnschnitt zeigen sich hypomyelinisierte Nervenfasern (20). Zurück bleibt nach einiger Zeit eine nahezu normale oder leicht in ihrer Dicke reduzierte, aber unregelmäßige Myelinscheide, wobei die betreffenden Internodien verkürzt bleiben. Dies kann mit geringgradigen Funktionsstörungen einhergehen (22). Wiederkehrende Demyelinisierung mit darauffolgenden Remyelinisierungsversuchen zeigen sich in der Formation im Englischen sogenannter „Onion-bulbs“, lichtmikroskopisch erkennbaren zwiebelschalenartigen Proliferationen von Schwannzellfortsätzen inklusive Basalmembranen, welche konzentrisch um das Axon angeordnet sind (20, 26).

Ein anderes lichtmikroskopisch am Nervenfaserspinnpräparat feststellbares Phänomen im Zuge einer Demyelinisierung sind sogenannte Tomakula, welche Myelinscheidenverdickungen darstellen (23).

Bei der paranodalen Demyelinisierung kann das Myelin lichtmikroskopisch dünner erscheinen oder der Ranvier-Schnürring wirkt verlängert, was auch als interkalierend beschrieben wird. Nach Ersatz durch eine neue Schwannzelle, erscheint das Internodium verkürzt (23).

Die im Englischen als „myelin crenation“ beschriebene paranodal auftretende Aufhellung des Myelins kann sowohl artifiziell als auch als Folge eines toxischen Insults oder einer hochgradigen axonalen Schwellung auftreten. Ein weiteres mögliches Artefakt stellt das sog. „beading“ dar, womit unregelmäßige Verdickungen entlang des Internodiums einer intakten Nervenfasers beschrieben werden, was durch eine Überdehnung des Nerven während der Entnahme oder der Nervenfaserspinnpräparation entstehen kann (22).

2.2.3. Der Muskel als Effektororgan des peripheren Nervens und Spiegel der IMPN

Erkrankungen des Nervens können sich im Muskel in Form der Denervationsatrophie widerspiegeln. Mit dem Begriff der Muskelatrophie wird allgemein die Reduktion des Muskelvolumens oder der Muskelmasse bezeichnet, welche generalisiert auftreten oder sich auf einzelne Muskeln beschränken kann. Die Atrophie einzelner Muskelfasern kann wiederum generalisiert auftreten oder nur manche Fasern betreffen, wobei auch selektiv bestimmte Muskelfasertypen betroffen sein können. Weitere Gründe für eine Muskelatrophie umfassen Inaktivität, Mangelernährung, endokrine Erkrankungen oder Kachexie (27).

Denervationsatrophie

Die Denervationsatrophie tritt infolge von Schädigungen des motorischen Neurons oder seines axonalen Fortsatzes auf (28) und betrifft in der Regel Muskelfasern sowohl vom langsam kontrahierenden Typ 1 Fasern als auch die schnell kontrahierenden Typ 2 Fasern (27), welche anhand von Enzymhistochemie hinsichtlich ihrer Adaptation auf posturale oder phasische Funktionen unterschieden werden können (29). Eine milde Denervation mündet in einzelnen oder kleinen Gruppen von atrophischen Muskelfasern, welche von den umliegenden, regulär innervierten Fibrillen in anguläre Formen komprimiert werden. Eine höhergradige Störung der Innervation resultiert in großen Gruppen von kleinen Muskelfasern, welche ihre ursprüngliche Form behalten, da keine benachbarten, normal innervierten Fasern mehr übrig sind (27).

In denervierten Skelettmuskeln hypertrophieren die übrig gebliebenen, normal innervierten Muskelfasern in der Regel, um die Funktion der ausgefallenen Fasern zu kompensieren, wobei hier Typ 1 Fasern häufig dominieren. Wenn diese Fasern mit einem höheren Durchmesser neben atrophischen Fasern gefunden werden, stellt dies einen starken Hinweis auf eine chronische Denervation dar. Bei hochgradigen Fällen

kann es zu irreversiblen Verlusten der denervierten Muskelfasern kommen, welche dann durch Binde- und Fettgewebe ersetzt werden (27).

Klinisch äußert sich eine Denervationsatrophie neben der Abnahme der Muskelmasse in Muskelschwäche und kann elektrophysiologisch anhand von abnormer Spontanaktivität mit Fibrillationen und positiven scharfen Wellen festgestellt werden. Die Denervationsatrophie kann regeneriert werden, wenn die zugehörige motorische Einheit reinnerviert wird. Dabei orientiert sich der regenerierte Muskelfasertyp am innervierenden Neuron, wodurch Gruppen an Fasern vom selben Typ entstehen können, was als Fasertypgruppierung bezeichnet wird. Falls auch das reinnervierende Neuron oder Axon sich auflöst, atrophieren diese regenerierten Fasergruppen erneut, was als typspezifische Gruppenatrophie bezeichnet wird und auf eine anhaltende Denervationserkrankung hinweisen kann (27).

Differentialdiagnostische Atrophieformen

Inaktivitätsatrophie

Eine Inaktivitätsatrophie des Muskels tritt bei verminderter kontraktile Aktivität des Muskels auf, wie beispielsweise bei einer schmerzhaften Lahmheit, Frakturen oder Erkrankungen des Knochens oder der Immobilisation einer Gliedmaße. Bei Menschen und experimentellen Tiermodellen betrifft diese Form der Muskelatrophie zuerst Typ 2 Muskelfasern, wobei bei Haussäugetieren auch gemischte Faseratrophien beschrieben worden sind. Eine kompensatorische Hypertrophie wurde hier nicht beobachtet (27).

Muskelatrophie infolge von Mangelernährung oder Kachexie

Bei Hungerzuständen können Muskelproteine als Nährstoffquelle für den restlichen Körper mobilisiert werden. Bei Kachexie infolge chronischer Erkrankungen oder Neoplasien ist die Muskelatrophie Zytokin-mediert, wobei präferentiell Typ 2 Muskelfasern betroffen sind. Der Grad der gesehenen Atrophie reicht hier jedoch üblicherweise nicht an den der Denervationsatrophie heran. Vorberichtliche Informationen sollten hier eine Unterscheidung zu anderen Atrophieformen ermöglichen (27).

Muskelatrophie bei endokrinen Erkrankungen

Beim Hund sind infolge von Hypothyreoidismus und Hyperadrenokortizismus neuromuskuläre Schwäche und Muskelatrophie beschrieben, welche Typ 2 Muskelfasern betreffen und nicht in einer kompensatorischen Hypertrophie von Typ 1

Fasern münden. Die Unterscheidung zur Denervationsatrophie kann hier mittels Immunhistochemie erbracht werden, wobei auch hier der Grad der Atrophie nicht an den bei der Denervationsatrophie gesehenen heranreicht (27).

Myopathische Atrophie und myopathische Veränderungen

Bei primären Muskelerkrankungen können unspezifische myopathische Veränderungen beobachtet werden in Form einer erhöhten Variabilität der Muskelfasergröße. Eine selektive Typ 1 Muskelfaseratrophie tritt beispielsweise bei der Nemalin-Myopathie der Katzen auf, wobei die Enzymhistochemie bei der Diagnose hinzugezogen werden sollte (27).

2.3. Funktionelle versus strukturelle Einteilung von Neuropathien

Periphere Nervenerkrankungen können nach zahlreichen verschiedenen Aspekten klassifiziert werden. Im Folgenden werden die für das Verständnis der IMPN wichtigsten Begrifflichkeiten kurz erläutert.

Einerseits kann unterschieden werden, ob ein einzelner Nerv betroffen ist bei sogenannten Mononeuropathien, mehrere Nerven involviert sind bei Polyneuropathien (PN) oder kraniale, spinale oder autonome Nerven geschädigt sind, wobei in den meisten Fällen bei Mensch und Tier Polyneuropathien vorliegen (21).

Nach morphologischen Diagnosekriterien können periphere Neuropathien einerseits primär das Axon betreffen, sogenannte Axonopathien, oder die Myelinscheide, sogenannte Myelinopathien (21). Eine Übersicht dazu findet sich in Abbildung 2.

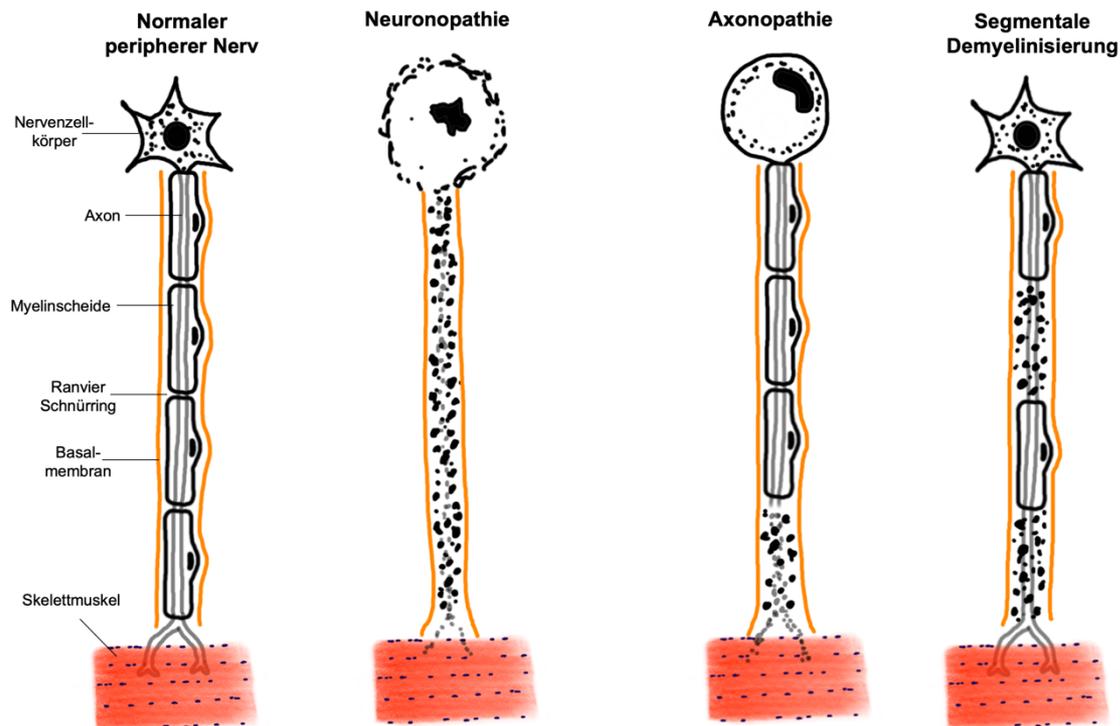


Abbildung 2. Schematische Darstellung verschiedener morphologischer Einteilungsmöglichkeiten von Nervenschäden nach Lanigan et al. (21), modifiziert.

Ebenso können nicht-neuronale Bestandteile des peripheren Nervens angegriffen werden, wie beispielsweise Blutgefäße oder Bindegewebe, wodurch Ischämien, Ödeme und Fibrosen entstehen können und es zu sekundären Schäden am peripheren Nerven kommen kann (21).

Eine funktionelle Unterscheidung kann in motorische, sensorische, gemischte sensorimotorische und autonome Neuropathien getroffen werden (30).

2.4. Überblick über die klinische Präsentation und Diagnostik feline neuromuskulärer Erkrankungen

Störungen des unteren motorischen Neurons zeigen sich klinisch allgemein meist mit Muskelschwäche und neurologischen Ausfällen wie mit Paresen, Paralyse, Muskelatrophie, Hyporeflexie, Hypotonie, abnormem Gangbild, leistungsinduzierter Schwäche, Dysphagie, Regurgitieren, Dyspnoe und Dysphonie (31).

Für die diagnostische Aufarbeitung werden das Signalement und die Anamnese erhoben, es können Bluttests, elektrophysiologische und bildgebende

Untersuchungen vorgenommen und Zerebrospinalflüssigkeit (CSF) sowie Muskel- und Nervenbiopsien entnommen werden (31, 32). Die Elektromyografie (EMG) misst dabei mittels Elektroden die elektrische Muskelaktivität, welche grafisch anhand von Potentialen in Wellenform dargestellt und hinsichtlich der Amplitude, Dauer, Phasenanzahl, Polarität, Frequenz und Wiederholung ausgewertet werden. Dabei werden vier Muster abnormer Spontanaktivität unterschieden: Fibrillationspotentiale, positive scharfe Wellen, komplexe repetitive Entladungen und myotonische Potentiale. Weiterhin gibt die Messung der Nervenleitgeschwindigkeit (NLG) Auskunft über die Integrität von Nervenfasern innerhalb peripherer Nerven. Evozierte Potentiale können mittels wiederholter Stimulation des Nervens ausgelöst und aufgezeichnet werden und geben Auskunft über den Zustand der neuromuskulären Übertragung (31).

Bei Erkrankungen des Axons oder des Nervenzellkörpers motorischer Nerven finden sich sogenannte Denervationspotentiale in Form von positiven scharfen Wellen und Fibrillationspotentialen in der EMG der Gliedmaßen, der paravertebralen Muskeln und der Kopfmuskulatur. Sollten nur die Myelinscheiden oder Schwanzzellen des peripheren Nervensystems betroffen sein, können diese Denervationspotentiale ausbleiben. Die NLG hingegen ist herabgesetzt bei segmentaler Demyelinisierung, axonaler Konstriktion und bei Vorhandensein von regenerierenden Nervenfasern (7).

Die Möglichkeit zu einer definitiven Diagnose zu kommen, bietet die Untersuchung von Muskel- und Nervenbiopsien (31, 32).

2.5. Feline Polyneuropathien

Feline Polyneuropathien (PN) können unterteilt werden in angeborene oder erworbene PN.

2.5.1. Angeborene Polyneuropathien

Sphingomyelinase-Defizienz Polyneuropathie

Zu den angeborenen Polyneuropathien gehört beispielsweise die Sphingomyelinase-Defizienz Polyneuropathie Morbus Niemann-Pick, welche beim Menschen eine autosomal-rezessiv vererbte lysosomale Speicherkrankheit darstellt. Klinisch zeichnet sich die Erkrankung durch progressive Tetraparese und Ataxie mit palmi-/plantigrader Fußung, Tremor und herabgesetzte bis ausbleibende propriozeptive und spinale

Reflexe aus und tritt üblicherweise bei Tieren zwischen zwei und sieben Monaten auf (7, 31, 33).

Glykogenose Typ 4 Polyneuropathie

Bei norwegischen Waldkatzen ist die autosomal rezessiv vererbte Glykogenspeicherkrankheit Glykogenose Typ 4 beschrieben. Die Tiere zeigen klinisch im Alter von ca. fünf Monaten Tremor, Schwäche und Tetraparese begleitet von Muskelatrophie und Kontraktion der Sehnen. Histologisch findet sich Glykogen in Nerven und Muskulatur (7, 32, 34).

Hyperchylomikronämie-assoziierte Neuropathie

Bei Hyperchylomikronämie-assoziierten Neuropathien wird ein autosomal rezessiver Erbgang vermutet (31, 35). Klinisch wird die Erkrankung mit einer Hyperlipidämie, Lipemia retinalis und einer peripheren Neuropathie, die durch die Beschreibung des Horner Syndroms, Paralyse der Nn. facialis, trigeminalis, laryngeus recurrens, tibialis, peroneus oder femoralis sowie den plantigradem Stand, charakterisiert wird, wobei Fettgranulome die Nerven komprimieren und sich in entsprechenden neurologischen Symptomen äußern (7, 31, 35). Die Erkrankung tritt überwiegend bei Tieren älter als acht Monate auf (31).

Hyperoxalurische periphere Neuropathie

Die hyperoxalurische periphere Neuropathie ist ein weiteres Beispiel aus der Gruppe der angeborenen PN, wobei die primäre Hyperoxalurie vermutlich autosomal-rezessiv vererbt wird (31), Europäische Kurzhaarkatzen (EKH) zwischen fünf und neun Monaten betrifft und mit einer Nierenerkrankung und dem Nachweis von Oxalatkristallen in den renalen Tubuli einhergeht. Zusätzlich tritt eine Erkrankung des unteren motorischen Neurons auf mit Schwäche, Muskelatrophie und herabgesetzten spinalen Reflexen, welche auf eine histologisch sichtbare Wallersche Degeneration und eine immunhistochemisch nachweisbare Akkumulation von Neurofilamenten in den ventralen Nervenwurzeln, proximalen Axonen und intramuskulären Nervenästen zurückzuführen ist ohne bekannten zugrundeliegenden Pathomechanismus (31, 36, 37).

Distale Axonopathie bei Birmakatzen

Bei drei weiblichen Birmakatzen ist eine distale Axonopathie beschrieben, die sowohl das zentrale als auch das periphere Nervensystem betrifft und bei der ein rezessiver Erbgang vermutet wird. Klinisch auffällig werden die Tiere im Alter von acht bis zehn

Wochen mit progressiver Ataxie, Hypermetrie und Hinterhandschwäche mit plantigradem Standbild und propriozeptiven Defiziten (7, 31, 32, 38). Histologisch findet sich eine distale axonale Degeneration und Myelinopathie (38).

Axonale Polyneuropathie bei Snowshoe Katzen

Des Weiteren ist bei zwei verwandten männlichen Snowshoe Katzen im Alter von vier und sechseinhalb Monaten eine vermutlich vererbte axonale Polyneuropathie beschrieben, die sich klinisch mit einer wiederkehrenden Hinterhandschwäche und histologisch mit einer axonalen Degeneration mit sekundärer Demyelinisierung darstellt (39).

2.5.2. Erworbene Polyneuropathien

Die erworbenen Polyneuropathien können anhand ihrer Ätiologie eingeteilt werden in metabolische, vaskuläre, toxische, neoplastische und paraneoplastische, infektiöse und immun-medierte oder idiopathische PN (18, 32).

Metabolische Polyneuropathien

Zu den metabolischen Polyneuropathien bei Katzen zählt eine distale PN, welche bei Tieren mit Diabetes mellitus auftreten kann. Neurologisch äußert sich dies in Hinterhandschwäche, plantigradem Standbild, progressiver Para- oder Tetraparese, Muskelatrophie, Patellahyoreflexie und verzögerten Stellreaktionen (31, 40-42). Elektrophysiologisch findet sich eine sensomotorische Neuropathie mit verminderter Nervenleitgeschwindigkeit, erhöhten F-Wellen und cord dorsum Potentialverzögerungen in den Vorder- und Hintergliedmaßen. Bei der Untersuchung von Nervenbiopsien finden sich Myelinscheidendefekte, wie beispielsweise Aufsplitten oder Ballonieren, De- und Remyelinisierung, Verlust von myelinisierten Fasern und axonale Degeneration (41, 42).

Vaskuläre Polyneuropathien

Die ischämische Neuromyopathie tritt im Zusammenhang mit Thrombosierungen der kaudalen Aorta oder ihrer Hauptabzweigung auf, wobei eine ischämische Nerven- und Muskelschädigung auftritt (31).

Toxische Polyneuropathien

Toxische Neuropathien sind nach Gabe von Chemotherapeutika, der Aufnahme von bestimmten Antibiotika sowie im Rahmen von toxikologischen Studien zur Erforschung von beispielsweise Acrylamid, Thalliumacetat und Organophosphaten beschrieben (7, 21, 31).

Nach Gabe des Chemotherapeutikums Vincristin ist eine sensorische und motorische Polyneuropathie, welche sich klinisch mit Tetraparese darstellt, beschrieben. Histologisch sind fokale axonale Schwellungen, welche Akkumulationen von Neurofilamenten darstellen, Wallersche Degeneration und paranodale Demyelinisierung darstellbar (7, 43).

Katzen, die Salinomycin in Form von kontaminiertem Hühnchenfleisch aufgenommen haben, zeigten klinisch eine progressive Paraparese, Tetraparese, Verlust von spinalen Reflexen, Dyspnoe, Dysphagie und generalisierte Muskelatrophie (7, 32, 44). Histologisch findet sich eine distale Axonopathie, welche sowohl die sensorischen als auch die motorischen Nerven betrifft (7, 44).

Neoplastisch und paraneoplastische Polyneuropathien

Neoplasien wie beispielsweise Lymphome haben zumeist ein asymmetrisches Verteilungsmuster und finden sich präferentiell am N. ischiadicus aufgrund der Nähe zum Ln. inguinalis (32).

Eine paraneoplastische Polyneuropathie wird im Zusammenhang mit Lymphomen äußerst selten bei der Katze gesehen (31, 32). Klinisch ist in einem Fallbericht progressive Schwäche in den Gliedmaßen, Tetraparese mit bilateraler Flexion der Karpalgelenke und Außenrotation des Antebrachium beschrieben. Histologisch stellt sich die Erkrankung mit Demyelinisierung, axonaler Degeneration und Muskeldenervation dar (45).

Ernährungsbedingte Polyneuropathien

Die unzureichende Aufnahme von Phenylalanin und Tyrosin führt experimentell zu einer sensorischen Neuropathie, welche sich klinisch in abnormem Stand- und Gangbild sowie Vokalisation zeigen. Histologisch finden sich degenerierte Axone, im Englischen sog. "Myelin ovoids" und phagozytisch aktive Makrophagen, welche zusammen mit der normalen Myelinscheidendicke der nicht oder wenig betroffenen Nervenfasern als eine primäre Axonopathie mit sekundärer Demyelinisierung interpretiert werden (46).

Infektiöse Polyneuropathien

Nach experimenteller Infektion mit *Felinem Immundefizienz-Virus* ist bei Katzen eine Neuropathie mit Atrophie von myelinisierten Fasern, verringerter Myelinscheidendicke sowie peri- und endoneurialen Infiltraten mit mononukleären Zellen beschrieben (47).

Im Zusammenhang mit einer Mykobakterien-Infektion wurden bei einer Katze progressive Lahmheit mit Paralyse einer Monoparalyse in der Hintergliedmaße festgestellt, welche sich histologisch als pyogranulomatöse Neuritis darstellt (48).

Idiopathische bzw. immun-medierte Polyneuropathien (IMPN)

Idiopathische bzw. immun-medierte Polyneuropathien gehören zu den häufigsten bei der Katze über Nervenbiopsien diagnostizierten Erkrankungen (4) und treten üblicherweise bei jungen Katzen von unter zwei Jahren auf mit plötzlich oder schleichend auftretender Schwäche und Tetraparese (3, 4, 18, 49).

In der neurologischen Untersuchung können reduzierte spinale Reflexe, spinale Schmerzen, Hyperästhesie, Probleme beim Kot- und Harnabsatz und Defizite der Gehirnnerven auffallen (3, 4, 8, 18, 49). Bei der bisher größten untersuchten Tierpopulation in Europa (Partnerstudie der vorliegenden Studie) zeigte sich bei 74% der betroffenen Katzen klinisch eine progressive Phase, welche durchschnittlich 14 Tage andauerte (18). In der elektrophysiologischen Untersuchung werden spontane Muskelaktivität mit Fibrillationen und positiven scharfen Wellen, eine reduzierte NLG motorischer Nerven, erhöhte Latenzzeiten, reduzierte Amplituden, abnorme F-Wellen und temporale Dispersion beschrieben (3, 7, 18, 49-51). Der Verlauf wird in der klinischen Partnerstudie am häufigsten als remittierend bzw. remittierend-wiederkehrend beschrieben, während Stagnation, Progression oder intermittierende Verläufe seltener gesehen wurden (18). Rückfälle sind in der Literatur häufig beschrieben (3, 4, 8, 18, 52).

Histologisch kann sich die Erkrankung mit Entzündung der peripheren Nerven, Nervenwurzeln oder auch Ganglien darstellen (2-5, 50). Dabei sind mononukleäre Zellinfiltrate auffindbar eventuell begleitet von De- und Remyelinisierung (2, 3, 5, 6, 50, 52). Angriffspunkt der Zellinfiltrate können in den peripheren Nerven die Schmidt-Lanterman Kerben und/oder der nodo-paranodale Bereich sein. Das erste morphologische Klassifikationsschema für verschiedene IMPN Subtypen bei Hunden und Katzen mit Mustern von Angriffspunkten für die entzündliche Reaktion und Demyelinisierung wurde von Gross et al. erstellt und ist in Abbildung 3 dargestellt. Subtyp 2a wurde dabei bei Katzen nicht gesehen, dafür wurde Subtyp 4 ausschließlich bei feline Patienten festgestellt. (4).

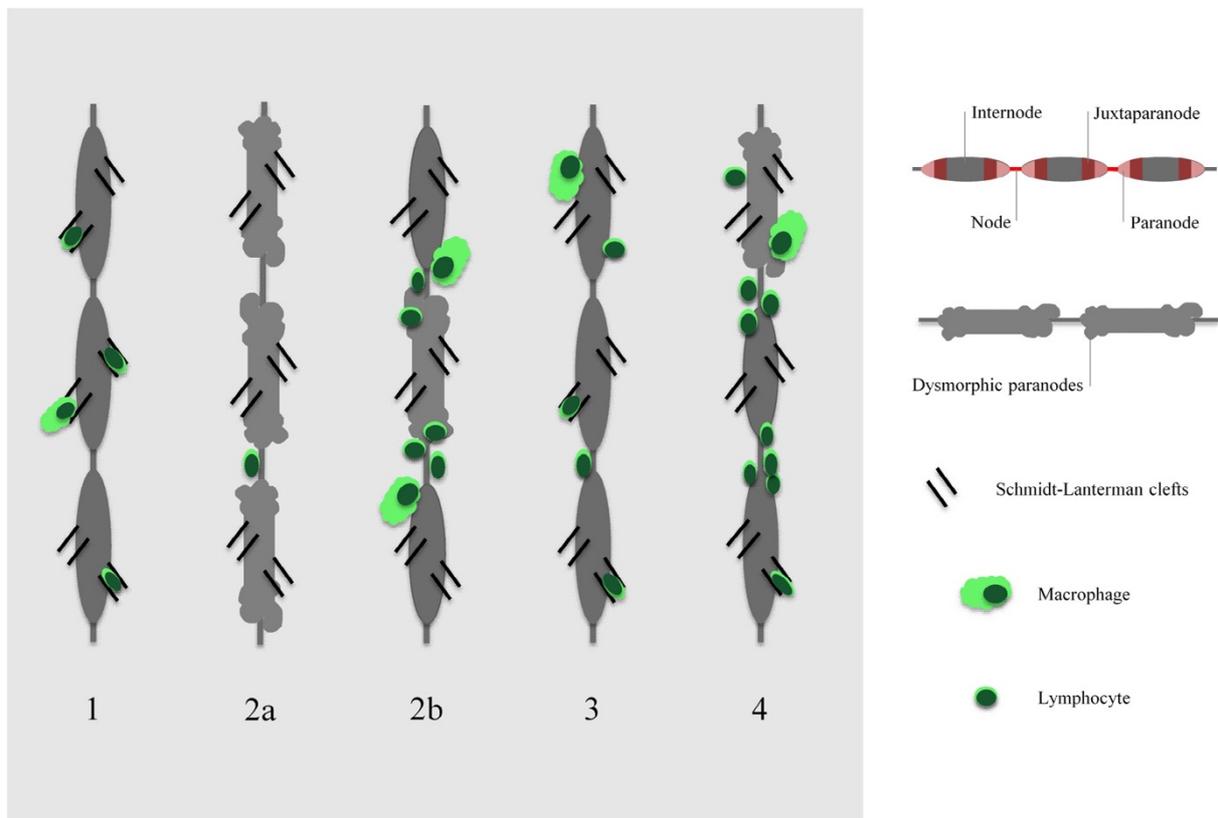


Abbildung 3. Schematische Darstellung der IMPN Subtypen von Gross et al. (4):
 (1) Beim IMPN Subtyp 1 sind die Zellen angeheftet an die Schmidt-Lanterman Kerfen oder dringen in diese ein.
 (2a) Früh-invasiver IMPN Subtyp 2 mit hochgradiger Demyelinisierung, dysmorphen Paranodien, paranodaler Retraktion und nur wenigen Zellen am Ranvier-Schnürring.
 (2b) Infiltrativer IMPN Subtyp 2 mit Zell-Clustern im Bereich des Ranvier-Schnürrings.
 (3) IMPN Subtyp 3 mit einer diffusen Zelleninfiltration.
 (4) Gemischter IMPN Subtyp 4 mit nodo-paranodaler Prädominanz.

Zusätzlich zu den Veränderungen der peripheren Nerven ist in der Muskulatur eine Denervationsatrophie beschrieben, wobei die intramuskulären Nervenäste ebenfalls entzündet und von einem Verlust von Nervenfasern betroffen sein können (3, 50).

Therapeutisch werden Kortikosteroide, nicht-steroidale Antiphlogistika, Supplementierung mit L-Carnitin und Physiotherapie eingesetzt (2, 3, 7, 8, 15, 18).

Die überwiegende Anzahl der Tiere in den beiden größten Studien zur IMPN erholt sich (3, 18), wobei eine Erkrankung in jungem Alter mit plötzlich auftretenden Symptomen mit der Erholung korreliert wurde (18). Rückfälle sind in der Literatur bei Katzen häufig beschrieben (3, 4, 8, 18, 52).

Die Ätiologie der Erkrankung ist bisher in weiten Teilen unklar. Es werden immer wieder Parallelen zu den humanen IMPN Guillain-Barré Syndrom und der chronischen inflammatorischen demyelinisierenden Polyneuropathie gezogen (2-8, 18, 49). Die

Autoimmunreaktion soll auch bei Tieren durch eine sogenannte molekulare Mimikry ausgelöst werden, bei der nach Kontakt mit einem exogenen Antigen die Immunantwort gegen endogene Epitope umgeleitet wird. Der Angriff gilt hier Proteinen oder Glykolipiden in der Myelinscheide oder der axonalen Membran, wodurch verschiedene IMPN Subtypen zustande kommen können (4). Eine serologische Studie konnte bei betroffenen Katzen vergleichbar zum humanen GBS anti-Gangliosid Antikörper der IgG Klasse als Biomarker nachweisen, genauer anti-GM2 and anti-GalNAc-GD1a (49).

In mehreren Studien wurden vorwiegend Katzen der sogenannten B-Rassen beschrieben, was eine Rasseprädisposition bei Bengalkatzen, Britisch Kurzhaarkatzen und Birmakatzen nahelegt (3, 4). In einer anderen Studie bei eng verwandte Sibirischen Katzen eine genetische Komponente vermutet (15).

2.6. Immun-medierte Polyneuropathien bei anderen Tierarten

Die IMPN ist als eine häufige Form der peripheren Neuropathien bei Hunden beschrieben, wobei die Erkrankung 23% aller kaninen Einsendungen im spezialisierten Histopathologielabor ausmacht (4). Im Vergleich zur Katze sind Hunde unterschiedlichen Alters betroffen (4, 10).

Klinisch zeigen die Hunde ebenfalls Schwäche, Tetraparese oder Tetraplegie mit reduzierten spinalen Reflexen, eventuell unter Einbezug der Gehirnnerven (4, 10, 13). Weiterhin sind neurogene Muskelatrophie, Hyperästhesie sowie Harn- und Kotabsatzschwierigkeiten beschrieben (13). Die progressive Phase der Erkrankung ist mit 5 bis 10 Tagen angegeben. Im Anschluss daran können die Lähmungen in einem Zeitfenster zwischen zwei Wochen bis hin zu sechs Monaten anhalten (13).

In ätiologischem Zusammenhang wurde bei Hunden als erstes der Kontakt mit Waschbärenspeichel beschrieben, welcher zur Namensgebung bei der Coonhound Paralyse führte (12). In der folgenden Literatur wurden außerdem kürzlich erfolgte Impfungen, virale Infektionen des oberen Respirationstraktes oder kürzlich stattgefundenene bakterielle oder virale Infektionen des Gastrointestinaltrakts bei der IMPN beschrieben (13, 53).

Serologisch konnten bei betroffenen Hunden vergleichbar zu Katzen anti-GM2 und anti-GalNAc-GD1a IgG Antikörper als Biomarker nachgewiesen werden (9, 10, 49).

Therapeutisch kommt bei Hunden vor allem die Physiotherapie zum Einsatz (13, 54). In einer Studie wurden vergleichbar zur Humanmedizin bereits intravenös verabreichte Immunglobuline (IVIg) eingesetzt, wobei die behandelten Tiere eine Tendenz zu einer schnelleren Erholung unter dieser Therapie zeigten (54). Kortikosteroide haben sich in der Therapie der IMPN beim Hund als nicht effektiv erwiesen (13, 54).

Die meisten Hunde erholen sich innerhalb von mehreren Wochen bis hin zu sechs Monaten vollständig, wobei in schweren Fällen auch Spätschäden zurückbehalten werden können (13).

Die IMPN ist ebenfalls bei weißen Leghorn Hühnern und beim Schimpansen spontan auftretend beschrieben (55, 56).

Das gebräuchliche Tiermodell für die humanen Erkrankungen Guillain-Barré Syndrom und die chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie ist die experimentelle autoimmune Neuritis (EAN), welche bei Ratten, Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen über eine Immunisierung mit einem peripheren Nervenhomogenat, Myelin/Myelinbestandteilen oder adoptivem Transfer von autoreaktiven P2 Proteinen oder Myelin Protein P0 Peptid-spezifischen T Zell Linien induziert werden kann (1, 16). Eine Übersicht der spontan auftretenden Erkrankung und der Tiermodelle findet sich in Abbildung 4.

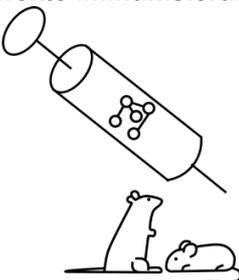
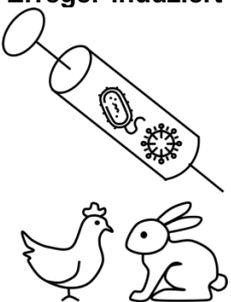
Induktion	Syndrom	Spezies	Exposition	Reproduzierbarkeit
Spontan 	GBS	Mensch	z.B. <i>Campylobacter jejuni</i> , Zika-Virus, Tollwut-Impfstoff	Nein
	CIDP	Mensch	unklar	Nein
	IMPN	Hund Katze	unklar	Nein
	Aviäre inflammatorische demyelinisierende Polyradikulo-neuropathie	Huhn	unklar	Nein
Direkte Immunisierung 	Experimentelle autoimmune Neuritis (EAN)	Ratte Maus	z.B. P2 oder P0	Ja
Adoptive-Transfer 	Experimentelle autoimmune Neuritis (EAN)	Ratte Maus Kaninchen	z.B. P0, P2, Glykolipide	Ja
Erreger-induziert 	Experimentelle autoimmune Neuritis (EAN)	Huhn Kaninchen	z.B. <i>Campylobacter jejuni</i>	Ja
Indirekte Immunisierung 	Coonhound Paralyse (CHP)	Hund	Waschbärenspeichel	Ja

Abbildung 4. Überblick über die spontan auftretende IMPN und experimentelle Tiermodelle.

2.7. Ausgewählte Beispiele immun-mediierter Polyneuropathien des Menschen

Im Folgenden werden die bisher zur felines und kaninen IMPN zu Vergleichen herangezogenen humanen IMPN Erkrankungen dargestellt. (2-14).

2.7.1. Guillain-Barré-Syndrom (GBS)

Das erstmals von Georges Charles Guillain, Jean Alexandre Barré und André Strohl 1916 beschriebene Guillain-Barré-Syndrom stellt eine Form der IMPN beim Menschen dar, welche vergleichbar zum Tier ebenfalls die Axone und Myelinscheide schädigt und zu Lähmungserscheinungen führt (57, 58). Die jährliche Inzidenz ist mit 0,5 bis 2 Fällen pro 100.000 Einwohnern angegeben und somit die weltweit häufigste Ursache für akute und subakute nicht-traumatische Paresen beim Menschen. Die Inzidenzrate steigt mit dem Alter an, wobei GBS selten bei Kindern unter zwei Jahren auftritt. Im Vergleich zu Frauen sind Männer ca. 1,5 Mal häufiger betroffen (59). Teilweise findet sich eine regionale Häufung der Anzahl an Erkrankungen, welche eventuell auf eine höhere Expositionsrate gegenüber infektiösen Triggern, welche das Syndrom auslösen, zurückzuführen sein könnte (60). Des Weiteren gibt es regionale Unterschiede hinsichtlich des Auftretens bestimmter Subtypen des GBS (59, 60).

Klassifizierung des GBS

Die in den westlichen Ländern verbreitetste Form des GBS stellt die akute inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (AIDP) dar. Daneben gibt es mehrere Varianten, darunter die akute motorische axonale Neuropathie (AMAN) sowie die akute motorische und sensorische axonale Neuropathie (AMSAN) (59, 61). Es existieren auch Formen unter Einbezug des zentralen Nervensystems, von denen als die Wichtigste das das Miller-Fisher-Syndrom (MFS) zu nennen ist, welches klinisch mit Ophthalmoplegie, Areflexie und Ataxie einhergeht (62-64).

Klinische Symptomatik, Diagnosestellung und Therapie

Bei den meisten PatientInnen äußert sich die klassische Form des GBS in einer monophasischen, akuten Neuropathie, welche nach zwei bis vier Wochen ein Plateau erreicht. Klinische Symptome umfassen unter anderem eine bilateral symmetrische progressive Schwäche der Beine und Arme, Hyporeflexie bis hin zur Tetraparese. 20-30% der PatientInnen erleiden ein Atemversagen und sind von künstlicher Beatmung abhängig. Weiterhin können eine erhöhte Proteinkonzentrationen in der CSF sowie elektrophysiologische Veränderungen festgestellt werden. Zusätzlich zu oben

genannter Schwäche können sensorische Defizite, Ataxie und autonome Dysfunktionen hinzukommen (59, 60, 65-67).

Diagnostisch werden außerdem serologische Tests hinzugezogen. Inzwischen konnten verschiedene anti-Gangliosid-Antikörper bei PatientInnen identifiziert werden, wie anti-GM1, anti-GM2, anti-GD1a, anti-GD1b, anti-GalNac-GD1a, anti-GQ1b, anti-GD3, anti-GT1a, und teilweise spezifischen Subtypen, infektiösen Triggern sowie Phänotypen zugeordnet werden (61, 68). Während bekannt ist, dass die AMAN und das MFS mit spezifischen anti-Gangliosid-Antikörpern einhergehen, sind die genauen Zielstrukturen der fehlgeleiteten Immunantwort bei der AIDP noch unbekannt (69). Im Fokus der Forschung steht unter anderem die Identifikation von anti-Gangliosid-Komplex-Antikörpern. Diese sind gegen sogenannte Glykolipid-Domänen gerichtet und binden folglich an heteromere oder multimere Lipid-Komplexe und sind schwer nachweisbar (60).

Therapeutisch kommen neben möglicherweise benötigten intensivmedizinischen Maßnahmen vor allem die Plasmapherese oder IVIG zum Einsatz mit physiotherapeutischer Begleitung, wobei auch noch weitere immuntherapeutische Ansätze erforscht werden (59, 70).

Nach der akuten Phase haben PatientInnen insgesamt gute Chancen auf Erholung, wobei sich mehr als 80% innerhalb von sechs Monaten erholen. Während der akuten Phase versterben weniger als 5% der betroffenen Personen. Mittlerweile behalten weniger als 20% schwere Behinderungen zurück (70, 71).

2.7.1. Chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP)

Mit einer Inzidenz von 0,8 bis 8,9 Fällen pro 100.000 Personen ist die CIDP die häufigste IMPN beim Menschen (1, 72). Ob eine regionale Häufung wie beim GBS vorliegt, wurde bislang nicht systematisch erfasst (1). Die CIDP kann in allen Altersstufen auftreten (73), wobei das durchschnittliche Alter betroffener Individuen bei 48 Jahren liegt (1). Männer sind mit einem Verhältnis von 2:1 deutlich häufiger betroffen im Vergleich zu Frauen (1, 72).

Vorangegangene Infektionen sind zwar beschrieben, treten aber im Vergleich zum GBS deutlich seltener auf, ebenfalls konnten keine bestimmten Erreger mit der Erkrankung assoziiert werden (1, 73).

Klassifizierung der CIDP

Verschieden Subtypen der klassischen CIDP sind beschrieben. Dabei wird in eine rein motorische und eine rein sensorische CIDP unterteilt, wobei die sensorische Variante nach Jahren auch in die motorische übergehen kann (1). Weitere Varianten umfassen die demyelinisierenden Neuropathien mit monoklonaler Gammopathie unbestimmter Signifikanz außer IgM, die chronische inflammatorische axonale Polyneuropathie, die distale erworbene demyelinisierende symmetrische Neuropathie sowie die multifokale erworbene demyelinisierende sensorische und motorische Neuropathie (auch bekannt als Lewis-Sumner Syndrom) (1, 72).

Klinische Symptomatik, Diagnosestellung und Therapie

Vergleichbar zum GBS tritt die CIDP als progressive symmetrische sensomotorische Neuropathie auf, welche sich für länger als acht Wochen progressiv entwickeln muss, um die zugrunde gelegten diagnostischen Kriterien zu erfüllen. Motorische Defizite umfassen eine chronisch-progressive, schrittweise voranschreitende oder wiederkehrende symmetrische proximale und distale Muskelschwäche und eine sensorische Dysfunktion aller Extremitäten. Klinisch findet sich eine Hypo- bis Areflexie, die Gehirnnerven können mit betroffen sein (1, 74).

Für die Diagnosestellung müssen verschiedene klinische, labordiagnostische und elektrophysiologische Kriterien erfüllt sein. Es gibt hierbei eine Fülle an Katalogen für die diagnostischen Punkte (1), wobei die Kriterien der European Federation of Neurological Societies (EFNS) in Kooperation mit der Peripheral Nerve Society (PNS) (74) die beste Sensitivität und Spezifität aufweisen (1). Elektrophysiologische Tests sollen zur Detektion von Demyelinisierung beitragen und umfassen eine verlängerte distale motorische Latenz, eine reduzierte NLG, erhöhte F-Wellen Latenzen, Leitungsblocks und temporale Dispersion. Ein erhöhter Proteingehalt im CSF ist ein zusätzliches hinweisendes diagnostisches Kriterium, wohingegen ein erhöhter Zellgehalt (>50 Leukozyten μl^{-1}) die Diagnose ausschließt. Außerdem werden bildgebende Verfahren in der Routinediagnostik implementiert. Mittels Magnetresonanztomographie (MRT) kann eine erhöhte Signalstärke oder Kontrastmittelanreicherung in den Nervenwurzeln oder -plexus bei mehr als der Hälfte der PatientInnen festgestellt werden. Eine Ultraschalluntersuchung kann eine Größenzunahme der Nerven zeigen (1).

Therapeutisch kommen vergleichbar zum GBS ebenfalls neben Physiotherapie die Plasmapherese sowie IVIG zum Einsatz. Zusätzlich haben sich auch Kortikosteroide als effektiv erwiesen (1, 72).

2.8. Pathophysiologie humaner immun-mediierter Neuropathien

Bei immun-medierten Neuropathien wird allgemein angenommen, dass die humorale und zellvermittelte Immunantwort zusammenwirkend zur Schädigung des Nervens führen (1, 75).

Getriggert durch Infektionen kann es zu einer Aktivierung und Proliferation autoreaktiver T Zellen über eine sogenannte molekulare Mimikry kommen, welche auf die Ähnlichkeit zwischen bakteriellen Epitopen und Antigenen peripherer Nerven zurückzuführen ist (1). Daraufhin sezernieren die autoreaktiven T Zellen Zytokine, welche die Produktion von Autoantikörpern durch B Zellen stimulieren. Die aktivierten T Zellen passieren die Blut-Nervenschranke mittels Interaktion zwischen Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche der T Zellen und Endothelzellen endoneurialer Blutgefäße. Durch Sezernieren von Metalloproteinasen durch die aktivierten T Zellen wird ein Durchdringen der Basalmembran ermöglicht, infolgedessen Immunzellen, größere Moleküle und auch lösliche Serumbestandteile wie Autoantikörper oder Komplementfaktoren passieren können. T Zellen sezernieren im peripheren Nerven pro-inflammatorische Zytokine, welche die Entzündungsreaktion verstärken durch das Anlocken weiterer Immunzellen. Aktivierte Makrophagen können Mediatoren wie pro-inflammatorische Zytokine, reaktive Sauerstoffspezies und Proteasen sezernieren, welche die Entzündung erhalten und sowohl Schwannzellen als auch Axone direkt schädigen (1, 75). Zusätzlich können sie als Antigen-präsentierende Zellen agieren (75). Die erwähnten Autoantikörper binden an Myelin-Glykoproteine oder Proteine am Ranvier-Schnürring oder in der paranodalen Region. Diese Bindung kann zur Aktivierung des Komplementsystems, zu durch Makrophagen medierte axonale Degeneration oder Demyelinisierung und zum Zusammenbruch der nodalen Architektur führen (1). Die gebundenen Autoantikörper behindern die Reizweiterleitung entlang des Nerven und hemmen die Signalübertragung auf den Muskel (75). Makrophagen tragen ebenfalls zur Beendigung der Immunantwort bei, indem sie die Apoptose von T-Zellen stimulieren und anti-inflammatorische Zytokine sezernieren (75).

2.8.1. Immunpathogenese des GBS

Die Immunpathogenese des GBS ist bisher nur in Teilen klar, da nur wenige pathomorphologische Untersuchungen beim Menschen durchgeführt werden und sich das Hintergrundwissen daher hauptsächlich auf Erkenntnisse aus der EAN stützen (69).

Bei circa zwei Dritteln der PatientInnen hat innerhalb von vier Wochen vor dem Einsetzen der Symptome eine immunologische Auseinandersetzung mit einem infektiösen bakteriellen oder viralen Trigger stattgefunden (69), wie beispielsweise mit *Campylobacter jejuni*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Cytomegalievirus*, *Hepatitis E Virus*, *Epstein-Barr Virus*, *Zikavirus* oder *Influenza A Virus* (69, 76-85). Im Fokus der derzeitigen Forschung steht die Assoziation mit einer Infektion mit *SARS-CoV-2* (69, 86). Auch in Verbindung mit Impfungen wurden in der Vergangenheit Ausbrüche von GBS festgestellt wie nach einer Impfung mit Semple Tollwutvirusimpfstoff und verschiedenen Influenza A Virus Impfstoffen (87-89). Ebenfalls sind bei der Immunisierung mit COVID-19 Impfstoffen Fälle von GBS berichtet worden (90).

Die Assoziation mit infektiösen Triggern hat die Rolle der oben bereits erwähnten molekularen Mimikry in Bezug auf die autoimmune Reaktion beim GBS nahegelegt (69). Diese Hypothese konnte bei Infektionen mit *C. jejuni* bei motorischen Varianten des GBS nachgewiesen werden. Bei 30-66% der AMAN PatientInnen fand im Vorhinein eine Infektion mit *C. jejuni* statt, wobei Antikörper, die gegen Lipooligosaccharide (LOS) in der Wand des Bakterium gerichtet sind, umgeleitet werden auf das Axon. Da jedoch geschätzt wird, dass weniger als eine von 1000 Personen mit einem symptomatischen Verlauf der Infektion tatsächlich AMAN entwickeln, wird angenommen, dass eine Kombination zwischen körpereigenen und mikrobiellen Faktoren bestimmt, ob es zur Produktion der Autoantikörper kommt. Ein bekannter Faktor vonseiten des Bakteriums stellt das Vorhandensein von sialylierten LOS dar. Die exakten prädisponierenden Faktoren im menschlichen Genom konnten bisher noch nicht identifiziert werden (1).

Bei der motorischen Variante des GBS binden anti-GM2 und anti-GD1a Antikörper am Ranvier-Schnürring. Hierbei kommt es zu Störungen und daraus resultierendem Mangel an geclusterten Natriumkanälen, wodurch sich die Verteilung von Ionen und Wasser verändert, was in eine reduzierten axonalen Reizweiterleitung mündet.

Alternativ können die Autoantikörper auch an die Nervenendigungen binden, wodurch in Modellen eine Degeneration der präsynaptischen Nervenendigungen gezeigt werden konnte. Die Bindung von Komplementfaktoren an die gebundenen Autoantikörper resultiert in der Bildung des Membranangriffskomplex. Die Aktivierung des Fc γ Rezeptors auf infiltrierenden Makrophagen durch Antikörper-Antigen Immunkomplexe führt außerdem zur Freisetzung von toxischen Mediatoren und Phagozytose von Myelin. Es kommt zur paranodalen Ablösung von Myelin mit Ausweitung des nodalen Bereichs, wobei sich Demyelinisierung und lymphozytäre Infiltrate in Grenzen halten. Dieser Prozess kann sich bis axonalen Degeneration fortsetzen, welche mit einem Weiterleitungsblock einhergeht (1).

Bei der AIDP konnten die Mechanismen der molekularen Mimikry bisher nicht identifiziert werden, obwohl auch hier Infektionen mit hoher Inzidenz der Erkrankung vorangehen (1). Einige Studien legen nahe, dass Autoantikörper bei dieser Variante gegen Schwanzzellepitope gerichtet sind, wobei es dann ebenfalls zur Bindung von Komplementfaktoren kommen soll, welche zur Zerstörung von Myelin und durch Makrophagen medierte Demyelinisierung führen (1, 69). Serologische Studien konnten jedoch auch Antikörper nachweisen, die gegen nodale und paranodale Regionen gerichtet sind, wobei die genauen Zielstrukturen auf molekularer Ebene noch weitestehend unklar bleiben (1).

Histologisch werden typischerweise eine Infiltration mit T Zellen und Makrophagen in die betroffenen Nerven, Nervenplexus und Nervenwurzeln festgestellt. Segmentale Demyelinisierung mit Ablagerung von Immunglobulinen und Komplement und prominenter Infiltration mit Makrophagen sind ebenfalls beschrieben (1).

2.8.2. Immunpathogenese der CIDP

Die der CIDP zugrundeliegende Immunpathologie ist noch unzureichend bekannt. Es handelt sich auch hier um eine Autoimmunreaktion, welche sowohl die zelluläre als auch die humorale Immunkomponente beinhaltet und am peripheren Nerven zu Demyelinisierung und axonalen Schäden führt (69). Eine molekulare Mimikry wie beim GBS soll allerdings keine Rolle spielen, wobei die Identifikation infektiöser Trigger auch durch die chronische und verzögert auftretende Natur der Erkrankung bedingt sein könnte (91).

Die Immunantwort der klassischen CIDP führt zur segmentalen Demyelinisierung mit Infiltration von Makrophagen und T Zellen mit Nachweis von Immunglobulinen und

Komplementaktivierung an der äußeren Oberfläche der Schwannzellen sowie an kompaktem Myelin (69). Zusätzlich tragen die genannten Entzündungszellen zum Zusammenbruch der Blut-Nervenschranke bei, was im Gewebeschnitt in Form von Makrophagen und in geringerer Anzahl auch CD8+ und CD4+ T Zellen angeordnet um endoneuriale Blutgefäße beobachtet werden kann (1).

Im Zuge der zellulären Immunantwort wird davon ausgegangen, dass am peripheren Nerven gebundene Autoantikörper die Zerstörung der Myelinscheide durch Makrophagen entweder über das Erkennen von Immunglobulinen oder über eine Aktivierung der Komplementkaskade aktivieren. Alternativ könnten auch T Zellen oder ortsständige Makrophagen die Makrophagen-induzierte Demyelinisierung einleiten. Im Serum betroffener PatientInnen konnte eine erhöhte Anzahl an aktivierten T Zellen ebenso wie erhöhte proinflammatorische Zytokinwerte festgestellt werden sowie CD4+ und CD8+ T Zellen in N. ischiadicus Biopaten. Darüber hinaus wurden vermehrt natürliche Killerzellen und CD8+ T Zellen im CSF betroffener PatientInnen nachgewiesen, was die Rolle zytotoxischer Zelltypen bei der Immunpathogenese der CIDP unterstreicht (69).

Mit dem Nachweis von IgG4 Antikörpern, welche gegen Proteine am Ranvier-Schnürring gerichtet sind, konnten spezifische Phänotypen der CIDP korreliert werden (69). Die identifizierten nodalen und paranodalen Antigene umfassen Contactin 1, Neurofascin (NF) 155, sowie NF186 und NF140 (1).

Histologisch sind bei der CIDP neben perivaskulären Infiltraten auch Entzündungszellen im Peri- und Endoneurium, Hypomyelinisierung, Onion-bulbs, Schwannzellpathologien und irreguläre paranodale Areale beschrieben (1, 69).

2.9. Forschungsbedarf zur in der Veterinärmedizin

Aufgrund der Häufigkeit der Diagnose IMPN bei Katzen im histopathologisch spezialisierten Einsendungslabor (4) und der geringen Anzahl an Publikationen mit größeren felines Patientenzahlen mit dieser Erkrankung (von mehr als 10 Individuen; wie in der vorgelegten Studie, wobei die klinische Partnerstudie nicht berücksichtigt wurde) (3, 4), ergibt sich ein wichtiger Forschungsbedarf im Hinblick auf Signalement, histomorphologische Präsentation, Verlauf und Prognostik, Therapie und Immunpathogenese. Die spontan auftretende Erkrankung IMPN bei Hund und Katze bietet zudem die Möglichkeit, wichtige Erkenntnisse zur humanen IMPN anhand der

Untersuchungen der zu diagnostischen Zwecken eingesandten feline Nerven- und Muskelbiopaten zu erhalten (4). Dabei entstehen für das jeweilige Tier keine zusätzlichen Belastungen.

Die vorliegende Studie ist Teil einer größeren Forschungsinitiative zur IMPN, welche in Abbildung 5 näher dargestellt wird. Neben dem zentralen Motiv der histopathologischen Untersuchung sollen innerhalb dessen die klinischen Parameter (Signalement, infektiöse Trigger, Verlauf und Stadium der Erkrankung, Elektrodiagnostik, Therapie und Outcome), die Bedeutung gewebgebundener Antikörper, involvierte T-Zell-Mechanismen und die Bedeutung zirkulierender Antikörper aufgeklärt werden. Zwei der vorgelegten Studie vorangehende Arbeiten von Gross et al. sind bereits publiziert worden (4, 92).

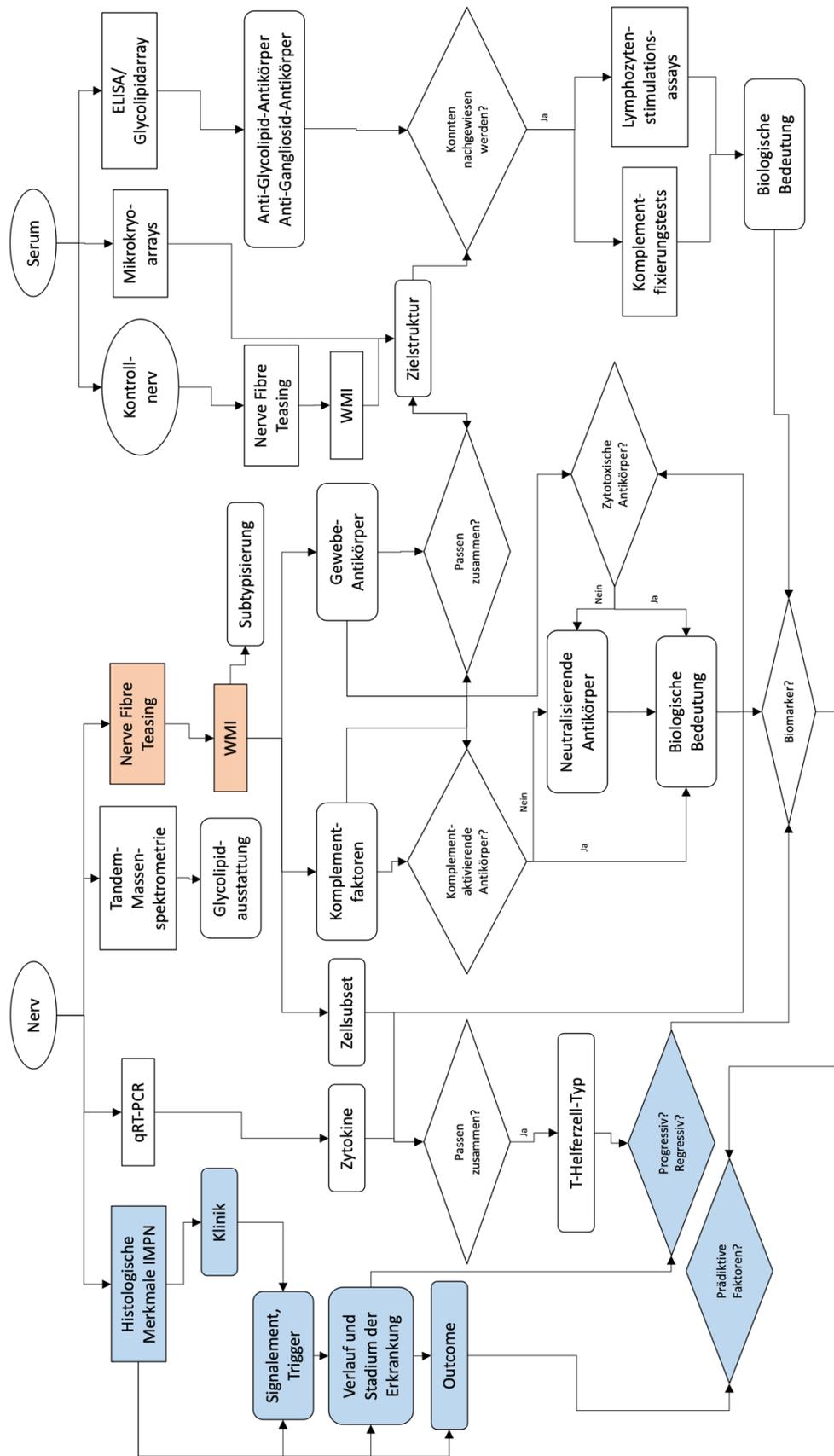


Abbildung 5. Überblick über die Forschungsinitiative zur IMPN bei Katze und Hund. Die Felder, welche von der vorliegenden Studie inklusive der klinischen Partnerstudie abgedeckt werden, sind blau markiert. Die rot markierten Felder stellen bereits publizierte methodische Vorarbeiten dar, welche unter dem Abschnitt VII. genannt werden.

III.PUBLIKATION

Biopsy Characteristics, Subtypes, and Prognostic Features in 107 Cases of Feline Presumed Immune-Mediated Polyneuropathy

Ninja Kolb¹, Kaspar Matiasek¹, Jana van Renen², Andrea Fischer², Yury Zablotski³, Franziska Wieländer¹, Jasmin Nessler⁴, Andrea Tipold⁴, Rodolfo Cappello⁵, Thomas Flegel⁶, Shenja Loderstedt⁶, Josephine Dietzel⁶, Kirsten Gnirs⁷, Kai Rentmeister⁸, Stephan Rupp⁹, Thilo von Klopmann⁹, Frank Steffen¹⁰, Konrad Jurina¹¹, Omar V. Del Vecchio¹², Martin Deutschland¹³, Florian König¹⁴, Gualtiero Gandini¹⁵, Tom Harcourt-Brown¹⁶, Marion Kornberg¹⁷, Ezio Bianchi¹⁸, Teresa Gagliardo¹⁹, Marika Menchetti²⁰, Henning Schenk²¹, Joana Tabanez²², Marco Rosati¹

¹Section of Clinical & Comparative Neuropathology, Institute for Veterinary Pathology, Center for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universitaet Muenchen, Germany

²Clinic for Small Animal Medicine, Center for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universitaet Muenchen, Germany

³ Clinic for Ruminants with Ambulatory and Herd Health Services, Center for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universitaet Muenchen, Germany

⁴ Department of Small Animal Medicine and Surgery, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany

⁵ North Downs Specialist Referrals, The Brewerstreet Dairy Business Park, Bletchingley, Surrey, UK

⁶ Small Animal Department, University of Leipzig, Leipzig, Germany

⁷ Section of Neurology & Neurosurgery, Advetia Clinic for Small Animal Medicine, Paris, France

⁸ Specialty Practice for Veterinary Neurology and Neurosurgery, Dettelbach, Germany

⁹ Tierklinik Hofheim, Hofheim, Germany

¹⁰ Neurology Service, Department of Small Animals, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland.

¹¹ AniCura Tierklinik Haar, Germany

¹² Centro Veterinario Caleidos, Albisola Superiore, Italy

¹³ Neurological Referral Service, Berlin, Germany

¹⁴ Fachtierarzt für Kleintiere, Wiesbaden, Germany

¹⁵ Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Ozzano dell'Emilia, Italy

¹⁶ Langford Veterinary Services, School of Veterinary Sciences, University of Bristol, Lower Langford, UK

¹⁷ AniCura Tierklinik Trier, Trier, Germany

¹⁸ Department of Veterinary Science, University of Parma, 43126, Parma, Italy

¹⁹ Palermovet, Veterinary Diagnostic Center, Palermo, Italy

²⁰ Neurology and Neurosurgery Division, San Marco Veterinary Clinic, Veggiano, Italy

²¹ Tierklinik Lüneburg, Lüneburg, Germany

²² Neurology Section, Fitzpatrick Referrals, Godalming, Surrey, UK

Frontiers in Veterinary Science, veröffentlicht

Kolb N, Matiasek K, van Renen J, Fischer A, Zablotzki Y, Wieländer F, et al.: Biopsy Characteristics, Subtypes, and Prognostic Features in 107 Cases of Feline Presumed Immune-Mediated Polyneuropathy. *Frontiers in Veterinary Science* 2022:9.

doi: <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.928309>



Biopsy Characteristics, Subtypes, and Prognostic Features in 107 Cases of Feline Presumed Immune-Mediated Polyneuropathy

Ninja Kolb¹, Kaspar Matiassek², Jana van Renen², Andrea Fischer², Yury Zablotski³, Franziska Wieländer¹, Jasmin Nessler⁴, Andrea Tipold⁴, Rodolfo Cappello⁵, Thomas Flegel⁶, Shenja Loderstedt⁶, Josephine Dietzel⁶, Kirsten Gnirs⁷, Kai Rentmeister⁸, Stephan Rupp⁹, Thilo von Klopmann⁹, Frank Steffen¹⁰, Konrad Jurina¹¹, Omar V. Del Vecchio¹², Martin Deutschland¹³, Florian König¹⁴, Gualtiero Gandini¹⁵, Tom Harcourt-Brown¹⁶, Marion Kornberg¹⁷, Ezio Bianchi¹⁸, Teresa Gagliardo¹⁹, Marika Menchetti²⁰, Henning Schenk²¹, Joana Tabanez²² and Marco Rosati^{1*}

OPEN ACCESS

Edited by:

Lisa Alves,
University of Cambridge,
United Kingdom

Reviewed by:

Sheila Carrera-Justiz,
University of Florida, United States
Iris Van Soens,
University of Liège, Belgium

*Correspondence:

Marco Rosati
marco.rosati@neuropathologie.de

Specialty section:

This article was submitted to
Veterinary Neurology and
Neurosurgery,
a section of the journal
Frontiers in Veterinary Science

Received: 25 April 2022

Accepted: 27 May 2022

Published: 24 June 2022

Citation:

Kolb N, Matiassek K, van Renen J, Fischer A, Zablotski Y, Wieländer F, Nessler J, Tipold A, Cappello R, Flegel T, Loderstedt S, Dietzel J, Gnirs K, Rentmeister K, Rupp S, von Klopmann T, Steffen F, Jurina K, Del Vecchio OV, Deutschland M, König F, Gandini G, Harcourt-Brown T, Kornberg M, Bianchi E, Gagliardo T, Menchetti M, Schenk H, Tabanez J and Rosati M (2022) Biopsy Characteristics, Subtypes, and Prognostic Features in 107 Cases of Feline Presumed Immune-Mediated Polyneuropathy. *Front. Vet. Sci.* 9:928309. doi: 10.3389/fvets.2022.928309

¹ Section of Clinical and Comparative Neuropathology, Institute for Veterinary Pathology, Center for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany, ² Clinic for Small Animal Medicine, Center for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany, ³ Clinic for Ruminants With Ambulatory and Herd Health Services, Center for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany, ⁴ Department of Small Animal Medicine and Surgery, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany, ⁵ North Downs Specialist Referrals, The Brewerstreet Dairy Business Park, Bletchingley, United Kingdom, ⁶ Small Animal Department, University of Leipzig, Leipzig, Germany, ⁷ Section of Neurology and Neurosurgery, Advetia Clinic for Small Animal Medicine, Paris, France, ⁸ Specialty Practice for Veterinary Neurology and Neurosurgery, Dettelbach, Germany, ⁹ Tierklinik Hofheim, Hofheim, Germany, ¹⁰ Neurology Service, Department of Small Animals, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland, ¹¹ AniCura Tierklinik Haar, Haar, Germany, ¹² Centro Veterinario Caleidos, Albisola Superiore, Italy, ¹³ Neurological Referral Service, Berlin, Germany, ¹⁴ Fachtierarzt für Kleintiere, Wiesbaden, Germany, ¹⁵ Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy, ¹⁶ Langford Veterinary Services, School of Veterinary Sciences, University of Bristol, Bristol, United Kingdom, ¹⁷ AniCura Tierklinik Trier, Trier, Germany, ¹⁸ Department of Veterinary Science, University of Parma, Parma, Italy, ¹⁹ Palermovet, Veterinary Diagnostic Center, Palermo, Italy, ²⁰ Neurology and Neurosurgery Division, San Marco Veterinary Clinic, Veggiano, Italy, ²¹ Tierklinik Lüneburg, Lüneburg, Germany, ²² Neurology Section, Fitzpatrick Referrals, Godalming, United Kingdom

Inflammatory polyradiculoneuropathy (IMPN) is one of the causes of sudden onset of neuromuscular signs such as para-/tetraparesis in young cats. Even though most cases have a favorable outcome, persistent deficits, relapses, and progressive courses are occasionally seen. As clinical presentation does not always appear to predict outcome and risk of recurrence, this study was initiated to screen for prognostic biopsy findings in a large cohort of histologically confirmed IMPN cases with clinical follow-up. In total, nerve and muscle specimens of 107 cats with biopsy diagnosis of presumed autoreactive inflammatory polyneuropathy and 22 control cases were reviewed by two blinded raters for a set of 36 histological parameters. To identify patterns and subtypes of IMPN, hierarchical k-means clustering of 33 histologic variables was performed. Then, the impact of histological parameters on IMPN outcome was evaluated via an univariate analysis to identify variables for the final multivariate model. The data on immediate outcome and follow-up were collected from submitting neurologists using a purpose-designed questionnaire. Hierarchical k-means clustering sorted the tissues into 4 main categories: cluster 1 (44/129) represents a purely inflammatory IMPN picture, whereas cluster 2 (47/129) was accompanied by demyelinating features and cluster

3 (16/129) by Wallerian degeneration. Cluster 4 (22/129) reflects normal tissues from non-neuropathic control cats. Returned questionnaires provided detailed information on outcome in 63 animals. They were categorized into recovered and non-recovered. Thereby, fiber-invasive infiltrates by mononuclear cells and mild fiber loss in intramuscular nerve branches correlated with higher probabilities of recovery. Remyelination in semithin sections, on the other hand, is correlated with a less favorable outcome. Animals grouping in cluster 1 had a tendency to a higher probability of recovery compared to other clusters. In conclusion, diagnosis of feline IMPN from nerve and muscle biopsies allowed for the identification of histologic features that were positively or negatively correlated with outcome.

Keywords: feline, neuromuscular, histology, histopathology, tetraparesis, CIDP, GBS, outcome

INTRODUCTION

Acquired polyneuropathies in cats are described as either of metabolic, toxic, paraneoplastic, immune-mediated, or idiopathic origin (1–14). Idiopathic, presumably immune-mediated, inflammatory polyneuropathy (IMPN) is sparsely reported in the current literature (1–3, 8, 15, 16), whereas in a previous study, we showed that 59% of all feline nerve biopsies submitted for diagnostic evaluation at a referral center were compatible with IMPN (6). Young animals of under 2 years of age are typically affected and present with sudden onset of neuromuscular signs, progressive course, and multiple episodes of relapses (1, 6, 15, 17, 18). Some studies suggest a breed predilection in Bengal cats (15), and a hereditary component has been proposed in Siberian cats (15, 16). Clinically, feline patients commonly present with progressive neuromuscular weakness, para- or tetraparesis, and show reduced to absent spinal reflexes (1–3, 6, 8, 16, 18). Involvement of cranial nerves is reported in a subset of patients (3, 6–8). Presumptive diagnosis of IMPN is based on the clinical presentation and electrodiagnostic evaluation, whereas histopathological evaluation of nerve and muscle specimens is required for confirmation and providing prognostic insights about the outcome (4, 18–20).

The limited literature describing the histopathologic changes in IMPN in cats reports most striking features of inflammation in nerve roots, especially in the ventral root (2), but dorsal root involvement and ganglioneuritis are also reported (7, 8) illustrating a heterogeneous motor and sensory neuropathy. Common histopathological findings in the peripheral nerves of IMPN-affected cats comprise mononuclear inflammatory infiltrates with or without signs of demyelination and remyelinating features (2, 6, 8, 15). Subsequently, muscle biopsies are affected by muscle atrophy of denervation type, and intramuscular nerve branches (IMNB) can display signs of inflammation or nerve fiber loss (2, 15). The outcome is variable ranging from full recovery, to partial recovery, and more rarely to fatal cases (1–3, 7, 8, 15, 18). The largest cohort study of Bengal cats by Bensfield et al. (15) reports a complete or partial recovery in 29 of 33 cats, and a fatal outcome in 4 cats during the first episode, followed by relapse in 12 feline patients with subsequent euthanasia in 2 further animals. Studies on large cohorts of feline

patients with IMPN comparing histopathological changes and clinical outcome are currently lacking.

Immune-mediated polyneuropathies are presumed to be the veterinary correlate to the human Guillain-Barré syndrome (GBS) (3, 6, 7), the most frequent cause of acute paralytic neuropathy in people (21). Whereas the diagnosis in human medicine is entirely based on clinical, serologic, and electrodiagnostic evaluation (21), histopathological investigation of muscle and nerve biopsies is usually performed on companion animals (22). As IMPN in cats is a spontaneously occurring disease, much insight into the underlying immunobiology and prognostic indicators can be gained by the evaluation of nerve biopsies in this animal model.

The objective of this study was to perform a systematic histopathological investigation of nerve and muscle biopsies obtained from cats diagnosed with inflammatory neuropathy of presumably immune-mediated origin, and to correlate these findings with the clinical outcome. The following hypotheses were postulated: (1) IMPN can be subcategorized into histologic subtypes; (2) these subtypes correspond to diverse clinical courses and/or disease stage; (3) prognostic indicators correlating with the outcome can be identified from analysis of nerve and muscle biopsies.

MATERIALS AND METHODS

Case Selection

Nerve and muscle biopsies of cats submitted for diagnostic purposes to the Section of Clinical and Comparative Neuropathology, Institute for Veterinary Pathology, Center for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universitaet Muenchen, Munich, Germany from 2011 to 2019 were retrospectively reviewed. Inclusion criteria for case eligibility comprised: (1) submission of at least one nerve and/or one muscle biopsy; (2) histologic diagnosis of inflammatory, presumed immune-mediated, neuropathy, based on the changes detected on peripheral nerve biopsies and/or terminal intramuscular nerve branches on muscle biopsies. Age-matched animals submitted to the necropsy service for reasons unrelated to this study and without a history of neurologic disease represented the control group. These latter underwent the same

standard neuromuscular biopsy protocol for commonly biopsied sites including common peroneal or sciatic nerve, and cranial tibial muscle. Infectious agents were excluded by the referring neurologists according to the standard protocols for diagnostic workup of neuromuscular patients and to financial restrictions imposed by the owner.

Tissue Processing

Surgical biopsies were sent overnight either as fresh and adequately cooled or formalin-fixed samples to the neuromuscular laboratory. After submission, epineurial and mesoneurial tissue was removed from the nerve samples. In case of unfixed tissue, nerves were fixed in 2.5% glutaraldehyde for 1 to 2 h depending on the thickness of the submitted material. Thereafter, nerves were rinsed and immersed in modified Sørensen phosphate buffer (pH 7.4) until further processing. One part of the sample was divided into four segments, contrasted to 1% buffered osmium tetroxide after Caulfield for 1.5 to 2 h depending on thickness, and embedded in epoxy resin (Glycidether 100, Serva®, Heidelberg, Germany) after dehydration in an ascending alcohol series. Semithin sections (0.5 µm) were cut transversally as well as longitudinally and stained with toluidine blue and safranin O. The other part of the nerve sample underwent also osmium contrast enhancement with 2% buffered osmium tetroxide after Caulfield for 1.5–2 h for nerve fiber teasing preparation. At least 30 fibers per nerve were prepared on each glass slide for detailed microscopic longitudinal analysis. In case, there was no formalin-fixed muscle specimen available, a part of fresh muscle was fixed in 10% neutral-buffered formalin and subjected to paraffin-embedding in longitudinal and transverse orientation, and slides were stained with hematoxylin–eosin (H&E), as well as Giemsa stain according to the standard protocols. Remaining fresh muscle samples were snap frozen in isopentane, cooled in liquid nitrogen (−130 to −150°C), and stored at −80°C until processing. Transverse cryosections (10 µm) were stained by the standard protocols including H&E, Engel's modified Gomori trichrome, periodic acid Schiff, oil-red O, cytochrome oxidase, and nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase-tetrazolium reductase histochemistry, and fiber typing through immunolabeling of myosin heavy chains.

Morphological Evaluation

Histological evaluation was performed by two blinded veterinarians experienced in neuropathology using light microscopy (Zeiss Axiophot®, Zeiss Instruments, Oberkochen, Germany). Cryosections and paraffin sections of skeletal muscle and nerve fiber teasing and semithin sections of peripheral nerves were investigated.

General algorithms for diagnostic evaluation of muscle and nerve biopsies were applied and subsequently implemented by a tailored grading scheme for nerve inflammation including 36 histological variables. Briefly, the scheme focused on topographic distribution and degree of severity of inflammatory infiltrates, axonal changes, Schwann cell pathology, nerve fiber degeneration, and regenerative features. Where applicable, semiquantitative scores were applied by grading each variable

as summarized in **Table 1**. The dominant feature of each case was summarized and assigned to one of the following categories: infiltrative, degenerative, or mixed. Further details on the histomorphological criteria can be found in **Table 1**. Based on the nerve fiber teasing, the IMPN subtype after Gross et al. (6) was also classified (summarized in **Table 2**).

Clinical Questionnaire

An online questionnaire was sent to submitting veterinary neurologists to gather information about patient's history, onset of clinical signs, and course of the disease, neurological examination, results of the electrophysiological examination, imaging findings including MRI and CT, laboratory workup, and outcome. The survey (https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=DQSIkWsW0yxEjajBLZtrQAAAAAAAAAAAAAN__iDTpglUQVVXTzNMNlc1UlpFUlo4UEdQOTNOVzRWMy4u) was performed using Microsoft Forms (Microsoft, Redmond, Washington, USA) in accordance with the General Data Protection Regulation, and with permission of the data protection officer of the Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany. Participating clinicians were specialized in the field of veterinary neurology comprising board certified neurologists [European College of Veterinary Neurology and/or American College of Veterinary Internal Medicine (Neurology)] or an equal national qualification.

Statistical Analysis

Hierarchical k-means clustering of 33 histologic variables was performed to identify similar histological patterns. Missing values were occasionally detected across the 33 variables and needed to be imputed, since cluster analysis requires complete dataset. Imputation was conducted *via* the missRanger approach, a non-parametric multivariate imputation by chained random forest algorithm with 1,000 trees (23). This method combines random forest imputation (24, 25) with predictive mean matching (26) and thus iterates multiple times until the average out-of-bag prediction error of the models stops to improve. After clustering, cluster features were analyzed to identify salient histological appearances. Individual animals were manually corrected, if the overall histological pattern was more suitable to a different cluster with confirmation of validity using Cohen's Kappa analysis. The impact of histological parameters on the outcome (recovery) and premedication was evaluated *via* univariate Bayesian generalized linear models to identify variables for the final multivariate model. Any variable having a $p < 0.2$ during the univariate test was selected as a candidate for the multivariate analysis (27). A stepwise variable selection among those variables leads to the final combination of predictors. All analyses were done by the R Statistical software (version 4.0.3).

RESULTS

Signalment and Biopsy Site

Nerve and muscle biopsies of 107 affected cats were included in the study. Investigated cases originated from various countries in Europe including: Germany ($n = 50$), United Kingdom ($n = 25$),

TABLE 1 | Morphologic criteria applied for histological examination.

	Material and histological processing		
	Nerve fiber teasing	Semithin sections of nerve	Muscle (FFPE and cryosections)
Inflammatory features	<p>Site of inflammatory infiltrates</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nodal • Paranodal • Nodo-paranodal • Schmidt-Lanterman cleft-directed • Diffuse • Diffuse predominantly nodo-paranodal <p>Overall extensivity of fiber-directed inflammatory infiltrates</p> <ul style="list-style-type: none"> • Score 0 (not present) • Score 1 (mild) • Score 2 (moderate) • Score 3 (severe) <p>Degree of fiber-directed inflammatory cells</p> <ul style="list-style-type: none"> • Score 0 (not present) • Score 1 (mild) • Score 2 (moderate) • Score 3 (severe) 	<p>Interstitial inflammatory infiltrates</p> <p>Fiber-directed inflammatory infiltrates</p> <p>Vasculitis</p>	<p>Inflammatory infiltrates in intramuscular nerve branches</p> <ul style="list-style-type: none"> • Score 0 (not present) • Score 1 (mild) • Score 2 (severe)
Changes of the myelin sheath	<p>Myelin sheath pathology</p> <p>Site of demyelination:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nodal • Paranodal • Internodal • Inter-/paranodal • Segmental • Nodal-segmental • Paranodal-segmental • Mixed 	<p>Percentage of nerve fiber bundle affected by de-/remyelination:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ≤12,5% of nerve fiber bundle • up to 25% of nerve fiber bundle • 50–75% of nerve fiber bundle • ≥75% of nerve fiber bundle <p>Degree of de-/remyelination</p> <ul style="list-style-type: none"> • Score 0 (not present) • Score 1 (mild) • Score 2 (moderate) • Score 3 (marked) <p>Onion bulb formation</p> <p>Schwann-cell pathology and/or hypertrophy</p>	
Axonal features	<p>Stage of Wallerian Degeneration:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1 • 2 • 3 • 4 <p>Distribution of Wallerian Degeneration</p> <ul style="list-style-type: none"> • Continuous • Discontinuous <p>Temporary stadium of Wallerian Degeneration:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Synchronous • Asynchronous 	<p>Degree of nerve fiber loss</p> <ul style="list-style-type: none"> • Score 0 (not present) • Score 1 (mild) • Score 2 (moderate) • Score 3 (severe) <p>Type of fibers affected by fiber loss:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Small fibers • Large fibers • Mixed <p>Wallerian degeneration</p> <p>Post-resorptive macrophages</p> <p>Changes in axonal diameter</p> <ul style="list-style-type: none"> • Score 0 (not present) • Score 1 (mild) • Score 2 (moderate) • Score 3 (severe) 	<p>Degree of nerve fiber loss in intramuscular nerve branches</p> <ul style="list-style-type: none"> • Score 0 (not present) • Score 1 (mild) • Score 2 (moderate) • Score 3 (severe)
Regenerative features		<p>Remyelination</p> <p>Regenerative clusters</p>	<p>Degree of muscle atrophy</p> <ul style="list-style-type: none"> • Score 0 (not present) • Score 1 (mild) • Score 2 (mild to moderate) • Score 3 (moderate) • Score 4 (severe) <p>Stadium of muscle atrophy</p> <ul style="list-style-type: none"> • Score 0 (not present) • Score 1 (non-reactive muscle atrophy) • Score 2 (mild reactive changes) • Score 3 (fibrosis) <p>Muscle fiber hypertrophy</p> <ul style="list-style-type: none"> • Score 0 (not present) • Score 1 (mild) • Score 2 (moderate) • Score 3 (severe)

TABLE 2 | IMPN subtypes according to Gross et al. (6).

IMPN subtype	Histological features
1	Cells are attached or enter the Schmidt-Lanterman clefts.
2A	Early invasive IMPN subtype 2 with marked demyelination, dysmorphic paranodes, paranodal retraction, and a only few cells located at the node of Ranvier.
2B	Infiltrative IMPN subtype 2 with cell-clusters in the area of the node of Ranvier.
3	Cells show an overall distribution along nerve fibers.
4	Mixed subtype with nodo-paranodal predominance.

Italy ($n = 12$), France ($n = 11$), Switzerland ($n = 8$), and Estonia ($n = 1$). Age-matched control animals were solely submitted by veterinarians or private owners in Germany ($n = 22$).

The age of affected cats ranged from 3 months to 10.4 years with a median age of 0.9 years. About 30.8% of the cats (33/107 cats) were domestic shorthair cats (DSH), whereas 64.5% (69/107 cats) were purebred cats, 2.8% (3/107 cats) were mixed breeds, and for two cats' breed information was not available. Among purebred cats, British shorthair cats were overrepresented with 16.8% (18/107 cats) together with 12.1% of Bengal cats (13/107 cats), followed by 8.4% Maine Coon cats (9/107 cats), 4.7% of Persian cats (5/107 cats), and 3.7% of Siamese cats (4/107 cats). Other affected breed with 3 or less individuals comprised Siberian cat ($n = 3$), Birman cat ($n = 3$), Ragdoll ($n = 2$), Devon Rex ($n = 2$), Abyssinian cat ($n = 2$), and one of each Russian Blue, Turkish Angora, Savannah cat, Munchkin cat, Chartreux, Scottish Fold, Norwegian Forest cat, and a Thai cat. Gender distribution of the affected cats was 43 intact males (40.2%), 30 male neutered (28.0%), 26 intact females (24.3%), and 8 female spayed (7.5%).

Control samples were collected from 22 cats at 1.3 months to 11 years of age (median 4.3 years) consisting of 13/22 DSH, 6/22 purebred cats, and 3/22 mixed breed cats with 5 males, 7 male neutered, 7 females, and 3 female spayed cats.

Nerve biopsies were available in all of the cases and were collected from the hindlimb in 99 animals, from the forelimb in 3 animals, and from both in one cat. In 4 animals, the localization of nerve biopsy was not indicated. Muscle specimens were available in 105/107 cats and gained exclusively from the hindlimbs in 64 feline patients, from the forelimb in one animal, and from both in 34 animals. In 6 animals, information about localization of muscle biopsy was not provided.

Histologic Features

Inflammatory Features Within the Nerves

The diagnosis of IMPN was based on the evidence of nerve fiber adhesive and/or invasive inflammatory infiltrates within the endoneurium, directed at the axons, nodes of Ranvier, and/or Schwann cells. Biopsies of cats without signs of inflammation in the intramuscular nerve branches and/or peripheral nerve biopsies were excluded from the study. IMPN was diagnosed in 105/107 animals based on findings in the main nerve trunk, and in 2/107 based on intramuscular nerve fiber branches. All animals showed inflammatory cells seen either in nerve fiber teasing

(96/104; 92.3%), semithin preparations of the nerve (100/105 cats; 95.2%), or in the intramuscular nerve branches (69/79; 87.3%). Reduced numbers of animals result either from lacking of intramuscular nerve branches within muscle sections (26/105), and from lacking of either semithin sections or nerve fiber teasing preparations in case of limited nerve material submitted for diagnostic purposes. Only a subset of cases (38/105; 36.2%) showed fiber-invasive infiltrates in semithin sections, whereas interstitial inflammatory cells could be found in 87.3% (69/79, see above) of feline patients.

IMPN Subtypes According to Gross et al. (6)

The majority of cases with 42.1% (45/107 cats) presented with IMPN subtype 3 with diffuse inflammatory cell distribution. About 25.2% (27/107 cats) matched subtype 1 with focus of inflammation to the Schmidt-Lanterman clefts, and 16.8% (18/107 cats) were compatible with mixed subtype 4 with nodo-paranodal predominance. Only a small proportion with 5.6% (6/107 cats) fitted the criteria for the nodo-paranodal subtype 2, especially 1 animal with subtype 2a and 5 cats with subtype 2b. In 5 cats, inflammatory features presented only in semithin sections or in intramuscular nerve branches, and therefore, the subtype could not be determined. In 4 animals, IMPN type could not be defined as teasing preparations were not available due to low yield of nerve fibers from submitted material. In 2 patients, the subtype remained unclear.

Muscle Atrophy

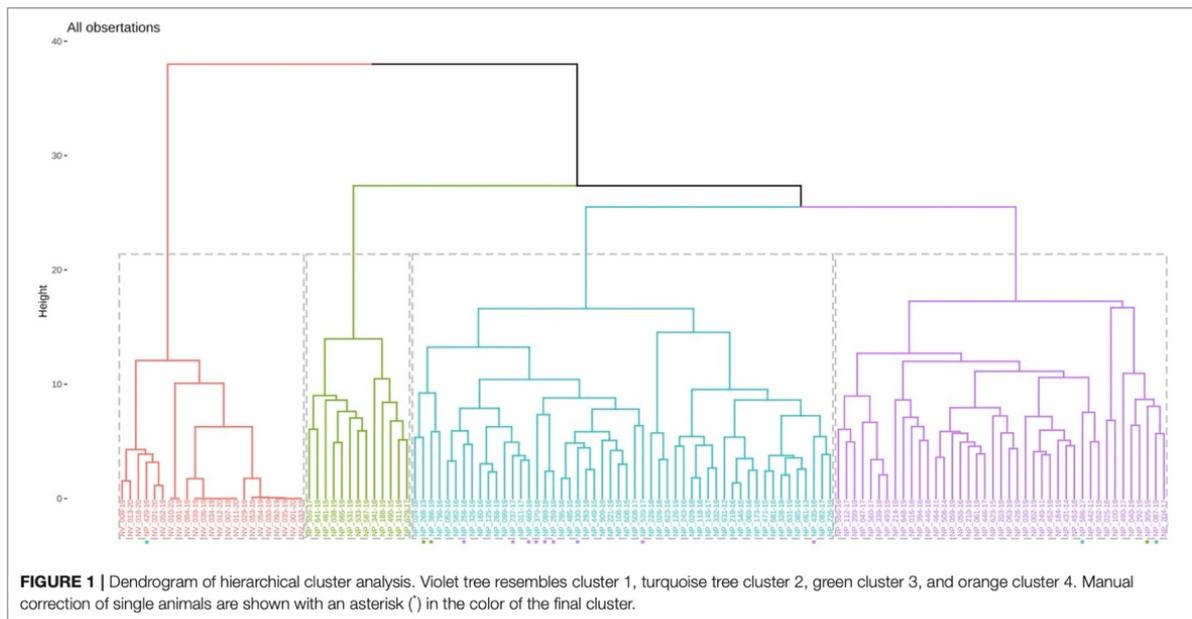
Muscle samples were available for 105/107 cats. Of these, 86.7% (91/105) showed changes compatible with denervation atrophy. About 5.7% (6/105) of the cases had a mixed atrophy, and 7.6% (8/105) could not be further classified.

Cluster Analysis

Hierarchical k-means clustering sorted results of histologic scoring into 4 main clusters: cluster (1) (44/107) purely inflammatory IMPN; cluster (2) (47/129) IMPN accompanied by demyelinating features; cluster (3) (16/129) IMPN with signs of Wallerian degeneration; and cluster (4) (22/129) normal tissues from control animals. The cluster analysis dendrogram is shown in **Figure 1**.

Cluster 1: Purely Inflammatory IMPN

Cluster 1 comprised 41.1% (44/107) of the cats. All cases showed lesions characteristic for IMPN as shown in **Figure 2**. Semithin sections of 93.2% (41/44) of the cats showed interstitial inflammatory cells, of these 24.4% (10/41) displayed additionally also fiber-directed infiltrates. Nerve fiber teasing preparations were available for 42/44 animals and showed inflammatory cell infiltration in 88.2% (37/42) of the cases. Semiquantitative measurement of the overall extensivity of inflammatory infiltrates in teasing preparations was mild in 45.2% (19/42), moderate in 16.7% (7/42), and severe in 26.2% (11/42) of the cases. Degree of inflammatory cell infiltrates per single fiber was graded mild in 54.8% (23/42), moderate in 21.4% (9/42), and severe in 11.9%



(5/42) of the cats. A total of 3 of 4 cases of vasculitis observed in semithin sections were present in Cluster 1.

Affected breeds comprised 34.1% (15/44) DSH, 13.6% (6/44) Bengal cats, 11.4% (5/44) BSH, 9.1% (4/44) Maine coon cats, 6.8% (3/44) Persian cats, 4.5% (2/44) Siamese cats, one of each Siberian cat, Birman cat, Ragdoll, Devon Rex, Abyssinian cat, Scottish Fold, Thai cat, and also one mixed breed cat. In 2 cats, the breed was not known. There was no significant relationship [$\chi^2_{\text{pearson}}(9) = 10.34, p = 0.32$] between different breeds and specific clusters. Median age of the affected cats was 0.8 years (range 0.3–10.1 years). Gender distribution showed 54.5% (24/44) male or male neutered animals and 45.5% (20/44) female or female spayed cats.

Cluster 2: IMPN Accompanied by De-/remyelination

About 43.9% (47/107) of affected cats grouped in cluster 2. The hallmark of this cluster was the detection of de-/remyelination additionally to inflammatory infiltrates as shown in **Figure 2**. Demyelinating changes were seen in nerve fiber teasing preparations (33/46; 71.7%), and/or semithin sections of the nerve (32/45; 71.1%). The reduced number of animals in both preparation types results from lacking of teasing preparations in one cat or semithin preparations in 2 cats due to limited size of submitted nerve material. Demyelination could be localized in 33 cats *via* teasing preparation as paranodal (8/33; 24.2%), internodal (2/33; 6.1%), paranodal and internodal (1/33; 3.0%), segmental (17/33; 51.5%), nodal-segmental (1/33; 3.0%), paranodal-segmental (2/33; 6.1%), and mixed (2/33; 6.1%). The overall degree of de-/remyelination of individual nerve fibers could be semiquantitatively measured as mild in 62.5% (20/32) and moderate in 37.5% (12/32) of the cases with de-/remyelination present in semithin sections of the nerve. Remyelination was identified on semithin sections in 62.5%

(20/32) of the cases. Extensiveness of de-/remyelinated fibers could be determined *via* semithin sections in 95.6% (29/32) of which 69.0% (20/29) with $\leq 12.5\%$ of nerve fiber bundle affected, 31.0% (9/29) up to 25% of de-/remyelinated nerve fiber bundle, and 3.4% (1/29) of the cats with $\geq 75\%$ of affected fibers. Onion bulb formation observed in semithin sections was present in 22.2% (10/45) of the cats. The remaining fourth case of vasculitis was present in this cluster 2.

Breeds in this group comprised 27.7% (13/47) DSH, 21.3% (10/47) BSH, 12.8% (6/47) Bengal cats, 6.4% (3/47) Maine coon cats, 6.4% (3/47), Birman cat, 4.3% (2/47) Persian cats, 4.3% (2/47) mixed breed cats, one of each Siamese cat, Abyssinian cat, Chartreux, and Norwegian Forest cat. Median age of cats in cluster 2 was 1 year (range 0.3–10.3 years). About 74.5% (35/47) of cats in cluster 2 were male or male neutered animals and 25.5% (12/47) female or female spayed.

Cluster 3: IMPN Accompanied by Wallerian Degeneration

About 15.0% (16/107) of the patients grouped in cluster 3. Wallerian degeneration was the unique feature in this cluster besides inflammatory infiltration shown in **Figure 2**. Wallerian degeneration was identified in nerve fiber teasing preparations in all but one animal (15/16; 93.8%) and in 37.5% (6/16) of the cases within semithin nerve sections. Stage of Wallerian degeneration could be determined based on nerve fiber teasing as follows: 1 in 6.7% (1/15), 2 in 13.3% (2/15), 3 in 26.7% (4/15), and 4 in 53.3% (8/15) of the affected cats. Along single teased nerve fibers, changes were considered as continuous in 80.0% (12/15) and discontinuous in 40.0% (6/15) of the cases. Temporal relationship of Wallerian degeneration among affected nerve fibers could be

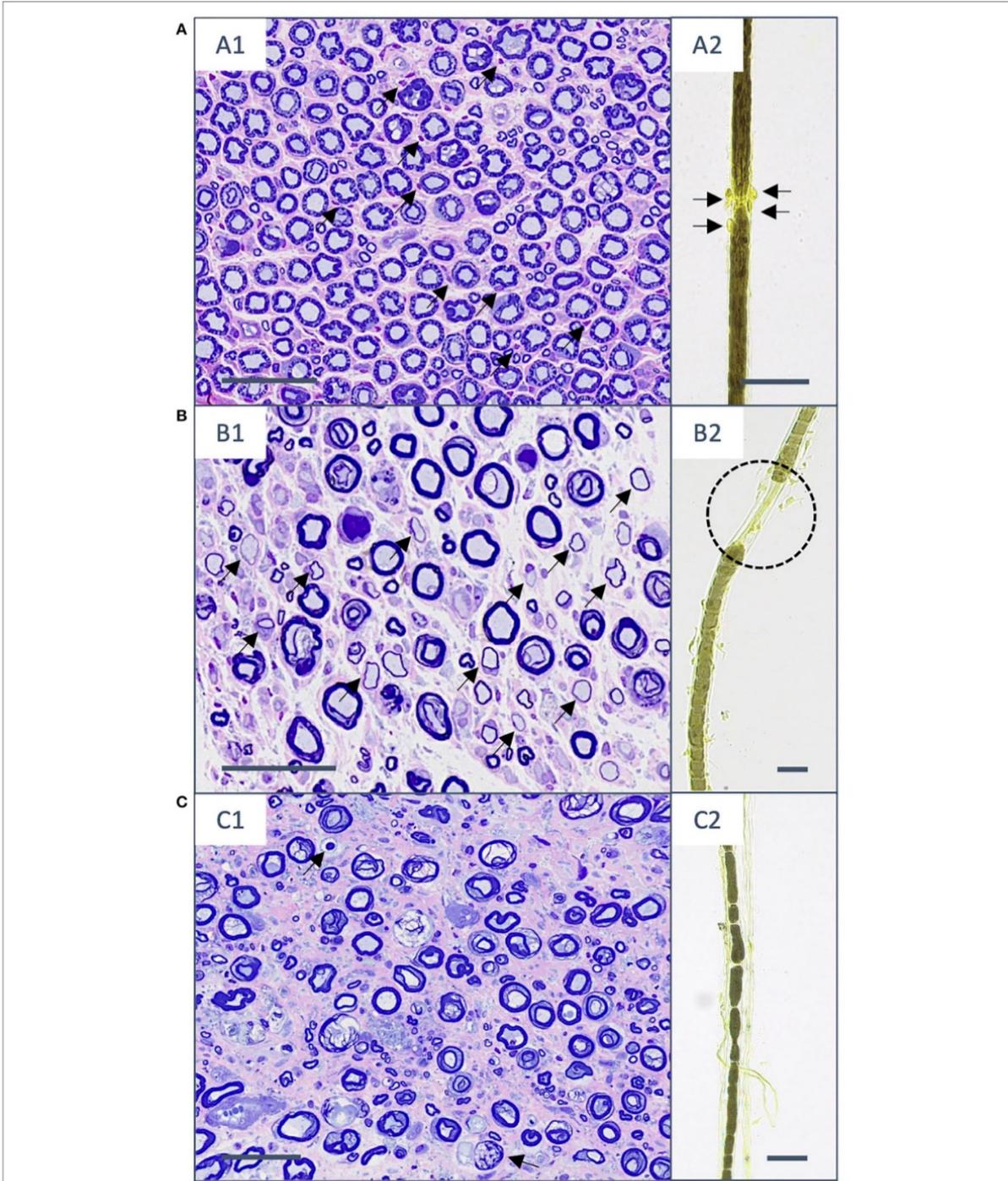


FIGURE 2 | Histopathological changes in semithin sections (stained with toluidine blue and safranin O) and nerve fiber teasing preparations (contrasted with Osmium tetroxide) in the three different clusters. **(A)** Cluster 1. **(A1)** Transverse section of fibular nerve with interstitial and fiber-adhesive mononuclear infiltrates (arrows). **(A2)** (Continued)

FIGURE 2 | The same cat shows mononuclear cell infiltrates directed to the nodo-paranodal area (arrows). **(B)** Cluster 2. **(B1)** The sciatic nerve with a moderately reduced number of myelinated fibers and multiple hypomyelinated fibers (arrows) on top of mononuclear interstitial and fiber-invasive infiltrates. **(B2)** Teasing preparations of the same animal shows paranodal retraction as a sign of demyelination (black dotted line). **(C)** Cluster 3. **(C1)** The peroneal nerve with markedly reduced number of myelinated fibers, endoneurial fibrosis, and signs of Wallerian degeneration (arrows). **(C2)** The fibular nerve of another cat with signs of stage II Wallerian degeneration. Scale bar: 50 μ m.

determined in 12 animals and defined as synchronous in (11.7%; 11/12) and asynchronous (8.3%; 1/12).

In cluster 3, 31.3% (5/16) were DSH, 18.8% (3/16) BSH, 12.5% (2/16) Maine coon cats, 12.5% (2/16) Siberian cats, and one of each Bengal cat, Siamese cat, Ragdoll, and Devon Rex. The median age of cluster 3 animals was 0.7 years (range 0.3–10.4). Male or male neutered cats in cluster 3 comprised 87.5% (14/16) and 12.5% (2/16) female cats.

Online Questionnaire

A total of 73 survey answers were obtained, 3 were considered incomplete for further analysis, and 70 were valid surveys. Data on outcome were available in 63 animals, and information about therapies prior to biopsies collection was indicated in 70 survey responses. Outcome was classified into 2 categories, namely, recovered and not recovered. Recovery was defined as the state in which the cat could walk without assistance and could jump onto objects. Results of patient history, onset of clinical signs, course of the disease, neurological examination, results of the electrophysiological examination, imaging findings including MRI and CT, laboratory workup, and outcome are described by van Renen et al. (28).

Prognostic Histologic Parameters

A univariate model with 31 of the histological parameters revealed 9 variables as significantly related to recovery of the animal (Table 3), which were then used for the final multivariate model. In the final model, remyelination in semithin sections was most significant related to recovery ($p = 0.006$), followed by fiber-invasive infiltrates in semithin sections ($p = 0.022$), and intramuscular nerve fiber loss ($p = 0.045$). The presence of remyelination was correlated with a lower probability of recovery compared to the absence of remyelinating features. When animals presented with fiber-invasive infiltrates, the probability of recovery was higher compared to cats where these infiltrates were mainly endoneurial. Fiber loss in intramuscular nerve branches observed in muscle sections was inhomogeneously correlated with probability of recovery. When fiber loss was moderate or absent, the probability of a favorable outcome was lower compared to mild fiber loss. Probabilities of recovery are shown in Figure 3.

Histopathology Compared to Clinical Data Therapies Prior to Biopsy Collection

About 62.9% of the cats (44/70) received medication prior to biopsy collection. Evaluation of the impact of medications on distribution and magnitude of inflammatory infiltrates on nerve biopsies did not reveal significant differences between pretreated and untreated patients. Medications included corticosteroids (all

TABLE 3 | Significance of histological parameters in the univariate model.

Histological phenomenon	P-value
Paraffin sections of the muscle	
Nerve fiber loss in intramuscular nerve branches	0.035
Semithin sections of the nerve	
Remyelination	0.044
Wallerian degeneration	0.076
Fiber-invasive infiltrates	0.105
Degree of de-/remyelination	0.130
Regenerative clusters	0.166
Nerve fiber teasing preparations	
Extensivity of inflammatory infiltrates	0.068
Degree of inflammatory infiltrates observed on single teased nerve fibers	0.103
Demyelination	0.198

$p > 0.395$), non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) (all $p > 0.601$), and L-carnitine (all $p > 0.123$).

Outcome

The probability to recover among the three clusters did not differ significantly, but showed a tendency toward a higher rate of recovery in cluster 1, compared to cluster 2 ($p = 0.188$), and 3 ($p = 0.201$) as shown in Figure 4. A correlation between the course of the disease (chronic: clinical signs lasting longer than 1 month; acute: clinical signs lasting less than 1 month) to the three different clusters could not be identified.

DISCUSSION

To date, this is the largest retrospective study on histopathological findings and clinical features of presumed IMPN in cats. Hierarchical cluster analysis defined three groups of IMPN with different histologic phenotypes: cluster 1 purely inflammatory, cluster 2 IMPN with additional demyelination, and cluster 3 where IMPN was accompanied by Wallerian degeneration. Salient histologic features with impact on patients' outcome were also identified through a multivariate analysis combining clinical and histologic data. Premedication with corticosteroids, NSAIDs, and L-carnitine had no significant impact on the magnitude of inflammatory features observed by neuropathologists on peripheral nerve biopsies.

In this cohort, 30.8% of cats were DSH and 64.5% purebreds with BSH being the most common breed accompanied by various purebreds not reported to be affected by IMPN. Previous studies described inflammatory/demyelinating/idiopathic polyneuropathy mainly in purebred cats (1, 3, 6, 15–17, 19),

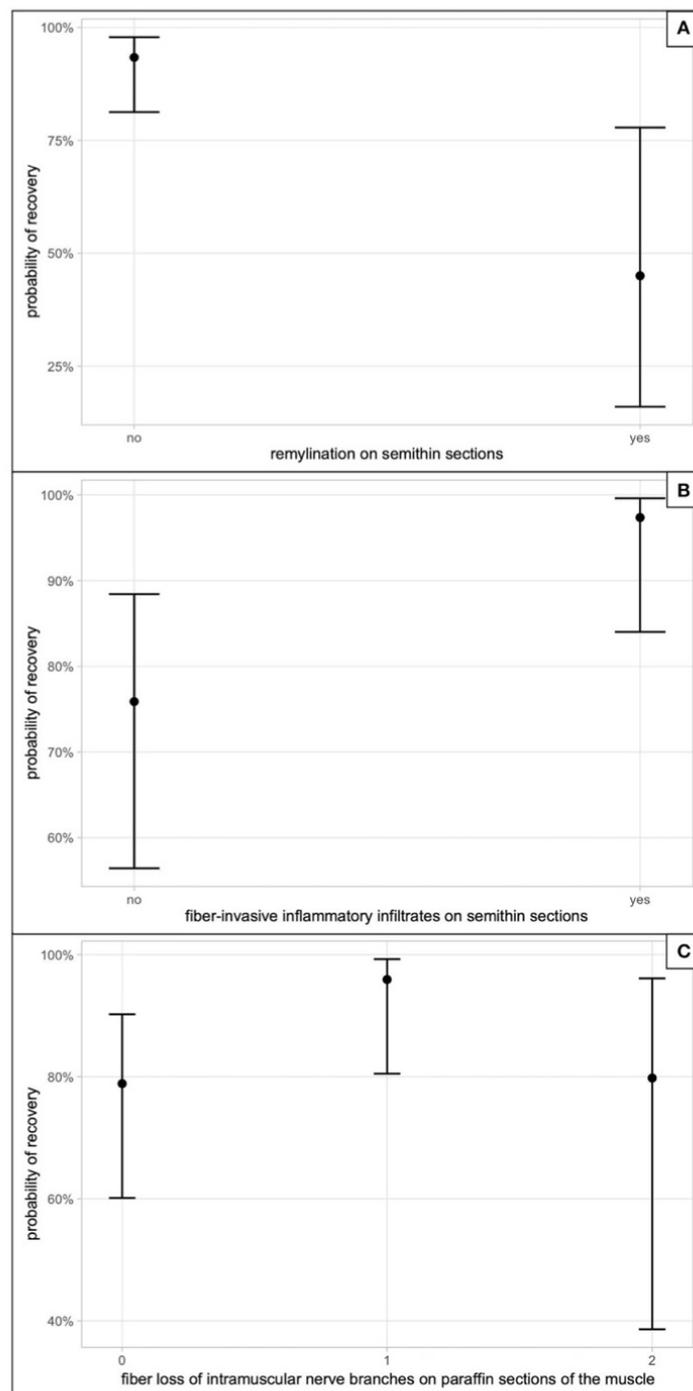
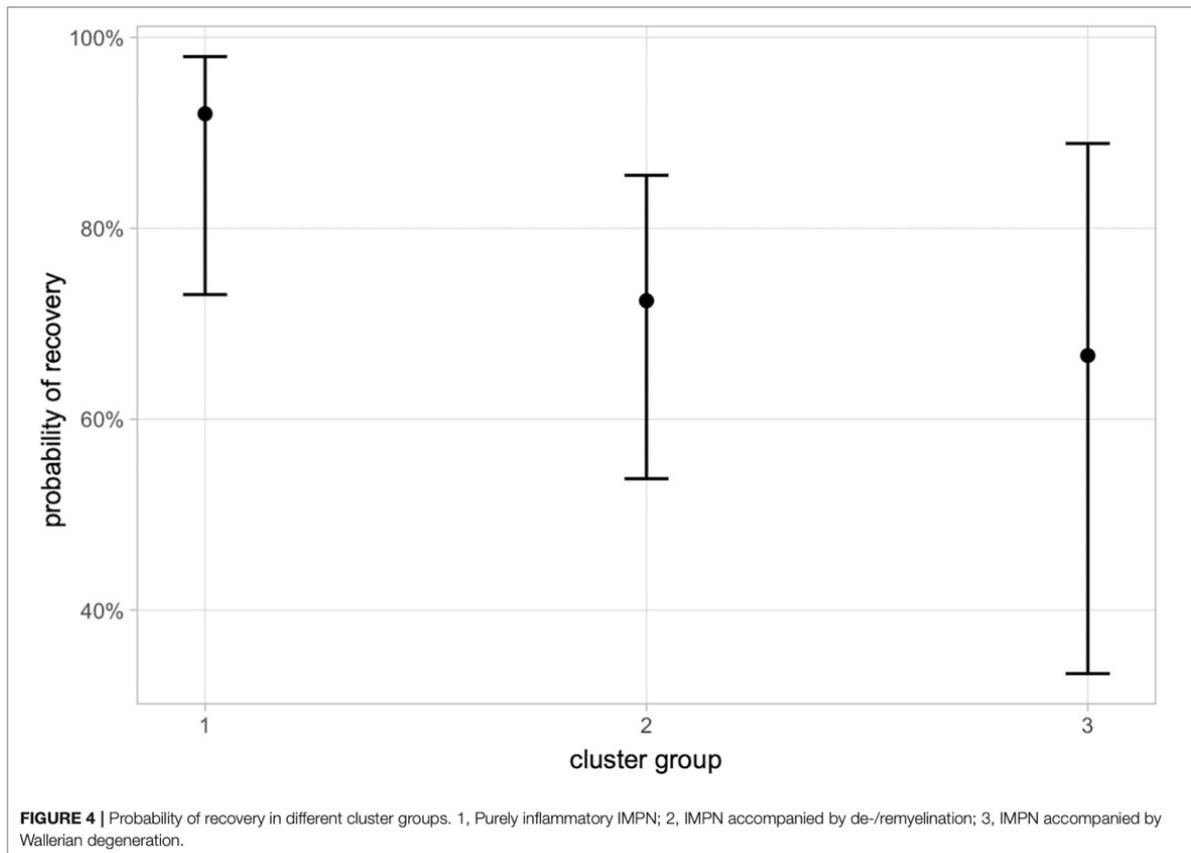


FIGURE 3 | Probability of recovery in the multivariate model. **(A)** The impact on recovery, if remyelination on semithin sections was observed. **(B)** The correlation between presence of fiber-invasive inflammatory infiltrates on semithin sections and recovery. **(C)** Correlates the semiquantitative fiber loss score of intramuscular nerve branches seen on paraffin sections of the muscle in degree; 0, absent; 1, mild; 2, moderate; 3, severe ($n = 0$).



leading to the hypothesis of a hereditary neuropathy and/or a genetic predisposition in Siberian and Bengal cats (15, 16). Based on our findings, an inherited breed predisposition appears less likely as the number of breeds increased considerably with the present observations compared to previous descriptions, and biopsies were submitted from several referral centers distributed in 6 European countries. Breeds were distributed among all three different clusters with DSH as the most common. In a case series of Gerritsen et al. (3), DSH was also the most reported breed with 5/9 cases. Histopathology in DSH in other studies comprised also inflammatory infiltration, demyelination, and axonal degeneration with fragmentation in peripheral nerves (3, 8). Also, Bengal cats were found in all clusters, which fits to the previous study by Bensfield et al. where inflammation, demyelination, and axonal degeneration were described. In a Siberian cat, histologic evaluation of Crawford et al. (16) revealed a mononuclear cell infiltration within IMNB and the peripheral nerve. In our study, Siberian cats were present in clusters 1 and 3, but not in the de-/remyelinating cluster 2. In a case report of Jeandel et al., an Abyssinian cat showed loss of myelinated fibers and inflammatory infiltrates in the peripheral nerve. The two Abyssinian cats in our study were found in clusters 1 and 2, but not in cluster 3. Statistical analysis of a possible association of

specific breed dispositions to the three different clusters revealed no correlation. Due to low numbers of animals in many breeds, further studies are needed to further exclude breed dispositions for specific histological subtypes.

As observed in previous investigations (1–3, 6, 8, 15, 17), IMPN is a disease mainly manifesting in young patients with 0.9 years as median age of onset in this study. However, 15/107 cats were older than 4 years in addition to what was described in the literature (6, 7, 18), we suggest to consider IMPN among differential diagnosis of neuromuscular signs even in adult cats. Gender distribution showed an overall predominance of male or male neutered animals (68.2%). This is in parallel with the biggest cohort study of Bensfield et al. (15) in Bengal cats, where 65% were male, and also Gross et al. (6) found 11/15 cats to be male or male neutered. Gender distribution in case series or case reports varies (1–3, 7, 8, 16, 17). Interestingly, gender distribution was close to equal in cluster 1, whereas in clusters 2 and 3, the gender gap was markedly skewed toward male sex. Similar findings are also recorded for human immune-mediated polyneuropathies such as Guillain-Barré syndrome (GBS) and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP), where men are about 1.5 times more frequently

affected compared to women (21). The reason for this gender predisposition remains unclear.

Diagnosis of IMPN was achieved from the evaluation of biopsies of the main peripheral nerve trunk and/or terminal nerve branches from muscle biopsies. Distribution of the lesions in inflammatory neuropathies can vary and show proximal (radiculitis), main nerve trunk (neuritis), and distal (terminal neuritis) changes (2, 6–8, 15–17). Multifocal lesions can severely affect one nerve fascicle and spare those neighboring as seen in a study of Aleman et al. (19) and further complicate diagnostic interpretation of peripheral nerve biopsies. Diagnosis of IMPN was obtained from main nerve trunk in 105/107, terminal nerve branches in 2/107, and from both sites in 67/79 animals. As in 87.3% of the investigated muscle biopsies intramuscular nerve branches were affected, muscle biopsy can help in diagnostic settings in case of multifocal distribution of the lesions. We conclude that a combination of nerve and muscle biopsies provides the highest yield of diagnostic samples in case of IMPN. Influence of medical treatments prior to biopsies collection and the yield of diagnostic features on submitted neuromuscular samples was also evaluated. Patients are often referred to veterinary neurologists with some delays from the onset of clinical signs, and empirical treatments are already established by the time of referral. In our population, corticosteroids, NSAIDs, and L-carnitine were administered prior to biopsy in 62.9% of the cases, but there was no significant impact on the diagnostic yield of inflammatory features, and a histologic diagnosis of IMPN could still be made. However, due to the retrospective nature of this study, more sound conclusions on the effects of prior therapies and their dosages (anti-inflammatory vs. immunosuppressive) could not be drawn.

Systematic evaluation of nerve biopsies identified changes comparable to those previously described including endoneurial mononuclear cell infiltration, demyelination, and axonal damage as indicated by Wallerian degeneration of nerve fibers (2, 3, 8, 15–17). Apart from unanimous identification of inflammatory infiltrates in peripheral nerves, in this cohort, as well as in past descriptions, there are some variabilities regarding distribution of inflammation along nerve fibers and damage of the Schwann cells and axons. According to Gross et al. (6), IMPN in cats and dogs can be subclassified based on nerve fiber teasing analysis of inflammatory cell distribution into 4 subtypes. In that study, the most common subtype in a cohort of 15 cats was subtype 4 mixed predominantly nodo-paranodal, followed by subtype 3 mixed cell distribution, subtype 1 Schmidt-Lanterman clefts distribution, whereas subtype 2 purely nodo-paranodal types were only present in one cat (6). Application of that scheme in this investigation revealed subtype 3 as the most common, followed by 1, 4, and 2 possibly reflecting a homogeneous density of antigenic triggering proteins along nerve fiber.

Hierarchical cluster analysis, applied in our study, sorted cases into three clusters based on histopathologic similarities. About 43.9% of affected cats grouped in cluster 2 making demyelination and Schwann cell pathology one of the main features of this condition besides inflammation. Demyelination is frequently mentioned also in previous reports (3, 6, 8, 17), and Bensfield et al. (15) report this feature in 11/17 Bengal

cats, where peripheral nerves were available and pathologically affected. Wallerian degeneration characterizing cluster 3 was detected in 15% of our cases, and similarly, it has been rarely described in previous studies (3, 6, 7, 15). Cluster 1 with 41.1% of cats showed inflammatory changes in peripheral nerves only.

Histologic changes in our study are comparable to the human diseases GBS and CIDP, where inflammatory infiltrates in peripheral nerves and nerve roots, demyelination, and signs indicative of Wallerian degeneration can be found (29). Perivascular inflammatory infiltration can also be seen as additional features in few cases (29). Diagnosis of CIDP and GBS is based on clinical findings including muscle weakness, paresthesia, and reduced or absent tendon reflexes, electrophysiological examination, and CSF showing elevated protein content (30–32). In contrast to GBS, which has an acute onset, CIDP evolves over a course of more than 8 weeks (30).

At present, there is no clear reason and/or rationale for patients grouping into one cluster instead of the other. We hypothesize that the pathomechanisms involved might be different, and that epitopes differ in topography along the axon-Schwann cell unit. As seen in human CIDP and GBS, multiple forms are described and characterized by clinical, serologic, and electrodiagnostic findings (30–33). Further studies are needed to elucidate and further characterize our observations.

Association of these clusters with signalment and course of the disease could not be identified. Though not statistically significant, recovery showed minor differences among clusters as cluster 1 had a tendency to a better outcome (Figure 4). Demyelination, nerve fiber loss, and Wallerian degeneration represent structural damage of the axon-Schwann cell unit requiring prolonged timespan to regenerate, and if regeneration is unsuccessful, residual deficits persist. In this vein, the absence of remyelination in semithin sections of the nerves was significantly correlated with a higher probability of recovery ($p = 0.006$). Remyelination [histologically seen as hypomyelinated nerve fibers (34)] follows segmental loss of Schwann cells and requires different signaling pathways, transcriptional regulators, and activation of epigenetic mechanisms (35, 36).

Mild fiber loss in intramuscular nerve branches was also associated with recovery ($p = 0.045$). Distally accentuated IMPN might have their target epitopes on the terminal portion of peripheral nerves close to the end organ. In this scenario, re-establishment of connectivity with the skeletal muscle benefit from (1) integrity of the perineurial sheaths, (2) less time required to fill a short gap, and (3) stimulation by trophic factors produced by the effector organs (37, 38). In line with these findings, fiber-invasive infiltrates in semithin sections were positively correlated with recovery ($p = 0.022$), and this might partly reflect the tendency to higher recovery seen in cluster 1.

In summary, our study shows three different clusters of IMPN based on histologic evaluation of nerve and muscle biopsies, characterized by inflammatory, demyelinating, and axonal changes. Age, gender distribution, and predominance of demyelinating features parallel findings of juvenile forms of CIDP.

Even when medication was already started before biopsies collection, diagnostic features of IMPN were still retained. Purely

inflammatory changes are associated with a good prognosis, whereas chronic remodeling of the myelin sheath, as seen with remyelination, was negatively correlated with recovery.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The original contributions presented in the study are included in the article/supplementary material, further inquiries can be directed to the corresponding author/s.

ETHICS STATEMENT

The animal study was reviewed and approved by Ethikkommission der Tierärztlichen Fakultät Ludwig-Maximilians-Universität München. Written informed consent

was obtained from the owners for the participation of their animals in this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

MR and NK designed, coordinated the study, and wrote the manuscript. NK, MR, and KM provided the data. AF, FW, MR, and KM designed the questionnaire. All authors read and approved the final manuscript.

ACKNOWLEDGMENTS

We greatly acknowledge the histological processing by Sabine Renner, Karin Stingl, Heidrun Schoel, and Claudia Mair.

REFERENCES

- Granger N, Stalin CE, Brown TB, Jeffery ND. Idiopathic polyradiculoneuropathy in a Bengal cat: electrophysiological findings and 1 year follow-up. *J Feline Med Surg.* (2008) 10:603–7. doi: 10.1016/j.jfms.2008.03.008
- Jeandel A, Matiasek K, Blot S. Acute idiopathic polyneuritis with spontaneous remission in an Abyssinian cat. *Can Vet J.* (2015) 56:1279–82.
- Gerritsen RJ, van Nes JJ, van Niel MH, van den Ingh TS, Wijnberg ID. Acute idiopathic polyneuropathy in nine cats. *Vet Q.* (1996) 18:63–5. doi: 10.1080/01652176.1996.9694618
- Chrisman CL. Polyneuropathies of cats. *J Small Anim Pract.* (2000) 41:384–9. doi: 10.1111/j.1748-5827.2000.tb03228.x
- Cavana P, Sammartano F, Capucchio MT, Catalano D, Valazza A, Farca AM. Peripheral neuropathy in a cat with renal lymphoma. *J Feline Med Surg.* (2009) 11:869–72. doi: 10.1016/j.jfms.2009.03.010
- Gross S, Fischer A, Rosati M, Matiasek L, Corlazzoli D, Cappello R, et al. Nodoparanopathy, internodopathy and cleftopathy: target-based reclassification of Guillain-Barre-like immune-mediated polyradiculoneuropathies in dogs and cats. *Neuromuscul Disord.* (2016). doi: 10.1016/j.nmd.2016.08.015
- Gutierrez-Quintana R, Cuesta-Garcia N, Wessmann A, Johnston P, Penderis J. Acute motor and sensory polyganglioradiculoneuritis in a cat: clinical and histopathological findings. *J Feline Med Surg.* (2015) 17:191–4. doi: 10.1177/1098612X14532090
- Henke D, Vandeveld M, Oevermann A. Polyganglioradiculoneuritis in a young cat: clinical and histopathological findings. *J Small Anim Pract.* (2009) 50:246–50. doi: 10.1111/j.1748-5827.2009.00703.x
- Wolff A. Neuropathy associated with transient diabetes mellitus in 2 cats. *Mod Vet Pract.* (1984) 65:726.
- Kramek BA, Moise NS, Cooper B, Raffe MR. Neuropathy associated with diabetes mellitus in the cat. *J Am Vet Med Assoc.* (1984) 184:42–5.
- Jaggy A, Oliver JE. Chlorpyrifos toxicosis in two cats. *J Vet Intern Med.* (1990) 4:135–9. doi: 10.1111/j.1939-1676.1990.tb00885.x
- Post EJ, McLeod JG. Acrylamide autonomic neuropathy in the cat. Part 1. Neurophysiological and histological studies. *J Neurol Sci.* (1977) 33:353–74. doi: 10.1016/0022-510X(77)90133-2
- Kennedy P, Cavanagh JB. Sensory neuropathy produced in the cat with thallos acetate. *Acta Neuropathol.* (1977) 39:81–8. doi: 10.1007/BF00690389
- Cho ES, Lowndes HE, Goldstein BD. Neurotoxicology of vincristine in the cat. Morphological study. *Arch Toxicol.* (1983) 52:83–90. doi: 10.1007/BF00354768
- Bensfield AC, Evans J, Pesayco JP, Mizisin AP, Shelton GD. Recurrent demyelination and remyelination in 37 young Bengal cats with polyneuropathy. *J Vet Intern Med.* (2011) 25:882–9. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.0740.x
- Crawford KC, Dreger DL, Shelton GD, Ekenstedt KJ, Lewis MJ. Juvenile-onset motor polyneuropathy in Siberian cats. *J Vet Intern Med.* (2020) 34:2595–604. doi: 10.1111/jvim.15963
- Flecknell PA, Lucke VM. Chronic relapsing polyradiculoneuritis in a cat. *Acta Neuropathol.* (1978) 41:81–4. doi: 10.1007/BF00689561
- Volk HA, Shihab N, Matiasek K. Neuromuscular disorders in the cat: clinical approach to weakness. *J Feline Med Surg.* (2011) 13:837–49. doi: 10.1016/j.jfms.2011.09.005
- Aleman M, Dickinson PJ, Williams DC, Sturges BK, LeCouteur RA, Vernau KM, et al. Electrophysiologic confirmation of heterogenous motor polyneuropathy in young cats. *J Vet Intern Med.* (2014) 28:1789–98. doi: 10.1111/jvim.12439
- LeCouteur RA. Update on feline neuromuscular diseases. *J Feline Med Surg.* (2016) 5:109–15. doi: 10.1016/S1098-612X(02)00125-0
- Esposito S, Longo MR. Guillain-Barre syndrome. *Autoimmun Rev.* (2017) 16:96–101. doi: 10.1016/j.autrev.2016.09.022
- Platt SR, Olby NJ. *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology.* Dundas: British Small Animal Veterinary Association (2013).
- Mayer M. *missRanger: Fast Imputation of Missing Values.* R package version 2.1.3. (2021). Available online at: <https://CRAN.R-project.org/package=missRanger>
- Wright MN, Ziegler A. Ranger: a fast implementation of random forests for high dimensional data in C++ and R. *J. Stat. Softw.* (2017) 77:1–17. doi: 10.18637/jss.v077.i01
- Stekhoven DJ, Bühlmann P. MissForest—non-parametric missing value imputation for mixed-type data. *Bioinformatics.* (2011) 28:112–8. doi: 10.1093/bioinformatics/btr597
- van Buuren S, Groothuis-Oudshoorn K. Mice: multivariate imputation by chained equations in R. *J. Stat. Softw.* (2011) 45:1–67. doi: 10.18637/jss.v045.i03
- Dohoo IR, Ducrot C, Fourichon C, Donald A, Hurnik D. An overview of techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies. *Prev Vet Med.* (1997) 29:221–39. doi: 10.1016/S0167-5877(96)01074-4
- van Renen J, Fischer A, Kolb N, Wielaender F, Zablotski Y, Nessler J, et al. Clinical course and diagnostic findings of biopsy controlled presumed immune-mediated polyneuropathy in 70 European cats. *Front Vet Sci.* (2022) 9:875657. doi: 10.3389/fvets.2022.875657
- Ubogu EE. Inflammatory neuropathies: pathology, molecular markers and targets for specific therapeutic intervention. *Acta Neuropathol.* (2015) 130:445–68. doi: 10.1007/s00401-015-1466-4
- Eldar AH, Chapman J. Guillain Barre syndrome and other immune mediated neuropathies: diagnosis and classification. *Autoimmun Rev.* (2014) 13:525–30. doi: 10.1016/j.autrev.2014.01.033

31. Leonhard SE, Mandarakas MR, Gondim FAA, Bateman K, Ferreira MLB, Cornblath DR, et al. Diagnosis and management of Guillain-Barre syndrome in ten steps. *Nat Rev Neurol.* (2019) 15:671–83. doi: 10.1038/s41582-019-0250-9
32. Lehmann HC, Burke D, Kuwabara S. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: update on diagnosis, immunopathogenesis and treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* (2019) 90:981–7. doi: 10.1136/jnnp-2019-320314
33. Goodfellow JA, Willison HJ. Antiganglioside, antiganglioside-complex, and antiglycolipid-complex antibodies in immune-mediated neuropathies. *Curr Opin Neurol.* (2016) 29:572–80. doi: 10.1097/WCO.0000000000000361
34. Tomikawa E, Mutsuga M, Hara K, Kaneko C, Togashi Y, Miyamoto Y. Time course of axon and myelin degeneration in peripheral nerves in experimental autoimmune neuritis rats. *Toxicol Pathol.* (2019) 47:542–52. doi: 10.1177/0192623319838993
35. Kim HA, Mindos T, Parkinson DB. Plastic fantastic: Schwann cells and repair of the peripheral nervous system. *Stem Cells Transl Med.* (2013) 2:553–7. doi: 10.5966/sctm.2013-0011
36. Nocera G, Jacob C. Mechanisms of Schwann cell plasticity involved in peripheral nerve repair after injury. *Cell Mol Life Sci.* (2020) 77:3977–89. doi: 10.1007/s00018-020-03516-9
37. Lee SK, Wolfe SW. Peripheral nerve injury and repair. *J Am Acad Orthop Surg.* (2000) 8:243–52. doi: 10.5435/00124635-200007000-00005
38. Chevrel G, Hohlfeld R, Sendtner M. The role of neurotrophins in muscle under physiological and pathological conditions. *Muscle Nerve.* (2006) 33:462–76. doi: 10.1002/mus.20444

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2022 Kolb, Matiaszek, van Renen, Fischer, Zablotzki, Wieländer, Nessler, Tipold, Cappello, Flegel, Loderstedt, Dietzel, Gnirs, Rentmeister, Rupp, von Klopmann, Steffen, Jurina, Del Vecchio, Deutschland, König, Gandini, Harcourt-Brown, Kornberg, Bianchi, Gagliardo, Menchetti, Schenk, Tabanez and Rosati. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

IV. DISKUSSION

Die vorliegende Publikation stellt die bisher größte untersuchte Katzenpopulation mit der histopathologisch gestellten Diagnose IMPN dar. Ziel der Studie war es, mithilfe der histopathologischen Untersuchung peripherer Nerven- und Muskelbiopate Korrelationen zur klinischen Präsentation anhand verschiedener morphologisch unterscheidbarer Schädigungsmuster zu untersuchen (17).

In der statistischen Auswertung haben die nachgewiesene De-/Remyelinisierung und axonale Degeneration unterschiedliche Cluster gezeigt. Diese Cluster, sowie einzelne morphologische Parameter, wurden statistisch hinsichtlich einer Korrelation mit dem klinischen Outcome und dem Verlauf der Erkrankung analysiert (17).

IMPN der Katze – eine Rasse-assoziierte Krankheit?

4.1. Epidemiologie und Signalement

In der vorliegenden Studie wurde die bisher größte Population europäischer Katzen mit IMPN aus 6 verschiedenen europäischen Ländern beschrieben, wobei die meisten Tiere in Deutschland, gefolgt vom Vereinigten Königreich Großbritannien und Nordirland, Italien, Frankreich, der Schweiz und einem einzelnen Tier in Estland diagnostiziert wurden (17). Zusammen mit vorherigen Studien, welche Fälle aus den USA (3, 15), Australien (3), dem Vereinigten Königreich Großbritannien und Nordirland (3, 5, 8, 49, 52), den Niederlanden (6), Schweden (3), Frankreich (50), Italien (49), Belgien (49), Deutschland (49) und der Schweiz (2, 49) beschreiben, lässt sich auf eine weltweit in westlichen Ländern vorkommende Erkrankung schließen. Ob die feline IMPN ebenfalls im osteuropäischen, asiatischen, lateinamerikanischen und afrikanischen Raum vorkommt und diagnostiziert wird, bleibt zu diesem Zeitpunkt unklar und ist eine Fragestellung zukünftiger Studien. Beim Menschen sind regionale Unterschiede hinsichtlich der Häufigkeit verschiedener Varianten des GBS beschrieben (59, 60). Beispielsweise ist die AIDP die häufigste Variante in Europa und Nordamerika, wohingegen in Asien axonale Varianten dominieren (59). Ob sich derartige räumlich begründbare Unterschiede auch bei den unterschiedlichen, in der vorliegenden Studie definierten Subformen finden lassen (17), ist ebenfalls Gegenstand künftiger Forschung.

Hinsichtlich des Signalements fand sich bei der vorliegenden Studie eine männliche Prädominanz, die einen Vergleichspunkt zu den humanen IMPN GBS und der CIDP bietet, und ebenfalls in anderen Studien zu Katzen beschrieben sind (1, 3, 4, 17, 49, 59, 72). Die Gründe hierfür sind bisher ungeklärt.

Sowohl in dieser als auch in mehreren anderen Studien wird die IMPN vorwiegend bei jungen Tieren beschrieben (3, 4, 17, 18, 49), wobei auch ältere Tiere über alle drei Cluster verteilt gefunden wurden (17). Beim humanen GBS und CIDP sind ebenfalls Varianten beschrieben, die speziell Kinder betreffen, wobei die Inzidenz des GBS mit dem Alter ansteigt und selten Kinder unter zwei Jahren betrifft (59) und das Durchschnittsalter der CIDP PatientInnen bei 48 Jahren liegt (1). Weshalb die IMPN bei Katzen vorwiegend in jüngerem Alter auftritt und die Inzidenz mit dem Alter im Gegensatz zum Menschen abnimmt, bleibt ebenfalls unklar.

Entgegen mehrerer bisheriger Studien, welche die IMPN vorwiegend bei bestimmten Katzenrassen berichtete (3, 4, 15), sind in der vorliegenden Studie zahlreiche verschiedene Rassen von Katzen betroffen, was eine Assoziation zu bestimmten Rassen unwahrscheinlich macht (17), wobei weit verbreitete prädisponierende genetische Variationen nicht ausgeschlossen werden können. Darüber hinaus konnte bei den verschiedenen Clustern keine Prädisposition bestimmter Rassen statistisch belegt werden (17). Bei Hunden sind sowohl verschiedene Rassen als auch Mischlinge von der IMPN betroffen (4). In einer Studie wurde jedoch vorwiegend von großrahmigen Rassen berichtet (4) und in einer weiteren Studie aus Großbritannien beschreibt Jack Russell am Terrier and West Highland White Terrier ein signifikant höheres Risiko diese Erkrankung zu entwickeln (93).

4.2. Subformen und Vergleichbarkeit

Die erste Hypothese der vorliegenden Studie besagt, dass die Erkrankung in verschiedene histologische Subtypen unterteilt werden kann. Dies konnte mithilfe der Clusteranalyse statistisch belegt werden. Die Cluster umfassen ein rein entzündliches Cluster, ein zusätzlich von De-/Remyelinisierung geprägtes Cluster, ein Cluster mit axonalem Schädigungsmuster zusätzlich zur entzündlichen Komponente und ein Cluster von Kontrolltieren. Die meisten Tiere waren dabei vom rein entzündlichen oder zusätzlich demyelinisierenden Nerven-Typ betroffen (17). In einer anderen Studie von Gross et al. über die feline und kanine IMPN wurden bereits verschiedene

histologische Subtypen anhand einer morphologischen Analyse bestimmt (4). Die Schemata unterscheiden sich einerseits in der Methodik, andererseits in der Einteilung. Das Schema von Gross et al. befasst sich vornehmlich mit unterschiedlichen Zielstrukturen von entzündlichen Infiltraten entlang des peripheren Nervens (4), die Clusteranalyse gruppierte statistisch unterschiedliche Schädigungsmuster wie entzündliche, de-/remyelinisierende und axonale Merkmale (17). Die Subtypen nach Gross et al. wurden ebenfalls in der vorliegenden Studie analysiert, wobei eine andere Prädominanz des Subtyps identifiziert werden konnte. Am häufigsten trat in der vorliegenden Population der gemischte Subtyp auf. Gleichzeitig fanden sich auch Tiere mit dem gemischten Subtyp mit gleichzeitiger Betonung der Veränderungen auf den nodo-paranodalen Bereich oder die Schmidt-Lanterman Kerben wie bereits von Gross et al. beschrieben (4, 17). Im Vergleich dazu ist bei Hunden in der genannten Studie am häufigsten der Subtyp 2 aufgetreten, welcher auf den nodo-paranodalen Bereich beschränkt ist, gefolgt vom auf die Schmidt-Lanterman-Kerben gerichteten Subtyp 1 und dem diffusen Typ 3, Subtyp 4 wurde nicht identifiziert. Die verschiedenen Subtypen sowohl innerhalb einer Spezies als auch zwischen den Spezies könnten auf unterschiedliche immunologische Angriffspunkte am Nerven im Vergleich der beiden Spezies hindeuten. Gross et al. weisen hierbei speziell auf den Subtyp 2 hin, welcher dem humanen AMAN Syndrom ähnelt (4). Im Rahmen dieser Variante des GBS beim Menschen konnte der Pathomechanismus der molekularen Mimikry in Assoziation mit einer *C. jejuni* Infektion gezeigt werden (1). Bei Hunden konnte ein erhöhtes Risiko an IMPN zu erkranken bereits mit dem Verfüttern von rohem Hühnerfleisch in Verbindung gebracht werden, welche möglicherweise auf eine Infektion mit *Campylobacter spp.* zurückzuführen ist (53). Gleichartige Untersuchungen von Kotproben wie in der Studie von Martinez-Anton et al. (53) wären auch bei Katzen ein interessanter zukünftiger Forschungsansatz.

Die in der vorliegenden Studie charakterisierten Cluster (17) sind unter rein morphologischen Gesichtspunkten sowohl zur kaninen IMPN (4, 13) als auch mit der humanen GBS und der CIDP vergleichbar (17), wobei es beim Menschen vergleichsweise wenig Erkenntnisse aus Nervenbiopsaten gibt, da diese für die Standarddiagnostik beim Menschen nicht entnommen worden sind (1). Beim Hund sind im peripheren Nerven faserinvasive lymphohistiozytäre Infiltrate, dysmorphe paranodale Areale, ein Rückzug des Myelins im paranodalen Bereich, unregelmäßige

Abstände zwischen den Ranvier-Schnürringen, Hypo- und Demyelinisierung sowie axonale Degeneration beschrieben (4, 13). Bei der AIDP des Menschen finden sich endoneuriale mononukleäre Zellinfiltrate unter Beteiligung von Makrophagen, T Zellen und seltener B Zellen in den Nervenwurzeln und peripheren Nerven mit Makrophagen-mediierter Demyelinisierung. Ein sekundärer Untergang von Axonen mit Myelin ovoids oder Debris können vorkommen. Zusätzlich kann ein subperineurales oder endoneurales Ödem im Rahmen des Entzündungsprozesses auftreten. Auch Infiltrate um endo- und epineuriale Gefäße wurden beschrieben (94). Bei der AMAN finden sich Wallersche Degeneration der ventralen Nervenwurzeln und motorischen Fasern mit proximaler Betonung, im Fall der sensorischen Variante AMSAN ebenfalls unter Berücksichtigung der sensorischen Fasern (95). Bei der CIDP sind endoneuriale mononukleäre Zellinfiltrate im peripheren Nerven und der Nervenwurzel beschrieben, wobei diese eher mit Makrophagen einhergehen, und eine Makrophagen-medierte Demyelinisierung. Die Entzündungszellen können sich auch vermehrt um die Gefäße anordnen. Bei prominenter Demyelinisierung können die Infiltrate auch fehlen, Remyelinisierung kann vorkommen. Bei langanhaltenden Krankheitsverläufen können Onion-bulbs gesehen werden. Ein sekundärer axonaler Schaden mit Myelin ovoids oder Debris oder eine reduzierte Anzahl Axone kann genauso wie ein endoneuriales Ödem ebenfalls auftreten (94). Aufgrund der Überschneidungen von histologischen Charakteristika bei den Erkrankungen des Menschen fällt eine rein morphologische Zuordnung der gefundenen Cluster zu einzelnen Subtypen an humanen IMPN schwer. Allerdings wurden bei mehreren Tieren Zeichen für Remyelinisierung, Onion-bulbs und axonale Schädigung beobachtet (17), was für chronische Verläufe wie bei der CIDP sprechen könnte. Für eine genauere Zuordnung zu der CIDP oder einzelnen Subtypen des müsste in der Auswertung einzelner Tiere der klinische Verlauf zusammen mit dem Auffinden von Autoantikörpern analysiert werden, um genauere Vergleiche zum Menschen ziehen zu können und möglicherweise weitere Erkenntnisse zur humanen IMPN erhalten zu können. Das primäre Ziel der vorliegenden Studie war eine genauere Charakterisierung der feline Erkrankung, wobei im Anschluss Rückschlüsse zur humanen IMPN gezogen wurden und somit die Hypothesen nicht auf einen komparativen Ansatz zugeschnitten waren.

4.3. Klinische Präsentation und diagnostische Absicherung

Klinisch traten bei Katzen der vorliegenden Studie in beinahe allen Fällen Schwäche auf zusammen mit Tetraparese, reduzierten spinalen Reflexen und bei einigen Tieren auch Defiziten der Gehirnnerven, spinale Schmerzen/Hyperästhesie und Problemen beim Kot-/Harnabsatz (18). Dieser Befund deckt sich in weiten Teilen mit der Symptomatik bei humanen und kaninen IMPN (1, 4, 10, 13, 59, 60). Ein Einbezug der Hirnnerven ist beim Menschen nicht nur beim Miller Fisher Syndrom beschrieben, sondern auch bei rein motorischen und sensorimotorischen Varianten des GBS und seltener auch bei der CIDP (1, 66, 74). Beim MFS startet die Schwäche in der äußeren Augenmuskulatur und Ataxie kann auftreten. Davon abgesehen ist das Symptom der Ataxie auch bei der sensorimotorischen Variante des GBS beschrieben (66). Spezifisch zur Diagnose des MFS sind IgG Antikörper gegen das Gangliosid GQ1b (1, 66), bislang der einzige Autoantikörper mit direkter diagnostischer Aussage (1), welcher bei Katzen bisher nicht mit der Erkrankung in Verbindung gebracht werden konnte.

Die Elektrodiagnostik zeigte bei Katzen dieser Studie am häufigsten generalisierte symmetrische spontane Muskelaktivitäten, eine herabgesetzte NLG motorischer Nerven, abnorme F-Wellen Ableitungen, gefolgt von temporaler Dispersion, wobei die sensorischen Tests ohne besonderen Befund ausfielen (18). Vergleichbare Auffälligkeiten finden sich ebenfalls bei kaninen Patienten (10, 12, 18, 54, 93). Spontanaktivitäten mit Fibrillationen und positive scharfen Wellen im Muskel sprechen dabei für eine Denervation (7), die histologisch am Muskel in Form einer Denervationsatrophie bei einer Mehrzahl der histologisch untersuchten Fälle festgestellt werden konnte (17). Diese Potentiale können jedoch ausbleiben, sollte sich die Erkrankung nur auf die Myelinscheiden oder Schwannzellen konzentrieren und das Axon unbeschädigt bleiben (7), was erklären könnte, weshalb die Spontanaktivität nicht bei allen Tieren klinisch festgestellt werden konnte (18), da Cluster 1 und 2 histologisch nicht von axonalen Schäden betroffen waren (17). Bei der elektrophysiologischen Untersuchung der Nerven spricht die herabgesetzte NLG für eine veränderte Integrität der Nervenfasern. Abnorme F-Wellen deuten auf eine Schädigung der ventralen Nervenwurzeln hin (31). Bei Hunden ist ein Einbezug der Nervenwurzeln häufig beschrieben im Vergleich zur Katze (10, 12, 14, 53, 54, 93, 96). Die temporale Dispersion weist auf eine Demyelinisierung hin (51), welche sowohl klinisch als auch histologisch in der vorliegenden Population auftrat (17, 18). Bei einer

Katze allerdings konnten keine elektrodiagnostischen Auffälligkeiten festgestellt werden, obwohl in der histopathologischen Untersuchung eine Denervationsatrophie gesehen wurde. Hier wurde die NLG an nur einem Nerven erfasst, was die Ergebnisse erklären könnte (18). Die elektrophysiologische Untersuchung zeigte bei Katzen der vorliegenden Studie ebenfalls mit der IMPN des Menschen, besonders der CIDP, Parallelen (18), wobei die Befunde der Nervenableitung beim Menschen vom IMPN Typ abhängen, also bei AIDP und der CIDP im Gegensatz zur AMAN/AMSAN Merkmale von Demyelinisierung auftreten (1). In der elektrophysiologischen Untersuchung beim Menschen sind jedoch zahlreiche Fälle beschrieben, bei denen sich der Subtyp des GBS in Verlaufsuntersuchungen geändert hat, insbesondere von demyelinisierenden oder uneindeutigen Fällen hin zu axonalen Formen. Daher wird die elektrophysiologische Erstuntersuchung von Uncini et al. lediglich als hinweisend auf einen bestimmten Subtyp beschrieben (97). Häufig liegt zwischen dem Auftreten von Symptomen und der Überweisung in eine neurologisch spezialisierte veterinärmedizinische Praxis oder Klinik mit der Möglichkeit zur elektrophysiologischen Untersuchung eine größere Zeitspanne (nicht publizierte Erfahrungswerte), welche sich auch in der Zeitspanne zwischen dem Auftreten der klinischen Symptome und der Entnahme der Biopsate in dieser Studie widerspiegelt, die median bei einem Monat lag, jedoch bis zu 28 Monate betragen konnte (18). Aufgrund dieser Punkte ist eine Biopsie in der Veterinärmedizin zur raschen Absicherung und Eingruppierung der Diagnose Mittel der Wahl (4).

Bei der überwiegenden Anzahl der Katzen dieser Studie trat die Erkrankung schleichend auf (69,1%), bei den restlichen Tieren setzte die klinische Symptomatik akut ein. Daraufhin zeigten 74,3% der Tiere eine klinisch progressive Phase, wobei nach 14 Tagen ein Plateau erreicht wurde (18). Dies könnte auf unterschiedliche, zugrundeliegende pathobiologische Prozesse hindeuten. Eine andere Studie berichtet bei Katzen von einem überwiegend akuten Auftreten der Symptome (4). Bei Hunden mit IMPN tritt die Erkrankung vorwiegend akut auf (4), wobei eine progressive Phase von 5-10 Tagen beschrieben ist (13). Bei Katzen ist die Bewertung von Bewegungsauffälligkeiten jedoch im Vergleich zum Hund erschwert, da diese körperlich nicht gleichwertig aktiv sind (18). Die Unterscheidung beim Menschen zwischen dem GBS und der CIDP ergibt sich vornehmlich aus dem Verlauf der Erkrankung. Die klassische Form des GBS tritt akut auf und erreicht nach zwei bis vier Wochen ein Plateau (60), wohingegen sich die CIDP länger als acht Wochen

progressiv entwickelt (1, 72). Somit spiegelt nach den vorliegenden Daten ein Teil der Katzen einen GBS-artigen Verlauf wider mit einem akuten Auftreten der Symptome bei einem kleineren Anteil der Tiere und einer Plateauphase nach 14 Tagen bei der überwiegenden Anzahl an felines Patienten. Ein anderer Teil der Tiere mit einem schleichenden Auftreten der Erkrankung und einer längeren Zeitspanne bis zum Erreichen eines Plateaus könnte eine CIDP-artige Erkrankung darstellen (18). Die zweite Hypothese dieser Studie war, dass die histologischen Subtypen verschiedenen klinischen Verläufen bzw. Stadien der Erkrankung zugeordnet werden können. In der statistischen Analyse konnte jedoch keine Korrelation zwischen einem akuten oder chronischen Verlauf und den einzelnen Clustergruppen statistisch belegt werden (17).

Die histopathologische Diagnose stützte sich bei 105/107 Tieren auf die Nervenbiopsie und bei zwei Tieren allein auf die intramuskulären Nervenäste, wobei bei 67/79 Tieren in beiden Lokalisationen die entsprechenden Veränderungen festgestellt wurden. Eine Muskelbiopsie allein ist somit nicht in allen Fällen ausreichend, um die Diagnose der IMPN stellen zu können, da auch nicht in allen Muskelbiopsaten intramuskuläre Nervenäste vorhanden waren (17) und diese zudem keine longitudinale Bewertung erlauben. Die Denervationsatrophie des Skelettmuskels allein bietet keine Absicherung der IMPN Diagnose. Auch andere Neuro- und Neuronopathien sowie traumatische Ereignisse führen zu diesem histologischen Bild (27). Es empfiehlt sich zur Sicherstellung der Diagnose, eine Biopsie aus beiden Lokalisationen zu entnehmen (17), auch hinsichtlich möglicher Differentialdiagnosen bei uneindeutigem klinischen Bild.

4.4. Ursächliche Assoziationen

Die IMPN bei Katzen tritt überwiegend bei jungen Tieren von unter zwei Jahren auf, was sowohl in dieser als auch in vorherigen Studien gezeigt werden konnte (3, 4, 17, 18). Bei Hunden sind unterschiedlichste Altersgruppen betroffen (4, 9, 10, 12), was einen von mehreren Aspekten darstellt, die für eine unterschiedliche Ätiopathogenese sprechen. Beim Hund konnte beispielsweise ein vorheriger Kontakt mit Waschbärenspeichel mit der Entwicklung der Erkrankung korreliert werden (13). Ebenfalls wurden infektiöse Trigger wie *C. jejuni* und *Toxoplasma gondii* sowie zeitliche Assoziationen mit gastrointestinalen oder respiratorischen Symptomen und vorangehende Impfungen berichtet (9-11, 13, 53, 96, 98). Dies ähnelt der Entstehung

des humanen GBS mit dem Pathomechanismus der molekularen Mimikry, welche bei motorischen Varianten mit einer vorherigen Infektion mit *C. jejuni* belegt werden konnte und mit der Bildung von bestimmten anti-Gangliosid Antikörpern vergesellschaftet ist (1). Zusammen mit klinischen und morphologischen Überschneidungen sowie dem Nachweis von anti-Gangliosid Antikörpern wird daher die IMPN bei Hunden als kanines Pendant zur humanen Erkrankung angesehen (4, 10-13). Bei den Katzen im klinischen Teil der Studie und anderen Studien wurde nur bei einem Bruchteil von Tieren innerhalb von sechs Wochen vor Auftreten der Symptomatik ein infektiöses Geschehen identifiziert oder eine Impfung verabreicht (3, 4, 6, 18, 49). Darunter fielen in der vorliegenden Studie neben Impfungen u.a. gastrointestinale Infektionen, Zeichen einer Infektion des oberen Respirationstraktes, eine Bisswunde und eine Infektion mit dem *felinem Leukämievirus*. In der klinischen Untersuchung wurde zusätzlich bei je einem Tier eine chronische Otitis externa, eine geringgradige Lymphadenopathie, Pyrexie und Augenausfluss festgestellt (18). In vorherigen Studien wurden respiratorische und gastrointestinale Symptome beschrieben (3, 49). Zusammenfassend macht dies einen infektiösen Trigger bei der Mehrzahl der von IMPN betroffenen Katzen unwahrscheinlich (18). Ein durch eine molekulare Mimikry ausgelöster, eher sporadisch auftretender Subtyp der IMPN oder alternativ eine zufällige Assoziation mit Infektionen oder Impfungen sind mögliche Erklärungsansätze.

Beim humanen GBS konnte in zahlreichen Studien kein signifikanter Zusammenhang zu genetischen Alterationen nachgewiesen werden, wobei familiäre Häufungen beschrieben wurden (1). Eine Ausnahme bildet eine familiäre IMPN-ähnliche Erkrankung, bei der eine Mutation im CD59 Gen den Schutz körpereigener Zellen vor der komplementvermittelten Formation des Membranangriffskomplex verhindert (1, 99). Diese Erkrankung betrifft in einer Studie Kinder zwischen einem und fünf Jahren (99). In manchen Studien wurde eine genetische Prädisposition bei feline Patienten bestimmter Rassen angenommen (3, 4, 15). Aufgrund des vorwiegend jungen Alters der von IMPN betroffener Katzen in diesen und vorherigen Studien (3, 4, 17, 18, 49), könnten Genomanalysen größerer Katzenpopulationen mögliche genetische Prädispositionen näher beleuchten. Die Berücksichtigung möglicher Verwandtschaftsverhältnisse in solchen weiterführenden Studien wäre ebenfalls interessant, da Rassekatzen auch überregional in der Zucht zum Einsatz kommen.

4.5. Therapie und Prognostik

Die Therapie der IMPN bei Hunden und Katzen unterscheidet sich vor allem im Einsatz von Kortikosteroiden. Beim Hund haben sich diese als nicht effektiv erwiesen (13, 54). Der therapeutische Ansatz bei Katzen unter Einsatz von Kortikosteroiden (2, 3, 7, 8, 15, 18) bietet einen weiteren Punkt zur Vergleichbarkeit mit der CIDP, in der diese Medikamentengruppe ebenfalls zum Einsatz kommt (1, 72, 74). In Anlehnung an die Humanmedizin (1) wurde bei Hunden in einer Studie bereits IVIG eingesetzt, wobei die Tiere eine Tendenz zeigten, sich schneller zu erholen (54). Auf diesem Hintergrund erscheint ein experimenteller Ansatz zum Nachweis des Effekts von IVIG bei feline Patienten besonders interessant, gegebenenfalls unter Berücksichtigung von Nervenbiopsaten, um eine Reduktion von Entzündungsanzeichen morphologisch belegen zu können.

Bei Katzen der vorliegenden Studie hat sich interessanterweise kein signifikanter Unterschied bei der semiquantitativen Bestimmung der Entzündungszellen bei vorbehandelten Tieren ergeben unabhängig von der verwendeten Medikamentengruppe (17). Aufgrund einer Vielzahl an Medikationsprotokollen der behandelnden TierärztInnen sowohl der an der Studie teilhabenden EinsenderInnen als auch der überweisenden Haustierarztpraxen konnten in der klinischen Partnerstudie der vorliegenden Katzenpopulation keine Aussage hinsichtlich effizienter Therapien im Hinblick auf Erholung oder Rückfälle getroffen werden (18).

Hinsichtlich der Erholung zeigt die vorliegende Studie bei Katzen vergleichbare Zahlen zum Menschen. 79,4% der Katzen, bei denen Daten zum weiteren Verlauf vorlagen, erholten sich (18). Beim Menschen sind ähnliche Werte beim GBS beschrieben mit mehr als 80% der PatientInnen, die sich innerhalb von sechs Monaten erholen. Weniger als 5% versterben während der akuten Phase und weniger als 20% behalten schwere Behinderungen zurück (70, 71). 29,7% der Katzen erholten sich innerhalb von vier Wochen, 56,8% innerhalb von ein bis vier Monaten und bei 13,5% dauerte die Erholung länger als vier Monate. 7,4% der Katzen verstarben oder wurden aufgrund der IMPN euthanasiert (18). Diese erstaunlich genaue Übereinstimmung der Werte lässt auf eine gute Vergleichbarkeit zwischen der feline und humanen Erkrankung schließen (18). Auch die meisten Hunde mit IMPN erholen sich vollständig, wobei bei einem schweren Krankheitsverlauf Spätschäden nachbleiben können. Die Dauer der Symptome ist mit Wochen bis hin zu vier bis sechs Monaten bei schwerer Erkrankung

angegeben (13). Vergleichbar dazu zeigte auch die überwiegende Anzahl Katzen in der vorliegenden Studie eine Erholung innerhalb der ersten vier Monate. Jedoch sind Rückfälle bei Katzen der vorliegenden Studie bei 35,7% der Tiere aufgetreten, teils auch mit zwei oder mehr Episoden (18). Dies deckt sich mit der bisherigen Literatur zu feline Patienten, bei denen Rückfälle häufig beschrieben wurden (3, 4, 8, 18, 52). Junge Katzen und Tiere mit einem plötzlichen Auftreten der Symptome zeigten in der vorliegenden Studie eine bessere Chance auf Erholung. Dies könnte eine Gruppe mit einer gemeinsamen Ätiologie und Immunogenese darstellen, wohingegen ältere Tiere eine sich davon unterscheidende Pathogenese widerspiegeln könnten (18).

Hinsichtlich der dritten Hypothese der vorliegenden Studie, welche besagt, dass anhand von Nerven- und Muskelbiopsaten Aussagen über die Prognose der IMPN bei Katzen getroffen werden können, konnten verschiedene morphologische Kriterien mit einer höheren Chance auf Erholung korreliert werden. Eine Tendenz für eine höhere Wahrscheinlichkeit auf Erholung konnte in Cluster 1 gesehen werden (17). Um diese Tendenz statistisch weiter untermauern zu können, sind weitere Studien notwendig. Eine mögliche Erklärung dafür, dass hier lediglich eine Tendenz beobachtet werden konnte, wäre, dass in dieser Gruppe ebenfalls ältere Tiere betroffen waren (17), die eventuell nicht mehr die Plastizität der vollständigen Nervenregeneration aufweisen wie es beim Menschen beschrieben ist. Hier wird sogar eine Rolle des Immunsystems mit der Prävalenz und der Schwere der Erkrankung diskutiert (100). Auch andere nervenschädigende Erkrankungen im Sinne einer Overlap-Neuropathie sind denkbare Erklärungsansätze bei älteren Tieren. Beispielsweise steigt das Risiko an Diabetes mellitus zu erkranken bei älteren Katzen an (101) und kann auch mit einer Neuropathie einhergehen (31, 40-42). Eine gesonderte Untersuchung von jungen und als auch älteren Tieren wäre somit ebenfalls ein Ansatzpunkt zukünftiger Forschung im Hinblick auf die Chancen einer Genesung.

4.6. Datenerfassung, Methodik, Limitationen und Ausblicke

Da das GBS des Mensch als häufigste Ursache für akute und subakute nicht-traumatische Paresen angegeben wird (59) und die Erfahrungen aus histopathologisch spezialisierten Einsendungslaboren darauf schließen lassen, dass ein hoher Prozentsatz an feline Patienten (59%) betroffen ist (4), wären weiterführende epidemiologische Studien wesentlich, um die Inzidenz bei Katzen

bestimmen zu können. In der vorliegenden Studie konnte zwar auf die bisher größte, mit IMPN histopathologisch diagnostizierte Katzenpopulation zurückgegriffen werden, gleichzeitig waren mehrere europäische Länder nicht unter den einsendenden Spezialisten vertreten oder mit einzelnen Tieren unterrepräsentiert (17, 18), was Rückschlüsse auf die regionale Verbreitung der Erkrankung einschränkt. Aufgrund möglicher regionaler Rassepräferenzen und einer unterschiedlichen Prävalenz von Infektionskrankheiten und -erregern in verschiedenen Ländern empfehlen sich international angelegte Studien dieser Art, um möglichst allgemeingültige Aussagen über mögliche Rasseprädispositionen, infektiöse Trigger und erbliche Komponenten der IMPN treffen zu können. Zahlenmäßig größere Populationen untersuchter Tiere bieten außerdem den Vorteil, dass sich die statistische Auswertung einzelner Merkmale nicht auf zahlenmäßig kleine Gruppen bezieht, wodurch statistisch signifikante Schlussfolgerungen erschwert werden.

Der histologische Teil der Studie wurde mittels eines morphologischen Auswertungsschemas für periphere Nerven- und Muskelbiopate durchgeführt mit 36 verschiedenen Parametern, von denen 33 mittels der hierarchischen Clusteranalyse untersucht wurden und verschiedene Cluster definiert werden konnten (17). Im Vergleich zu mehreren vorherigen Studien erlaubt dies eine objektivierte Gruppierung unterschiedlicher morphologischer Subtypen in Cluster. Dieses Auswertungsschema kann auch in zukünftigen Studien auch auf andere Tierarten, wie den Hund, für eine systematische Auswertung von entzündlichen, axonalen, demyelinisierenden und regenerativen Merkmalen angewendet werden.

Bei den untersuchten Katzen stützte sich die Diagnose auf Muskel- und Nervenbiopate, wobei die Proben von lebenden Tieren stammen (17). Aufgrund dessen kann anhand des Materials keine Aussage über mögliche morphologische Alterationen proximal gelegener Segmente oder des kompletten Nervenstrangs bei erkrankten Tieren getroffen werden. Jedoch empfiehlt sich eine longitudinale Beurteilung des peripheren Nervens mit entsprechender Subtypisierung der IMPN in Form von Nervenfaserspinnpräparaten, da diese eine höhere Chance auf die Detektion von ungleichmäßig verteilten Entzündungszellinfiltraten oder Schädigungen des Axons und der Myelinscheide bieten (4, 17) und die sensitivste Methode zur Unterscheidung von früher axonaler Degeneration und früher segmentaler Demyelinisierung darstellen (22).

Das gebräuchliche Tiermodell für die Erforschung humaner IMPN stellt die experimentelle autoimmune Neuritis (EAN) dar, welche mittels einer Immunisierung mit einem peripheren Nervenhomogenat, Myelin/Myelinbestandteilen oder adoptivem Transfer von autoreaktiven P2 Proteinen oder Myelin Protein P0 Peptid-spezifischen T Zell Linien bei Ratten, Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen induziert werden kann (1, 16). Die EAN spiegelt dabei bestimmte Aspekte der Pathogenese von IMPN wider, wie die Zellinfiltration in periphere Nerven, einen monophasischen klinischen Verlauf mit motorischen Defiziten und elektrophysiologische Alterationen, kann jedoch nicht exakt die individuellen Störungen darstellen (1). Die vorliegenden Nervenbiopsate von Katzen bieten daher eine Chance zum Vergleich von morphologischen Veränderungen bei spontan auftretender Erkrankung und könnten zusammen mit den klinischen Ergebnissen entsprechend den Subtypen der humanen IMPN genauer zugeordnet werden. Dies bedarf jedoch einer speziellen Auswertung jedes einzelnen Individuums, welcher in den vorliegenden beiden Studien nicht primär verfolgt wurde.

Die Untersuchung unterschiedlicher Typen an Immunzellen könnten bei der Untersuchung von Nervenbiopsien bei Hund und Katze in Korrelation mit unterschiedlichen zeitlichen Stadien der Erkrankung eine Untermauerung der bisher angenommenen allgemeinen Pathogenese der IMPN erlauben und wichtige Rückschlüsse auch im Vergleich zu humanen IMPN bieten. Insbesondere die Typisierung verschiedener T-Helferzelltypen wie Th1, Th2 und Th17 mit den zugehörigen Zytokinen und daraus abgeleiteten Aussagen zum Stadium der Erkrankung bieten einen spannenden Ansatzpunkt wie er in der Humanmedizin verfolgt wird (100).

Die Datenerhebung erfolgte über archivierte Fälle von neun aufeinander folgenden Jahren mittels histopathologischer Untersuchung von Muskel- und Nervenbiopsaten und einer Fragebogenstudie mithilfe der einsendenden Praxen und Kliniken. Aufgrund dessen liegen unterschiedliche Protokolle zur Diagnostik und Therapie vor, welche eine Limitation der Studie darstellen (17, 18).

Im Hinblick auf die weitere Forschung zur medikamentösen Therapie bei Katzen wären Placebo-kontrollierte Doppelblindstudien hinsichtlich der medikamentösen Therapie besonders wesentlich. Die im spezialisierten Histopathologielabor beobachtete relative Häufung der Erkrankung beim Zellmaterial der Einsendungen, sowie der Erkrankung von vorwiegend jungen Tieren (4), für deren Anschaffung im Fall von

reinrassigen Tieren ein nicht unerheblicher Geldwert eine Rolle spielt, unterstreicht die Notwendigkeit objektiv kontrollierbarer Diagnose -und Therapieprotokolle. Der Einsatz von IVIG, vergleichbar zu dem beim Hund, birgt hier eine Chance zur besseren Erholung der Tiere (54) und wäre besonders im Hinblick auf die gehäuften Rückfälle bei Katzen (3, 4, 8, 18, 52) relevant für die weitere Forschungsrichtung.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die immun-medierte Polyneuropathie (IMPN) stellt eine häufig diagnostizierte neuromuskuläre Erkrankung bei Katzen dar (4), von der sich die feline Patienten in vorausgehenden Studien häufig erholten, allerdings auch zahlreiche Fälle mit anhaltenden Beschwerden, wiederkehrenden Episoden und progressiven Verläufen auftraten (3, 4, 6, 8, 50-52). Bisher fehlten Studien, die prognostische Werte sowohl klinischer als auch histopathologischer Natur definierten.

Die vorliegende Studie ist die größte bisher durchgeführte, retrospektive Arbeit zu histopathologischen und klinischen Merkmalen zur IMPN bei Katzen. Die folgenden Hypothesen wurden dabei zugrunde gelegt: 1) Die IMPN kann in verschiedene histologische Subtypen unterteilt werden, 2) diese Subtypen spiegeln verschiedene klinische Verläufe/Krankheitsstadien wider und 3) morphologische Merkmale von Nerven- und Muskelbiopsaten lassen sich mit klinischen prognostische Indikatoren korrelieren (17).

Eingeschlossen wurden 107 europäische Fälle, die zur Diagnostik an Nerven- und Muskelbiopsien eingeschickt wurden, sowie 22 Kontrolltiere. In allen Fällen wurden 36 histologische Parameter bewertet, 33 davon wurden einer hierarchischen Clusteranalyse statistisch untersucht (17). Von 70 Tieren konnten von den Einsendern mittels eines Fragebogens klinische Daten gesammelt werden, die in einer Partnerstudie im Detail dargelegt sind (18). Eine multivariates Modell wurde zur Korrelation mit klinischen Daten zur Erholung von der Erkrankung durchgeführt (17).

Die eingesetzte Clusteranalyse definiert drei verschiedene Cluster von IMPN basierend auf der histologischen Auswertung von Nervenbiopsaten mittels Nervenfaserspinnpräparation und Semidünnschnitten sowie von Muskelbiopsaten mittels Gefrierschnitten und Paraffinschnitten. Die Cluster zeichnen sich mit dem gemeinsamen Merkmal der inflammatorischen Komponente aus, wobei sich Cluster 1 rein entzündlich darstellt, in Cluster 2 zusätzlich demyelinisierende und in Cluster 3 axonale Alterationen festgestellt werden konnten (17).

Unterschiedliche klinische Verläufe konnten in der Partnerstudie festgestellt werden, wobei ein Plateau im Verlauf der Erkrankung nach ca. 14 Tagen erreicht wurde, allerdings auch Fälle mit chronisch-progressivem Verlauf auftraten, die mehrere Episoden aufwiesen (18). Histopathologische Charakteristika für wiederkehrende De-/Remyelinisierung sind Onion-bulbs, die sich ebenfalls beim Nervenmaterial einiger

Tiere histologisch nachweisen ließen (17). Diese Verläufe sind klinisch und morphologisch ähnlich der humanen IMPN mit dem akut auftretenden Guillain-Barré Syndrom und der chronischen inflammatorischen demyelinisierenden Polyneuropathie (17, 18).

Die Diagnose der felines IMPN konnte auch bei bereits erfolgter Prämedikation gestellt werden, die keine signifikanten Auswirkungen auf die semiquantitativ bestimmte Anzahl der Entzündungszellen und deren Extensivität zeigten (17).

Rein entzündliche Veränderungen am peripheren Nerven zeigten eine Tendenz zu einer höheren Wahrscheinlichkeit einer Erholung, wohingegen Katzen mit chronischen Veränderungen an der Myelinscheide eine schlechtere Chance auf Erholung aufweisen (17).

VI. SUMMARY

Immune-mediated polyneuropathy (IMPN) is a frequently diagnosed neuromuscular disorders of cats (4), which was previously reported with a favorable outcome in many cases, but also ongoing disabilities, recurrent episodes, and progressive courses (3, 4, 6, 8, 50-52). So far, studies targeting prognostic values of clinical and histopathological nature were lacking.

The current study comprises the biggest cohort study concerning histopathological and clinical characteristics of IMPN in cats. The following hypotheses were claimed: 1) IMPN can be divided into different histological subtypes, 2) these subtypes correlate with different clinical courses/disease stages, and 3) morphological criteria of nerve and muscle biopsies give a prognostic value (17).

107 European cat cases sent for histological evaluation of nerve and muscle biopsies were included, as well as 22 control cases. In all cases, 36 histological parameters were evaluated, 33 of these underwent an hierarchical k-means clustering (17). For 70 cats, clinical data could be collected by a clinical survey study, which is published in detail in another article (18). A multivariate model was used to correlate histopathological data with clinical outcome (17).

The cluster analysis defines three different clusters of IMPN based on histological evaluation of nerve biopsies via nerve fiber teasing and semithin sections as well as muscle biopsies processed via cryosections and paraffin-embedding. Inflammation was the common component of all clusters, while cluster 1 was purely inflammatory, cluster 2 showed additional demyelinating features, and cluster 3 was also affected by axonal alterations (17).

Different clinical courses could be further defined in the clinical study reaching a clinical plateau after approximately 14 days, while there were also cats with a chronic progressive course and multiple episodes (18). Histopathological findings in terms of de-/remyelination are onion bulbs, which were also found in some of the cats (17). These courses are clinically in morphologically comparable to human IMPN with the acute Guillain-Barré syndrome and the chronic demyelinating inflammatory polyneuropathy (17, 18).

Diagnosis of feline IMPN could be made even when patients received a premedication, which showed no significant impact on semiquantitative numbers of inflammatory infiltrates and their extensivity, respectively (17).

Purely inflammatory changes observed on peripheral nerves showed a tendency to a higher probability of recovery, while cats with chronic myelin sheath or axonal changes had a lower probability of recovery (17).

VII. Publikationen und Beiträge auf wissenschaftlichen Tagungen

7.1. Publikationen in Journalen mit Peer-Review-Verfahren, die im Rahmen der Doktorarbeit angefertigt wurden

- **Kolb N**, Matiasek K, van Renen J, Fischer A, Zablotski Y, Wieländer F, et al. Biopsy Characteristics, Subtypes, and Prognostic Features in 107 Cases of Feline Presumed Immune-Mediated Polyneuropathy. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022;9.
- van Renen J, Fischer A, **Kolb N**, Wielaender F, Zablotski Y, Nessler J, et al. Clinical Course and Diagnostic Findings of Biopsy Controlled Presumed Immune-Mediated Polyneuropathy in 70 European Cats. *Front Vet Sci*. 2022;9:875657.
- **Kolb N**, Alf V, Cappello R, Matiasek K, Rosati M. Novel association of gluten sensitivity with immune-mediated neuromuscular syndrome in a dog. *Neuromuscul Disord*. 2022;32(11-12):903-7.
- Gross S, **Kolb N**, Rosati M, Matiasek K. Fix the problem - A practical guide to whole-mount immunohistochemistry of teased nerve fibres. *J Neurosci Methods*. 2017;289:8-22.

7.2. Präsentationen auf wissenschaftlichen Fachtagungen

7.2.1. Vortrag über Teile der vorliegenden Studie mit zitierfähigem Abstract

- **Kolb N**, Matiasek K, Van Renen J, Fischer A, Zablotski Y, Nessler J, et al. Histopathological characteristics, subtypes, and prognostic features in 107 cats with immune-mediated polyneuropathy. 65 Jahrestagung der DVG-Fachgruppe Pathologie; Online: *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*; 2022.

7.2.2. Zitierfähige Abstracts weiterer Vortrags- und Posterbeiträge

- **Kolb N**, Thibaud J, Franzmeier S, Rosati M, Matiasek K. Polyglucosan Body Neuropathy Meets Inflammatory Demyelination – A Rare Overlap Syndrome In

-
- A Cat. 65 Jahrestagung der DVG-Fachgruppe Pathologie; Online: Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere; 2022.
- **Kolb N**, Cappello R, Matiasek K, Rosati M. Neuromuscular manifestation of gluten sensitivity in a Border Terrier. 63 Jahrestagung der DVG-Fachgruppe Pathologie; Jul; Fulda, Germany: Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere; 2020.
 - **Kolb N**, Teichmann-Knorrn S, Klever J, Blutke A, Majzoub-Altweck M. Lobulär-dissezierende Hepatitis bei einem Samojuden (*Canis familiaris*). 61 Jahrestagung der DVG-Fachgruppe Pathologie; Jun 13: Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere; 2018. p. A21-A7.
 - Falkenau A, Rieger A, Lutzmann I, Erber K, Rosati M, **Kolb N**, et al. Elefantensektion: anatomische und technische Aspekte. 61 Jahrestagung der DVG-Fachgruppe Pathologie; Fulda, Germany: Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere; 2018. p. A1-A9.
 - Gross S, Rosati M, **Kolb N**, Matiasek K. An easy approach to whole mount immunohistochemistry (WMI) of teased nerve fibres II : fibre permeabilisation. 60 Jahrestagung der Fachgruppe Pathologie; Fulda, Germany: Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere; 2017.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Kieseier BC, Mathey EK, Sommer C, Hartung HP. Immune-mediated neuropathies. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1):31.
2. Henke D, Vandeveld M, Oevermann A. Polyganglioradiculoneuritis in a young cat: clinical and histopathological findings. *J Small Anim Pract*. 2009;50(5):246-50.
3. Bensfield AC, Evans J, Pesayco JP, Mizisin AP, Shelton GD. Recurrent demyelination and remyelination in 37 young Bengal cats with polyneuropathy. *J Vet Intern Med*. 2011;25(4):882-9.
4. Gross S, Fischer A, Rosati M, Matiasek L, Corlazzoli D, Cappello R, et al. Nodoparanodopathy, internodopathy and cleftopathy: Target-based reclassification of Guillain-Barre-like immune-mediated polyradiculoneuropathies in dogs and cats. *Neuromuscul Disord*. 2016.
5. Gutierrez-Quintana R, Cuesta-Garcia N, Wessmann A, Johnston P, Penderis J. Acute motor and sensory polyganglioradiculoneuritis in a cat: clinical and histopathological findings. *J Feline Med Surg*. 2015;17(2):191-4.
6. Gerritsen RJ, van Nes JJ, van Niel MH, van den Ingh TS, Wijnberg ID. Acute idiopathic polyneuropathy in nine cats. *Vet Q*. 1996;18(2):63-5.
7. Chrisman CL. Polyneuropathies of cats. *J Small Anim Pract*. 2000;41(9):384-9.
8. Granger N, Stalin CE, Brown TB, Jeffery ND. Idiopathic polyradiculoneuropathy in a Bengal cat: electrophysiological findings and 1 year follow-up. *J Feline Med Surg*. 2008;10(6):603-7.
9. Halstead SK, Gourlay DS, Penderis J, Bianchi E, Dondi M, Wessmann A, et al. Serum anti-GM2 and anti-GalNAc-GD1a IgG antibodies are biomarkers for acute canine polyradiculoneuritis. *J Small Anim Pract*. 2022;63(2):104-12.
10. Rupp A, Galban-Horcajo F, Bianchi E, Dondi M, Penderis J, Cappell J, et al. Anti-GM2 ganglioside antibodies are a biomarker for acute canine polyradiculoneuritis. *J Peripher Nerv Syst*. 2013;18(1):75-88.
11. Holt N, Murray M, Cuddon PA, Lappin MR. Seroprevalence of various infectious agents in dogs with suspected acute canine polyradiculoneuritis. *J Vet Intern Med*. 2011;25(2):261-6.

12. Cummings JF, de Lahunta A, Holmes DF, Schultz RD. Coonhound paralysis. Further clinical studies and electron microscopic observations. *Acta Neuropathol.* 1982;56(3):167-78.
13. Cuddon PA. Acquired canine peripheral neuropathies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2002;32(1):207-49.
14. Cuddon PA. Electrophysiologic assessment of acute polyradiculoneuropathy in dogs: comparison with Guillain-Barre syndrome in people. *J Vet Intern Med.* 1998;12(4):294-303.
15. Crawford KC, Dreger DL, Shelton GD, Ekenstedt KJ, Lewis MJ. Juvenile-onset motor polyneuropathy in Siberian cats. *J Vet Intern Med.* 2020;34(6):2595-604.
16. Soliven B. Animal models of autoimmune neuropathy. *ILAR J.* 2014;54(3):282-90.
17. Kolb N, Matiasek K, van Renen J, Fischer A, Zablotzki Y, Wieländer F, et al. Biopsy Characteristics, Subtypes, and Prognostic Features in 107 Cases of Feline Presumed Immune-Mediated Polyneuropathy. *Frontiers in Veterinary Science.* 2022;9.
18. van Renen J, Fischer A, Kolb N, Wielaender F, Zablotzki Y, Nessler J, et al. Clinical Course and Diagnostic Findings of Biopsy Controlled Presumed Immune-Mediated Polyneuropathy in 70 European Cats. *Front Vet Sci.* 2022;9:875657.
19. Lee SK, Wolfe SW. Peripheral nerve injury and repair. *J Am Acad Orthop Surg.* 2000;8(4):243-52.
20. Sternberg SS. *Histology for pathologists.* New York: Raven; 1992.
21. Lanigan LG, Russell DS, Woolard KD, Pardo ID, Godfrey V, Jortner BS, et al. Comparative Pathology of the Peripheral Nervous System. *Vet Pathol.* 2021;58(1):10-33.
22. Bolon B, Pardo ID, Krinke GJ. The Science and Art of Nerve Fiber Teasing for Myelinated Nerves: Methodology and Interpretation. *Toxicol Pathol.* 2019:192623319850773.
23. Wieczorek LA. *Nervenzupfpräparation (nerve fiber teasing) in der Diagnostik peripherer Neuropathien beim Tier.* München: Ludwig-Maximilians-Universität; 2002.
24. Cantile C, Youssef S. 4 - Nervous System. *Jubb, Kennedy & Palmer's pathology of domestic animals.* 1. 6 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016. p. 250-406.

25. Qu WR, Zhu Z, Liu J, Song DB, Tian H, Chen BP, et al. Interaction between Schwann cells and other cells during repair of peripheral nerve injury. *Neural Regen Res.* 2021;16(1):93-8.
26. Tracy JA, Dyck PJ, Klein CJ, Engelstad JK, Meyer JE, Dyck PJB. Onion-Bulb Patterns Predict Acquired or Inherited Demyelinating Polyneuropathy. *Muscle Nerve.* 2019.
27. Cooper BJ, Valentine BA. 3 - Muscle and Tendon. Jubb, Kennedy & Palmer's pathology of domestic animals. 1. 6 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016. p. 164-249.
28. Cai C, Anthony DC, Pytel P. A pattern-based approach to the interpretation of skeletal muscle biopsies. *Mod Pathol.* 2019;32(4):462-83.
29. Bortoluci CH, Simionato LH, Rosa Junior GM, Oliveira JA, Lauris JR, Moraes LH, et al. Histochemistry profile of the biceps brachii muscle fibres of capuchin monkeys (*Cebus apella*, Linnaeus, 1758). *Braz J Biol.* 2014;74(3 Suppl 1):S177-83.
30. Dewey CW. A practical guide to canine and feline neurology. Ames (Iowa): Iowa State Press; 2003.
31. LeCouteur RA. Update on feline neuromuscular diseases. *J Feline Med Surg.* 2016;5(2):109-15.
32. Volk HA, Shihab N, Matiasek K. Neuromuscular disorders in the cat: clinical approach to weakness. *J Feline Med Surg.* 2011;13(11):837-49.
33. Cuddon PA, Higgins RJ, Duncan ID, Miller SP, Parent JM, Moser AB. Polyneuropathy in feline Niemann-Pick disease. *Brain.* 1989;112 (Pt 6):1429-43.
34. Fyfe JC, Giger U, Van Winkle TJ, Haskins ME, Steinberg SA, Wang P, et al. Glycogen storage disease type IV: inherited deficiency of branching enzyme activity in cats. *Pediatr Res.* 1992;32(6):719-25.
35. Jones BR, Johnstone AC, Cahill JI, Hancock WS. Peripheral neuropathy in cats with inherited primary hyperchylomicronaemia. *Vet Rec.* 1986;119(11):268-72.
36. McKerrell RE, Blakemore WF, Heath MF, Plumb J, Bennett MJ, Pollitt RJ, et al. Primary hyperoxaluria (L-glyceric aciduria) in the cat: a newly recognised inherited disease. *Vet Rec.* 1989;125(2):31-4.
37. De Lorenzi D, Bernardini M, Pumarola M. Primary hyperoxaluria (L-glyceric aciduria) in a cat. *J Feline Med Surg.* 2005;7(6):357-61.

38. Moreau PM, Vallat JM, Hugon J, Leboutet MJ, Vandeveld M. Peripheral and central distal axonopathy of suspected inherited origin in Birman cats. *Acta Neuropathol.* 1991;82(2):143-6.
39. Matiasek LA, Lujan Feliu-Pascual A, Shelton GD, De Risio L, Matiasek K. Axonal neuropathy with unusual clinical course in young Snowshoe cats. *J Feline Med Surg.* 2009;11(12):1005-10.
40. Kramek BA, Moise NS, Cooper B, Raffe MR. Neuropathy associated with diabetes mellitus in the cat. *J Am Vet Med Assoc.* 1984;184(1):42-5.
41. Mizisin AP, Shelton GD, Burgers ML, Powell HC, Cuddon PA. Neurological complications associated with spontaneously occurring feline diabetes mellitus. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2002;61(10):872-84.
42. Mizisin AP, Nelson RW, Sturges BK, Vernau KM, Lecouteur RA, Williams DC, et al. Comparable myelinated nerve pathology in feline and human diabetes mellitus. *Acta Neuropathol.* 2007;113(4):431-42.
43. Cho ES, Lowndes HE, Goldstein BD. Neurotoxicology of vincristine in the cat. Morphological study. *Arch Toxicol.* 1983;52(2):83-90.
44. van der Linde-Sipman JS, van den Ingh TS, van nes JJ, Verhagen H, Kersten JG, Beynen AC, et al. Salinomycin-induced polyneuropathy in cats: morphologic and epidemiologic data. *Vet Pathol.* 1999;36(2):152-6.
45. Cavana P, Sammartano F, Capucchio MT, Catalano D, Valazza A, Farca AM. Peripheral neuropathy in a cat with renal lymphoma. *J Feline Med Surg.* 2009;11(10):869-72.
46. Dickinson PJ, Anderson PJ, Williams DC, Powell HC, Shelton GD, Morris JG, et al. Assessment of the neurologic effects of dietary deficiencies of phenylalanine and tyrosine in cats. *Am J Vet Res.* 2004;65(5):671-80.
47. Kennedy JM, Hoke A, Zhu Y, Johnston JB, van Marle G, Silva C, et al. Peripheral neuropathy in lentivirus infection: evidence of inflammation and axonal injury. *AIDS.* 2004;18(9):1241-50.
48. Paulsen DB, Kern MR, Weigand CM. Mycobacterial neuritis in a cat. *J Am Vet Med Assoc.* 2000;216(10):1589-91, 69.

-
49. Halstead SK, Jackson M, Bianchi E, Rupp S, Granger N, Menchetti M, et al. Serum anti-GM2 and anti-GalNAc-GD1a ganglioside IgG antibodies are biomarkers for immune-mediated polyneuropathies in cats. *J Peripher Nerv Syst.* 2022.
 50. Jeandel A, Matiasek K, Blot S. Acute idiopathic polyneuritis with spontaneous remission in an Abyssinian cat. *Can Vet J.* 2015;56(12):1279-82.
 51. Aleman M, Dickinson PJ, Williams DC, Sturges BK, LeCouteur RA, Vernau KM, et al. Electrophysiologic confirmation of heterogenous motor polyneuropathy in young cats. *J Vet Intern Med.* 2014;28(6):1789-98.
 52. Flecknell PA, Lucke VM. Chronic relapsing polyradiculoneuritis in a cat. *Acta Neuropathol.* 1978;41(1):81-4.
 53. Martinez-Anton L, Marena M, Firestone SM, Bushell RN, Child G, Hamilton AI, et al. Investigation of the Role of Campylobacter Infection in Suspected Acute Polyradiculoneuritis in Dogs. *J Vet Intern Med.* 2018;32(1):352-60.
 54. Hirschvogel K, Jurina K, Steinberg TA, Matiasek LA, Matiasek K, Beltran E, et al. Clinical course of acute canine polyradiculoneuritis following treatment with human IV immunoglobulin. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2012;48(5):299-309.
 55. Bader SR, Kothlow S, Trapp S, Schwarz SC, Philipp HC, Weigend S, et al. Acute paretic syndrome in juvenile White Leghorn chickens resembles late stages of acute inflammatory demyelinating polyneuropathies in humans. *J Neuroinflammation.* 2010;7:7.
 56. Alford PL, Satterfield WC. Paralytic illness resembling inflammatory polyradiculoneuropathy in a chimpanzee. *J Am Vet Med Assoc.* 1995;207(1):83-5.
 57. Guillain G, Barre JA, Strohl A. [Radiculoneuritis syndrome with hyperalbuminosis of cerebrospinal fluid without cellular reaction. Notes on clinical features and graphs of tendon reflexes. 1916]. *Ann Med Interne (Paris).* 1999;150(1):24-32.
 58. Freitas MRG, Vidal CM, Orsini M. Guillain-Barre syndrome: celebrating a century. *Arq Neuropsiquiatr.* 2017;75(8):600-3.
 59. Esposito S, Longo MR. Guillain-Barre syndrome. *Autoimmun Rev.* 2017;16(1):96-101.

-
60. Willison HJ, Jacobs BC, van Doorn PA. Guillain-Barre syndrome. *Lancet*. 2016;388(10045):717-27.
 61. van Doorn PA. Diagnosis, treatment and prognosis of Guillain-Barre syndrome (GBS). *Presse Med*. 2013;42(6 Pt 2):e193-201.
 62. Fisher M. An unusual variant of acute idiopathic polyneuritis (syndrome of ophthalmoplegia, ataxia and areflexia). *N Engl J Med*. 1956;255(2):57-65.
 63. Rocha Cabrero F, Morrison EH. Miller Fisher Syndrome. *StatPearls*. Treasure Island (FL)2018.
 64. Willison HJ, Yuki N. Peripheral neuropathies and anti-glycolipid antibodies. *Brain*. 2002;125(Pt 12):2591-625.
 65. Asbury AK, Cornblath DR. Assessment of current diagnostic criteria for Guillain-Barre syndrome. *Ann Neurol*. 1990;27 Suppl:S21-4.
 66. Van der Meche FG, Van Doorn PA, Meulstee J, Jennekens FG, Centre GB-cgotDNRS. Diagnostic and classification criteria for the Guillain-Barre syndrome. *Eur Neurol*. 2001;45(3):133-9.
 67. Fokke C, van den Berg B, Drenthen J, Walgaard C, van Doorn PA, Jacobs BC. Diagnosis of Guillain-Barre syndrome and validation of Brighton criteria. *Brain*. 2014;137(Pt 1):33-43.
 68. Goodfellow JA, Willison HJ. Antiganglioside, antiganglioside-complex, and antiglycolipid-complex antibodies in immune-mediated neuropathies. *Curr Opin Neurol*. 2016;29(5):572-80.
 69. Querol L, Lleixa C. Novel Immunological and Therapeutic Insights in Guillain-Barre Syndrome and CIDP. *Neurotherapeutics*. 2021;18(4):2222-35.
 70. Nguyen TP, Taylor RS. Guillain Barre Syndrome. *StatPearls*. Treasure Island (FL)2018.
 71. Yuki N, Hartung HP. Guillain-Barre syndrome. *N Engl J Med*. 2012;366(24):2294-304.
 72. Lehmann HC, Burke D, Kuwabara S. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: update on diagnosis, immunopathogenesis and treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90(9):981-7.

-
73. Dziadkowiak E, Waliszewska-Prosol M, Nowakowska-Kotas M, Budrewicz S, Koszewicz Z, Koszewicz M. Pathophysiology of the Different Clinical Phenotypes of Chronic Inflammatory Demyelinating Polyradiculoneuropathy (CIDP). *Int J Mol Sci.* 2021;23(1).
74. Van den Bergh PY, Hadden RD, Bouche P, Cornblath DR, Hahn A, Illa I, et al. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society - first revision. *Eur J Neurol.* 2010;17(3):356-63.
75. Meyer zu Horste G, Hartung HP, Kieseier BC. From bench to bedside--experimental rationale for immune-specific therapies in the inflamed peripheral nerve. *Nat Clin Pract Neurol.* 2007;3(4):198-211.
76. Klemola E, Weckman N, Haltia K, Kaariainen L. The Guillain-Barre syndrome associated with acquired cytomegalovirus infection. *Acta Med Scand.* 1967;181(5):603-7.
77. Grose C, Feorino PM. Epstein-Barr virus and Guillain-Barre syndrome. *Lancet.* 1972;2(7790):1285-7.
78. Steele JC, Thanasophon S, Gladstone RM, Fleming PC. *Mycoplasma pneumoniae* as a determinant of the Guillain-Barre syndrome. *Lancet.* 1969;2(7623):710-4.
79. Sood A, Midha V, Sood N. Guillain-Barre syndrome with acute hepatitis E. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(12):3667-8.
80. Wells CE, James WR, Evans AD. Guillain-Barre syndrome and virus of influenza A (Asian strain); report of two fatal cases during the 1957 epidemic in Wales. *AMA Arch Neurol Psychiatry.* 1959;81(6):699-705.
81. Rees JH, Soudain SE, Gregson NA, Hughes RA. *Campylobacter jejuni* infection and Guillain-Barre syndrome. *N Engl J Med.* 1995;333(21):1374-9.
82. Pinheiro TJ, Guimaraes LF, Silva MT, Soares CN. Neurological manifestations of Chikungunya and Zika infections. *Arq Neuropsiquiatr.* 2016;74(11):937-43.

-
83. Oehler E, Watrin L, Larre P, Leparç-Goffart I, Lastere S, Valour F, et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome--case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill.* 2014;19(9).
 84. Cao-Lormeau VM, Blake A, Mons S, Lastere S, Roche C, Vanhomwegen J, et al. Guillain-Barre Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *Lancet.* 2016;387(10027):1531-9.
 85. Mori M, Kuwabara S, Miyake M, Noda M, Kuroki H, Kanno H, et al. Haemophilus influenzae infection and Guillain-Barre syndrome. *Brain.* 2000;123 (Pt 10):2171-8.
 86. Singh J, Kumar N, Dinkar A. Demographic, clinical, investigational characteristics of COVID-19 related Guillain-Barre syndrome with differences from typical and another virus-related Guillain-Barre syndrome. *Infect Disord Drug Targets.* 2022.
 87. Sejvar JJ, Baughman AL, Wise M, Morgan OW. Population incidence of Guillain-Barre syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Neuroepidemiology.* 2011;36(2):123-33.
 88. Schonberger LB, Bregman D, Sullivan-Bolyai JZ, Bryan L, Noble GR. Guillain-Barre syndrome after administration of killed vaccines. *Dev Biol Stand.* 1977;39:295-6.
 89. Mc IH, Krouse H. Guillain-Barre syndrome complicating antirabies inoculation. *Arch Neurol Psychiatry.* 1949;62(6):802-8.
 90. Abolmaali M, Rezanian F, Behnagh AK, Hamidabad NM, Gorji A, Mirzaasgari Z. Guillain-Barre syndrome in association with COVID-19 vaccination: a systematic review. *Immunol Res.* 2022.
 91. Schafflick D, Kieseier BC, Wiendl H, Meyer Zu Horste G. Novel pathomechanisms in inflammatory neuropathies. *J Neuroinflammation.* 2017;14(1):232.
 92. Gross S, Kolb N, Rosati M, Matiasek K. Fix the problem - A practical guide to whole-mount immunohistochemistry of teased nerve fibres. *J Neurosci Methods.* 2017;289:8-22.

-
93. Laws EJ, Harcourt-Brown TR, Granger N, Rose JH. An exploratory study into factors influencing development of acute canine polyradiculoneuritis in the UK. *J Small Anim Pract.* 2017;58(8):437-43.
 94. Ubogu EE. Inflammatory neuropathies: pathology, molecular markers and targets for specific therapeutic intervention. *Acta Neuropathol.* 2015;130(4):445-68.
 95. Berciano J, Sedano MJ, Pelayo-Negro AL, Garcia A, Orizaola P, Gallardo E, et al. Proximal nerve lesions in early Guillain-Barre syndrome: implications for pathogenesis and disease classification. *J Neurol.* 2016.
 96. Gehring R, Eggars B. Suspected post-vaccinal acute polyradiculoneuritis in a puppy. *J S Afr Vet Assoc.* 2001;72(2):96.
 97. Uncini A, Kuwabara S. The electrodiagnosis of Guillain-Barre syndrome subtypes: Where do we stand? *Clin Neurophysiol.* 2018;129(12):2586-93.
 98. Kim SH, Choi SI, Song KH, Seo KW. Two cases of acute polyradiculoneuritis in dogs consuming a raw poultry diet. *J Vet Med Sci.* 2021;83(3):465-8.
 99. Mevorach D, Reiner I, Grau A, Ilan U, Berkun Y, Ta-Shma A, et al. Therapy with eculizumab for patients with CD59 p.Cys89Tyr mutation. *Ann Neurol.* 2016;80(5):708-17.
 100. Hagen KM, Ousman SS. The Neuroimmunology of Guillain-Barre Syndrome and the Potential Role of an Aging Immune System. *Front Aging Neurosci.* 2020;12:613628.
 101. O'Neill DG, Gostelow R, Orme C, Church DB, Niessen SJ, Verheyen K, et al. Epidemiology of Diabetes Mellitus among 193,435 Cats Attending Primary-Care Veterinary Practices in England. *J Vet Intern Med.* 2016;30(4):964-72.

IX. ANHANG

9.1. Methodische Ergänzungen

9.1.1. Präparation, Fixation und Lagerung der frischen Nervenproben

Der frische Nerv wird zunächst vom umliegenden Fett- und Bindegewebe sowie vom epineurialen und mesoneurialen Gewebe mittels Pinzetten befreit und daraufhin in kleinere Bündel aufgeteilt, um ein rasches und vollständiges Vordringen des verwendeten Fixans zu gewährleisten.

Die Fixation erfolgt mittels 2,5 %igem Glutaraldehyd (Serva, Heidelberg, Deutschland) je nach Dicke der kleineren Nervenfaserbündel für 1 bis 2 Stunden. Im Anschluss erfolgt die Lagerung in der Waschlösung nach Sörensen bis zur Schwärzung mittels Osmiumtetroxid.

9.1.2. Nervenfasierzupfpräparate

Ein Teil der Nervenprobe wird mit 2 %igem, gepuffertem Osmiumtetroxid (ChemPur, Karlsruhe, Deutschland) für 1,5 bis 2 Stunden geschwärzt. Daraufhin werden mindestens 40 Nervenfasern (bei ausreichender Probenmenge) parallel auf einem Objektträger mittels Pinzetten unter einer Stereolupe aufgezogen. 10 von 20 Fasern werden mittels Hämalan (AppliChem, Darmstadt, Deutschland) für maximal 2 Minuten gegengefärbt, im Anschluss mit einem Deckglas bedeckt, mit 100%igem Glycerin (Merck, Darmstadt, Deutschland) tropfenweise eingedeckelt und mithilfe von Assistent®Histokitt (Karl Hecht, Sondheim vor der Röhn, Deutschland) versiegelt.

9.1.3. Semidünnschnitte des Nervens

Ein Teil der Nervenprobe wird in 4 Teile geschnitten, genauer 3 Teile für einen späteren Querschnitt und 1 Teil für einen späteren Längsschnitt.

Die erhaltenen Stücke werden danach mittels 1%igem, gepuffertem Osmiumtetroxid (ChemPur, Karlsruhe, Deutschland) geschwärzt für 1 bis 2 Stunden abhängig von der Probendicke.

Nach Inkubation in einer aufsteigenden Alkoholreihe erfolgt die Einbettung in Epoxidharz (Glycidether 100, Serva®, Heidelberg, Deutschland) mit anschließender Aushärtung über 48 Stunden bei 60 °C im Brutschrank.

Die erhaltenen Blöcke werden getrimmt und daraufhin semidünn (0,5µm) längs und quer jeweils 3 mal geschnitten und auf einen Objektträger aufgezogen. Die Färbung

erfolgt mittels Toluidinblau und Safranin O. Toluidinblau wird für 45 Sekunden auf die Schnitte ausgelegt auf einer Wärmeplatte (ca. 60°C) gegeben, im Anschluss mit Aqua dest. gespült bis dieses optisch klar erscheint und der Schnitt luftgetrocknet. Daraufhin erfolgt die Färbung mit Safranin O ausgelegt auf einer Wärmeplatte (ca. 55°C) für 15 Sekunden, im Anschluss wird ebenfalls mit Aqua dest., gespült bis sich dieses klar darstellt und luftgetrocknet. Später erfolgt die Eindeckung mittels Epoxidharz und einem Deckglas.

9.1.4. Präparation, Fixation, Einbettung, Färbung und Histochemie der Muskelpräparate

Ein Teil der frischen Muskelproben wird quer, im Fall von genügend Material auch längs eingebettet und in 10%igem neutral gepuffertem Formalin fixiert. Im Fall von bereits Formalin-fixiert eintreffenden Biopaten erfolgt ein gleichartiger Zuschnitt. Anschließend erfolgt die Einbettung in Paraffin und Hämatoxylin und Eosin (H&E) sowie Giemsa Färbung nach Standardprotokollen.

Der andere Teil der frischen Muskelprobe wird in Tissue-Tek® O.C.T. Compound (Sakura Finetek, California, USA) eingebracht, schockgefroren in Isopentan 100% (Panreac, AppliChem, Darmstadt, Deutschland) mit flüssigem Stickstoff (-130 bis -150°C) und bei -80°C aufbewahrt bis zur weiteren Prozessierung. Nach Anfertigung der Querschnitte mittels Kryostat folgen Färbungen nach Standardprotokollen mit H&E, Engels modifizierter Gomori Trichrom Färbung, Perjodsäure Schiff Reaktion, Ölrot-O, Zytochromoxidase, Nictotinamidadenindinukeleotid-Dehydrogenase Tetrazolium Reduktase Histochemie und Fasertypisierung der Myosin-Schwerketten.

9.2. Materialien

9.2.1. Verwendete Lösungen und Chemikalien

Sörensen Phosphatpuffer (0,067 M)

Lösung A:

2,269 g Kaliumhydrogenphosphat (KI2P04) primär nach Sörensen (neoLab Art. Nr. 2830) CAS-Nr. 7778-77-0 in

250 ml Aqua dest. lösen

Lösung B:

11,876 g di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) sekundär nach Sörensen (neoLab Ait.Nr. 4820) CAS-Nr. 10028-24-7 in

1000 ml Aqua dest. lösen

Um einen pH-Wert von 7,4 zu erreichen, nimmt man 80,8 ml Lösung B und füllt mit Lösung A auf 100 ml auf.

Waschlösung nach Sörensen (0,2 mol gepufferte D+-Saccharose (neoLab Art.Nr. 5015))

Auch hier zuerst wieder Sörensen-Phosphatpuffer nach Vorschrift mischen (s.o.)

6,84 g D+-Saccharose in 100 ml Sörensen-Phosphatpuffer lösen.

Um die Lösung haltbar zu machen, gibt man auf 100 ml Puffer 1-2 Tropfen einer 1%igen Merthiolatlösung.

1 %, Merthiolat (Äthylmercurithiosalicylsäure-Natriumsalz) (Serva 1375)

*0.1 e Äthylmercurithiosalicylsäure-Natrium Salz auf 10 ml Aqua dest.

Toluidinblau O - Lösung: (Kern- und Zellstrukturen)

- 100 ml Aqua dest.
- 1 g di-Natriumtetraborat (Merck 6306)
- 1 g Toluidinblau O (Serva 36693 oder Roth 0300,2)

Borax (di-Natriumtetraborat) vollständig in Aqua dest. lösen, dann Toluidinblau O dazugeben und gut rühren. Vor Gebrauch jeweils filtrieren.

Safranin O - Lösung: (Faseranteile der Zwischenzellsubstanz / Bindegewebe)

- 100 ml Aqua dest.
- 1 g di-Natriumtetraborat wasserfrei z.A. (Merck 6306)
- 1 g Safranin O (Chroma 1B 463)
- 40 g Saccharose (Merck 7653)
- 2-3 Tropfen konzentriertes Formalin

Borax in Aqua dest. lösen, dann Safranin und Saccharose zugeben und gut rühren. Über Nacht stehen lassen. Am nächsten Tag 2-3 Tropfen Formalin zugeben. Vor Gebrauch jeweils filtrieren.

9.2.2. Verwendete Geräte

Mikroskop zur Auswertung: Zeiss Axiophot 2 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Göttingen, Deutschland)

Mikroskop zur Fotografie von histologischen Präparaten: Nikon Eclipse Ci-L (Nikon Deutschland, Zweigniederlassung der Nikon Europe B.V., Düsseldorf, Deutschland)

Mikroskopkamera und Software: PathoZoom® Scan & LiveView (Smart In Media AG, Köln, Deutschland)

Stereolupe: Stereomikroskop Zeiss Stemi DV4 (Zeiss, Oberkochen, Deutschland)

Mikrotom zum Paraffinschnitt: Thermo Scientific Microm HM 355S und Microm HM 315 (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA)

Mikrotom zum Semidünnschnitt: Ultracut E (Reichert-Jung, Wien, Österreich)

Objektträger: Star Frost adhesive (Engelbrecht Medizin- und Labortechnik, Edermünde, Deutschland)

9.2.3. Verwendete Software

Text, Grafiken und Tabellen: Microsoft® Office 365 for Mac

Statistik: R Statistical Software (Version 4.0.3)

Literaturverwaltung: Endnote X20 (EndNote™ Software)

X. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank geht an meinen Doktorvater, Prof. Dr. Kaspar Matiasek, für das Vertrauen in meine Person und die Möglichkeit, die Arbeit unter seiner Leitung anzufertigen. Für den immerwährenden, fachlich herausragenden wissenschaftlichen Input, für die Unterstützung in sämtlichen Fragestellungen und das stets offene Ohr in allen Belangen bin ich besonders dankbar.

Ein großer Dank geht an Dr. Marco Rosati für die umfassende Betreuung in allen praktischen Fragestellungen, der stets freundlichen, freundschaftlichen, vertrauensvollen, inspirierenden und vor allem fruchtbaren Zusammenarbeit.

Bedanken möchte ich mich bei der Lehrstuhlleitung unter Prof. Dr. Andreas Parzefall und dem akademischen Direktor Dr. Monir Majzoub-Altweck für die Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit und allen MitarbeiterInnen aus dem Institut für Tierpathologie, allen voran dem Sekretariat unter Marjam O’Gorman, den technischen MitarbeiterInnen und dem Labor, besonders bei Sabine Brenner, Heidrun Schöl, Claudia Mair, Doris Merl, Karin Stingl und Gudrun Goldmann, die mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen und hervorragende technische Arbeit leisten.

Weiterhin geht mein großer Dank an alle meine tierärztlichen KollegInnen, insbesondere Dr. Alexandra Rieger, Dr. Almuth Falkenau, Dr. Lina Eddicks, Dr. Katharina Erber, Dr. Sonja Fiedler, Effrosyni Michelakaki, Anna Gager und Elena Dell’Era, die mir immer mit einem offenen Ohr und praktischen Ratschlägen zur Seite standen und auch vielfach abseits des Instituts zu Freundinnen wurden.

Für die vertrauensvolle Zusammenarbeit mit der Abteilung für Neurologie der Medizinischen Kleintierklinik der LMU mit Jana van Renen und Dr. Franziska Wieländer unter der Leitung von Prof. Dr. Andrea Fischer möchte ich mich aufrichtig bedanken. Der unfassbare Wissens- und Ideenschatz von Prof. Dr. Andrea Fischer hat die Studien stets besonders bereichert.

Ein herzliches Dankeschön möchte ich auch Dr. Yury Zablotzki aussprechen für die hervorragende Betreuung in statistischen Belangen mit herausragender fachlicher Kompetenz, vielen Ideen und vertrauensvollem Umgang.

Bei den Doktorandinnen der Abteilung für Neuropathologie, allen voran Clara Kaufhold, Dr. Maya-Lena Bitschi, Vanessa Alf und Laura Reuter möchte ich mich für die schöne gemeinsame Zeit und Unterstützung bedanken, auf die ich in jeder

Lebenslage zählen konnte und mit denen ich unzählige Stunden im Institut und auch abseits des Instituts verbringen durfte, woraus Freundschaften erwachsen sind.

Meiner geliebten Familie danke ich für die immerwährende, tiefgreifende Unterstützung, den fortwährenden Zuspruch und Input während der Zeit des Promotionsstudiums ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Meinem Freundeskreis danke ich für das Verständnis, die Unterstützung und die vielen gemeinsamen Momente und Gespräche, in denen ich eine Stütze in allen Belangen erfahren durfte.