Einfluss der Akklimatisierungszeit und des Stresslevels auf Messparameter der barometrischen Ganzkörperplethysmographie bei gesunden adulten Katzen

von Petra Benz

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

Einfluss der Akklimatisierungszeit und des Stresslevels auf Messparameter der barometrischen Ganzkörperplethysmographie bei gesunden adulten Katzen

von Petra Benz

aus Friedrichshafen

München 2026

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Prof. Dr. Bianka Schulz

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Berichterstatter:	Prof. Dr. Bianka Schulz
Korreferent:	Priv.-Doz. Dr. Bettina Wollanke

Tag der Promotion: 07.02.2026

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG 1

II. LITERATURÜBERSICHT 3

1. Nicht invasive Lungenfunktionsdiagnostik 3

1.1. Pulsoxymetrie 3

1.2. Kapnometrie und Kapnografie 5

1.3. Spirometrie 6

1.4 Tidale Atemfluss-Volumen-Schleifen 7

1.5. Forcierte Oszillationstechnik 8

1.6. Barometrische Ganzkörperplethysmographie 9

2. Einflussfaktoren auf Messparameter der Ganzkörperplethysmographie 10

2.1. Wachstum und Alter 11

2.2. Geschlecht 12

2.3. Gewicht 12

2.4. Zirkadianer Rhythmus 13

2.5. Schädelkonformation 14

2.6. Medikamente 14

2.6.1. Bronchodilatatoren 14

2.6.2. Glukokortikoide 15

2.7. Bronchoprovokation 16

2.8. Akklimatisierungszeit und Stress 16

3. Stress 17

3.1. Definition 17

3.2. Auswirkungen von Stress auf Vitalparameter 18

3.3. Stressauslöser bei Katzen 20

3.4. Äußere Anzeichen von Stress bei Katzen 21

3.5. Messparameter zur Evaluierung von Stress 22

3.5.1. Verhalten 22

3.5.2. Kortisolmessung Plasma 23

3.5.3. Kortisolmessung Speichel 24

3.5.4. Alpha-Amylasemessung Speichel 24

3.5.5. Glukokortikoid-Metaboliten im Kot 25

3.5.6. Kortisol-Kreatinin Verhältnis Urin ... 25
3.5.7. Herzfrequenzvariabilität ... 26
3.6. Möglichkeiten der Stressminimierung ... 26

III. PUBLIKATION 1: ORIGINAL-PUBLIKATION ZUR STUDIE 1 ... 28

IV. PUBLIKATION 2: ORIGINAL-PUBLIKATION ZUR STUDIE 2 ... 43

V. DISKUSSION ... 57

VI. SUMMARY ... 69

VII. ZUSAMMENFASSUNG ... 70

VIII. LITERATURVERZEICHNIS ... 72

IX. DANKSAGUNG ... 102

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A1	Altersgruppe 1-2 Jahre
A2	Altersgruppe 3-7 Jahre
A3	Altersgruppe 8-16 Jahre
ACTH	adrenocorticotropes Hormon
AF	Atemfrequenz
ANS	autonomes Nervensystem
BMI	body-mass-index
BOAS	brachyzephales obstruktives Atemwegssyndrom
BWBP	barometric whole-body plethysmography barometrische Ganzkörper-Plethysmographie
CO_2	Kohlenstoffdioxid
C-Penh300	Carbachol-Konzentration, die während der Bronchoprovokation einen 300 %igen Anstieg von Penh bewirkt
CRH	corticotropin releasing hormone
CSS	cat-stress-score
EEP	endexspiratorische Pause
EIP	endinspiratorische Pause
$ETCO_2$	endtidales Kohlenstoffdioxid
FOT	forcierte Oszillationstechnik
HHN	Hypothalmus-Hypophysen-Nebennierenachse
MV	Minutenvolumen
MV/BW	minute volume per body weight Minutenvolumen/Körpergewicht
PAU	Pause
pCO_2	Kohlendioxidpartialdruck
PEF	peak expiratory flow maximaler exspiratorischer Spitzenfluss
PEF/BW	peak expiratory flow/body weight maximaler exspiratorischer Spitzenfluss/Körpergewicht
PEF/EF50	peak expiratory flow/expiratory flow bei 50% ausgeatmetem Volumen
PEF/EF25	peak expiratory flow/expiratory flow bei 25% ausgeatmetem Volumen
Penh	verstärkte Pause
PIF	peak inspiratory flow maximaler inspiratorischer Spitzenfluss

PIF/BW	peak inspiratory flow per body weight maximaler inspiratorischer Spitzenfluss/Körpergewicht
pTBFVLP	pseudo-tidal breathing flow-volume loop pseudotidale Atemfluss Volumen-Schleife
RT	Relaxationszeit
SAM	sympatho-adrenomedulläres System
sRaw	specific resistance spezifischer Atemwegswiderstand
T1	Zeitabschnitt 0-10 Minuten
T2	Zeitabschnitt 10-20 Minuten
T3	Zeitabschnitt 20-30 Minuten
Te	Exspirationszeit
Ti	Inspirationszeit
TV	Tidalvolumen
TV/BW	tidal volume per body weight Tidalvolumen pro Körpergewicht
TBFVL	tidal breathing flow-volume loops tidale Atemfluss-Volumen-Schleifen
UCC	urinary cortisol/creatinine ratio Urin-Kortisol-Kreatinin-Verhältnis

I. EINLEITUNG

Aufgrund einer hohen Prädisposition für Erkrankungen der Atemwege (Bay and Johnson, 2004; Padrid, 2009) spielt die Lungenfunktionsdiagnostik bei Katzen eine immer bedeutendere Rolle. Für viele bei der Katze einsetzbare Untersuchungsmöglichkeiten sind jedoch eine Anästhesie oder invasive Verfahren notwendig. Eine Ausnahme bildet die barometrische Ganzkörperplethysmographie (Barometric whole body plethysmography - BWBP). Die BWBP ist eine in den letzten Jahren bei Katzen immer häufiger angewandte Methode der Lungenfunktionsdiagnostik, die aufgrund ihrer ursprünglichen Entwicklung für Säuglinge ohne aktive Mitarbeit des Patienten und nicht-invasiv durchgeführt wird (Drorbaugh and Fenn, 1955). Für Katzen liegen umfangreiche Messreihen sowohl an gesunden Tieren (Hirt et al., 2003; Hoffman et al., 1999a; Hörner-Schmid et al., 2024; Kirschvink et al., 2007b; Kirschvink et al., 2006b; Lin et al., 2016) als auch an Tieren mit respiratorischen Erkrankungen (Bernaerts et al., 2006; García-Guasch et al., 2008; Garcia-Guasch et al., 2012; Gareis et al., 2022; Lin et al., 2014) vor. Zusätzlich gibt es Untersuchungen zur Anwendung von Bronchoprovokationstests im Rahmen der BWBP bei Katzen (Hirt et al., 2003; Hirt et al., 2011; Hoffman et al., 1999a; Kirschvink et al., 2006a). Obwohl die BWBP bei wachen Patienten ohne Manipulationen durchgeführt wird, ist die Messung mit einem Aufenthalt in einer Messkammer in einer Tierklinik oder Forschungseinrichtung verbunden, der aufgrund fremder Geräusche, Gerüche und Personen mit Stress verbunden sein kann (Horwitz and Rodan, 2018; Karn-Buehler and Kuhne, 2022; Riemer et al., 2021). In einigen Forschungsarbeiten wurde daher vor der eigentlichen Datenerhebung eine Eingewöhnungszeit durchgeführt (García-Guasch et al., 2015; Garcia-Guasch et al., 2012; Leemans et al., 2009; Lin et al., 2016), die in früheren Untersuchungen jedoch meist nicht standardisiert war. Im Gegensatz zu Studien bei der Katze, wurde bei Mäusen bereits nachgewiesen, dass die Dauer der Akklimatisierungszeit viele Messparameter der BWBP signifikant beeinflusst (Quindry et al., 2016). Durch die ungewohnte Situation hervorgerufenen Emotionen wie Stress und Angst zeigen sich nicht nur in Verhaltensänderungen, sondern beeinflussen auch die Atmung, wie in humanmedizinischen Studien nachgewiesen wurde (Boiten et al., 1994; Ritz et al., 2011b; Wientjes et al., 1998). Ob eine Katze wirklich Stress während der BWBP Messung erfährt und wie

unterschiedliche Akklimatisierungszeiten die Messparameter der BWBP beeinflussen, wurde bislang nicht untersucht. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss unterschiedlicher Akklimatisierungszeiten auf die Messparameter der BWBP bei gesunden adulten Katzen zu evaluieren. Ferner wurde untersucht, inwieweit der Aufenthalt in der Messkammer mit Stress für die Tiere verbunden ist und ob eine Korrelation zwischen dem klinischen Stresslevel und den gemessenen respiratorischen Parametern besteht.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Nicht invasive Lungenfunktionsdiagnostik

Aufgrund der in der Veterinärmedizin häufig vorkommenden chronischen Atemwegserkrankungen (Rozanski and Hoffman, 1999), spielt die Lungenfunktionsdiagnostik eine zunehmend bedeutendere Rolle. Klassische Untersuchungsmöglichkeiten wie klinische Untersuchung, Thoraxröntgen, Bronchoskopie, Computertomographie und Beprobung der Atemwege sind essenziell zur Diagnose verschiedener Erkrankungen (Hoffman, 2007), liefern jedoch keine Rückschlüsse über die Lungenfunktion (Balakrishnan and Tong, 2020). Viele Lungenfunktionstests wurden ursprünglich für die Humanmedizin entwickelt und wurden für die Veterinärmedizin angepasst (Balakrishnan and King, 2014; Balakrishnan and Tong, 2020). Es ist wichtig zu beachten, dass die Lungenfunktionstests nicht als Ersatz für klassische Diagnoseverfahren gelten, sondern allein als Ergänzung verwendet werden (Balakrishnan and King, 2014; Rozanski and Hoffman, 1999). Die Lungenfunktionsdiagnostik ermöglicht es, die Lokalisation, den Schweregrad und die Evaluation des Therapieerfolges bei Patienten mit Atemwegserkrankungen aufzuzeichnen (Balakrishnan and King, 2014; Crapo, 1994). Man differenziert zwischen Lungenfunktionstests der Lungenmechanik und denen des pulmonalen Gasaustauschs (Balakrishnan and King, 2014). In der vorliegenden Arbeit wurde der Fokus allein auf die nicht invasive Lungenfunktionsdiagnostik gelegt. Als invasive Lungenfunktionsdiagnostik werden die arterielle Blutgasanalyse und Messungen der Compliance und des Widerstands angesehen (Gareis and Schulz, 2021). Zur nicht-invasiven Lungenfunktionsdiagnostik zählen die Pulsoxymetrie, die Kapnometrie und Kapnografie, die Spirometrie, die tidalen Atemfluss-Volumen-Schleifen, die forcierte Oszillationstechnik sowie die barometrische Ganzkörperplethysmographie.

1.1. Pulsoxymetrie

Bei der Pulsoxymetrie handelt es sich um eine nicht-invasive Messung der Sauerstoffsättigung in arteriellem Blut (Ayres, 2012; Matthews et al., 2003; Proulx, 1999; Schnapp and Cohen, 1990; Thawley and Waddell, 2013), die erstmals in der Humanmedizin im Jahre 1935 angewendet wurde (McGough and Boysen, 1989).

Die Pulsoxymetrie hat sich nicht nur in der Humanmedizin, sondern auch in der Veterinärmedizin beim Monitoring von Pferden, Hunden, Katzen, Heimtieren und Vögeln als unverzichtbar erwiesen (Hendricks and King, 1993; Jacobson et al., 1992; Matthews et al., 2003; Schmitt et al., 1998; Thawley and Waddell, 2013). Besonders häufig wird die Pulsoxymetrie bei der Überwachung der Patienten während der Anästhesie und bei Intensivpatienten eingesetzt, da sie nicht invasiv ist und kontinuierliche und zuverlässige Ergebnisse liefert (Ayres, 2012; Hendricks and King, 1993; Jacobson et al., 1992; Neff, 1988; Schnapp and Cohen, 1990). Der Vorteil gegenüber der Messung des Sauerstoffpartialdrucks mittels arterieller Blutgasanalyse ist, dass nicht das Risiko der Punktion einer Arterie eingegangen werden muss und die Messungen kontinuierlich stattfinden können (Hackett, 2002; Schnapp and Cohen, 1990). Das Funktionsprinzip der Pulsoxymetrie beruht auf dem Lambert-Beer'schen Gesetz, das beschreibt, wie sich die Konzentration einer gelösten Substanz durch deren Absorption von Licht unterschiedlicher Wellenlängen bestimmen lässt (Grosenbaugh et al., 1997; Schnapp and Cohen, 1990; Thawley and Waddell, 2013). Bei der Messung der Sauerstoffsättigung mittels Pulsoxymetrie wird das unterschiedliche Lichtabsorptionsspektrum von Oxyhämoglobin (Hämoglobin mit gebundenen Sauerstoffmolekülen) und Desoxyhämoglobin (Hämoglobin ohne gebundene Sauerstoffmoleküle) ausgenutzt (Hackett, 2002; Hendricks and King, 1993; Schnapp and Cohen, 1990; Thawley and Waddell, 2013). Oxyhämoglobin absorbiert Licht im Infrarotbereich, Desoxyhämoglobin vor allem Licht aus dem roten Lichtspektrum, weshalb die Sensoren moderner Pulsoxymeter immer mit Licht der Wellenlängen 660 nm (rotes Licht) und 920 nm (Infrarotlicht) ausgestattet sind (Hackett, 2002; Schnapp and Cohen, 1990; Thawley and Waddell, 2013). Da Oxy- und Desoxyhämoglobin bei verschiedenen Säugetieren das gleiche Absorptionsspektrum haben, können die Pulsoxymeter aus der Humanmedizin auch für die veterinärmedizinischen Patienten verwendet werden (Grosenbaugh et al., 1997). Das Licht des Pulsoxymeters wird von einer Lichtquelle aus durch das Gewebe des Patienten gestrahlt, um von dem Photodetektor auf der gegenüberliegenden Seite aufgezeichnet zu werden (Hackett, 2002; Schnapp and Cohen, 1990; Thawley and Waddell, 2013). Um nur die Sauerstoffsättigung aus arteriellem Blut zu erhalten, werden nur pulsierende Lichtimpulse vom Pulsoximeter aufgezeichnet (Grosenbaugh et al., 1997; Hackett, 2002). Zur Berechnung der Sauerstoffsättigung wird das Verhältnis von Oxyhämoglobin und Desoxyhämoglobin herangezogen

(Hackett, 2002; Schnapp and Cohen, 1990). Eine Sauerstoffsättigung von 90 % gilt bereits als Hypoxämie (Hackett, 2002). Der Sensor des Pulsoxymeters kann an vielen verschiedenen Körperstellen angebracht werden. Am besten eignen sich unpigmentierte Haut und Schleimhäute wie z.B. Zunge, Backe, Ohrmuscheln, Pfotenballen, Zwischenzehenhaut und Präputial- bzw. Vulvaschleimhaut (Hendricks and King, 1993; Proulx, 1999; Thawley and Waddell, 2013). Vorsicht ist bei der Interpretation der Ergebnisse der Pulsoxymetrie geboten, wenn der Patient an Anämie, Hypovolämie, Hypothermie oder Ikterus leidet (Hackett, 2002; Proulx, 1999; Schnapp and Cohen, 1990).

1.2. Kapnometrie und Kapnografie

Kohlenstoffdioxid (CO_2) ist ein Stoffwechselendprodukt, das über den Blutkreislauf zu den Alveolen transportiert wird, um dort abgeatmet zu werden (Damian et al., 2024; Hackett, 2002; Thawley and Waddell, 2013). Die Konzentration des ausgeatmeten endtidalen Kohlenstoffdioxids ($ETCO_2$) kann mittels Kapnometer bestimmt und aufgezeichnet werden (Damian et al., 2024; Hackett, 2002). Durch die Kapnometrie kann die Überprüfung der Ventilation, des Stoffwechsels und der Perfusion anhand der CO_2-Konzentration in der Ausatemluft erfolgen (Anderson and Breen, 2000; Damian et al., 2024; Hackett, 2002; Sanders, 1989). Hierfür ist das Kapnometer mit einer Infrarotlichtquelle und einem Detektor ausgestattet (Damian et al., 2024). Anhand der Resorption des Infrarotlichtes durch CO_2 kann dessen Konzentration bestimmt werden (Damian et al., 2024; Hackett, 2002; Thawley and Waddell, 2013). Über einen Kapnographen kann zusätzlich das Verhältnis der CO_2 Konzentration je Zeiteinheit pro Atemzug graphisch dargestellt werden (Damian et al., 2024). Verschiedene Abschnitte des Atemzyklus werden in der Kapnometrie in vier Phasen eingeteilt (Damian et al., 2024; Thawley and Waddell, 2013). Phase 1 entspricht dem Beginn der Exspiration. Es wird zunächst die Luft aus dem Totraum der Lunge ausgeatmet, die nicht am Gasaustausch beteiligt ist und in der Regel kein CO_2 enthält (Damian et al., 2024; Thawley and Waddell, 2013). Der Kapnograph stellt daher eine basale Linie dar. In der zweiten Phase besteht die ausgeatmete Luft aus einer Kombination aus der Luft des Totraumes und Luft, die am Gasaustausch beteiligt war (Damian et al., 2024; Thawley and Waddell, 2013). Der CO_2-Gehalt in der ausgeatmeten Luft steigt daher langsam an, was durch eine leichte Steigung der Kurve dargestellt wird (Damian et al., 2024; Thawley and Waddell, 2013). In der dritten Phase wird nur die Luft

ausgeatmet, die aus den Alveolen stammt und die höchste CO_2-Konzentration enthält, was als Plateau im Kapnogramm zu erkennen ist (Damian et al., 2024; Thawley and Waddell, 2013). Sie wird daher auch als „Alveoläres Plateau“ bezeichnet (Thawley and Waddell, 2013). Das $ETCO_2$, das zur Interpretation herangezogen wird, wird am Ende der Phase 3 bestimmt (Hackett, 2002). Phase 4 repräsentiert den Beginn der nachfolgenden Inspiration und damit auch das langsame Absinken der CO_2-Kurve im Kapnogramm (Damian et al., 2024). Es kann davon ausgegangen werden, dass das $ETCO_2$ mit dem arteriellen Kohlendioxidpartialdruck (pCO_2) korreliert (Damian et al., 2024; Hendricks and King, 1993; Sanders, 1989). Ein Unterschied von ca. 5 mmHg durch den physiologischen alveolären Totraum muss berücksichtigt werden (Damian et al., 2024; Hendricks and King, 1993). Der Referenzbereich der Katze liegt bei 30-35 mmHg (Herbert and Mitchell, 1971). Praktische Anwendung findet die Kapnometrie in der Veterinärmedizin vor allem zur Überwachung der Ventilation während der Anästhesie oder bei Intensivpatienten (Hendricks and King, 1993; Sanders, 1989; Thawley and Waddell, 2013). Um die Kapnometrie durchführen zu können, müssen die Patienten idealerweise endotracheal intubiert sein. Eine Studie berichtet auch über aussagekräftige Werte bei der Messung über nasale Katheter (Kelmer et al., 2009). Veränderungen in der Kapnometrie und -grafie können Hinweise über Hypo- und Hyperventilation, Herz-Kreislauf-Versagen und den richtigen Sitz des endotrachealen Tubus liefern (Damian et al., 2024; Hackett, 2002; Thawley and Waddell, 2013). Auch die Effektivität und Prognose einer kardiopulmonalen Reanimation können durch Kapnometrie bestimmt werden (Anderson and Breen, 2000; Lewis et al., 1992; Sanders, 1989; Thawley and Waddell, 2013).

1.3. Spirometrie

Als nicht-invasives Verfahren zur Lungenfunktionsprüfung ist die Spirometrie in der Humanmedizin weit verbreitet und wird insbesondere als Standardmethode zur Diagnose obstruktiver Atemwegserkrankungen eingesetzt (Crapo, 1994; Liou and Kanner, 2009; Morris, 1976; Zibrak et al., 1990). In der Humanmedizin wird die Spirometrie auch zur Bestimmung von forcierten Atemwegsparametern angewendet (Balakrishnan and Tong, 2020; Liou and Kanner, 2009). Hierfür wird der Patient dazu angehalten, nach einer vollständigen Inspiration kraftvoll und so lange wie möglich auszuatmen (Balakrishnan and Tong, 2020). Kritisch angesehen

wird, dass restriktive Atemwegserkrankungen nicht diagnostiziert werden können (Liou and Kanner, 2009). In der Veterinärmedizin gibt es erhebliche Limitationen im Einsatz der Spirometrie, da aufgrund fehlender Kooperation keine forcierte Atmung möglich ist. Es ist auch in der Veterinärmedizin möglich, die Spontanatmung über Spirometrie aufzuzeichnen. Dabei lassen sich die Messparameter Inspirationszeit (Ti), Exspirationszeit (Te), inspiratorischer Spitzenfluss (PIF), exspiratorischer Spitzenfluss (PEF), Tidalvolumen (TV) und Minutenvolumen (MV) ermitteln, die Rückschlüsse auf das Vorliegen einer Atemwegsobstruktion ermöglichen können (Balakrishnan and Tong, 2020). Dafür wird ein Spirometer, das mit einem Pneumotachograph versehen ist, am endotrachealen Tubus oder an einer Gesichtsmaske angeschlossen (Balakrishnan and Tong, 2020; Rozanski and Hoffman, 1999). Bei der Ein- und Ausatmung werden die Luftflussgeschwindigkeit und das Luftvolumen aufgezeichnet (Balakrishnan and King, 2014; Balakrishnan and Tong, 2020; Reinero, 2011; Rozanski and Hoffman, 1999). Referenzwerte zur Interpretation der Messparameter wurden auch für Hunde und Katzen publiziert (Balakrishnan and Tong, 2020). Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass die am Tier angebrachte Gesichtsmaske zu einem modifizierten Atemmuster führen kann (Gareis and Schulz, 2021).

1.4 . Tidale Atemfluss-Volumen-Schleifen

Die aus der Spirometrie abgeleiteten tidalen Atemfluss-Volumen-Schleifen (TBFVL) stellen einen nicht-invasiven Lungenfunktionstest zur Diagnose von Atemwegsobstruktionen dar (Balakrishnan and Tong, 2020; Hoffman, 2007; McKiernan et al., 1993), bei welchen das Verhältnis zwischen Atemfluss und Volumen in einer Schleife graphisch dargestellt wird (Balakrishnan and Tong, 2020; Hoffman, 2007). Da bei der TBFVL keine aktive Mitarbeit notwendig ist, wird sie nicht nur bei Kleinkindern und kritisch kranken Patienten angewendet (Abramson et al., 1982; Rozanski and Hoffman, 1999), sondern auch in der Veterinärmedizin (Balakrishnan and Tong, 2020). Die Patienten müssen zur Aufzeichnung der Fluss-Volumen-Schleifen eine gut und eng sitzende Gesichtsmaske tragen, die mit einem Pneumotachographen verbunden ist (Balakrishnan and Tong, 2020; Hoffman, 2007; McKiernan et al., 1993; Rozanski and Hoffman, 1999). Die graphische Aufzeichnung des Atemzyklus führt bei gesunden Patienten zu einer typischen D-Form (Rozanski and Hoffman, 1999). Die Inspiration ist als negative Schleife erkennbar, die Exspiration als positive

(Balakrishnan and Tong, 2020; McKiernan et al., 1993). Aus der graphischen Darstellung können fluss- und volumenabhängige Parameter abgeleitet und berechnet werden (Balakrishnan and Tong, 2020; Hoffman, 2007). Der inspiratorische Spitzenfluss kann am Ende der Inspiration bestimmt werden, der exspiratorische zu Beginn der Exspiration (Rozanski and Hoffman, 1999). Die Atemfrequenz wiederum bestimmt die Schleifenform (Rozanski and Hoffman, 1999). Exspirations- und Inspirationszeit können nicht visuell ermittelt werden, sondern müssen über eine Software berechnet werden (Rozanski and Hoffman, 1999). Anhand charakteristischer Veränderungen der Schleifenform können Rückschlüsse auf dynamische oder fixierte Verengungen der oberen und unteren Atemwege geschlossen werden (Balakrishnan and Tong, 2020; Rozanski and Hoffman, 1999). Schleifen, die Artefakte aufgrund von Lautäußerungen und/oder Bewegung enthalten, werden nicht zur Interpretation herangezogen (Rozanski and Hoffman, 1999). Limitationen der TBFVL bestehen aufgrund der geringen Sensitivität, weshalb leichte bis moderate Atemwegsobstruktionen unentdeckt bleiben können (Hoffman, 2007; Rozanski and Hoffman, 1999). Weiterhin setzt das Tragen der Gesichtsmaske, wie auch bei der Spirometrie, die Kooperation bei wachen Tieren voraus und kann hier zu veränderten Atemmustern führen (Gareis and Schulz, 2021).

1.5. Forcierte Oszillationstechnik

Auch die forcierte Oszillationstechnik (FOT) ist eine an die Spirometrie angelehnte, nicht-invasive Messung der Lungenmechanik, bei der keine aktive Mitarbeit gefordert wird (Balakrishnan and Tong, 2020; Goldman et al., 2005; Oostveen et al., 2003b; Reinhold, 1997). Die FOT ermöglicht die Messung der respiratorischen Impedanz (Oostveen et al., 2003b; Reinhold, 1997). Diese setzt sich zusammen aus dem Widerstand und der Reaktanz (Goldman et al., 2005). Die Reaktanz wiederum umfasst zwei Komponenten: die elastische und die inerte (Goldman et al., 2005). Bei der forcierten Oszillationstechnik werden von einem Lautsprecher erzeugte sinusoidale Schwingungen einer bestimmten Frequenz an die Atemwege weitergeleitet (Balakrishnan and Tong, 2020; Oostveen et al., 2003b; Reinhold, 1997). Die Abgabe an die Atemwege erfolgt über eine Gesichtsmaske, ein Mundstück oder einen endotrachealen Tubus (Oostveen et al., 2003b). Durch Spektralanalyse wird eine Interpretation der Ergebnisse möglich (Goldman et al., 2005). Die Schallwellen werden je nach Frequenz an die großen und/oder kleinen

Atemwege geleitet und überlagern dort die Atmung (Balakrishnan and Tong, 2020). Schallwellen mit hoher Frequenz (< 35 Hz) erreichen nur die großen oberen Atemwege, die mit kleiner/niedriger Frequenz (< 15 Hz) auch die kleinen unteren Atemwege, wodurch Veränderungen in den verschiedenen Frequenzbereichen Hinweise auf den Ort der Atemwegsverengung geben können (Balakrishnan and Tong, 2020; Goldman et al., 2005). Limitationen im Luftfluss in den kleinen Atemwegen führen zu Veränderungen der niederfrequenten Schallwellen (5-15 Hz), die in den großen Atemwegen zu Veränderungen niedriger und hoher Frequenzen (5-35 Hz) (Goldman et al., 2005). In der Humanmedizin wird die FOT häufig zur Überwachung des Schlafes und der mechanischen Beatmung angewendet (Oostveen et al., 2003b). In der Veterinärmedizin wurde die FOT bereits bei Kälbern (Close et al., 1994; Reinhold, 1993; Reinhold et al., 1994; Reinhold et al., 1996a; Reinhold et al., 1996b; Reinhold et al., 1998), Pferden (Lo Feudo et al., 2024; Mazan et al., 2003; Onmaz et al., 2013), Hunden (Clercx et al., 1993) und Mäusen (Lofgren et al., 2006) eingesetzt. Durch die FOT ist keine Unterscheidung zwischen obstruktiven und restriktiven Atemwegserkrankungen möglich (Balakrishnan and Tong, 2020; Oostveen et al., 2003a), was einen Nachteil dieser Messmethode darstellt. Eine Abwandlung der FOT ist die Impulsoszillometrie. Der Unterschied liegt in der Verabreichung der Druckimpulse. Bei der Impulsoszillometrie werden diese durch impulsförmige Schwingungen erzeugt (Winkler et al., 2009).

1.6. Barometrische Ganzkörperplethysmographie

Eine bei Kleintieren besonders gut tolerierte Lungenfunktionsdiagnostik (Lin et al., 2014; Lin et al., 2015), bei der sich die Tiere innerhalb einer luftdicht geschlossenen Kammer im wachen Zustand frei bewegen können, ist die barometrische Ganzkörperplethysmographie (BWBP) (Rozanski and Hoffman, 1999). Ursprünglich stammt die BWBP aus der Humanmedizin (Drorbaugh and Fenn, 1955). Für die Messung setzt sich der Patient in der Humanmedizin in die Kammer und atmet über ein Mundstück (Balakrishnan and Tong, 2020). Damit die BWBP auch in der Tiermedizin eingesetzt werden konnte, musste das Vorgehen angepasst werden (Balakrishnan and Tong, 2020; Hoffman, 2007; Lin et al., 2014). An der Kammerwand wird zum Luftaustausch und zur Wahrnehmung der Signale ein Pneumotachograph angebracht (Balakrishnan and Tong, 2020; Data Sciences, 2017). Die Messungen werden über einen Druckumwandler an ein Softwaresystem

weitergeleitet (Balakrishnan and Tong, 2020; Data Sciences, 2017; Rozanski and Hoffman, 1999; Rozanski and Hoffman, 2004). Die Bestimmung der Lungenfunktion anhand der BWBP basiert auf Druckschwankungen innerhalb der luftdicht verschlossenen Kammer (Balakrishnan and Tong, 2020). Die Druckschwankungen kommen durch zwei verschiedene Ereignisse zustande: durch Thoraxbewegungen und den nasalen Atemfluss (Balakrishnan and Tong, 2020). Zudem dehnt sich Luft, die bei der Inspiration erwärmt und befeuchtet wird, aus. Ausgeatmete Luft hingegen nimmt durch Kühlung und Kondensation weniger Raum in Anspruch (Drorbaugh and Fenn, 1955; Lim et al., 2014). Bei der BWBP können gemessene und berechnete Messparameter bestimmt werden. Bei den möglichen, durch die BWBP aufgezeichneten Messparametern, handelt es sich um Atemfrequenz (AF), Tidalvolumen (TV), Minutenvolumen (MV), Inspirationszeit (Ti), Exspirationszeit (Te), inspiratorischen Spitzenfluss (PIF), exspiratorischen Spitzenfluss (PEF), Relaxationszeit (RT), Minutenvolumen (MV), endinspiratorische Pause (EIP) und endexspiratorische Pause (EEP) sowie die berechneten Parameter Pause (Pau) und verstärkte Pause (Penh) (Data Sciences, 2017). Da die Messparameter in der Messkammer nicht nur durch den Atemfluss zustande kommen, sondern auch von der Thoraxbewegung beeinflusst werden, spricht man bei den Messwerten der BWBP von „pseudo-flows“ (Balakrishnan and Tong, 2020; Hoffman et al., 1999a). Der Atemwegswiderstand soll bei der BWBP anhand dem einheitslosen, berechneten Parameter „verstärkte Pause“ (Penh) bestimmt werden (Balakrishnan and Tong, 2020). Es muss berücksichtigt werden, dass die BWBP eine geringe Sensitivität für die Diagnose von Atemwegsobstruktionen aufweist (Hirt et al., 2008).

2. Einflussfaktoren auf Messparameter der Ganzkörperplethysmographie

Durch verschiedene Studien an Katzen sowie weiteren Säugetieren konnte festgestellt werden, dass es unterschiedliche Faktoren gibt, die die Messparameter der BWBP beeinflussen (Flandre et al., 2003; Garcia-Guasch et al., 2015; Kirschvink et al., 2006b; Liu et al., 2016). Im Folgenden wird auf die Einflussfaktoren Wachstum und Alter, Geschlecht, Gewicht, zirkadianer Rhythmus, Schädelkonformationen, Medikamente, Bronchoprovokationen, Akklimatisierungszeit und Stress genauer eingegangen.

2.1. Wachstum und Alter

Auch nach der Geburt ist die Entwicklung der Lunge und der oberen Atemwege bei Säugetieren noch nicht abgeschlossen (Sprung et al., 2006). Während des Wachstums von Säugetieren ist daher von anderen Referenzwerten der Lungenfunktionsparameter und unterschiedlicher Atemwegsreaktivität im Vergleich zu ausgewachsenen Individuen auszugehen (Children, 1990; Kirschvink et al., 2007a; Kirschvink et al., 2006b; Lekeux et al., 1984; McKenzie et al., 2010; Schulz et al., 2002; Shen et al., 1996). Wie lange mit einem Einfluss des Wachstums zu rechnen ist, ist abhängig von der Entwicklung der jeweiligen Spezies. Beim Menschen werden 20-25 Jahre angegeben (Janssens et al., 1999). Bei der Katze kann man eine Stabilisierung der Werte mit ca. acht Monaten erwarten (Kirschvink et al., 2006b). In einer bei Katzen durchgeführten Studie konnten im Alter von drei Monaten die höchsten Werte von TV, MV, PIF und PEF gemessen werden (Kirschvink et al., 2006b). Im weiteren Wachstum sanken die Werte langsam ab und stabilisierten sich im Alter zwischen fünf und 13 Monaten (Kirschvink et al., 2006b). Weiterhin konnte ein Einfluss des Wachstums auf Parameter der Lungenfunktion bei Kälbern (Gustin et al., 1988; Lekeux et al., 1984), Kaninchen (Shen et al., 1996), Kindern (Mortola, 1991) und Mäusen (Flandre et al., 2003) festgestellt werden. Auch durch den Alterungsprozess muss mit Veränderungen des gesamten Atmungsapparates und damit einhergehenden Modifikationen des Atemmusters gerechnet werden. Strukturen, die einer altersabhängigen Veränderung unterliegen, sind die Thoraxwand, die Muskulatur, das Lungenparenchym und die Rezeptoren der Atemwege (Hirt et al., 2003; Janssens et al., 1999; Sprung et al., 2006). Die Kraft der Atemmuskulatur, die vor allem zur Inspiration verwendet wird, schwindet mit dem Alter, die Compliance der Thoraxwand nimmt ab und die elastischen Knorpel der Lunge verlieren an Elastizität (Hirt et al., 2003; Janssens et al., 1999; Sprung et al., 2006). Damit steigt das Residualvolumen an und die Vitalkapazität nimmt ab (Janssens et al., 1999). Die signifikante Veränderung der exspiratorischen Spitzenflussrate im Alter spricht für eine Verengung der kleinen peripheren Atemwege (Janssens et al., 1999). Altersabhängige Veränderungen von Lungenfunktionsparametern wurden beim Menschen (Fowler et al., 1987; Horsley et al., 1993; Janssens et al., 1999; Sprung et al., 2006), Mäusen (McKenzie et al., 2010; Receno et al., 2020) und Katzen (Hirt et al., 2003) beobachtet. Bei BWBP Untersuchungen von Katzen konnte festgestellt werden, dass junge Katzen ein niedrigeres Tidalvolumen, eine höhere

Atemfrequenz und eine geringere Atemwegsreaktivität (C-Penh300) aufweisen (Hirt et al., 2003).

2.2. Geschlecht

Dass das Geschlecht die Lungenfunktionsparameter beeinflussen kann, wurde in Studien an Menschen (Jacobs Jr et al., 1992; Thurlbeck, 1982), Katzen (Kirschvink et al., 2006b) und Mäusen (Rascedilla˜ id et al., 2012) nachgewiesen. Bei Katzen konnte festgestellt werden, dass es bei BWBP-Messungen bei männlichen Tieren im Vergleich zu weiblichen zu einer signifikanten Erhöhung von TV, MV, PIF und PEF kam (Kirschvink et al., 2006b). Alle genannten/beeinflussten Parameter sind gewichtsabhängig, weshalb die Veränderung vor allem mit dem höheren Gewicht männlicher Tiere zu begründen ist (Kirschvink et al., 2006b). Ähnliche Ergebnisse konnten in Studien aus der Humanmedizin gewonnen werden. In diesen Studien wurde herausgefunden, dass Männer ein größeres Lungenvolumen (Thurlbeck, 1982), eine höhere forcierte Vitalkapazität und ein höheres forciertes exspiratorisches Volumen in 1 Sekunde (Falaschetti et al., 2004b) im Vergleich zu Frauen haben. Auch bei Mäusen wurden geschlechtsabhängige Unterschiede festgestellt (Flandre et al., 2003; Rascedilla˜ id et al., 2012; Schulz et al., 2002). So haben männliche Tiere eine höhere Atemfrequenz und ein niedrigeres Penh und weibliche Tiere ein größeres Lungenvolumen (Flandre et al., 2003).

2.3. Gewicht

Übergewicht hat nachgewiesenermaßen Auswirkungen auf die Lungenfunktion von Menschen (Lazarus et al., 1997), Hunden (Manens et al., 2012; Talavera et al., 2006) und Katzen (Garcia-Guasch et al., 2015). Fettleibigkeit wirkt sich auf verschiedenen Ebenen auf die Atemwege aus und gilt als prädisponierender Faktor für Atemwegserkrankungen (Murugan and Sharma, 2008). Die übermäßige Ansammlung von Fettgewebe an Thorax, Brust und Bauch erschwert die Atemmechanik und erhöht den intraabdominalen Druck (García-Guasch et al., 2015; Manens et al., 2012; Parameswaran et al., 2006). Die Lungencompliance und Muskelkraft sind reduziert (García-Guasch et al., 2015; Parameswaran et al., 2006). Fettgewebe wirkt als endokrines Organ und sezerniert Adipokine – hormonähnliche Botenstoffe, die den Energiestoffwechsel beeinflussen und entzündliche Prozesse fördern können (German et al., 2010; Sideleva et al., 2012; Van de Velde et al., 2013; Van Den Borst et al., 2013). Folglich vollziehen übergewichtige Individuen

keine vollständige Exspiration, was nicht nur zu einer dynamischen Hyperinflation der Lunge führt, sondern auch zur intensiveren Belastung der inspiratorischen Muskulatur und damit schnelleren Erschöpfung (Farah and Salome, 2012; García-Guasch et al., 2015; Murugan and Sharma, 2008). Auswirkungen von Gewicht auf Messparameter der BWBP wurden bei Hunden (Manens et al., 2012; Talavera et al., 2006) und Katzen (García-Guasch et al., 2015) beschrieben. Sowohl bei Katzen, als auch bei Menschen und Hunden führt Übergewicht zu einer signifikanten Reduktion von TV bzw. TV/BW (Garcia-Guasch et al., 2015; Littleton, 2012; Manens et al., 2012). Bei Katzen und Hunden wurde weiterhin eine Reduktion von PEF und PIF beschrieben (Garcia-Guasch et al., 2015; Talavera et al., 2006) . Ursache dieser Veränderungen ist eine dynamische Obstruktion der distalen Atemwege (Garcia-Guasch et al., 2015). Eine Beeinflussung von Penh durch das Gewicht konnte hingegen nicht festgestellt werden (García-Guasch et al., 2015).

2.4. Zirkadianer Rhythmus

Organismen werden endogen durch einen Tagesrhythmus gesteuert. Auch die Atmung unterliegt einem zirkadianen Rhythmus (Spengler and Shea, 2000). Insbesondere Menschen mit Asthma schildern Symptome, die im Zusammenhang mit dem Tagesverlauf auftreten (D'ALONZO and Smolensky, 1991; Dethlefsen, 1985; Spengler and Shea, 2000; Turner-Warwick, 1988). Angegeben werden Verschlechterungen der Symptomatik vor allem über die frühen Morgenstunden (D'ALONZO and Smolensky, 1991; Turner-Warwick, 1988). Auch gesunde Erwachsene zeigen geringe, aber signifikante Veränderungen der Lungenfunktionsparameter in Abhängigkeit vom Tagesrhythmus (Spengler and Shea, 2000). Ergebnisse einer Studie bestätigen, dass die Variationen nicht durch das veränderte Aktivitätslevel ausgelöst werden (Spengler and Shea, 2000).

Bei plethysmographischen Untersuchungen gesunder Katzen konnte festgestellt werden, dass die Messparameter Penh, AF, Ti, Te, Tr, PIF und PEF vom zirkadianen Rhythmus beeinflusst sind (Kirschvink et al., 2006b). Veränderungen der Messparameter sind vor allem in den frühen Morgenstunden zu erwarten (Kirschvink et al., 2006b). Bei BWBP-Messungen, die tagsüber durchgeführt wurden, war keine weitere Beeinflussung durch den zirkadianen Rhythmus wahrnehmbar (Kirschvink et al., 2006b).

2.5. Schädelkonformation

Eine Art der Schädelkonformation ist die Brachyzephalie. Brachyzephalie ist ein Zustand, der durch eine verkürzte Schnauze zustande kommt (Emmerson, 2014). Folge der Brachyzephalie kann das brachyzephale obstruktive Atemwegssyndrom (BOAS) sein, das stenotische Nasenlöcher, verlängerte weiche Gaumen, komprimierte Nasenmuscheln, Makroglossie, Tonsillenhypertrophie und Kehlkopfkollaps beinhalten kann (Hendricks, 1992; Krainer and Dupré, 2022; Wallace, 2024) und zu Atemwegsobstruktionen und -erkrankungen führt (Farnworth et al., 2016; Schlueter et al., 2009). BOAS wurde bei Katzen (Farnworth et al., 2016) und Hunden (O'Neill et al., 2015; Oechtering, 2010) beschrieben. Eine Möglichkeit, die Atemwegsobstruktion bei BOAS zu diagnostizieren, ist über die BWBP (Liu et al., 2016). Bei plethysmographischen Messungen brachyzephaler Hunde konnte festgestellt werden, dass diese ein signifikant niedrigeres Verhältnis von Te/Ti haben sowie signifikant höhere Werte für PIF/BW, PEF/BW, PEF/PIF und Pause im Vergleich zu gesunden Hunden aufweisen (Bernaerts et al., 2010). Weiterhin konnten auch bei asymptomatischen/nicht an BOAS leidenden brachyzephalen Hunderassen Veränderungen plethysmographischer Messparameter im Vergleich zu nicht brachyzephalen Hunden nachgewiesen werden (Liu et al., 2016). So zeigten asymptomatische brachyzephale Hunde ein signifikant niedrigeres MV/BW und ein höheres PIF/PEF Verhältnis (Liu et al., 2016).

2.6. Medikamente

In vielen Studien zur BWBP werden verschiedene Medikamente angewandt, um deren Reaktion auf die Atemwege und die Messparameter zu untersuchen. Häufig angewandte Medikamente sind Bronchodilatatoren sowie Glukokortikoide.

2.6.1. Bronchodilatatoren

Zur Bronchodilatation werden in vielen Studien bei verschiedenen Säugetieren zum Einsatz der BWBP die Wirkstoffe Salbutamol bzw. Albuterol (Hamelmann et al., 1997; Kirschvink et al., 2005, 2007b; Leemans et al., 2009), Salmeterol (Borrill et al., 2008; Leemans et al., 2009), Clenbuterol (Halloy et al., 2004), Tiotropium (Borrill et al., 2008) und Ipratropium (Kirschvink et al., 2005; Leemans et al., 2009) verwendet. Es wird zur Untersuchung der Effektivität dieser Bronchodilatatoren auf diese Weise experimentell eine Bronchoprovokation ausgelöst (Hamelmann et al.,

1997; Hirt et al., 2003; Hoffman et al., 1999a). Eine Studie bei Katzen konnte zeigen, dass eine durch Bronchoalveolarlavage verursachte Bronchokonstriktion durch vorherige Verabreichung von Salbutamol in Kombination mit Ipratropium verhindert werden kann. In der BWBP konnte dies durch eine signifikante Reduktion von Penh nachgewiesen werden (Kirschvink et al., 2005). Vergleichbare Ergebnisse erzielte eine weitere Studie, bei der der Einsatz von Salbutamol zu einer signifikanten Erhöhung von C-Penh300 und damit einer verringerten Atemwegsreaktivität führte (Kirschvink et al., 2007b). Ähnliche Reaktionen konnten auch bei der Anwendung von Bronchodilatatoren bei Mäusen und Menschen nachgewiesen werden (Borrill et al., 2008; Hamelmann et al., 1997). In der Humanmedizin konnte bei an COPD erkrankten Menschen eine signifikante Reduktion des forcierten exspiratorischen Volumen in 1 Sekunde durch Anwendung der Wirkstoffe Salmeterol und Tiotropium erreicht werden (Borrill et al., 2008). Auch bei präventiv angewendetem Albuterol vor einer Bronchoprovokation mit Methacholin, konnte bei Mäusen ein signifikant niedrigeres Penh nachgewiesen werden im Vergleich zu der Messung ohne Bronchialerweiterer (Hamelmann et al., 1997). Bei Schweinen konnte durch Clenbuterol ein Anstieg von Penh bei Anwendung von Acetylcholin verhindert werden (Halloy et al., 2004).

2.6.2. Glukokortikoide

Sterile Entzündungen der unteren Atemwege bei Katzen können effektiv durch die Anwendung von Glukokortikoiden behandelt werden (Kirschvink et al., 2006a). Nachgewiesen werden kann ein Therapieerfolg über die BWBP-Messung, bei welcher durch Anwendung des inhalativen Glukokortikoids Fluticason ein signifikanter Anstieg von C-Penh300 bei Katzen mit chronischer Bronchitis nachgewiesen wurde (Kirschvink et al., 2006a). Einen Anstieg von C-Penh300, sowie eine signifikante Reduktion von Penh, konnten bei der Anwendung von inhalativem Budesonid bei Katzen mit entzündlichen Erkrankungen der unteren Atemwege erreicht werden (Galler et al., 2013; Gareis et al., 2022). Weiterhin konnte eine signifikante Reduktion der Messparameter PEF/EF50 und PEF/EF25 unter der Gabe von Glukokortikoiden bei Katzen festgestellt werden (Lin et al., 2015). Auch in der Humanmedizin wird eine Reduktion des Atemwegswiderstands durch den Einsatz von Budesonid beschrieben, der mit einer Reduktion des spezifischen Atemwegswiderstands (sRaw) bestätigt werden kann (Lajqi et al.,

2015).

2.7. Bronchoprovokation

In Studien zu verschiedenen Spezies, in denen die BWBP als diagnostische Untersuchung eingesetzt wird, werden Bronchoprovokationen durchgeführt, um die Wirkung von Glukokortikoiden und Bronchodilatatoren zu untersuchen und um den Einfluss der Bronchoprovokation auf die Messparameter festzustellen (Halloy et al., 2004; Hirt et al., 2003; Hirt et al., 2011; Hoffman et al., 1999a; Kirschvink et al., 2006a; Talavera et al., 2006). Zur Bronchoprovokation bei Katzen, Hunden und Schweinen werden v.a. Adenosin-5‘-Monophosphat (Hirt et al., 2011), Carbachol (Hirt et al., 2003; Hoffman et al., 1999a; Kirschvink et al., 2006a), Acetylcholin (Halloy et al., 2004) und Histamin (Talavera et al., 2006) verwendet. Bei gesunden Hunden führte die Verneblung von Histamin bei der BWBP zu einem signifikanten Anstieg von PEF, PEF/PIF und Penh (Talavera et al., 2006). In Studien mit Einsatz der BWBP bei Katzen wird häufig Carbachol verabreicht, um das basale Penh um 300 % zu erhöhen, wodurch man den Messparameter C-Penh300 erhält (Hirt et al., 2003; Kirschvink et al., 2006a). Die Verneblung von Carbachol führt zudem zu einem signifikanten Anstieg von PEF und PIF, Penh, Pause und EEP bei gesunden Katzen (Hoffman et al., 1999b). Durch die Inhalation von Adenosin-5‘-Monophosphat wird ein signifikanter Anstieg von Penh bei Katzen mit Atemwegserkrankungen verursacht (Hirt et al., 2011). Auch bei Schweinen wurde eine experimentell herbeigeführte Bronchoprovokation durch die Verneblung von Acetylcholin ausgelöst und bewirkte einen signifikanten Anstieg von Penh (Halloy et al., 2004).

2.8. Akklimatisierungszeit und Stress

Stress beeinflusst nachweislich die Messparameter der BWBP beim Menschen (Boiten et al., 1994; Ritz et al., 2011b; Wientjes et al., 1998). In humanmedizinischen Studien wurde herausgefunden, dass akuter Stress bei asthmatischen und gesunden Probanden zu einer signifikanten Erhöhung von TV (Ritz et al., 2011b), MV (Boiten et al., 1994) und PIF (Ritz et al., 2011b) führt. Bei gesunden Menschen ist unter dem Einfluss von Stress außerdem mit einer signifikant längeren In- und Exspiration zu rechnen (Ritz et al., 2011a; Wientjes, 1993). Da fremde Umgebungen für Tiere oft einen Auslöser für akuten Stress darstellen (Ellis et al., 2013; Hewson, 2008; McCune, 1994; Riemer et al., 2021;

Rodan et al., 2011a), ist davon auszugehen, dass Tiere auch in der plethysmographischen Messkammer zunächst Stress empfinden und damit auch die Messparameter der BWBP beeinflusst werden. Zur Gewöhnung von Tieren an die plethysmographischen Messbedingungen/Kammer wurden in vergangenen Studien bei Katzen verschiedene Akklimatisierungszeiten verwendet (García-Guasch et al., 2015; Garcia-Guasch et al., 2012; Lin et al., 2016). Bei der BWBP bei Mäusen wurde berichtet, dass eine Stabilisierung der Messparameter nach 15 Minuten in der plethysmographischen Kammer eintrat. Von der Akklimatisierungszeit beeinflusst waren die Messparameter AF, MV, Te, PEF, PIF und Tr (Quindry et al., 2016).

3. Stress

Stress ist eine bei allen Säugetieren natürlich vorkommende Reaktion auf lebensbedrohliche Umstände und hat sowohl Einfluss auf Vitalparameter als auch auf das Verhalten jedes Individuums. Bei Katzen stellt vor allem auch der Tierarztbesuch sowie der Transport ein Auslöser für eine Stressreaktion dar (Hewson, 2008; Horwitz and Rodan, 2018; Nibblett et al., 2015; Pratsch et al., 2018; Quimby et al., 2011; Riemer et al., 2021).

3.1. Definition

Als Stress wird eine tatsächliche oder erwartete intrinsische oder extrinsische Bedrohung der Homöostase und damit der Lebensfähigkeit eines Organismus bezeichnet (Chrousos, 2009; Herman et al., 2016; Selye, 1951; Tsigos et al., 2020; Ulrich-Lai and Herman, 2009; Yaribeygi et al., 2017). Die Bedrohung kann dabei auf physische Veränderungen zurückgeführt werden, wie z.B. Blutverlust, Schmerzen oder Entzündungen (Blanchard et al., 2001; Selye, 1950; Selye and Fortier, 1950). Aber auch psychische Belastungen, wie unbekannte Umgebungen/Situationen sowie Ängste können zu einer Stressreaktion im Körper führen (Blanchard et al., 2001; Selye, 1950; Selye and Fortier, 1950). Der Auslöser dieser Reaktion wird als „Stressor“ bezeichnet (Herman et al., 2016; Perdrizet, 1997; Selye, 1950). Das Ziel eines Organismus ist es, angemessen auf Stressoren reagieren zu können, um die Homöostase im Gleichgewicht zu halten und so lebensbedrohliche Zustände zu vermeiden (Chrousos, 2009; Tsigos et al., 2020; Ulrich-Lai and Herman, 2009). Um dies gewährleisten zu können, werden neuronale, endokrine und verhaltensbezogene Reaktionen im Körper ausgelöst

(Chrousos, 2009; Gaidica and Dantzer, 2020; Levine, 1985; Miller and O'Callaghan, 2002). Diese Reaktionen werden als „Stressantwort“ bezeichnet (Chrousos, 2009; Herman et al., 2016; Miller and O'Callaghan, 2002; Yaribeygi et al., 2017). Ob das Auslösen einer Stressreaktion notwendig ist, wird von verschiedenen Regionen im Gehirn beurteilt (McEwen, 2007; Ulrich-Lai and Herman, 2009). Je nach Erfahrung und Genetik, sowie Art und Intensität des jeweiligen Stressors, können Bedrohungen individuell beurteilt werden (Herman et al., 2016; Rose, 1980; Tsigos et al., 2020). Auch eine Gewöhnung an den jeweiligen Stressor ist möglich (Levine, 1985; Miller and O'Callaghan, 2002; Ulrich-Lai and Herman, 2009). So führt jeder Stressor, je nach Art, Intensität und Erfahrung des jeweiligen Organismus, auch zu einer individuellen Stressreaktion (Herman et al., 2003; Ulrich-Lai and Herman, 2009). Stressoren können durch den Hirnstamm, das limbische System und/oder den Hypothalamus wahrgenommen werden (Herman et al., 2003), woraufhin die Hypothalamus-Hypophysen-Achse und das autonome Nervensystem aktiviert werden (Herman et al., 2016; Lazarus et al., 1963; McEwen, 2007; Miller and O'Callaghan, 2002; Ulrich-Lai and Herman, 2009). Die Stressreaktion ist von Alter sowie Geschlecht beeinflussbar (Herman et al., 2016; Viau and Meaney, 1996).

3.2. Auswirkungen von Stress auf Vitalparameter

Um angemessen auf einen Stressor reagieren zu können, werden Stressreaktionen im Körper ausgelöst. Nachdem der Hirnstamm und/oder das limbische System einen intrinsischen oder extrinsischen Stressor wahrgenommen haben (Ulrich-Lai and Herman, 2009), wird der Fokus auf lebenswichtige Vorgänge umgeleitet und verschiedene Stressreaktionen ausgelöst (Tsigos et al., 2020). Nicht notwendige energieverbrauchende Vorgänge wie Fortpflanzung, Verdauung und Wachstum werden unterdrückt (Tsigos et al., 2020). Neben der Wiederherstellung der Homöostase werden auch Veränderungen des Verhaltens eingeleitet, die so genannten „Fight or Flight“ Reaktionen (Herd, 1991; McEwen, 2007). Der Hirnstamm wird bei Stress vor allem auf zwei verschiedene Arten angeregt: durch aufsteigende katecholaminerge Neurone des Hirnstamms (*Nucleus tractus solitarii*) und des *Locus coeruleus* (Tsigos et al., 2020; Ulrich-Lai and Herman, 2009) oder direkt durch psychogene Stressoren (Gray et al., 1989). Die Amygdala und der Hippocampus können durch aufsteigende katecholaminerge Neurone aus dem Hirnstamm oder direkt durch emotionale Stressoren aktiviert werden (Gray et al.,

1989). Bei erwarteten psychogenen Bedrohungen ist es die Aufgabe der Amygdala und weiterer limbischer Gehirnregionen (Hippocampus, Präfrontaler Kortex), diese anhand von Erfahrungen, Gedächtnis und Genetik zu verarbeiten und entsprechende Reaktionen einzuleiten (Herman et al., 2003; Tsigos et al., 2020). Schlüsselkomponente der Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HHN-Achse) ist das Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) (Antoni, 1986; Miller and O'Callaghan, 2002; Spiess et al., 1981; Tsigos et al., 2020), das vom *Nucleus paraventricularis* des Hypothalamus freigesetzt wird (Antoni, 1986; Herman et al., 2016; Miller and O'Callaghan, 2002). Außerdem wird von einigen Neuronen des *Nucleus paraventricularis* auch Vasopressin ausgeschüttet (Gillies et al., 1982; Miller and O'Callaghan, 2002), was die Stressantwort unterstützt (Gillies et al., 1982). CRH führt dann an der Hypophyse zur Ausschüttung des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) (Herman et al., 2016; Miller and O'Callaghan, 2002; Tsigos and Chrousos, 1994). An der Nebennierenrinde führt ACTH zur Sekretion von Glukokortikoiden und Mineralokortikoiden (Tsigos et al., 2020). Glukokortikoide stellen das Endprodukt der HHN-Achse dar (Herman et al., 2016; Miller and O'Callaghan, 2002; Tsigos et al., 2020). Durch die Glukokortikoide wird dem Körper Energie zur Verfügung gestellt, indem die Glukoneogenese und Lipolyse angeregt werden (Miller and O'Callaghan, 2002; Selye, 1951; Tsigos et al., 2020). Das Immunsystem wiederum wird kurzzeitig inhibiert (Padgett and Glaser, 2003; Reiche et al., 2004) und Entzündungen werden gehemmt (Haas et al., 2022). Weiterhin führen die Glukokortikoide am Nebennierenmark zur Freisetzung von Adrenalin (Miller and O'Callaghan, 2002). Die höchsten Glukokortikoidwerte sind ca. 10 Minuten nach Stressinitiation bei Menschen zu erwarten (Droste et al., 2008). Die Aktivierung des autonomen Nervensystems ist ein weiterer maßgeblicher Faktor der Stressantwort. Dadurch wird das sympatho-adrenomedulläre-System (SAM) aktiviert, das zur Freisetzung von Katecholaminen (v.a. Epinephrin) am Nebennierenmark führt (Gaidica and Dantzer, 2020; Hjemdahl et al., 1984). Katecholamine haben durch ß-Rezeptoren direkte Einwirkung auf die Herzaktivität (Herd, 1991). Durch Bindung an die Rezeptoren wird die Kontraktilität der Herzmuskulatur und damit auch die Herzfrequenz (Cyr and Romero, 2009; Hall et al., 2004; Herd, 1991; Herman et al., 2016; Hjemdahl et al., 1984; Sherwood et al., 1986; Vrijkotte et al., 2000) und das Herzminutenvolumen (Herd, 1991; Selye, 1951; Sherwood et al., 1986) gesteigert. Der direkte Einfluss von Stress wird durch

einen erhöhten Blutdruck deutlich, der durch die Kortisolausschüttung sowie das gesteigerte Herzminutenvolumen zustande kommt (Brod et al., 1959; Cannon, 1953; Herd, 1991; Herman et al., 2016; Hilton, 1982; Hjemdahl et al., 1984; Laitinen et al., 1999; Selye, 1951). Auch die Atemfrequenz steigt unter Einfluss von Stress an (Tsigos et al., 2020).

Die durch Stress ausgeösten „Fight or Flight“ Reaktionen werden durch den Hypothalamus gesteuert (Abrahams et al., 1960; Abrahams et al., 1964; Coote et al., 1973). Der Hypothalamus aktiviert über das autonome Nervensystem und motorische Bahnen die Skelettmuskulatur (Hilton, 1982). Da viele CRH Rezeptoren in der Amygdala angesiedelt sind (Kasckow et al., 2001), spielt CRH auch eine wichtige Rolle bei charakteristischen stressbedingten Verhaltensmustern (Dunn and Berridge, 1990).

Es ist bekannt, dass es bei Katzen während des Tierarztbesuchs zu einer Erhöhung der Atemfrequenz, der Herzfrequenz, des Blutdrucks und der Körpertemperatur kommt (Nibblett et al., 2015; Quimby et al., 2011). Diese Veränderungen der Vitalparameter während des Aufenthalts in der Tierarztpraxis resultieren aus der Stressreaktion und können die Unterscheidung von krankheitsbedingten Veränderungen der Vitalparameter erschweren (Quimby et al., 2011).

3.3. Stressauslöser bei Katzen

Welche Bedrohung bei der einzelnen Katze zu einer Stressreaktion führt, hängt, wie oben beschrieben, individuell von Erfahrung, Sozialisierung, Charakter und Genetik ab (Horwitz and Rodan, 2018; Koolhaas et al., 1999; McCune, 1994; Steimer, 2002). Insbesondere der Tierarztbesuch ist jedoch mit vielen ungewohnten Reizen verbunden und birgt ein hohes Potential, bei Katzen Stress auszulösen (Hewson, 2008; Horwitz and Rodan, 2018; Nibblett et al., 2015; Pratsch et al., 2018; Quimby et al., 2011; Riemer et al., 2021). Dies wird auch durch eine Studie bestätigt, die ergab, dass 88,7 % aller Katzen während eines Tierarztbesuchs eine Stressreaktion zeigen (Karn-Buehler and Kuhne, 2022). Ein maßgeblicher Faktor, der eine Stressreaktion bei einer Katze auslösen kann, ist das Einsperren in eine Transportbox (Dybdall et al., 2007; McCune, 1994). Die Tiere sind in ihrem natürlichen Verhalten eingeschränkt und können der Situation nicht entkommen (Lloyd, 2017; McCune, 1994). Je nach Persönlichkeit passen sich einige Katzen schnell an die Situation an und entspannen sich sogar, während andere Individuen

nur schwer mit der Situation umgehen können (McCune, 1994). Generell können neue Umgebungen Stress bei Katzen verursachen, weshalb jeder Standortwechsel zu einer erneuten Stressreaktion führen kann (Ellis et al., 2013; McCune, 1994; Pratsch et al., 2018; Rodan et al., 2011b). In der Tierarztpraxis kommt erschwerend hinzu, dass die Katzen mit fremden Menschen, Tieren, Gerüchen und Geräuschen konfrontiert werden. All diese Faktoren stellen potentielle Stressoren bei der Katze dar (Mills et al., 2012; Overall, 2013; Pratsch et al., 2018). Weiterhin zählt die Konfrontation mit Hunden zu den stärksten Stressfaktoren für Katzen (McCobb et al., 2005; Overall, 2013). Kranke Katzen gelten als anfälliger für Stress als gesunde (McCobb et al., 2005). Weiterhin ist ein Tierarztbesuch meist mit Handling und teilweise Schmerzen verbunden, was zu negativen Erfahrungen führt. Wurde bereits eine negative Erfahrung in einer Tierarztpraxis erlebt, werden zukünftige Besuche mit noch mehr Stress verbunden sein (Lloyd, 2017). Auch die Trennung von Hausgenossen kann eine Stressreaktion begünstigen (McCobb et al., 2005). Es variiert individuell, ob eine Katze Stress empfindet, wenn sie vom Besitzer getrennt wird (Lloyd, 2017).

3.4. Äußere Anzeichen von Stress bei Katzen

Grundsätzlich ist wichtig zu beachten, dass die Verhaltensreaktion auf einen Stressor individuell abhängig von der Persönlichkeit, dem Temperament, der Genetik, Erfahrungen und der Sozialisierung ist (Horwitz and Rodan, 2018; Iki et al., 2011; Koolhaas et al., 1999; Steimer, 2002). Es gibt zwei unterschiedliche Arten, wie Katzen mit ihrem Verhalten auf Stress reagieren können (McCune, 1994). Der eine Katzentyp ist inaktiv und defensiv, versucht sich zu verstecken, ist ruhig aber angespannt (Lloyd, 2017; McCune, 1994). Der zweite Typ hingegen ist aktiv und offensiv, häufige Lautäußerungen und Fluchtversuche sind üblich (Lloyd, 2017; McCune, 1994). Vor allem bei inaktiven Katzen ist es schwierig, die Körpersprache eindeutig zu identifizieren und zu interpretieren. Körperteile, die entscheidend für die Interpretation des Stresslevels sind, sind Augen, Ohren, Vibrissen, Kopfhaltung, Schwanz, Pfoten und die Körperhaltung (McCune, 1994). Bei Stress werden die Ohren nach hinten gelegt, die Vibrissen nach vorne und es kommt zur Mydriasis (Horwitz and Rodan, 2018; Nibblett et al., 2015; Riemer et al., 2021; Rodan et al., 2011a). Je nach Typ der Katze wird der Schwanz angespannt an den Körper angelegt oder es wird mit dem Schwanz geschlagen (Rodan, 2010). Offensive Katzen haben das Ziel, groß und bedrohlich zu wirken, in dem sie auf die

Zehenspitzen stehen, den Rücken aufwölben, den Schwanz gerade nach hinten halten und die Haare aufstellen (Lloyd, 2017; Rodan, 2010). Defensive und ängstliche Katzen haben die Intention, sich zu verstecken und unsichtbar zu machen, weshalb der Kopf gesenkt wird, der Schwerpunkt des Körpers sich nach hinten verlagert, und die Ohren nach hinten gelegt werden (Lloyd, 2017). Auch Lautäußerungen, Knurren und Fauchen sind Hinweise für Stress (Horwitz and Rodan, 2018; Lloyd, 2017; Rodan, 2010). Weiterhin ist auch Schnurren nicht nur ein Ausdruck von Wohlbefinden, sondern kann auch auf Schmerzen und Stress hinweisen (Riemer et al., 2021). In extremen Situationen können Katzen auf Stress mit Urinieren, Speicheln oder Erbrechen reagieren (Pratsch et al., 2018).

3.5. Messparameter zur Evaluierung von Stress

Die Evaluierung des Stresslevels ist über die Messung verschiedener physiologischer Biomarker und/oder über das Verhalten möglich. Die Messungen können je nach Parameter Rückschlüsse auf die Aktivität der HHN-Achse (Marques et al., 2010; Pereira et al., 2016) oder des autonomen Nervensystems (ANS) (Allwood et al., 2011; Marques et al., 2010; Nater and Rohleder, 2009) liefern. Es wird unterschieden zwischen invasiven und nicht-invasiven Probenentnahmen. Bei invasiven Probenentnahmen, z.B. Venenpunktionen, besteht die Gefahr, dass eine Stressreaktion allein aufgrund der Probenentnahme ausgelöst wird (Blair et al., 2017). Bei der Interpretation der Kortisolkonzentration ist zu berücksichtigen, dass die Ausschüttung einem circadianen Rhythmus unterliegt (Debono et al., 2009; Şemsi et al., 2022; Yozova et al., 2021) und abhängig von Geschlecht, Alter und Gewicht ist (Mormède et al., 2007; Romero, 2004).

3.5.1. Verhalten

Da Stressreaktionen auch das Verhalten beeinflussen (Porges, 1995), kann das Stresslevel auch durch Beurteilung von Körperhaltung, Aktivität und Lautäußerungen schnell und ohne Handling eingestuft werden (McCobb et al., 2005). Ein von vielen Studien angewendetes Scoring System ist der von Kessler und Turner entwickelte „Cat-Stress-Score“ (CSS) (Kessler and Turner, 1997). Der CSS basiert auf einem von McCune entwickelten „Cat-Assessment-Score“ (McCune, 1994), der von Kessler und Turner mit detaillierteren Angaben zur besseren Einstufung versehen wurde (Kessler and Turner, 1997). Beim CSS werden

die Katzen aufgrund ihrer Körperhaltung, des Aktivitätslevels und der Lautäußerung in sieben Kategorien/Stresslevel eingestuft (Kessler and Turner, 1997). Die niedrigste Stufe Nr. 1 bedeutet „komplett entspannt“, die höchste Stufe Nr. 7 „extrem gestresst“ (Kessler and Turner, 1997). Vor allem die Beurteilung des Stresslevels von ängstlichen Katzen stellt sich schwierig dar, da diese Tiere versuchen, ihre Stressanzeichen zu verstecken (McCobb et al., 2005; Ramos et al., 2012). Um möglichst aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, sollte der Beobachter geschult und erfahren sein (Kessler and Turner, 1997). Die Beurteilung des Verhaltens erfolgt immer subjektiv und ist von vielen Faktoren abhängig. Daher sollte zur Einschätzung des Stresslevels die Evaluierung des Verhaltens idealerweise mit der Messung von physiologischen Parametern kombiniert werden (McCobb et al., 2005). Die Anwendung des CSS ist bei Umgebungstemperaturen unter 15 °C nicht zu empfehlen, da Katzen sich bei Kälte generell nicht in eine entspannte Haltung begeben (Kessler and Turner, 1997). Bei der Beurteilung von inaktiven und passiven Katzen durch den CSS könnten möglicherweise Ergebnisse auftreten, die fälschlicherweise zu niedrig eingestuften werden (McCobb et al., 2005). Weitere Scores zur Beurteilung des Verhaltens und des Temperaments bei Katzen sind das „cat demeanor scoring system“ (Buisman et al., 2017; Klintip et al., 2022; Zeiler et al., 2014), das „feline temperament profile“ (McDowell et al., 2016) und die „cat temperament scale“ (McDowell et al., 2016).

3.5.2. Kortisolmessung Plasma

Als Endprodukt der HHN-Achse gibt die Kortisolkonzentration direkte Rückschlüsse auf deren Aktivität und wird bei der Katze gerne als Biomarker für Stress herangezogen (Carlstead et al., 1993; Klintip et al., 2022; Mormède et al., 2007; Pereira et al., 2016; Willemse et al., 1993; Young et al., 2004a). Da das Kortisol in den Blutkreislauf ausgeschüttet wird, ist eine Möglichkeit der Messung die Bestimmung der Konzentration im Blutplasma (Carlstead et al., 1993). Mit der maximalen Kortisolkonzentration ist ca. 15. Minuten nach Einsetzen des Stressors zu rechnen (Iki et al., 2011). Da für die Probenentnahme eine Punktion der Vene notwendig ist, gilt die Messmethode als invasiv (Cook et al., 2000; Place and Kenagy, 2000). Es kann davon ausgegangen werden, dass die Blutabnahme selbst eine Stressreaktion zur Folge hat (Cook et al., 2000; Schatz and Palme, 2001).

3.5.3. Kortisolmessung Speichel

Kortisol ist nicht nur im Blutplasma nachweisbar, sondern auch im Speichel (Blair et al., 2017; Granger et al., 2007; Marques et al., 2010; Pulopulos et al., 2020; Şemsi et al., 2022; Siegford et al., 2003). Die Konzentration des Kortisols im Speichel korreliert mit der im Plasma (Beerda et al., 1996; Şemsi et al., 2022; Siegford et al., 2003). Die Stressevaluierung über die Kortisolkonzentration im Speichel gilt als die am häufigsten angewandte Methode, da sie nicht-invasiv ist und im Alltag von geschulten Laien durchgeführt werden kann (Ali and Nater, 2020; Blair et al., 2017; Pereira et al., 2016; Şemsi et al., 2022; Siegford et al., 2003). Mit einer Aktivierung der Stressreaktion durch die Speichelprobenentnahme ist nicht zu rechnen (Ali and Nater, 2020; Blair et al., 2017; da Silva et al., 2017; Şemsi et al., 2022). Zur Gewinnung der Speichelprobe wird ein Tupfer in die laterale Kommissur der Maulhöhle oder unter die Zunge eingeführt (da Silva et al., 2017; Klintip et al., 2022; Şemsi et al., 2022). Um ausreichend Speichel zu gewinnen, sollte der Tupfer für etwa ein bis zwei Minuten in der Maulhöhle verbleiben (Klintip et al., 2022). Häufig wird der Tupfer jedoch nicht lange genug in der Maulhöhle akzeptiert (Paz et al., 2022). Eine Kontamination des Tupfers mit Futter oder Blut sollte vermieden werden, um eine aussagekräftige Probe zu erhalten, weshalb die Probenentnahme einige Stunden nach der Fütterung erfolgen sollte und bei Katzen mit Ulzerationen der Maulhöhle nicht angewendet werden kann (da Silva et al., 2017; Klintip et al., 2022; Paz et al., 2022). Weiterhin besteht die Gefahr, dass Katzen den Tupfer bei der Probenentnahme abbeißen und verschlucken (Paz et al., 2022). Der ideale Zeitpunkt zur Ermittlung der maximalen Kortisolkonzentration im Speichel ist ca. 20 Minuten nach Einsetzen des Stressors (Allwood et al., 2011).

3.5.4. Alpha-Amylasemessung Speichel

Die Alpha-Amylase ist ein Enzym, das von den Speicheldrüsen zur Verdauung von Kohlenhydraten und Stärke freigesetzt wird (Ali and Nater, 2020; Şemsi et al., 2022). Da die Freisetzung durch das ANS gesteuert wird, gibt die Konzentration aufschlussreiche Rückschlüsse über dessen Aktivität (Allwood et al., 2011; Nater and Rohleder, 2009). Die höchste Alpha-Amylase-Konzentration im Speichel ist ca. 10 Minuten nach Einsetzen des Stressors zu erwarten (Allwood et al., 2011). Die Stressevaluierung anhand der Alpha-Amylase Konzentration gilt als nicht-invasiv und schnell (Ali and Nater, 2020). Die Messung der Alpha-Amylase-Konzentration sowie der Kortisol-Konzentration kann aus der gleichen

Speichelprobe erfolgen (Ali and Nater, 2020). Bei der Interpretation der Ergebnisse sollte berücksichtigt werden, dass diese von der Menge der Speichelproduktion abhängig ist (Harmon et al., 2008). Hinsichtlich der Probenentnahme sind die gleichen Voraussetzungen wie bei der Gewinnung der Speichelproben für die Speichelkortisolmessung zu berücksichtigen (Ali and Nater, 2020).

3.5.5. Glukokortikoid-Metaboliten im Kot

Da ca. 78 bis 85 % der Metaboliten bei der Katze über den Darm ausgeschieden werden (Schatz and Palme, 2001), ist die Messung der Konzentration der Kortisolmetaboliten im Kot eine verlässliche und einfache Möglichkeit zur Stressevaluierung (Ramos et al., 2012; Schatz and Palme, 2001; Young et al., 2004b). Die Untersuchung der Kotproben ist im Vergleich zur Entnahme von Speichelproben komplett ohne Handling möglich und damit auch bei wilden Tieren anwendbar (Schatz and Palme, 2001; Young et al., 2004b). Da der Kot erst die Darmpassage durchlaufen muss, ist mit einem Peak der Kortisol-Metaboliten erst ca. 25 Stunden nach Einsetzen des Stressors zu rechnen (Schatz and Palme, 2001). Der am häufigsten bei der Katze nachgewiesene fäkale Kortisolmetabolit ist 11,17 DOA (Schatz and Palme, 2001). Durch Messung der 11,17 DOA Konzentration im Kot der Katzen können repräsentative Rückschlüsse über die Aktivität der HHN-Achse gezogen werden (Schatz and Palme, 2001). Die individuelle Konzentration der Kortisolmetaboliten im Kot unterscheidet sich stark zwischen unterschiedlichen Katzen und Referenzwerte sind nicht vorhanden (Ramos et al., 2013; Schatz and Palme, 2001). Die Ermittlung von Basalwerten bei jedem Individuum vor der eigentlichen Messung ist daher für die Interpretation unerlässlich (Schatz and Palme, 2001).

3.5.6. Kortisol-Kreatinin Verhältnis Urin

In verschiedenen Studien mit Katzen und Hunden wurde beobachtet, dass unter Stress das Kortisol-Kreatinin-Verhältnis im Urin (UCC) erhöht ist (Beerda et al., 1996; McCobb et al., 2005; Zimmer and Reusch, 2003). So liefert das UCC bei der Katze nicht nur Informationen über eine mögliche Cushing-Erkrankung (Goossens et al., 1995), sondern gibt auch Aufschluss über das Stresslevel (Beerda et al., 1996; McCobb et al., 2005). Aussagekräftige Messungen sind möglich, obwohl nur ungefähr 18 % der Glukokortikoide bei der Katze über den Urin eliminiert werden (Schatz and Palme, 2001). Durch die Berücksichtigung des Verhältnisses von

Kortisol zu Kreatinin wird die Probe unabhängig vom Urinvolumen (Zimmer and Reusch, 2003). Die Urinprobe kann über Katzentoiletten mit nicht adsorbierbaren Kügelchen gewonnen werden und gilt damit als nicht-invasiv (McCobb et al., 2005).

3.5.7. Herzfrequenzvariabilität

Eine weitere Möglichkeit zur Evaluierung des autonomen Nervensystems ist die Bestimmung der Herzfrequenzvariabilität (Thayer et al., 2012). Diese beschreibt die Regelmäßigkeit der Abstände zwischen zwei Herzschlägen und wird vom ANS beeinflusst. Die Verringerung der Herzfrequenzvariabilität und ein damit einhergehender gleichmäßigerer Herzschlag werden durch Aktivierung des sympathischen Nervensystems hervorgerufen, was bei akutem Stress eintritt (Koolhaas et al., 1999; Schiweck et al., 2019). Somit ist die Verringerung der Herzfrequenzvariabilität unter anderem ein Hinweis für akuten Stress (Grippo et al., 2002; Schiweck et al., 2019; Thayer et al., 2012). Die Aufnahme der Herzfrequenzvariabilität erfolgt elektrokardiographisch und ist damit eine nicht-invasive Diagnostik (Sztajzel, 2004).

3.6. Möglichkeiten der Stressminimierung

Da eine Gewöhnung an Stressoren eintreten kann, ist eine zentrale Maßnahme der Stressbewältigung das Trainieren von potentiellen stressigen Situationen (Gooding et al., 2012; Hennessy et al., 1979; Hennessy and Levine, 1977; Lockhart et al., 2013; Pratsch et al., 2018). Wichtig beim Trainieren von verschiedenen Situationen ist, dass dabei mit positiver Verstärkung gearbeitet wird (Pratsch et al., 2018). So kann auch das Training mit positiver Verstärkung Katzen optimal an eine Transportbox gewöhnen und das Stresslevel dabei nachweislich reduzieren (Pratsch et al., 2018).Verbindet eine Katze eine Situation, Räumlichkeiten oder Personen mit positiven Erlebnissen, so ist zukünftig mit weniger Stress zu rechnen (Nibblett et al., 2015). Deshalb empfiehlt es sich, dass eine Katze stets in denselben Räumlichkeiten und vom selben Tierarzt behandelt wird (Nibblett et al., 2015). Um den Stressfaktor „Hund“ auszuschließen, wird die räumliche Trennung von verschiedenen Tierarten in Wartezimmern, Untersuchungsräumen und während der stationären Unterbringung empfohlen (Stella et al., 2014). Bei Tierarztbesuchen sollten die Wartezeiten so kurz wie möglich gehalten (Pratsch et al., 2018) und ein katzenfreundliches Handling (Pratsch et al., 2018; Rodan, 2010; Rodan et al.,

2011b) durchgeführt werden. Bei der stationären Aufnahme von Katzen ist es vorteilhaft, die Tiere erhöht zu positionieren und ihnen Versteckmöglichkeiten anzubieten (McCune, 1994; Stella et al., 2014). Weiterhin ist bekannt, dass Musik sich positiv auf das Wohlbefinden von Tieren auswirken kann (Alworth and Buerkle, 2013). Jedoch wird nicht jede Musikrichtung für jedes Tier als beruhigend empfunden (Alworth and Buerkle, 2013). Bei Katzen führt besonders katzenspezifische Musik zu einer Reduktion des Stresslevels (Hampton et al., 2020; Snowdon et al., 2015). Ein essenzieller Teil der Kommunikation erfolgt bei Katzen über Pheromone (Doonan, 2018; Shreve and Udell, 2017). Pheromone sind chemische Botenstoffe, die von einem Individuum ausgeschüttet werden und bei Artgenossen zu spezifischen Reaktionen führen (Wyatt, 2009). Sie können Verhaltensänderungen und Wohlbefinden auslösen (Pereira et al., 2016; Vitale, 2018). Das synthetische F3 feline facial Pheromon-Analogon, das unter anderem in dem Produkt „Feliway®“ enthalten ist (Doonan, 2018; Vitale, 2018), führt bei Tierarztbesuchen nachgewiesenermaßen zu einer Stressreduktion (da Silva et al., 2017; Griffith et al., 2000; Pereira et al., 2016). Es ist wichtig zu berücksichtigen, wie lange zuvor das F3-Analogon angewendet wird und wie lange die Katze diesem ausgesetzt ist (Doonan, 2018). Einer Studie zufolge reichen bereits 15 Minuten Exposition gegenüber Feliway aus, um Stress zu reduzieren (Pereira et al., 2016). Durch die richtige Anwendung von Analgetika können Schmerzen bei der Katze verhindert oder reduziert und damit auch der Stress minimiert werden (Lloyd, 2017). Durch die Gabe des Medikamentes „Gabapentin“ kann das Stresslevel von Katzen bei Tierarztbesuchen und beim Transport signifikant reduziert werden (Gurney and Gower, 2022; van Haaften et al., 2017). Die Zertifizierung „Cat Friendly Practice®“ der „American Association of Feline practitioners“ zeichnet Kliniken aus, die alle oben genannten Bedingungen bestmöglich erfüllen, um Katzen einen möglichst stressfreien Klinikaufenthalt zu gewährleisten (Burns, 2012).

III. PUBLIKATION 1: ORIGINAL-PUBLIKATION ZUR STUDIE 1

Influence of acclimatization time on parameters of barometric whole-body plethysmography in healthy adult cats

Petra Benz

Yury Zablotski

Bianka Schulz

Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig Maximilian University of Munich, Munich, Germany

PLOS ONE, veröffentlicht

Abdruck mit Genehmigung von PLOS

PLoS ONE 19(3): e0299252. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299252

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Influence of acclimatization time on parameters of barometric whole-body plethysmography in healthy adult cats

Petra Benz*, Yury Zablotski, Bianka Schulz

Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig Maximilian University of Munich, Munich, Germany

* pe_benz@web.de

Check for updates

OPEN ACCESS

Citation: Benz P, Zablotski Y, Schulz B (2024) Influence of acclimatization time on parameters of barometric whole-body plethysmography in healthy adult cats. PLoS ONE 19(3): e0299252. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299252

Editor: Cord M. Brundage, University of Wisconsin-La Crosse, UNITED STATES

Received: October 2, 2023

Accepted: February 6, 2024

Published: March 12, 2024

Copyright: © 2024 Benz et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: The authors received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article. All materials used, including equipment and consumables, were contributed by the Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig Maximilian University of Munich, Germany. The barometric whole-body plethysmography system was provided by a grant from the Center for Clinical

Abstract

Background

Pulmonary function testing by barometric whole-body plethysmography (BWBP) is a long-established and well-accepted, non-invasive investigative procedure in cats.

Hypothesis/Objectives

To evaluate, if different acclimatization times influence the measurement parameters of BWBP in healthy adult cats.

Animals

48 healthy adult cats.

Methods

In the prospective observational study, healthy cats were placed in a measuring chamber and BWBP was performed over 30 minutes. Parameters obtained during the three measurement units of 10 minutes each (T1, T2 and T3) were compared.

Results

All measurement parameters except for tidal volume per body weight changed significantly ($p<0.05$) over the three time periods. From T1-T2, the parameters minute volume per body weight ($p<0.001$), peak inspiratory flow per body weight ($p<0.001$), peak expiratory flow per body weight ($p = 0.002$), pause ($p = 0.03$), enhanced pause ($p = 0.03$) and quotient of peak expiratory flow divided by expiratory flow at end expiratory volume plus 50% tidal volume ($p = 0.03$) changed significantly. From the time interval T2-T3, only respiratory rate ($p = 0.02$), inspiratory time ($p = 0.02$), expiratory time ($p = 0.04$), and relaxation time ($p = 0.01$) changed significantly. All measurement parameters except for tidal volume per body weight changed significantly ($p<0.05$) between T1 and T3. Age had a significant influence on all parameters except for peak expiratory flow per body weight and peak inspiratory flow per body weight. The parameters were not influenced by sex.

Veterinary Medicine of Ludwig Maximilian University of Munich.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Conclusion and clinical importance

All measurement parameters except tidal volume per body weight were significantly affected by acclimatization time. Controlling for age and sex, there was still a significant influence of acclimatization time on all parameters except for tidal volume per body weight. Standardization of the acclimatization time for future studies would be appropriate in order to maintain comparability.

Introduction

Barometric whole-body plethysmography (BWBP), a diagnostic tool for non-invasive lung function measurement, has been the subject of many studies in laboratory animals [1–3], cats [4–6], dogs [7, 8], and pigs [9] in recent years. It is mainly used to diagnose obstructive airway disease, to assess airway reactivity, and to monitor the response to therapy [10]. Originally developed for human infants [11], it is also particularly well tolerated by cats [12], since it can be performed without manipulation in awake animals. For this purpose, the cats are placed in an airtight, transparent plexiglas chamber. Due to pressure differences in the chamber during the breathing cycle, respiratory parameters can be measured and recorded. The pressure changes are generated by two phenomena. First, thoracic motion causes gas expansion and compression [13]. In addition, the inhaled air is humidified and warmed during inspiration, leading to expansion of the air [11, 14]. During expiration, the air is cooled and condensed, leading to contraction [11, 14].

However, since it is not possible for animals to breathe actively through a mouthpiece as it is performed in humans, the plethysmographic measurement must be adapted in animals [10, 12]. The measurement takes place indirectly via the chamber the patient is placed in, which is why the measured signals are referred to as "pseudo-flows" [15].

In various studies on lung function testing, both in human and in companion animals, it has been shown that there are various factors that influence the measurement parameters of BWBP [16, 17]. Previously known factors include somatic growth [18–20], sex [16, 18, 20], age [4, 21], circadian rhythm [18], body mass index [17, 22, 23] and brachycephaly [24, 25].

In contrast to human medicine, the situation in the plethysmographic chamber cannot be explained to animals and they have to get habituated to it before measurement. In cats, the influence of this acclimatization period on BWBP parameters hasn't been studied yet. In laboratory animals, however, it has already been shown that insufficient acclimatization times can lead to variability in the measurement parameters [3]. Thus, it is recommended that mice first become accustomed to the situation before the actual measurement begins [3]. In studies using animal models, the animals were first placed in the chamber several times for a few minutes before the actual measurements were committed [18]. However, this is usually not possible in clinical trials in companion animals. In different studies in cats the acclimatization time varied from 1–20 minutes [6, 22, 26, 27] or no information was given at all [4, 5, 28]. In addition, it makes a difference for respiratory parameters whether cats are evaluated at home or in a hospital setting [29, 30]. Thus, there could be significant variations in the parameters between the different clinical studies and the ones performed in animal models.

We hypothesized that different acclimatization times have significant influence on the measurement parameters of BWBP in clinically healthy cats and that therefore standard protocols for clinical studies using BWBP in healthy cats are necessary.

Material and methods

Ethical approval

All procedures were approved by the Ethics Committee of the Centre for Clinical Veterinary Medicine of LMU Universitiy of Munich (211-07-04-2020). Owner consent was given for all participants.

Study population

All 48 cats were included in the prospective observational study between May 2020 and September 2021. The participants belonged to co-workers and students or were presented to the clinic for annual health screening. Before each BWBP-measurement, the cats were examined clinically and their health status was determined. All cats were clinically healthy and didn't have a history of respiratory signs. Inclusion criterion was a minimum age of one year, as somatic growth in cats is known to influence the measurement parameters of the BWBP [18]. Since previous studies showed that obesity has an influence on BWBP parameters too [22], only cats with a normal body condition score (range 3/9 to 6/9) were included.

Study design

The clinical examination was performed before plethysmographic measurement. Subsequently, lung function parameters were measured over 30 minutes in the chamber of the plethysmograph. All measurements took place in a quiet separate room and the investigator was present at all times.

Barometric whole-body plethysmography

Lung function was assessed by non-invasive BWBP (Buxco FinePointe Small Animal Whole Body Plethysmograph, Data Science International DSI, New Brighton, Minnesota, USA).

The permanent ventilation of the chamber was ensured by means of bias flow (Buxco® Multi-function Bias Flow, Data Science International (DSI), New Brighton, Minnesota, USA). Sieve pneumotachographs were connected to the chamber, which were responsible for the flow of air in and out of the chamber, creating air resistance. A pressure transducer (Halcyon™ pneumotach, Data Science International (DSI), New Brighton, Minnesota, USA) was also connected, which recorded pressure changes in the chamber (called "box flow").

The chamber signal measured by the pressure transducer was amplified and digitised by a preamplifier (Buxco® QT Digital Preamplifier, Data Science International (DSI), New Brighton, Minnesota, USA) and forwarded to a computer with an associated software program for analysis (Buxco® FinePointe Small Animal Whole Body Plethysmograph, Data Science International (DSI), New Brighton, Minnesota, USA).

Possible atmospheric noise from outside the room (e.g., dogs barking, slamming doors) was reduced by the pneumotach. Sniffing, vocalization or movement can cause artifacts in waveforms. The FinePointe program automatically removed these artifacts.

Before each measurement, a calibration was performed according to the manufacturer's recommendation by injecting 50 ml of room air into the chamber. The non-sedated, awake and freely moving cats were then placed into the transparent plexiglass chamber within a transport box, where they spent 30 minutes. Three consecutive measurement periods of 10 minutes each were performed. Parameters measured during the three intervals 0–10 min (T1), 10–20 min (T2) and 20–10 min (T3) were then compared.

All parameters measured by BWBP are listed in Table 1.

Table 1. BWBP parameters with units and description.

BWBP parameter	unit	description
RR	breaths/ min	respiratory rate
Ti	s	inspiratory time
Te	s	expiratory time
TV/BW	ml/kg	tidal volume per body weight
MV/BW	ml/min/kg	minute volume per body weight
PIF/BW	ml/s/kg	peak inspiratory flow per body weight
PEF/BW	ml/s/kg	peak expiratory flow per body weight
Tr	ms	relaxation time; time at which 65% of tidal volume is exhaled
PAU	unitless	pause, [(Te/Tr)- 1]
Penh	unitless	enhanced pause, [((Te/Tr) - 1)x(PEF/PIF)]
PEF/EF50	unitless	quotient of peak expiratory pseudo-flow and expiratory flow at end expiratory volume plus 50% tidal volume

min: minute, s: second, ml: millilitre, kg: kilogram, ms: millisecond

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299252.t001

Statistical analysis

All BWBP measurement results were automatically transferred to Microsoft Excel.

The Shapiro-Wilk-test was performed to verify the normal distribution. All data were not normally distributed. Due to the presence of repeated measures the Friedman-test was used to compare the parameters of all cats between the three time periods T1, T2 and T3.

Each of the BWBP parameters was modeled for the interaction between time and age and time and sex using a generalized linear mixed effects model (GLMM). GLMM with individual animal as a random effect was chosen for analysis due to the presence of repeated measures. The following model assumptions were always checked: (1) the normality of residuals was checked by the Shapiro–Wilk normality test, (2) the homogeneity of variances between groups was checked with Bartlett test, and (3) the heteroscedasticity (constancy of error variance) was checked with Breusch–Pagan test. In case assumptions were satisfied, generalized linear mixed effects models were used (R package—lmer). In case assumptions were violated, robust linear mixed effects models were applied (R package—robustlmm). Additionally, both linear and robust linear models were compared amongst each other using six main performance quality indicators: Akaike's Information Criterion (AIC), Bayesian Information Criterion (BIC), Conditional coefficient of determination R2, Marginal coefficient of determination R2, the intra-class-correlation coefficient (ICC) and Root Mean Square Error (RMSE). The model showing the best combination of predictive (AIC and BIC) and fitting (explanatory, R^2, ICC, RMSE) power was preferred. All contrasts between particular groups were assessed after model-fitting by the estimated marginal means using the R package 'emmeans' with Tukey p-value correction for multiple comparisons. Results with a P-value less than 0.05 were considered statistically significant. Data analysis was performed using R version 4.2.1 (2022-06-23).

Results

Study population

A total of 48 clinically healthy cats were included in the study, consisting of 26 males (24 castrated) and 22 females (20 spayed). The median age was 4.39 ± 4.38 years (range 1 to 16 years). The breeds included European Shorthair (22), Norwegian Forest Cat (6), Siberian Forest Cat

(2), Maine Coon (2), British Longhair (1), British Shorthair (3), Birman (4), Bengal (1), British Shorthair mix (1), Norwegian Forest mix (1), Birman x Persian mix (3), Bengal x British Shorthair mix (2). The median BMI was 4/9 (range from 3/9 to 6/9). The cats were divided into three age groups: 1–2 years (A1), 3–7 years (A2) and 8–16 years (A3). Care was taken to ensure an even group size.

The data for all cats are shown in S1 Table.

Barometric whole-body plethysmography

BWBP was well tolerated by all cats. The mean values of the measurement parameters for each cat and each time period are shown in S2 Table. All measurement parameters, except for TV/BW, were significantly affected by acclimatization time. The measurement results of all cats for all three time periods are shown in Table 2.

From the time period T1-T2, significant changes in the measurement parameters MV/BW, PIF/BW, PEF/BW, Pau, Penh, PEF/EF50 were seen. Between T2 and T3, the parameters RR, Ti, Te, and Tr were significantly different ($P<0.05$). From the time interval T1 to T3, all measurement parameters except for TV/BW changed significantly.

Using a mixed effects model, it can be shown that age had a significant influence on all BWBP parameters except for PEF/BW and PIF/BW. Details are shown in Table 3 and Fig 1.

When examining the influence of sex on the parameters of BWBP, no significant influence could be found (Table 4).

There was a significant influence of acclimatization time on all BWBP parameters except for TV/BW, even after controlling for age and sex.

Discussion

The study was able to show that different acclimatization times significantly influenced parameters of BWBP in healthy cats. Except for the parameter TV/BW, all other parameters changed significantly. In previous studies in cats, acclimatization times were not standardized or no

Table 2. Comparison of BWBP parameters at all three time periods in healthy cats.

parameter	unit	T1	T2	T3	p	p T1-T2	p T2-T3	p T1-T3
RR	breaths/min	65.4 (46.6–104.2)	61.3 (40.4–104.9)	56.7 (35.7–95.2)	**<0.001**	0.66	**0.02**	**<0.001**
Ti	s	0.4 (0.3–0.5)	0.4 (0.3–0.6)	0.5 (0.3–0.7)	**<0.001**	0.66	**0.02**	**<0.001**
Te	s	0.6 (0.3–0.9)	0.6 (0.3–1.0)	0.7 (0.4–1.0)	**<0.001**	0.20	**0.04**	**<0.001**
TV/BW	ml/kg	4.2 (3.1–5.4)	4.0 (2.7–5.2)	4.2 (2.8–5.4)	0.26	1.00	0.31	1.00
MV/BW	ml/min/kg	257.4 (214.1–325.4)	228.2 (187.5–298.6)	222.8 (174.9–281.9)	**<0.001**	**<0.001**	0.66	**<0.001**
PIF/BW	ml/s/kg	16.3 (13.5–19.1)	14.9 (12.4–17.6)	14.7 (11.8–17.0)	**<0.001**	**<0.001**	1.00	**<0.001**
PEF/BW	ml/s/kg	9.8 (8.4–12.6)	8.8 (7.2–12.5)	8.7 (7.3–12.8)	**<0.001**	**0.002**	1.00	**<0.001**
Tr	ms	0.4 (0.2–0.5)	0.3 (0.2–0.5)	0.4 (0.2–0.6)	**<0.001**	0.92	**0.01**	**<0.001**
PAU	unitless	0.77 (0.7–0.9)	0.8 (0.7–0.9)	0.8 (0.7–0.9)	**0.003**	**0.03**	1.00	**0.003**
Penh	unitless	0.5 (0.5–0.7)	0.6 (0.5–0.7)	0.6 (0.5–0.7)	**0.003**	**0.03**	1.00	**0.003**
PEF/EF50	unitless	1.2 (1.1–1.3)	1.2 (1.1–1.3)	1.2 (1.1–1.3)	**<0.001**	**0.03**	0.07	**<0.001**

Data is reported as median with IQR. Values shown in bold indicate $p > 0.05$. Fourth last column indicates p value over all three time periods. The corrected values between the different time periods are shown in the last three columns. RR: respiratory rate, Ti: inspiratory time, Te: expiratory time, TV/BW: tidal volume per body weight, MV/BW: minute volume per body weight, PIF/BW: peak inspiratory pseudo-flow per body weight, PEF/BW: peak expiratory pseudo-flow per body weight, RT: relaxation time; time point when 65% of tidal volume is expired, PAU: pause (Te-RT)/RT), Penh: enhanced pause [(PEF/PIF)x((Te/Tr) -1)], PEF/EF50: quotient of peak expiratory pseudo-flow divided by expiratory flow at end expiratory volume plus 50% tidal volume.

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299252.t002

Table 3. Influence of age subdivided in three age groups at three time points on the parameters of BWBP.

parameter	T1			T2			T3			T1			T2			T3		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1-A2 p	A1-A3 p	A2-A3 p	A1-A2 p	A1-A3 p	A2-A3 p	A1-A2 p	A1-A3 p	A2-A3 p
RR (breaths/ min)	92.8 (76.58, 109.1)	68.8 (46.29, 91.4)	45.7 (19.93, 71.4)	93.7 (77.47, 110.0)	64.4 (41.83, 87.0)	37.9 (12.21,63.7)	89.2 (72.96, 105.5)	59.2 (36.63, 81.8)	34.9 (9.22, 60.7)	0.2086	**0.0067**	0.3792	0.0965	**0.001**	0.283	0.0864	**0.0014**	0.3466
Ti (s)	0.325 (0.250, 0.400)	0.416 (0.311, 0.520)	0.600 (0.481, 0.718)	0.330 (0.255, 0.405)	0.465 (0.361, 0.569)	0.701 (0.582, 0.819)	0.342 (0.267, 0.417)	0.508 (0.404, 0.612)	0.750 (0.631, 0.869)	0.3523	**<0.001**	0.0581	0.0985	**<0.001**	**0.0096**	**0.0296**	**<0.001**	**0.0077**
Te (s)	0.453 (0.16, 0.591)	0.623 (0.432, 0.813)	0.967 (0.750, 1.184)	0.459 (0.322, 0.597)	0.741 (0.551, 0.932)	1.127 (0.909, 1.344)	0.491 (0.354, 0.629)	0.806 (0.615, 0.996)	1.187 (0.970, 1.405)	0.3337	**<0.001**	0.0510	**0.0491**	**<0.001**	**0.0241**	**0.0235**	**<0.001**	**0.0260**
TV/BW (ml/kg)	3.56 (2.91, 4.20)	4.57 (3.68, 5.46)	5.44 (4.43, 66.46)	3.33 (2.69, 3.98)	4.55 (3.66, 5.44)	5.63 (4.61, 6.64)	3.37 (2.73, 4.01)	4.74 (3.85, 5.63)	5.90 (4.89, 6.92)	0.1689	**0.0060**	0.4117	0.0759	**<0.001**	0.2645	**0.0384**	**<0.001**	0.2106
MV/BW (ml/min/ kg)	291 (258, 324)	276 (230 322)	229 (177, 282)	269 (236, 302)	245 (199, 291)	193 (141, 246)	262 (229, 295)	235 (189, 281)	191 (139, 243)	0.8696	0.1269	0.3847	0.6845	**0.0436**	0.3115	0.6178	0.0637	0.4309
PIF/BW (ml/s/kg)	16.9 (15.4, 18.5)	17.3 (15.1, 19.4)	14.6 (12.2, 17.1)	15.7 (14.2, 17.3)	15.9 (13.7, 18.0)	12.8 (10.4, 15.3)	15.5 (13.9, 17.0)	15.5 (13.3, 17.6)	12.8 (10.4, 15.3)	0.9677	0.2617	0.2503	0.9947	0.1225	0.1624	1.00	0.1811	0.2594
PEF/BW (ml/s/kg)	11.26 (9.83, 12.7)	10.43 (8.45, 12.4)	9.23 (6.97, 11.5)	10.76 (9.33, 12.2)	9.27 (7.29, 11.3)	7.96 (5.70, 10.2)	10.42 (8.99, 11.9)	9.05 (7.06, 11.0)	8.06 (5.80, 10.3)	0.7868	0.2998	0.7144	0.4572	0.100	0.6682	0.5133	0.1951	0.7975
Tr (ms)	0.258 (0.189, 0.328)	0.347 (0.251, 0.444)	0.513 (0.403, 0.623)	0.258 (0.188, 0.327)	0.406 (0.310, 0.503)	0.585 (0.475, 0.695)	0.271 (0.202, 0.341)	0.436 (0.339, 0.532)	0.618 (0.508, 0.728)	0.3053	**<0.001**	0.0674	**0.0381**	**<0.001**	**0.0429**	**0.0185**	**<0.001**	**0.0382**
PAU (unitless)	0.760 (0.709, 0.811)	0.793 (0.721, 0.864)	0.900 (0.819, 0.981)	0.778 (0.727, 0.830)	0.807 (0.736, 0.878)	0.944 (0.863, 1.025)	0.779 (0.728, 0.830)	0.839 (0.768, 0.910)	0.955 (0.874, 1.036)	0.7482	**0.0116**	0.1224	0.7978	**0.0020**	**0.0339**	0.3796	**<0.001**	0.0862
Penh (unitless)	0.552 (0.504, 0.600)	0.515 (0.448, 0.581)	0.609 (0.534, 0.785)	0.577 (0.529, 0.625)	0.508 (0.441, 0.574)	0.652 (0.576, 0,728)	0.575 (0.528, 0.623)	0.527 (0.461, 0.594)	0.665 (0.589, 0.741)	0.6441	0.4253	0.1578	0.2195	0.2343	**0.0142**	0.4805	0.1237	**0.0203**
PEF/EF50 (unitless)	1.13 (1.08, 1.18)	1.16 (1.08, 1.23)	1.25 (1.17, 1.34)	1.15 (1.10, 1.20)	1.17 (1.10, 1.25)	1.33 (1.25, 1.42)	1.16 (1.11, 1.21)	1.19 (1.12, 1.27)	1.35 (1.26, 1.43)	0.8561	**0.0416**	0.1987	0.8447	**<0.001**	**0.0119**	0.7213	**<0.001**	**0.0190**

Data for each age group and time period are presented as means with lower confidence limit and upper confidence limit. The confidence interval was set at 95%. The p-values for the comparisons of the measurement results as a dependency of each age group at each time point are shown in the last nine columns. Values in bold indicate $p<0.05$.

A1 = 1–2 years, A2 = 3–7 years and A3 = 8–16 years.

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299252.t003

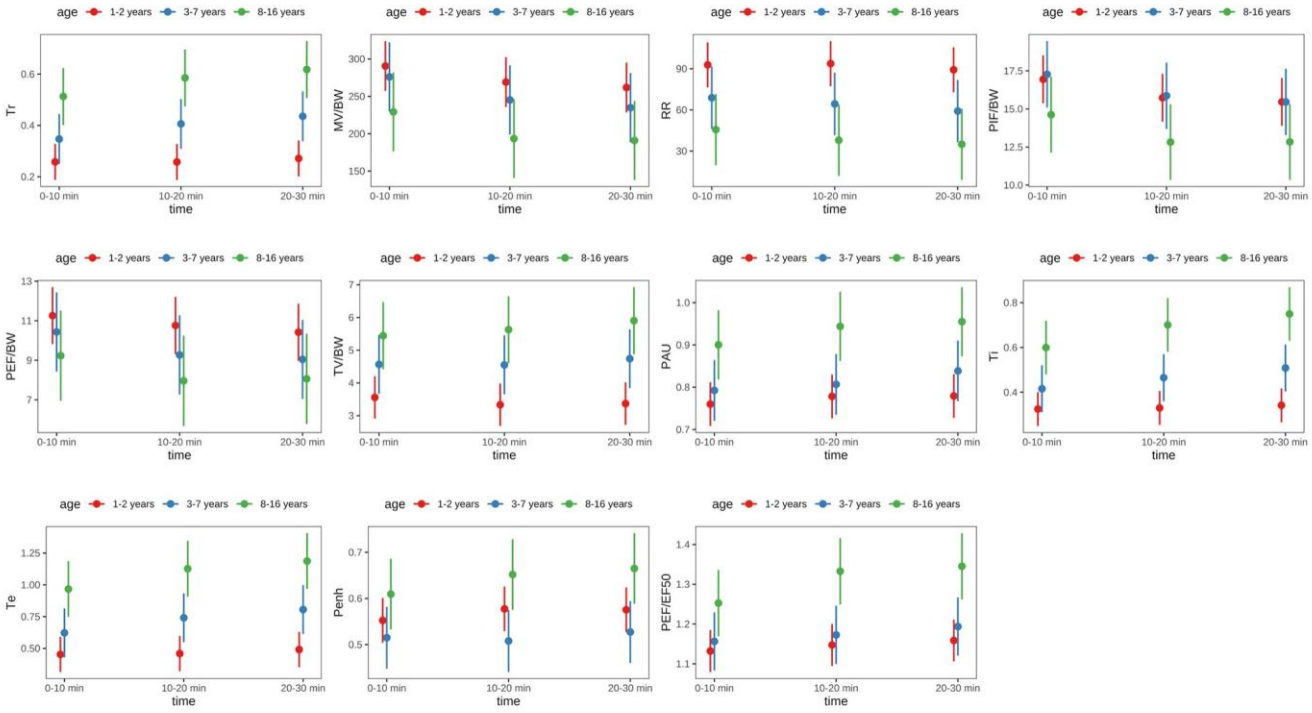

Fig 1. Comparison of the three age groups per time unit for each BWBP parameter.

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299252.g001

information was given about the time cats spent in the measuring chamber before measurement started [4–6, 22, 26–28]. However, it is possible that in studies where the acclimatization time was not specified, it was individually adjusted to the behaviour of each cat to choose time periods for measurement, when animals seemed calm and relaxed.

Particularly notable in the present study was the significant increase in Penh (enhanced pause) over time between T1 and T2 and T1 and T3. Penh is a unitless parameter calculated using the formula [((Te/Tr) - 1) x (PEF/PIF)]. Many authors state that an increased Penh value in cats indicates increased airway resistance [4–6, 15, 31]. It has also been found to be a particularly stable factor that is not influenced by age, gender or weight [18, 22].

However, many authors questioned its function as an indicator of increased airway resistance over the last few years [1, 32–34]. An increase in Penh is induced by a rapid and steep drop in chamber pressure [32]. *In vivo*, this is only to be expected in the case of rapid compression of the lungs through active expiration (e.g., during vocalisation in neonatal mice[35, 36]) [32]. Active expiration causes a decline in temperature in the chamber, resulting in a drop in pressure [32]. Therefore, Huelsmann and co-workers described Penh rather as an indicator for active expiration. In their artificial lung model, they found that a significant pressure drop in the chamber requires not only increased airway resistance, but also active expiration. In turn, they were able to document a rapid drop in pressure during expiration independent of the level of airway resistance [32]. These results show the influence of the timing and magnitude of the pressure drop on Penh. Therefore, this parameter should be interpreted with great caution, if measuring protocols have not been standardized in studies. It is also shown that Penh is directly related to the timing and pattern of breathing rather than airway resistance [34]. It can be used as an indicator of airway resistance, if the gas in the chamber has previously been warmed to body temperature and the humidity is preconditioned [34]. Because in the present study, humidity in the chamber was not standardized and temperature was relatively

Table 4. Influence of sex at three time points on the parameters of BWBP.

Parameter	T1		T2		T3		T1	T2	T3
	female	male	female	male	female	male	female-male p-value	female-male p-value	female-male p-value
RR (breaths/min)	74.3 (54.8, 93.7)	75.0 (57.1, 92.9)	69.9 (50.4, 89.4)	74.5 (56.6, 92.4)	63.9 (44.4, 83.4)	71.5 (53.5, 89.4)	0.9569	0.7327	0.5771
Ti (s)	0.423 (0.318, 0.529)	0.405 (0.308, 0.502)	0.470 (0.364, 0.575)	0.426 (0.329, 0.523)	0.513 (0.408, 0.619)	0.438 (0.342, 0.535)	0.8002	0.5515	0.3068
Te (s)	0.642 (0.449, 0.834)	0.594 (0.417, 0.771)	0.724 (0.532, 0.917)	0.635 (0.458, 0.811)	0.785 (0.592, 0.977)	0.668 (0.491, 0.845)	0.7218	0.5010	0.3790
TV/BW (ml/kg)	4.34 (3.54, 5.13)	4.16 (3.43, 4.89)	4.20 (3.40, 4.99)	4.09 (3.36, 4.83)	4.48 (3.69, 3.35)	4.09 (3.35, 4.82)	0.7484	0.8533	0.4731
MV/BW (ml/min/kg)	272 (236, 308)	273 (239, 306)	237 (201, 273)	253 (219, 286)	229 (192, 213)	246 (213, 280)	0.9681	0.5396	0.4851
PIF/BW (ml/s/kg)	16.6 (14.9, 18.3)	16.5 (14.9, 18.0)	14.8 (13.1, 16.5)	15.4 (13.8, 17.0)	14.5 (12.8, 16.2)	15.2 (13.6, 16.7)	0.9113	0.5939	0.5818
PEF/BW (ml/s/kg)	10.43 (8.93, 11.9)	10.59 (9.21, 12.0)	9.33 (7.82, 10.8)	10.00 (8.62, 11.4)	9.09 (7.59, 10.6)	9.79 (8.41, 11.2)	0.8752	0.5182	0.5025
Tr (ms)	0.353 (0.257, 0.448)	0.328 (0.241, 0.416)	0.391 (0.296, 0.486)	0.345 (0.257, 0.432)	0.425 (0.330, 0.520)	0.335 (0.268, 0.443)	0.7137	0.4839	0.2936
PAU (unitless)	0.797 (0.733, 0.861)	0.805 (0.746, 0.864)	0.825 (0.761, 0.889)	0.821 (0.762, 0.880)	0.834 (0.770, 0.898)	0.833 (0.774, 0.892)	0.8531	0.9312	0.9891
Penh (unitless)	0.544 (0.488, 0.599)	0.564 (0.513, 0.615)	0.568 (0.513, 0.624)	0.579 (0.527, 0.630)	0.574 (0.519, 0.630)	0.587 (0.536, 0.638)	0.5944	0.7929	0.7360
PEF/EF50 (unitless)	1.17 (1.11, 1,23)	1.16 (1.11, 1.22)	1.20, (1.14, 1.26)	1.18 (1.12, 1.24)	1.22 (1.16, 1.28)	1.19 (1.13, 1.25)	0.8814	0.6313	0.4974

Data are shown as mean with lower confidence limit and upper confidence limit. The confidence interval was set at 95%. The p-values for the comparison of the measurement results as a dependency of gender at the individual time points are shown in the last three columns. Values in bold indicate $p<0.05$

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299252.t004

stable, but the chamber was not preheated to body temperature, these factors might have influenced the measurements considering a slow temperature rise in the box to be expected due to the body temperature of the animal. In addition, variations of the measuring times during the day could have had an influence on the parameter, because Penh is known to be affected by the circadian rhythm [18]. To the best of the authors' knowledge, no reference values for Penh in healthy cats have been reported to date, but the values obtained in this study during all three time periods are lower than those measured in cats with respiratory disease [6, 12, 23]. Compared to data obtained by our group in a previous study investigating cats with feline lower airway disease using the same plethysmograph, program and settings [37], Penh was higher in diseased cats compared to the healthy ones in present study. However, on re-check examinations after initiation of anti-inflammatory therapy, Penh values of cats with airway disease in the previous study were within the range determined for healthy cats in the present study [37].

In the present study there was a significant decrease in respiratory rate (RR) over the three time periods. At baseline, RR was at a median of 65 breaths/minute, consistent with values from a study in which healthy cats had a median RR of 64 breaths/minute in a clinical setting [30], which decreased to a median of 57 in the third measuring period. Values of all three measuring phases are considerably higher compared to the physiological RR defined for healthy cats with less than 30 breaths/minute [38]. This elevation can be explained by the increased level of stress caused by travel and the unfamiliar environment [29, 30]. As patients became accustomed to the plethysmographic chamber and felt more familiar with the situation over time, the RR decreased. Inspiratory time Ti and expiratory time Te are parameters directly related to the RR, since the respiratory cycle is composed of both components. With a decrease of the RR over the three time periods, Te and Ti were seen to become longer. It is well known that Te and Ti are also influenced by stress [39, 40]. In a study investigating breathing patterns in stressful situations in humans, Te and Ti were shown to decrease significantly [39]. In contrast in the present study, the expected reduction of stress over time led to a prolongation of both parameters.

The parameter pause (PAU) is calculated with the formula PAU = (Te/Tr)-1 and thus dependent on Te and Tr. As both parameters change, there is also a significant increase in PAU over time.

Consistent with data from a study investigating the influence of the acclimatization time on BWBP-parameters in healthy conscious mice [3], a significant change in peak inspiratory flow (PIF) and peak expiratory flow (PEF) was detected in the present study over time. PEF and PIF stabilised in mice after approximately 10 minutes. In the present study in cats, the values were still changing after 20 minutes. Both parameters belong to the so-called pseudo-tidal breathing flow-volume loop parameters (pTBFVL) and are usually expressed as PEF/BW and PIF/BW because of the known influence of the body weight [12]. These flow signals were originally measured in cats and dogs using a face mask and recorded via a pneumotachograph with pressure transducer [41]. As this method is very difficult to use in cats, measurements were modified to be taken with the plethysmograph. In the plethysmographic chamber, flow signals are created by nasal airflow and thoracic movements and are therefore slightly different from those obtained with a face mask and pneumotachograph [12, 41, 42], which is why they are referred to as pseudo-flow signals [15]. Meowing, purring or movement can distort the flow measurement and create artefacts in the loops. Therefore, only loops without artefacts were used in the study that applied the method with the face mask in cats [41]. In the present study, disturbances such as movement and vocalisation were automatically removed from the data by the FinePointe programme. However, a study also using BWBP in cats revealed that artefacts can still occur despite automatic programmes [26]. Body movements of the participants caused significant deviations, especially in the parameters PEF and PIF [26]. Especially at the beginning of the measurements in the present study, many cats were more restless and moved around more frequently, which could have led to artefacts in the flow signals and might have caused significant changes of the pTBFVL over the three time periods.

A significant decrease of minute ventilation per body weight (MV/BW) could be observed in the present study over time. As a consequence of the influence of stress and anxiety on the respiratory cycle, an increase in minute ventilation can be observed, as described in healthy humans [40] and in mice before [3]. Based on data of the present study, an adequate acclimatization time can be recommended to reduce stress in cats as well, leading to a decrease in MV/BW as a consequence.

Tidal volume (TV) is also the only parameter in the current study that was not influenced by acclimatization time. It is defined as the volume of air per breath, usually being around 10–20 ml/kg in cats [6]. Previous studies have already identified TV as a very stable parameter in

cats [43] and in laboratory animals [3]. However, TV was the only parameter in the present study that remained stable over all three measuring periods.

Using a mixed effects model, a significant influence of age on all parameters except PEF/BW and PIF/BW was found. Since it is known from several mammalian studies that airway reactivity changes with age [4, 44–48], these results are not surprising. The significant influences of age on BWBP parameters is consistent with results from a previous study in which RR increased and TV/BW decreased in young compared to old cats [4]. Penh, a parameter frequently used to assess bronchoconstriction [2, 31, 49], was also significantly influenced by age in the present study. Older cats aged 8–16 years had a significantly higher Penh compared to those aged 3–7 years. In contrast, Hirt and co-workers could not find an influence of age on Penh. However, the age group of 3 to 11-year-old cats that were evaluated in his study, was not represented in the present study. Comparing the Penh values of the old cats in the current study with the values of the old cats in the former study, reveals similar results (0.643 ± 0.050) [4]. Compared to studies of basal Penh values in cats with bronchial disease, the mean values in the present study were only slightly lower and in a similar range [31, 37]. A correlation between age and airway obstruction has been suggested in human studies [46, 50]. However, a veterinary study showed a significant decrease in airway resistance (PCPENH300) with increasing age after provocation [4]. Since a clinical influence of the factor age on Penh cannot be excluded, the authors recommend, based on the results of the present study, that age should be taken into account when using BWBP to assess respiratory function in cats.

No significant influence of sex on BWBP parameters was found in the present study. These findings are in agreement with findings of other studies investigating the influence of sex on BWBP parameters in healthy cats [4, 18]. A significant sex-dependent influence was only found for the weight-specific volume and pseudoflow parameters in a previous study, as male cats have a larger lung volume due to their higher weight [18]. In the present study, these parameters (TV, MV, PEF and PIF) were already calculated by taking weight into account.

The study had several limitations. The circadian rhythm can have an influence on several parameters, including Penh, RR, Ti, Te, Tr, PIF and PEF [18]. The measurements in the current study were carried out at different times of the day and therefore could have been affected by this condition. In addition, most parameters are influenced by humidity and temperature and their fluctuations in the plethysmographic chamber [9, 18, 34, 42]. In the present study, neither the temperature nor the humidity could have been kept constant. For future studies, a presetting taking these influencing factors into account would be advisable.

Conclusion

The study indicates that most parameters measured by BWBP in healthy adult cats are strongly influenced by acclimatization time. Taking age and sex into account, there is still a significant influence of acclimatization time on all BWBP parameters except for TV/BW. Standardization of the measurement protocols for further studies should therefore be considered to ensure comparability of the results. Since many parameters still changed significantly between the T1 and T3 time periods, an acclimatization time of 20 minutes can be recommended. Alternatively, the well-being and stress level of the cats in the plethysmographic chamber could possibly be assessed using an ethogram, and the acclimatization time could be adjusted individually based on the temperament and well-being of each cat.

Since age-related significant differences were found for all BWBP parameters except PIF/BW and PEF/BW, the age of the cats should be taken into account when evaluating pulmonary function diagnostics in future studies.

Supporting information

S1 Table. Data of all 48 cats.
(PDF)

S2 Table. Mean values of each BWBP measurement parameter for each cat and each time period.
(PDF)

Acknowledgments

The authors are grateful to Hannah Gareis for her expert advice on the software system and training in the measurement methods. We would like to thank the cat owners for co-operating in this study.

Author Contributions

Conceptualization: Bianka Schulz.

Data curation: Petra Benz.

Formal analysis: Petra Benz, Yury Zablotski.

Investigation: Petra Benz, Bianka Schulz.

Methodology: Bianka Schulz.

Project administration: Bianka Schulz.

Supervision: Bianka Schulz.

Visualization: Petra Benz, Bianka Schulz.

Writing – original draft: Petra Benz.

Writing – review & editing: Petra Benz, Bianka Schulz.

References

1. Mitzner W, Tankersley C. Interpreting Penh in mice. J Appl Physiol (1985). 2003; 94(2):828–31; author reply 31–2. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00815.2002 PMID: 12531918.
2. Hamelmann E, Schwarze J, Takeda K, Oshiba A, Larsen GL, Irvin CG, et al. Noninvasive measurement of airway responsiveness in allergic mice using barometric plethysmography. Am J Respir Crit Care Med. 1997; 156(3 Pt 1):766–75. https://doi.org/10.1164/ajrccm.156.3.9606031 PMID: 9309991.
3. Quindry JC, Ballmann CG, Epstein EE, Selsby JT. Plethysmography measurements of respiratory function in conscious unrestrained mice. J Physiol Sci. 2016; 66(2):157–64. Epub 20151012. https://doi.org/10.1007/s12576-015-0408-1 PMID: 26459291.
4. Hirt RA, Dederichs D, Boehler A, Hoffman AM. Relationship of age, sex, body weight, and hematologic and respiratory variables with airway reactivity in adult cats. Am J Vet Res. 2003; 64(1):26–31. https://doi.org/10.2460/ajvr.2003.64.26 PMID: 12518874.
5. Kirschvink N, Leemans J, Delvaux F, Snaps F, Clercx C, Gustin P. Non-invasive assessment of airway responsiveness in healthy and allergen-sensitised cats by use of barometric whole body plethysmography. Vet J. 2007; 173(2):343–52. Epub 20051215. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.10.007 PMID: 16359894.
6. Garcia-Guasch L, Caro-Vadillo A, Manubens-Grau J, Carreton E, Morchon R, Simon F, et al. Evaluation of pulmonary function variables by using plethysmography in cats with respiratory disease associated to Dirofilaria immitis. Vet Parasitol. 2012; 187(1–2):254–8. Epub 20111219. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.12.013 PMID: 22230027.
7. Talavera J, Kirschvink N, Schuller S, Garrérès AL, Gustin P, Detilleux J, et al. Evaluation of respiratory function by barometric whole-body plethysmography in healthy dogs. Vet J. 2006; 172(1):67–77. Epub 20050705. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.04.019 PMID: 15996882.

8. Hirt RA, Leinker S, Mosing M, Wiederstein I. Comparison of barometric whole body plethysmography and its derived parameter enhanced pause (PENH) with conventional respiratory mechanics in healthy Beagle dogs. Vet J. 2008; 176(2):232–9. Epub 20070717. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.05.025 PMID: 17644375.
9. Halloy DJ, Kirschvink NA, Vincke GL, Hamoir JN, Delvaux FH, Gustin PG. Whole body barometric plethysmography: a screening method to investigate airway reactivity and acute lung injuries in freely moving pigs. Vet J. 2004; 168(3):276–84. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2003.10.015 PMID: 15501145.
10. Balakrishnan A, Tong CW. Clinical Application of Pulmonary Function Testing in Small Animals. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2020; 50(2):273–94. Epub 20191216. https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.10.004 PMID: 31858992.
11. Drorbaugh JE, Fenn WO. A barometric method for measuring ventilation in newborn infants. Pediatrics. 1955; 16(1):81–7. PMID: 14394741.
12. Lin CH, Lee JJ, Liu CH. Functional assessment of expiratory flow pattern in feline lower airway disease. J Feline Med Surg. 2014; 16(8):616–22. Epub 20131210. https://doi.org/10.1177/1098612X13515461 PMID: 24327372.
13. Lomask M. Further exploration of the Penh parameter. Exp Toxicol Pathol. 2006; 57 Suppl 2:13–20. Epub 20060425. https://doi.org/10.1016/j.etp.2006.02.014 PMID: 16638630.
14. Lim R, Zavou MJ, Milton PL, Chan ST, Tan JL, Dickinson H, et al. Measuring respiratory function in mice using unrestrained whole-body plethysmography. J Vis Exp. 2014;(90):e51755. Epub 20140812. https://doi.org/10.3791/51755 PMID: 25146417; PubMed Central PMCID: PMC4827935.
15. Hoffman AM, Dhupa N, Cimetti L. Airway reactivity measured by barometric whole-body plethysmography in healthy cats. Am J Vet Res. 1999; 60(12):1487–92. PMID: 10622156.
16. Thurlbeck WM. Postnatal human lung growth. Thorax. 1982; 37(8):564–71. https://doi.org/10.1136/thx.37.8.564 PMID: 7179184; PubMed Central PMCID: PMC459376.
17. Parameswaran K, Todd DC, Soth M. Altered respiratory physiology in obesity. Can Respir J. 2006; 13 (4):203–10. https://doi.org/10.1155/2006/834786 PMID: 16779465; PubMed Central PMCID: PMC2683280.
18. Kirschvink N, Leemans J, Delvaux F, Snaps F, Marlin D, Sparkes A, et al. Non-invasive assessment of growth, gender and time of day related changes of respiratory pattern in healthy cats by use of barometric whole body plethysmography. Vet J. 2006; 172(3):446–54. Epub 20050726. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.05.010 PMID: 16051506.
19. Lekeux P, Hajer R, Breukink HJ. Effect of somatic growth on pulmonary function values in healthy Friesian cattle. Am J Vet Res. 1984; 45(10):2003–7. PMID: 6437299.
20. Flandre TD, Leroy PL, Desmecht DJ. Effect of somatic growth, strain, and sex on double-chamber plethysmographic respiratory function values in healthy mice. J Appl Physiol (1985). 2003; 94(3):1129–36. Epub 20021127. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00561.2002 PMID: 12571140.
21. Skloot GS. The Effects of Aging on Lung Structure and Function. Clin Geriatr Med. 2017; 33(4):447–57. Epub 20170819. https://doi.org/10.1016/j.cger.2017.06.001 PMID: 28991643.
22. García-Guasch L, Caro-Vadillo A, Manubens-Grau J, Carretón E, Camacho AA, Montoya-Alonso JA. Pulmonary function in obese vs non-obese cats. J Feline Med Surg. 2015; 17(6):494–9. Epub 20140910. https://doi.org/10.1177/1098612X14548786 PMID: 25209968.
23. Caro-Vadillo A, Montoya-Alonso JA, García-Guasch L. Impact of Obesity on Lung Function in Cats with Bronchoconstriction. Vet Sci. 2022; 9(6). Epub 20220607. https://doi.org/10.3390/vetsci9060278 PMID: 35737329; PubMed Central PMCID: PMC9230905.
24. Liu NC, Adams VJ, Kalmar L, Ladlow JF, Sargan DR. Whole-Body Barometric Plethysmography Characterizes Upper Airway Obstruction in 3 Brachycephalic Breeds of Dogs. J Vet Intern Med. 2016; 30 (3):853–65. Epub 20160509. https://doi.org/10.1111/jvim.13933 PMID: 27159898; PubMed Central PMCID: PMC4913582.
25. Farnworth MJ, Chen R, Packer RM, Caney SM, Gunn-Moore DA. Flat Feline Faces: Is Brachycephaly Associated with Respiratory Abnormalities in the Domestic Cat (Felis catus)? PLoS One. 2016; 11(8): e0161777. Epub 20160830. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161777 PMID: 27574987; PubMed Central PMCID: PMC5004878.
26. Lin CH, Wu HD, Lo PY, Lee JJ, Liu CH. Simultaneous visual inspection for barometric whole-body plethysmography waveforms during pulmonary function testing in client-owned cats. J Feline Med Surg. 2016; 18(10):761–7. Epub 20150715. https://doi.org/10.1177/1098612X15592662 PMID: 26179576.
27. Leemans J, Kirschvink N, Bernaerts F, Clercx C, Cambier C, Gustin P. A pilot study comparing the antispasmodic effects of inhaled salmeterol, salbutamol and ipratropium bromide using different aerosol devices on muscarinic bronchoconstriction in healthy cats. Vet J. 2009; 180(2):236–45. Epub 20080221. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.11.008 PMID: 18294877.

28. Kirschvink N, Leemans J, Delvaux F, Snaps F, Clercx C, Gustin P. Bronchodilators in bronchoscopy-induced airflow limitation in allergen-sensitized cats. J Vet Intern Med. 2005; 19(2):161–7. https://doi.org/10.1892/0891-6640(2005)19<161:bibali>2.0.co;2 PMID: 15822559.

29. Dijkstra E, Teske E, Szatmári V. Respiratory rate of clinically healthy cats measured in veterinary consultation rooms. Vet J. 2018; 234:96–101. Epub 20180224. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.02.014 PMID: 29680402.

30. Quimby JM, Smith ML, Lunn KF. Evaluation of the effects of hospital visit stress on physiologic parameters in the cat. J Feline Med Surg. 2011; 13(10):733–7. Epub 20110812. https://doi.org/10.1016/j.jfms.2011.07.003 PMID: 21839664.

31. Allerton FJ, Leemans J, Tual C, Bernaerts F, Kirschvink N, Clercx C. Correlation of bronchoalveolar eosinophilic percentage with airway responsiveness in cats with chronic bronchial disease. J Small Anim Pract. 2013; 54(5):258–64. https://doi.org/10.1111/jsap.12070 PMID: 23617298.

32. Hülsmann S, Khan A, Hagos L, Hindermann M, Nägel T, Dullin C. Evaluation of a mechanical lung model to test small animal whole body plethysmography. Sci Rep. 2021; 11(1):17099. Epub 20210824. https://doi.org/10.1038/s41598-021-96355-y PMID: 34429449; PubMed Central PMCID: PMC8384843.

33. Bates J, Irvin C, Brusasco V, Drazen J, Fredberg J, Loring S, et al. The use and misuse of Penh in animal models of lung disease. Am J Respir Cell Mol Biol. 2004; 31(3):373–4. https://doi.org/10.1165/ajrcmb.31.3.1 PMID: 15317683.

34. Lundblad LK, Irvin CG, Adler A, Bates JH. A reevaluation of the validity of unrestrained plethysmography in mice. J Appl Physiol (1985). 2002; 93(4):1198–207. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00080.2002 PMID: 12235015.

35. Hülsmann S, Oke Y, Mesuret G, Latal AT, Fortuna MG, Niebert M, et al. The postnatal development of ultrasonic vocalization-associated breathing is altered in glycine transporter 2-deficient mice. J Physiol. 2019; 597(1):173–91. Epub 20181120. https://doi.org/10.1113/JP276976 PMID: 30296333; PubMed Central PMCID: PMC6312529.

36. Hernandez-Miranda LR, Ruffault PL, Bouvier JC, Murray AJ, Morin-Surun MP, Zampieri N, et al. Genetic identification of a hindbrain nucleus essential for innate vocalization. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017; 114(30):8095–100. Epub 20170711. https://doi.org/10.1073/pnas.1702893114 PMID: 28698373; PubMed Central PMCID: PMC5544295.

37. Gareis H, Hörner-Schmid L, Zablotski Y, Palić J, Schulz B. Evaluation of barometric whole-body plethysmography for therapy monitoring in cats with feline lower airway disease. PLoS One. 2022; 17(10):e0276927. Epub 20221027. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276927 PMID: 36301875; PubMed Central PMCID: PMC9612479.

38. Ljungvall I, Rishniw M, Porciello F, Häggström J, Ohad D. Sleeping and resting respiratory rates in healthy adult cats and cats with subclinical heart disease. J Feline Med Surg. 2014; 16(4):281–90. Epub 20131029. https://doi.org/10.1177/1098612X13508940 PMID: 24170428.

39. Ritz T, Simon E, Trueba AF. Stress-induced respiratory pattern changes in asthma. Psychosom Med. 2011; 73(6):514–21. Epub 20110628. https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e318222050d PMID: 21715298.

40. Boiten FA, Frijda NH, Wientjes CJ. Emotions and respiratory patterns: review and critical analysis. Int J Psychophysiol. 1994; 17(2):103–28. https://doi.org/10.1016/0167-8760(94)90027-2 PMID: 7995774.

41. Rozanski EA, Hoffman AM. Pulmonary function testing in small animals. Clin Tech Small Anim Pract. 1999; 14(4):237–41. https://doi.org/10.1016/S1096-2867(99)80017-6 PMID: 10652842.

42. Kirschvink N. Barometric whole body plethysmography and enhanced pause (PENH): how relevant are they? Vet J. 2008; 176(2):125–6. Epub 20070905. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.020 PMID: 17822932.

43. Jennings DB, Szlyk PC. Ventilation and respiratory pattern and timing in resting awake cats. Can J Physiol Pharmacol. 1985; 63(2):148–54. https://doi.org/10.1139/y85-026 PMID: 3921225.

44. Lin CH, Lo PY, Wu HD. An observational study of the role of indoor air pollution in pets with naturally acquired bronchial/lung disease. Vet Med Sci. 2020; 6(3):314–20. Epub 20200103. https://doi.org/10.1002/vms3.231 PMID: 31901015; PubMed Central PMCID: PMC7397909.

45. Horsley JR, Sterling IJ, Waters WE, Howell JB. How common is increased airway reactivity amongst the elderly? Gerontology. 1993; 39(1):38–48. https://doi.org/10.1159/000213513 PMID: 8440489.

46. Fowler RW, Pluck RA, Hetzel MR. Maximal expiratory flow-volume curves in Londoners aged 60 years and over. Thorax. 1987; 42(3):173–82. https://doi.org/10.1136/thx.42.3.173 PMID: 3616978; PubMed Central PMCID: PMC460685.

47. McKenzie R, Burton MD, Royce SG, Tang ML. Age and sex influences on airway hyperresponsiveness. J Asthma. 2010; 47(6):651–4. https://doi.org/10.3109/02770901003692801 PMID: 20632782.

48. Kirschvink N, Kersnak E, Leemans J, Delvaux F, Clercx C, Snaps F, et al. Effects of age and allergen-induced airway inflammation in cats: radiographic and cytologic correlation. Vet J. 2007; 174(3):644–51. Epub 20070110. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.11.010 PMID: 17218130.

49. Galler A, Shibly S, Bilek A, Hirt RA. Inhaled budesonide therapy in cats with naturally occurring chronic bronchial disease (feline asthma and chronic bronchitis). J Small Anim Pract. 2013; 54(10):531–6. Epub 20130904. https://doi.org/10.1111/jsap.12133 PMID: 24000786.

50. Janssens JP, Pache JC, Nicod LP. Physiological changes in respiratory function associated with ageing. Eur Respir J. 1999; 13(1):197–205. https://doi.org/10.1034/j.1399-3003.1999.13a36.x PMID: 10836348.

IV. PUBLIKATION 2: ORIGINAL-PUBLIKATION ZUR STUDIE 2

Evaluation of Stress Scores of Healthy Adult Cats during Barometric Whole-Body Plethysmography and its Correlation with Measurement Parameters

Petra Benz

Yury Zablotski

Bianka Schulz

Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig Maximilian University of Munich, Munich, Germany

Animals, veröffentlicht

Abdruck mit Genehmigung MDPI

Animals 2024, 14, 2249. https:// doi.org/10.3390/ani14152249

animals

MDPI

Article

Evaluation of Stress Scores of Healthy Adult Cats during Barometric Whole-Body Plethysmography and Its Correlation with Measurement Parameters

Petra Benz *, Yury Zablotski and Bianka Schulz

Small Animal Clinic, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig Maximilian University of Munich, 80539 Munich, Germany; y.zablotski@med.vetmed.uni-muenchen.de (Y.Z.); bianka.schulz@lmu.de (B.S.)
* Correspondence: pe_benz@web.de

Simple Summary: The stress load of cats undergoing lung function diagnostics using barometric whole-body plethysmography has not yet been investigated. In this study, a feline stress score was used to determine the stress level of healthy cats over a 30 min time period during plethysmographic measurement; in addition, the correlation with measured parameters was evaluated. The stress levels of the majority of the 48 cats studied were increased at the beginning of measurements and decreased significantly over time. There was a significant correlation between most measurement parameters and the total stress score. Although the barometric whole-body plethysmography is considered to be a particularly gentle method, most cats initially experienced moderate stress. The stress level must be taken into account when interpreting the measured parameters.

Abstract: Barometric whole-body plethysmography (BWBP) is considered to be a particularly gentle method of assessing lung function in cats. However, there have been no studies to date investigating the stress experienced by cats during measurements. The prospective study included 48 healthy adult cats. Each cat was measured in the plethysmographic chamber for a total of 30 min and stress levels were determined every 10 min using a stress ethogram. At the beginning of measurements, 75% of cats were assessed as tense. Over the three time periods, a significant ($p < 0.001$) reduction in the total stress score was observed. In addition, all measurement parameters correlated significantly with the stress score, with the exception of enhanced pause and tidal volume. It can therefore be assumed that cats will initially experience stress during examination in the plethysmographic chamber, but stress will decrease significantly over time. As the stress level correlates with many measurement parameters, this should be taken into account when interpreting the results.

Keywords: feline stress score; cat behaviour; feline asthma; lung function testing; non-invasive

check for updates

Citation: Benz, P.; Zablotski, Y.; Schulz, B. Evaluation of Stress Scores of Healthy Adult Cats during Barometric Whole-Body Plethysmography and Its Correlation with Measurement Parameters. *Animals* **2024**, *14*, 2249. https://doi.org/10.3390/ani14152249

Academic Editor: Pietro Lombardi

Received: 9 July 2024
Revised: 30 July 2024
Accepted: 31 July 2024
Published: 2 August 2024

Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Domestic cats are popular pets all over the world [1,2]. With 1–5% of the cat population suffering from feline lower airway disease (FLAD) [3,4], veterinary visits are often unavoidable. Visits to the vet are considered stressful for animals because of the unfamiliar surroundings, smells, noises, and people [5–7]. Stress in cats manifests in vocalisations, posture, ears, whiskers, and eyes [5,8–10]. However, stress is not only visible on the outside, it also has an effect on vital parameters such as blood pressure, rectal temperature, heart rate, and respiratory rate [11–13]. Particular attention should be paid to the effect of stress on respiration. Breathing is primarily regulated without active control by the respiratory centre [14,15]. The respiratory centre responds to metabolic changes in CO_2, O_2, and pH by adjusting respiratory rate and depth of breathing (tidal volume) [16,17], which also affects lung function. However, breathing and lung function can also be influenced by emotions such as fear, sadness, and happiness, as several studies in humans have shown [14,15,18–21].

Emotional changes in breathing can be unconscious, but can also be voluntary [17]. Emotions affect respiratory performance through a complex interaction among the brainstem, cerebral cortex, and limbic system [14,17]. A special role in processing emotions is played by one part of the limbic system, the amygdala [14,17,22]. There is evidence that the electrical stimulation of the amygdala can induce specific symptoms of anxiety [14]. This could be shown in a study in cats, in that the stimulation of the amygdala resulted in an increase in respiratory rate [23]. Lung function diagnostics, which can be helpful to assess airflow limitation in cats with FLAD, often involve manipulation and sometimes even anaesthesia, which is particularly stressful for the cat. Barometric whole-body plethysmography (BWBP) represents an option for lung function testing that can be performed without manipulation and restraint while the patient is awake. Therefore, it seems very well accepted by cats [24]. However, the unfamiliar environment and situation, in addition to the sounds and smells in the plethysmographic chamber, are also potential stress triggers. Negative emotions, in turn, affect the respiratory centre via the limbic system, and could thus influence lung function parameters.

The aim of this study was to investigate the stress level of cats in the plethysmographic chamber, to assess its course during acclimatisation time, and to correlate the stress level with the measured parameters. The authors hypothesise that the unfamiliar situation in the plethysmographic chamber influences the stress level of cats, and as a consequence, the measurement parameters of BWBP.

2. Materials and Methods

2.1. Ethical Approval

The Ethics Committee of the LMU Munich Centre for Clinical Veterinary Medicine approved all study procedures (211-07-04-2020). Owner consent was given for all participants.

2.2. Study Population

The prospective observational study involved 48 cats owned by staff of the teaching hospital, students, or cats that were presented to the clinic for annual health checks. The study was performed from May 2020 to September 2021. Only clinically healthy cats at least one year of age with a normal body condition score (BCS) (range 3/9 to 6/9) were included in the study. All cats were in the plethysmographic chamber for the first time. The study population has already been the subject of another study evaluating the influence of acclimatisation time on BWBP parameters [25].

2.3. Study Design

All cats were examined clinically prior to the BWBP measurement. The cats spent 30 min in the plethysmographic chamber and lung function measurements were recorded during that time period. For evaluation, the measurement period was divided into three units of 10 min each (T1 = 0–10 min, T2 = 10–20 min, T3 = 20–30 min). During the 30 min of measurement in the plethysmographic chamber, the cats were evaluated for stress in 10 min sections using a stress score. The investigator was present during the entire measurement period to assess the behaviours of the animals at all times.

2.4. Barometric Whole-Body Plethysmography

BWBP was performed as described before [25]. Briefly, the cats were placed in a transparent chamber inside a standardised transport box (Figure 1). The transport box was sprayed with two puffs of Feliway® (Ceva Tiergesundheit GmbH, Düsseldorf, Germany), a cat calming drug, before placing the cat into it. To ensure the continuous ventilation of the chamber with fresh air, bias flow was used (Buxco® Multi-function Bias Flow, Data Science International (DSI), New Brighton, MN, USA). Air flow was provided by sieve pneumotachographs. The pressure changes within the chamber were recorded using a flow transducer (Halcyon™ pneumotach, Data Science International (DSI), New Brighton, MN,

USA), and with the help of the preamplifier (Buxco® QT Digital Preamplifier, Data Science International (DSI), New Brighton, MN, USA), measurements were amplified, digitised and forwarded to the computer software program v2.9.0 (Buxco® FinePoint Small Animal Whole Body Plethysmograph, Data Science International (DSI), New Brighton, MN, USA) for analysis.

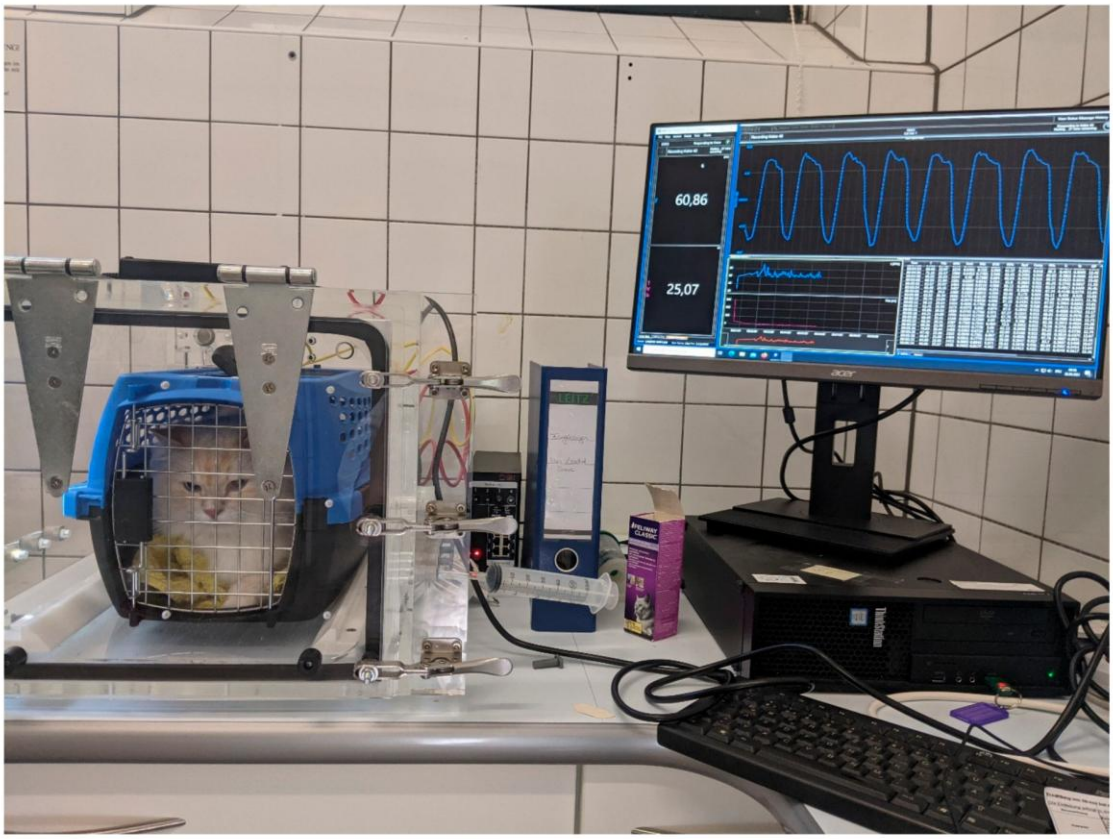

Figure 1. Image of a cat in the plethysmographic chamber. The lung function diagnostic recordings are recorded with the software program. © Small Animal Clinic, LMU Munich.

The measured and calculated parameters are listed in Table 1.

Table 1. BWBP parameters with units and description.

BWBP Parameter	Unit	Description
RR	Breaths/min	Respiratory rate
Ti	s	Inspiratory time
Te	s	Expiratory time
TV/BW	mL/kg	Tidal volume per body weight
MV/BW	mL/min/kg	Minute volume per body weight
PIF/BW	mL/s/kg	Peak inspiratory flow per body weight
PEF/BW	mL/s/kg	Peak expiratory flow per body weight
Tr	ms	Relaxation time; time at which 65% of tidal volume is exhaled
PAU	unitless	Pause, [(Te/Tr) − 1]
Penh	unitless	Enhanced pause, [((Te/Tr) −1) × (PEF/PIF)]

min: minute, s: second, mL: millilitre, kg: kilogram, ms: millisecond.

2.5. Assessment of Stress Level

For the assessment of the cats' stress level during plethysmographic measurement, an adapted Kessler and Turner cat-stress-score (CSS) was used [26]. The assessment was non-invasive and did not affect the cats' behaviour. The assessment of the stress level was always performed by the same observer, who sat quietly in front of the plethysmographic chamber for the entire 30 min period. Each assessment was made for a 10 min observation period. Thus, three different stress scores were documented for each cat over three different time periods. The stress ethogram consisted of seven categories. These categories included 1 "relaxed"; 2 "alert relaxed"; 3 "tense"; 4 "strongly tense"; 5 "stiff"; 6 "anxious"; and 7 "panicky". The behavioural elements used to assess the stress categories are shown in Table 2.

Table 2. Cat-stress-score adapted from Kessler and Turner [26].

Indicator	Behavioural Element	Category
Abdomen	1 = exposed, visible	1–7
	2 = sometimes unprotected	
	3 = protected, not visible	
	4 = protected, not visible	
	5 = protected, not visible	
	6 = protected, not visible	
	7 = protected, not visible	
Breathing	1 = slowly	
	2 = slowly	
	3 = slowly	
	4 = slowly	
	5 = slow to fast	
	6 = fast	
	7 = fast	
Legs	1 = stretched out (front- and hindlegs)	
	2 = underlaid, hind legs stretched out	
	3 = angled	
	4 = angled	
	5 = angled, crouched	
	6 = angled, crouched	
	7 = buckled	
Tail	1 = stretched out, loosely wrapped around body	
	2 = loosely wrapped around body, raised, loosely downward	
	3 = possibly twitching, held to body, or arching backwards	
	4 = close to body, tensed held down, twitching, beating	
	5 = close to body, held forward in an arc	
	6 = close to body, low to the ground, motionless	
	7 = close to body	

Table 2. *Cont.*

Indicator	Behavioural Element	Category
Head	1 = chin or cheek resting on the ground	1–7
	2 = propped up or held against the body, slight movements	
	3 = retracted (above the body), smaller movements	
	4 = retracted (above the body), pressed against the body, little or no movement	
	5 = retracted between the shoulders, absent, or weak movement	
	6 = retracted between the shoulders, close to the body, facing away from danger	
	7 = below the body, motionless	
Eyes	1 = closed, half open, slow blink	
	2 = closed, half open, open	
	3 = open (normal)	
	4 = wide open, tightly closed	
	5 = wide open	
	6 = torn up	
	7 = torn up	
Pupils	1 = normal	
	2 = normal	
	3 = normal	
	4 = partially dilated	
	5 = dilated	
	6 = fully delated	
	7 = fully delated	
Ears	1 = normal (sideways or slightly backwards)	
	2 = turned outward or backward, not applied	
	3 = attentively forward	
	4 = attentively forward	
	5 = partially flattened	
	6 = fully flattened	
	7 = facing backwards and fully flattened	
Whiskers	1 = lateral	
	2 = lateral or forward	
	3 = lateral or forward	
	4 = forward	
	5 = forward	
	6 = back	
	7 = back	

Table 2. *Cont.*

Indicator	Behavioural Element	Category
Head	1 = chin or cheek resting on the ground	1–7
Vocalisation	1 = none/quiet	
	2 = none/quiet	
	3 = meow	
	4 = plaintive meow	
	5 = plaintive meow/growling	
	6 = plaintive meow/growling	
	7 = plaintive meow/growling	
Activity	1 = sleeping/resting	
	2 = resting, playing	
	3 = resting, alert, actively prowling	
	4 = cramped sleeping, alert, trying to escape	
	5 = alert, trying to escape	
	6 = creeping, motionless alert	
	7 = motionless alert	
Total cat-stress-score	=Average of all twelve behavioural elements	

2.6. Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS version 28.0.0 software (IBM Corp, Armonk, NY, USA). The Shapiro–Wilk test was used to test for the normal distribution of all data. Since most of the data were not normally distributed, and due to the presence of repeated measures, the Friedman test was applied to assess the evolution of the CSS over the three time periods and to compare the BWBP measurement parameters of the three measurement units. All time points were compared among each other using the Dunn–Bonferroni post hoc test. The Bonferroni *p*-value correction for multiple comparisons was applied to the Friedman test results in order to reduce the Type 1 Error. Spearman correlation coefficient *r* was used to examine the correlation between CSS and BWBP measurement parameters over the three time periods. Table 3 shows the interpretation of the Spearman correlation coefficient *r*. The level of significance was set at $p < 0.05$ for all tests.

Table 3. Interpretation of the Spearman correlation coefficient *r*.

Correlation Coefficient *r*	Categorisation
0.0 < 0.1	Very weak
0.1 < 0.3	Weak
0.3 < 0.5	Moderate
0.5 < 0.7	Strong
0.7 < 1.0	Very strong

3. Results

3.1. Study Population

All 48 cats entering the study could be included. The group consisted of 26 males (24 neutered) and 22 females (20 spayed), with a median age of 4.39 ± 4.38 years (range 1–16 years) and a median BMI of 4/9 (range from 3/9 to 6/9). Breeds included Euro-

pean Shorthair (22), Norwegian Forest Cat (6), Siberian Forest Cat (2), Maine Coon (2), British Longhair (1), British Shorthair (3), Birman (4), Bengal (1), British Shorthair mix (1), Norwegian Forest mix (1), Birman ×Persian mix (3), and Bengal ×British Shorthair mix (2).

3.2. Barometric Whole-Body Plethysmography

BWBP was well tolerated by all cats. The results of the BWBP measurements have been published as part of a different study [25].

3.3. Cat-Stress-Score

The development of the CSS over all three time periods is shown in Figure 2. Out of the 48 cats, 3 cats were assessed as strongly tense at the beginning of the study, 36 cats were tense, 8 cats were alert relaxed, and 1 cat was relaxed. Between time periods T1 and T2 and T1 and T3, CSS decreased significantly ($p < 0.001$); between T2 and T3, the decrease was not significant ($p = 0.109$). Table 4 shows the absolute and percentage distribution of cats in the seven CSS categories over the three time points.

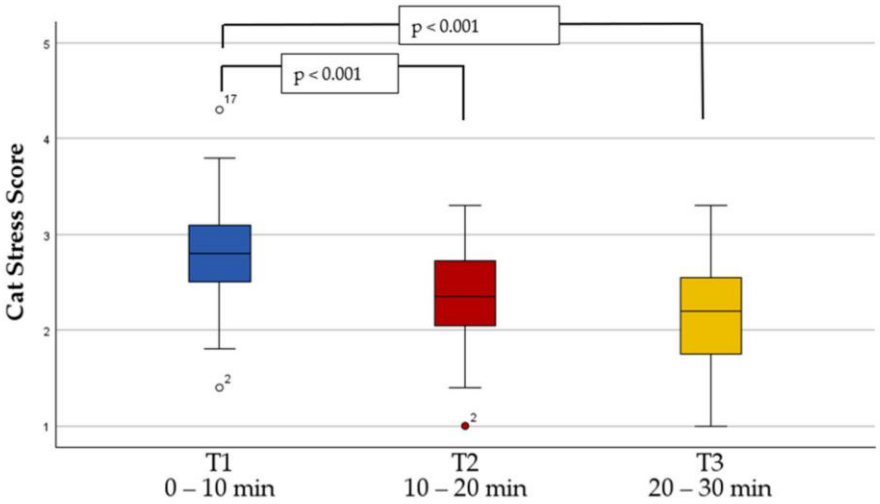

Figure 2. Development of the cat stress score over the three time periods, tested with Friedman test and Dunn–Bonferroni post hoc test. The brackets indicate statistically significant changes ($p < 0.001$). Outliers are indicated by circles, the corresponding number identifies the respective cat.

Table 4. Absolute and percentage distribution of cats assigned to the seven categories of the cat-stress-score.

Category	Time Periods		
	T1 ***n* = 48**	**T2** ***n* = 48**	**T3** ***n* = 48**
Relaxed	1 (2.1%)	2 (4.2%)	2 (4.2%)
Alert relaxed	8 (16.7%)	29 (60.4%)	32 (66.7%)
Tense	36 (75.0%)	17 (35.4%)	14 (29.2%)
Strongly tense	3 (6.3%)	-	-
Stiff	-	-	-
Anxious	-	-	-
Panicky	-	-	-

3.4. Correlation between BWBP Parameters and Cat-Stress-Score

The results of the correlation between the CSS and the BWBP parameters for all three time points are presented in Table 5. Respiratory rate (RR), expiratory time (Te), minute volume per body weight (MV/BW), peak inspiratory flow per body weight (PIF/BW), peak expiratory flow per body weight (PEF/BW), and relaxation time (Tr) correlated moderately with CSS during T1. MV/BW, PEF/BW, and PIF/BW also showed a moderate correlation with CSS at T2 and T3. The parameters pause (PAU) and inspiration time (Ti) were only weakly correlated with the CSS during the whole measuring period. No significant correlation was found between the enhanced pause (Penh) and tidal volume per body weight (TV/BW) and the CSS.

Table 5. Correlation coefficients *r* between measurement parameters and cat-stress-score at time periods T1, T2, and T3.

BWBP Parameter	Time Periods		
	T1	**T2**	**T3**
RR	**0.324**	0.110	0.153
Ti	**−0.297**	−0.081	−0.135
Te	**−0.325**	−0.122	−0.170
TV/BW	−0.176	0.022	−0.011
MV/BW	**0.465**	**0.350**	**0.376**
PIF/BW	**0.372**	0.258	0.249
PEF/BW	**0.481**	**0.351**	**0.356**
Tr	**−0.303**	−0.121	−0.151
PAU	−0.230	−0.074	−0.222
Penh	0.048	0.182	0.047

Values in bold indicate $p < 0.05$.

4. Discussion

To the authors' knowledge, this is the first study evaluating the stress score of cats during plethysmographic measurements. The study showed that the majority of cats were tense at the beginning of the measurement, but the stress level decreased significantly over time. In addition, it could be shown that RR, MV/BW, PIF/BW, PEF/BW, Ti, and Te correlated significantly with CSS.

Most cats react with stress to new environments, smells, unfamiliar faces, and sounds or when they are separated from their owners and locked in a cage [5–7,9,11,27–29]. Most of these factors apply during transportation and at the veterinarian's office. Thus, it was not surprising that the majority of cats in this study were assessed as being tense at the beginning of the plethysmographic measurement. Consistent with findings in other studies, the tense behaviour of the cats was expressed as a stiff posture, crouching, a protected belly, a twitching tail held close to the body, and open eyes [5,9,26,29–31]. Two study participants were found alert and relaxed (category 2) at the beginning of measurements, but three were even strongly tense (category 4). How a cat reacts to unfamiliar situations is individual and depends on genetics, socialisation, and previous experience [5,6,9,32,33]. Since all the cats in the present study were adult, well socialised, healthy, and had been in a transport box before, there were no cats during the entire measurement period that showed an even higher level of stress expressed as being stiff (category 5), anxious (category 6), or even panicky (category 7). BWBP is considered a non-manipulative and non-invasive method that has been used in studies in cats before to assess lung function without the description of severe stress-related reactions [24,34–36]. Therefore, a high stress level in the participating cats was not expected. Another advantage of our study population was that none of the cats had been placed in a transport cage for the first time when the plethysmographic

measurements were taken. Cage confinement is initially stressful for many cats because it is a restriction of their normal behaviour [9]. Therefore, it is important that cats are already accustomed to a transport box when BWBP is planned as part of a diagnostic work-up. In addition, Feliway®, which has been shown to reduce stress levels in cats during veterinary examinations [37], was used in the present study. It should thus be noted that the stress level of the cats may have been higher during the measurements if Feliway® had not been used. The mean stress level of individual cats decreased by no more than one level per unit of time. No further significant reduction in stress level was observed between T2 and T3. It can be assumed that cats slowly become accustomed to the situation in the chamber while BWBP is performed, but are restricted in their movement and cannot avoid potential stressors (e.g., noise, no hiding places, odours); therefore, the stress potentially remains at the same level after first acclimatisation and does not decrease further. In some cases, the stress scores increased again in the third phase. This may be due to cats becoming more restless and impatient due to the behavioural restrictions. This especially seemed to affect younger and more active cats. Unfortunately, this hypothesis could not be confirmed by a statistical analysis in the present study due to the small number of cats (3) that showed an increase in stress level in T3. The cat population in this study was in the plethysmographic chamber for the first time. Repeated measurements may acclimate the cats to the situation and further reduce stress levels. However, further studies are needed to prove this hypothesis.

It is important to keep in mind that only healthy cats were examined in the present study. It must be taken into account that cats with respiratory diseases are additionally stressed by their underlying disease. Therefore, a higher stress level is generally to be expected in sick cats.

Another important aspect of the study was to find out whether the BWBP parameters were influenced by the CSS during the measurement sessions. When measurements were started, the respiratory rate (RR) was already significantly increased above the range considered physiological in healthy cats (data is shown in Table S2) [38]. It is well known that an unfamiliar environment can trigger fear in cats via the stimulation of the amygdala, leading to an increase in RR [23]. In the present study, the RR correlated moderately and significantly with the CSS during T1. Similarly, studies in humans described a positive correlation between RR and anxiety scores [39]. Later, during the measurement period (T2–T3), only a weak correlation between CSS and RR was present. While the RR only decreased from 65 to 57 breaths/minute from T1–T3 and thus never reached a normal range, whilst the CSS, on the other hand, continued to decrease significantly to the relaxed or alert state, because posture and other behaviour parameters normalised. A reason for the permanently elevated RR could be persistent mild stress. It has been shown that most cats presented to veterinary practices show permanently elevated RR above the reference range [12],;therefore, normal values can probably not be expected during examinations in the plethysmographic chamber. During T1, there was a significant negative correlation of the parameters inspiratory time (Ti) and expiratory time (Te) with the CSS. The negative correlation can be explained by the fact that a reduction in stress leads to a prolongation of the in- and expiratory phases. The results of the present study are consistent with those of human studies in that a decrease in Ti and Te was observed in healthy subjects during a stressful phase [21], and a negative correlation was observed between expiratory time and anxiety scores [40].

In the present study, the measurement parameter minute ventilation per body weight (MV/BW) correlated significantly with CSS over all three time periods. It is well known from human studies that MV/BW is influenced by stress and anxiety [15,41]. Hyperventilation in stressful situations may be an explanation for the increase in MV. As a consequence of acclimatisation, in the present study, CSS and RR decreased during the measurements, leading to a reduction in MV.

Particularly interesting in this study is that the peak expiratory flow per body weight (PEF/BW) correlated significantly with CSS at all three time periods, and peak inspiratory

flow per body weight (PIF/BW) correlated at T1. Both parameters have been associated with upper and lower airway obstruction in dogs [42,43] and cats [44] in previous studies. It is known from studies in people that stress can induce bronchoconstriction, particularly in patients with asthma [45]. Two human studies using BWBP and forced oscillation technique were able to show that different emotions can lead to increased airway resistance, even in healthy people [46,47]. Thus, mild-to-moderate airway obstruction induced by the initially higher stress level may also have occurred in the clinically healthy cats in the present study. As the CSS decreases, bronchoconstriction potentially decreases as well. This, in turn, leads to a change in PIF/BW and PEF/BW, explaining the correlation with CSS. The correlation between PIF/BW and CSS during T2 and T3 was still moderate, but no longer significant. At T1, there was a negative significant correlation between the relaxation time (Tr) and CSS. Tr is the time point at which 65% of the tidal volume has been expired. At T1, the CSS correlated significantly with the RR, as both were significantly increased. With a higher RR, Tr occurs more quickly. A higher CSS associated with hyperventilation therefore leads to a lower Tr, which explains the negative correlation during T1.

The calculated parameter "enhanced pause" (Penh) has been discussed as an indicator of bronchoconstriction in cats [34–36,48]. Increased Penh values can be an indication of airway obstruction in mice [49]. In agreement with other studies, which consider Penh to be a stable parameter not influenced by age, weight, or sex [50,51], no significant correlation with CSS was found at any time point in the present study. Therefore, according to the results of the present study, Penh is not expected to be affected by stress.

This study has several limitations. It is known that a variety of different emotions can induce different breathing patterns in humans. However, it is difficult to distinguish between different emotions in cats; therefore, only stress levels were considered in this study. It is also important to note that a cat's breathing pattern under stress may differ from that of a human under stress. It is also known that cats express stress levels in different ways, often vaguely [5], making interpretation difficult. In addition, the fact that waiting times before measurement in the chamber could also affect stress levels [9] could not be taken into account in this study.

Since cats often experience great stress when separated from their owners [10,32], future BWBP measurements could include the owner in this diagnostic procedure to further reduce the cat's stress level. For future studies, a presetting evaluating this as a potential influencing factor would be advisable. The authors suggest that short waiting times, familiarisation with the plethysmographic chamber before measurement, and the presence of the owner may further reduce stress levels, but further research is needed to prove this hypothesis. In addition, some measurement parameters are influenced by humidity and temperature in cats [50]. In the current study, however, the plethysmographic chamber was not preheated, which could additionally influence the measured parameters. However, both temperature and humidity were not subject to major fluctuations.

5. Conclusions

Although BWBP is considered a non-invasive diagnostic tool, healthy cats are initially stressed by the unfamiliar situation and environment. However, the CSS decreases significantly over the course of the measurements. Most of the measured parameters correlated with CSS, suggesting the usefulness of sufficient acclimatisation time before measurement. Future studies should therefore take the stress level into account when interpreting feline BWBP measurement parameters.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: https://www.mdpi.com/article/10.3390/ani14152249/s1, Table S1: Data of all 48 cats included in the study; Table S2: Mean values of all BWBP parameters for each cat and each time period.

Author Contributions: Conceptualisation, P.B. and B.S.; methodology, P.B. and B.S.; software, P.B. and B.S.; validation, P.B. and B.S.; formal analysis, P.B. and Y.Z.; investigation, P.B. and B.S.; resources, B.S.; data curation, P.B. and Y.Z.; writing—original draft preparation, P.B.; writing—review and editing,

P.B. and B.S.; visualisation, P.B.; supervision, B.S.; project administration, B.S.; funding acquisition, B.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The authors received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article. The BWBP system was provided by a grant from the Center for Clinical Veterinary Medicine of Ludwig Maximilian University of Munich.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Ethics Committee of the Centre for Clinical Veterinary Medicine of LMU University of Munich (211-07-04-2020).

Informed Consent Statement: Owner consent was given for all participants.

Data Availability Statement: The original contributions presented in the study are included in the article/Supplementary Materials, further inquiries can be directed to the corresponding author/s.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Krajcarz, M.; Van Neer, W.; Krajcarz, M.T.; Popović, D.; Baca, M.; De Cupere, B.; Goffette, Q.; Küchelmann, H.C.; Gręzak, A.; Iwaszczuk, U.; et al. Stable isotopes unveil one millennium of domestic cat paleoecology in Europe. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 12775. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
2. Traversa, D.; Otranto, D. Biotechnological advances in the diagnosis of little-known parasitoses of pets. *Parasitol. Res.* **2009**, *104*, 209–216. [CrossRef] [PubMed]
3. Bay, J.D.; Johnson, L.R. Feline bronchial disease/asthma. In *Textbook of Respiratory Disease in Dogs and Cats*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2004; pp. 388–396.
4. Padrid, P. *Kirk's Current Veterinary Therapy XIV*; Saunders: St. Louis, MO, USA, 2009.
5. Horwitz, D.F.; Rodan, I. Behavioral awareness in the feline consultation: Understanding physical and emotional health. *J. Feline Med. Surg.* **2018**, *20*, 423–436. [CrossRef] [PubMed]
6. Riemer, S.; Heritier, C.; Windschnurer, I.; Pratsch, L.; Arhant, C.; Affenzeller, N. A Review on Mitigating Fear and Aggression in Dogs and Cats in a Veterinary Setting. *Animals* **2021**, *11*, 158. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
7. Karn-Buehler, J.; Kuhne, F. Perception of stress in cats by German cat owners and influencing factors regarding veterinary care. *J. Feline Med. Surg.* **2022**, *24*, 700–708. [CrossRef] [PubMed]
8. Urrutia, A.; Martínez-Byer, S.; Szenczi, P.; Hudson, R.; Bánszegi, O. Stable individual differences in vocalisation and motor activity during acute stress in the domestic cat. *Behav. Process.* **2019**, *165*, 58–65. [CrossRef] [PubMed]
9. McCune, S. Caged cats: Avoiding problems and providing solutions. *Newsl. Companion Anim. Study Group* **1994**, *7*, 1–9.
10. Lloyd, J.K.F. Minimising Stress for Patients in the Veterinary Hospital: Why It Is Important and What Can Be Done about It. *Vet. Sci.* **2017**, *4*, 22. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
11. Quimby, J.M.; Smith, M.L.; Lunn, K.F. Evaluation of the effects of hospital visit stress on physiologic parameters in the cat. *J. Feline Med. Surg.* **2011**, *13*, 733–737. [CrossRef] [PubMed]
12. Dijkstra, E.; Teske, E.; Szatmári, V. Respiratory rate of clinically healthy cats measured in veterinary consultation rooms. *Vet. J.* **2018**, *234*, 96–101. [CrossRef] [PubMed]
13. Belew, A.M.; Barlett, T.; Brown, S.A. Evaluation of the white-coat effect in cats. *J. Vet. Intern. Med.* **1999**, *13*, 134–142. [CrossRef] [PubMed]
14. Homma, I.; Masaoka, Y. Breathing rhythms and emotions. *Exp. Physiol.* **2008**, *93*, 1011–1021. [CrossRef] [PubMed]
15. Boiten, F.A.; Frijda, N.H.; Wientjes, C.J. Emotions and respiratory patterns: Review and critical analysis. *Int. J. Psychophysiol.* **1994**, *17*, 103–128. [CrossRef] [PubMed]
16. Betts, J.G.; Desaix, P.; Johnson, E.; Johnson, J.; Korol, O.; Kruse, D.; Poe, B.; Wise, J.; Womble, M.; Young, K. *Anatomy and Physiology*; OpenStax—Rice University: Houston, TX, USA, 2013.
17. Masaoka, Y.; Izumizaki, M.; Homma, I. Where is the rhythm generator for emotional breathing? *Prog. Brain Res.* **2014**, *209*, 367–377. [CrossRef] [PubMed]
18. Boiten, F.A. The effects of emotional behaviour on components of the respiratory cycle. *Biol. Psychol.* **1998**, *49*, 29–51. [CrossRef] [PubMed]
19. Gomez, P.; Zimmermann, P.; Guttormsen-Schär, S.; Danuser, B. Respiratory responses associated with affective processing of film stimuli. *Biol. Psychol.* **2005**, *68*, 223–235. [CrossRef] [PubMed]
20. Wientjes, C.J.; Grossman, P.; Gaillard, A.W. Influence of drive and timing mechanisms on breathing pattern and ventilation during mental task performance. *Biol. Psychol.* **1998**, *49*, 53–70. [CrossRef] [PubMed]
21. Ritz, T.; Simon, E.; Trueba, A.F. Stress-induced respiratory pattern changes in asthma. *Psychosom. Med.* **2011**, *73*, 514–521. [CrossRef] [PubMed]
22. Davis, M. The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annu. Rev. Neurosci.* **1992**, *15*, 353–375. [CrossRef] [PubMed]
23. Harper, R.M.; Frysinger, R.C.; Trelease, R.B.; Marks, J.D. State-dependent alteration of respiratory cycle timing by stimulation of the central nucleus of the amygdala. *Brain Res.* **1984**, *306*, 1–8. [CrossRef] [PubMed]

24. Lin, C.H.; Lee, J.J.; Liu, C.H. Functional assessment of expiratory flow pattern in feline lower airway disease. *J. Feline Med. Surg.* **2014**, *16*, 616–622. [CrossRef] [PubMed]
25. Benz, P.; Zablotski, Y.; Schulz, B. Influence of acclimatization time on parameters of barometric whole-body plethysmography in healthy adult cats. *PLoS ONE* **2024**, *19*, e0299252. [CrossRef] [PubMed]
26. Kessler, M.R.; Turner, D.C. Stress and Adaptation of Cats (Felis Silvestris Catus) Housed Singly, in Pairs and in Groups in Boarding Catteries. *Anim. Welf.* **1997**, *6*, 243–254. [CrossRef]
27. Hewson, C. Stress in small animal patients: Why it matters and what to do about it. *Ir. Vet. J.* **2008**, *61*, 249–254.
28. Mills, D. What are stress and distress, and what emotions are involved. In *ISFM Guide to Feline Stress and Health: Managing Negative Emotions to Improve Feline Health and Wellbeing*; International Society of Feline Medicine: Tisbury, UK, 2016.
29. Overall, K. *Manual of Clinical Behavioral Medicine for Dogs and Cats-E-Book*; Elsevier Health Sciences: Amsterdam, The Netherlands, 2013.
30. Hammerle, M.; Horst, C.; Levine, E.; Overall, K.; Radosta, L.; Rafter-Ritchie, M.; Yin, S. 2015 AAHA Canine and Feline Behavior Management Guidelines. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* **2015**, *51*, 205–221. [CrossRef] [PubMed]
31. Rodan, I.; Sundahl, E.; Carney, H.; Gagnon, A.C.; Heath, S.; Landsberg, G.; Seksel, K.; Yin, S. AAFP and ISFM feline-friendly handling guidelines. *J. Feline Med. Surg.* **2011**, *13*, 364–375. [CrossRef] [PubMed]
32. Dybdall, K.; Strasser, R.; Katz, T. Behavioral differences between owner surrender and stray domestic cats after entering an animal shelter. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **2007**, *104*, 85–94. [CrossRef]
33. Steimer, T. The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues Clin. Neurosci.* **2002**, *4*, 231–249. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
34. Hirt, R.A.; Dederichs, D.; Boehler, A.; Hoffman, A.M. Relationship of age, sex, body weight, and hematologic and respiratory variables with airway reactivity in adult cats. *Am. J. Vet. Res.* **2003**, *64*, 26–31. [CrossRef] [PubMed]
35. Kirschvink, N.; Leemans, J.; Delvaux, F.; Snaps, F.; Clercx, C.; Gustin, P. Non-invasive assessment of airway responsiveness in healthy and allergen-sensitised cats by use of barometric whole body plethysmography. *Vet. J.* **2007**, *173*, 343–352. [CrossRef] [PubMed]
36. Garcia-Guasch, L.; Caro-Vadillo, A.; Manubens-Grau, J.; Carreton, E.; Morchon, R.; Simon, F.; Montoya-Alonso, J.A. Evaluation of pulmonary function variables by using plethysmography in cats with respiratory disease associated to Dirofilaria immitis. *Vet. Parasitol.* **2012**, *187*, 254–258. [CrossRef] [PubMed]
37. Pereira, J.S.; Fragoso, S.; Beck, A.; Lavigne, S.; Varejão, A.S.; da Graça Pereira, G. Improving the feline veterinary consultation: The usefulness of Feliway spray in reducing cats' stress. *J. Feline Med. Surg.* **2016**, *18*, 959–964. [CrossRef] [PubMed] [PubMed Central]
38. Ljungvall, I.; Rishniw, M.; Porciello, F.; Häggström, J.; Ohad, D. Sleeping and resting respiratory rates in healthy adult cats and cats with subclinical heart disease. *J. Feline Med. Surg.* **2014**, *16*, 281–290. [CrossRef] [PubMed]
39. Masaoka, Y.; Homma, I. The effect of anticipatory anxiety on breathing and metabolism in humans. *Respir. Physiol.* **2001**, *128*, 171–177. [CrossRef] [PubMed]
40. Masaoka, Y.; Homma, I. Expiratory time determined by individual anxiety levels in humans. *J. Appl. Physiol.* **1999**, *86*, 1329–1336. [CrossRef] [PubMed]
41. Masaoka, Y.; Homma, I. Anxiety and respiratory patterns: Their relationship during mental stress and physical load. *Int. J. Psychophysiol.* **1997**, *27*, 153–159. [CrossRef] [PubMed]
42. Amis, T.C.; Kurpershoek, C. Tidal breathing flow-volume loop analysis for clinical assessment of airway obstruction in conscious dogs. *Am. J. Vet. Res.* **1986**, *47*, 1002–1006. [PubMed]
43. Amis, T.C.; Smith, M.M.; Gaber, C.E.; Kurpershoek, C. Upper airway obstruction in canine laryngeal paralysis. *Am. J. Vet. Res.* **1986**, *47*, 1007–1010. [PubMed]
44. McKiernan, B.C.; Dye, J.A.; Rozanski, E.A. Tidal breathing flow-volume loops in healthy and bronchitic cats. *J. Vet. Intern. Med.* **1993**, *7*, 388–393. [CrossRef] [PubMed]
45. Hahn, W.W.; Clark, J.A. Psychophysiological reactivity of asthmatic children. *Psychosom. Med.* **1967**, *29*, 526–536. [CrossRef] [PubMed]
46. Ritz, T.; Steptoe, A.; DeWilde, S.; Costa, M. Emotions and stress increase respiratory resistance in asthma. *Psychosom. Med.* **2000**, *62*, 401–412. [CrossRef] [PubMed]
47. Von Leupoldt, A.; Dahme, B. Emotions and airway resistance in asthma: Study with whole body plethysmography. *Psychophysiology* **2005**, *42*, 92–97. [CrossRef] [PubMed]
48. Hoffman, A.M.; Dhupa, N.; Cimetti, L. Airway reactivity measured by barometric whole-body plethysmography in healthy cats. *Am. J. Vet. Res.* **1999**, *60*, 1487–1492. [CrossRef] [PubMed]
49. Lundblad, L.K.; Irvin, C.G.; Adler, A.; Bates, J.H. A reevaluation of the validity of unrestrained plethysmography in mice. *J. Appl. Physiol.* **2002**, *93*, 1198–1207. [CrossRef] [PubMed]

50. Kirschvink, N.; Leemans, J.; Delvaux, F.; Snaps, F.; Marlin, D.; Sparkes, A.; Clercx, C.; Gustin, P. Non-invasive assessment of growth, gender and time of day related changes of respiratory pattern in healthy cats by use of barometric whole body plethysmography. *Vet. J.* **2006**, *172*, 446–454. [CrossRef] [PubMed]
51. García-Guasch, L.; Caro-Vadillo, A.; Manubens-Grau, J.; Carretón, E.; Camacho, A.A.; Montoya-Alonso, J.A. Pulmonary function in obese vs non-obese cats. *J. Feline Med. Surg.* **2015**, *17*, 494–499. [CrossRef] [PubMed]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

V. DISKUSSION

Die barometrische Ganzkörperplethysmographie (BWBP) gilt als besonders schonende und gut tolerierte Lungenfunktionsdiagnostik bei Katzen (Lin et al., 2014). In der bisherigen wissenschaftlichen Literatur werden je nach Studie unterschiedliche Zeitspannen für die Akklimatisierung von Katzen vor der Messperiode angegeben (García-Guasch et al., 2015; Garcia-Guasch et al., 2012; Leemans et al., 2009; Lin et al., 2016). Jedoch wurde bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht untersucht, welchen Einfluss verschiedene Akklimatisierungszeiten auf die Messparameter der BWBP haben und wie viel Stress gesunde adulte Katzen tatsächlich in der plethysmographischen Messkammer empfinden. Im Rahmen von Studie 1 sollte untersucht werden, welchen Einfluss die Akklimatisierungszeit auf die verschiedenen Messparameter der BWBP hat und welche Zeitspanne für zukünftige Studien empfohlen werden kann. Studie 2 hatte zum Ziel, das Stresslevel gesunder adulter Katzen in der plethysmographischen Kammer zu bestimmen und die Stressentwicklung anhand eines Scores über eine 30-minütige Messeinheit zu verfolgen. Zudem sollte die Korrelation des Stressscores mit den verschiedenen Messparametern untersucht werden.

Für die vorliegende Arbeit konnten insgesamt 48 gesunde adulte Katzen eingeschlossen werden. Beiden Studien liegen die gleiche Studienpopulation sowie die gleichen Messeinheiten zugrunde. Um die nachgewiesenen Einflussfaktoren „Wachstum“ (Kirschvink et al., 2006b) und „Übergewicht“ (García-Guasch et al., 2015) bei der vorliegenden Arbeit ausschließen zu können, wurden nur Katzen mit einem Mindestalter von einem Jahr und normalgewichtige Katzen (BMI 3-6/9) in die Studie eingeschlossen. Ein weiteres essenzielles Einschlusskriterium der vorliegenden Arbeit war, dass die Katzen zum Untersuchungszeitpunkt klinisch gesund waren und die letzten drei Monate zuvor keine Erkrankung aufgetreten waren. Um den gesunden Katzen weitere invasive Untersuchungsmaßnahmen zu ersparen, wurde der Gesundheitszustand nur durch eine klinische Untersuchung festgestellt. Keine der 48 Katzen musste von der Studie ausgeschlossen werden. Im Vergleich zu anderen Studien, die die BWBP bei gesunden Katzen untersuchten (Garcia-Guasch et al., 2015; Hirt et al., 2003; Kirschvink et al., 2005, 2007b; Kirschvink et al., 2006b) kann die hier vorliegende Arbeit die umfangreichste Studienpopulation vorweisen.

In Studie 1 konnte nachgewiesen werden, dass alle Messparameter der BWBP außer TV/BW signifikant von der Akklimatisierungszeit beeinflusst werden. Im Rahmen der Studie 2 wurde festgestellt, dass die Mehrheit der Katzen zu Beginn der Messungen Stress empfinden, dieser jedoch im Verlauf der Messeinheit signifikant abnimmt. Ein wichtiges Ergebnis der vorliegenden Studie 1 war der Nachweis des signifikanten Anstiegs des Messparameters Enhanced Pause (Penh) während der Zeitabschnitte T1-T2 und T1-T3. Der Anstieg von Penh bei Katzen kann als eine Erhöhung des Atemwegswiderstandes interpretiert werden, wie aus verschiedenen vorangegangenen Studien hervorgeht (Allerton et al., 2013; Garcia-Guasch et al., 2012; Hirt et al., 2003; Hoffman et al., 1999a; Kirschvink et al., 2007b). Dabei beruht die Einschätzung von Penh vor allem auf Studien, die den Einfluss von experimentell ausgelösten Bronchoprovokationen auf die Messparameter der BWBP untersuchten (Allerton et al., 2013; Hirt et al., 2003; Hirt et al., 2011; Hoffman et al., 1999a; Kirschvink et al., 2006a), was in der vorliegenden Studie nicht der Fall war. Der Anstieg von Penh in Studie 1 über die drei Zeitabschnitte würde den Aussagen der oben genannten Untersuchungen zufolge bedeuten, dass gesunde adulte Katze eine Verengung der Atemwege im Verlauf der BWBP-Messperiode entwickeln, anstatt dass hier eine Verbesserung durch Abfall von Stress stattfindet. Generell wird die Bedeutung des Messparameters Penh als Indikator einer Bronchokonstriktion von verschiedenen Autoren auch kritisch hinterfragt (Bates et al., 2004; Hirt et al., 2008; Hülsmann et al., 2021; Kirschvink, 2008; Lundblad et al., 2002; Mitzner and Tankersley, 2003). Es ist bekannt, dass Penh stark abhängig von Druckschwankungen in der Kammer ist, die auch durch Temperaturunterschiede und Veränderungen der Luftfeuchtigkeit verursacht werden können (Hülsmann et al., 2021; Lundblad et al., 2002). Ein rascher Abfall des Kammerdrucks geht dabei mit einem Anstieg des Penh-Wertes einher (Hülsmann et al., 2021). Eine Möglichkeit, die zu einer schnellen Abnahme der Temperatur und damit zu einem Abfall des Kammerdrucks führt, ist bei der aktiven Exspiration (Hülsmann et al., 2021). Veränderungen von Penh werden daher auch als Indikator eines veränderten Atemmusters, z.B. der aktiven Exspiration, angesehen (Hülsmann et al., 2021; Lundblad et al., 2002). Somit ist Penh nicht nur abhängig von möglichen Atemwegswiderständen, sondern auch von der Temperatur, der Luftfeuchtigkeit und veränderten Atemmustern in der plethysmographischen Kammer (Hülsmann et al., 2021; Lundblad et al., 2002). Um die Einflussfaktoren Temperatur und Luftfeuchtigkeit bei der Interpretation von

Penh ausschließen zu können, muss die Kammer vor der Messung auf Körpertemperatur erwärmt werden und die Luftfeuchtigkeit standardisiert werden (Lundblad et al., 2002). In der vorliegenden Arbeit entsprach die Temperatur in der Kammer der Raumtemperatur und wurde nicht auf Körpertemperatur erwärmt, die Luftfeuchtigkeit war nicht standardisiert. Es muss deshalb hinterfragt werden, ob die signifikante Erhöhung von Penh Folge von Druckschwankungen aufgrund Temperaturunterschiede der Kammer war oder ob ein Einfluss durch Atemwegsobstruktionen bestand. Hier können die Ergebnisse von Studie 2 bei der Differenzierung helfen. Aus diesen geht hervor, dass Penh nicht mit dem CSS korreliert und somit nicht von Stress beeinflusst wird. In einer vergleichbaren Studie zur Akklimatisierungszeit bei Mäusen wurde der Messparameter Penh nicht berücksichtigt (Quindry et al., 2016). Auch in einer Studie aus der Humanmedizin, die den Einfluss von Stress auf Messparameter der BWBP untersuchte, wurde der Einfluss von Stress auf Penh nicht beschrieben (Ritz et al., 2011b). Die Ergebnisse der vorliegenden Studien weisen darauf hin, dass Penh nicht von Stress beeinflusst wird, jedoch stark abhängig von Veränderungen der Temperatur und Schwankungen der Luftfeuchtigkeit ist. Vergleicht man die Entwicklung Penhs der Studie 1 mit den Ergebnissen einer anderen Studie zur Untersuchung der Akklimatisierungszeit mittels BWBP bei kranken und gesunden Katzen (Hörner-Schmid et al., 2024), so stimmen diese nicht überein. Hörner-Schmid und Mitarbeiter konnten keine signifikante Veränderung von Penh über 30 Minuten feststellen (Hörner-Schmid et al., 2024). Vergleicht man die Studienpopulation beider Studien miteinander, wird deutlich, dass die Studie von Hörner-Schmid mit nur acht gesunden Katzen eine wesentlich geringere Patientenzahl einschließen konnte (Hörner-Schmid et al., 2024), weshalb die statistische Power sehr gering war. Die gemessenen medianen Penh Werte der Studie waren bei gesunden Katzen etwas niedriger als die der vorliegenden Studie. Betrachtete man die medianen Penh Werte der aktuellen Studien im Altersvergleich, wird deutlich, dass die Altersgruppe 8-16-jähriger (A3) Katzen die höchsten Penh Werte aufweist und die der 3-7-Jährigen (A2) die niedrigsten Werte. Hörner-Schmid und Mitarbeiter geben ein medianes Alter von 8 $\pm$ 1,6 an (Hörner-Schmid et al., 2024). Es ist deshalb anzunehmen, dass die höheren medianen Penh-Werte in der vorliegenden Studie auf die größere Anzahl älterer Tiere zurückzuführen sind, da diese den vorliegenden Studienergebnissen zufolge generell erhöhte Penh-Werte aufweisen. Beim Vergleich der medianen Penh-Werte der vorliegenden Studie mit denen von

erkrankten Katzen weisen letztere höhere Werte auf (Caro-Vadillo et al., 2022; Garcia-Guasch et al., 2012; Lin et al., 2014).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Studien bestätigt werden, dass Katzen im klinischen Umfeld eine erhöhte Atemfrequenz (AF) aufweisen (Dijkstra et al., 2018; Quimby et al., 2011). Vergleichbar mit der Studie von Quimby und Mitarbeitern (Quimby et al., 2011), zeigten die gesunden adulten Katzen zu Beginn der BWBP eine erhöhte AF von 65 Atemzügen pro Minute. Eine Erhöhung der AF bei Katzen kann unter anderem durch die Stimulation der Amygdala bedingt sein (Harper et al., 1984). Stress oder andere angstauslösende Reize können die Aktivierung der Amygdala zur Folge haben (Homma and Masaoka, 2008). Transport, ungewohnte Umgebungen sowie fremde Geruchs- und Geräuschreize gelten als potenzielle Stressoren für Katzen und werden daher als mögliche Ursachen für eine erhöhte AF in Betracht gezogen (Dijkstra et al., 2018; Quimby et al., 2011). In Studie 1 wurde die signifikante Reduktion der AF zwischen den Zeiträumen T2-T3 und T1-T3 nachgewiesen. In Studie 2 wurde festgestellt, dass der CSS mit der Atemfrequenz während T1 moderat signifikant korreliert. Es kann deshalb davon ausgegangen werden, dass die Atemfrequenz aufgrund der Reduktion des Stresslevels im Verlauf der Messeinheit signifikant abnimmt, was auch durch die Korrelation mit dem CSS deutlich wird. Die Ergebnisse stimmen mit einer Studie aus der Humanmedizin überein, bei der eine positive Korrelation zwischen der AF und einem „Anxiety-Score“ festgestellt werden konnte (Masaoka and Homma, 2001). Auch bei der BWBP bei Mäusen wurde die AF von der Akklimatisierungszeit beeinflusst, eine Stabilisierung der Messparameter fand hier bereits nach 5-10 Minuten statt (Quindry et al., 2016). In der vorliegenden Studie 1 veränderte sich die AF auch noch zwischen den Zeiträumen T2-T3. Dabei ist die AF jedoch nur auf median 57 Atemzüge in der Minute abgesunken und erreichte damit den physiologischen Referenzbereich von maximal 30 Atemzügen pro Minute nicht. Basierend auf früheren Studien kann davon ausgegangen werden, dass Katzen während ihres gesamten Aufenthalts in einer klinischen Umgebung einem kontinuierlichen, leichten Stressniveau ausgesetzt sind, weshalb die physiologischen Referenzwerte der AF nicht erreicht werden (Dijkstra et al., 2018). Die Dauer eines Atemzyklus wird von der Exspirationszeit (Te) und der Inspirationszeit (Ti) bestimmt. In Studie 1 konnte festgestellt werden, dass beide Parameter signifikant von der

Akklimatisierungszeit beeinflusst werden. Es wurde ein signifikanter Anstieg von Te und Ti über die Zeiträume T2-T3 und T1-T3 festgestellt. In einer Studie bei Mäusen wurde in Übereinstimmung mit den vorliegenden Studienergebnissen ebenfalls eine signifikante Veränderung von Te unter dem Einfluss der Akklimatisierungszeit nachgewiesen (Quindry et al., 2016). Bei an Asthma erkrankten Menschen hat Stress ebenfalls nachweislich einen Einfluss auf Te und Ti (Ritz et al., 2011b). Weiterhin ist unter Stress auch bei gesunden menschlichen Probanden eine Reduktion von Te und Ti im zeitlichen Verlauf wahrnehmbar (Ritz et al., 2011b; Wientjes, 1993). Auch in Studie 2 konnte eine signifikante negative Korrelation des CSS mit Te und Ti festgestellt werden. Die negative Korrelation kommt zustande, da mit abnehmendem Stress eine Verlängerung von Te und Ti erwartet werden kann. Da der Stressscore signifikant absinkt, steigen im Kontrast Te und Ti signifikant an. Die vorliegenden Ergebnisse stimmen mit Untersuchungen aus der Humanmedizin überein, bei welchen auch eine negative Korrelation zwischen Te und einem „Anxiety Score“ festgestellt wurde (Masaoka and Homma, 1999).

Bei dem berechneten einheitslosen Messparameter „Pause“ (Pau) konnte in Studie 1 ein signifikanter Anstieg zwischen T1-T2 sowie T1-T3 festgestellt werden, wobei in Studie 2 keine signifikante Korrelation mit dem CSS nachgewiesen werden konnte. Da zur Berechnung von Pau Te und Ti herangezogen werden, ist die signifikante Veränderung von Pau in Studie 1 auf den Anstieg der beiden Parameter Ti und Te zurückzuführen. Ein Zusammenhang zwischen Pau und dem Stresslevel kann hingegen auf Grundlage der vorliegenden Studienergebnisse nicht gesehen werden.

Sowohl in Studie 1 als auch in Studie 2 konnten signifikante Veränderungen bzw. Korrelationen der Messparameter exspiratorischer- (PEF/BW) und inspiratorischer Spitzenfluss pro Kilogramm (PIF/BW) über den Zeitverlauf nachgewiesen werden. In Studie 1 zeigte sich eine signifikante Reduktion von PIF/BW sowie PEF/BW zu den Zeitpunkten T1-T2 und T1-T3. Der CSS korrelierte mit PIF/BW zum Zeitpunkt T1, mit PEF/BW zu allen drei Zeitpunkten. Ein Anstieg beider Parameter kann als Indikator für das Vorliegen einer Atemwegsobstruktion interpretiert werden (Amis et al., 1986; Hoffman et al., 1999b). Studienergebnisse aus der Humanmedizin konnten außerdem einen Zusammenhang von Stress und damit einhergehenden Bronchokonstriktionen bei Asthmatikern und gesunden Menschen bestätigen

(Hahn and Clark, 1967; Ritz et al., 2000; von Leupoldt and Dahme, 2005). Auf Grundlage der vorliegenden Studienergebnisse kann daher ein direkter Zusammenhang zwischen Stress und dessen Einfluss auf die Messparameter PEF/BW und PIF/BW gesehen werden. Es ist davon auszugehen, dass der erhöhte Stresslevel zu Beginn der BWBP zu einer moderaten Bronchokonstriktion führt, die mit Reduktion des Stresslevels wieder abnimmt. Der Einfluss der Akklimatisierungszeit auf die Messparameter PIF/BW und PEF/BW konnte nicht nur bei gesunden Katzen festgestellt werden, sondern auch bei Mäusen (Quindry et al., 2016). In der Humanmedizin wird der Einfluss von Stress auf PIF bei Gesunden als auch bei Personen mit Atemwegserkrankungen beschrieben (Ritz et al., 2011b). Da beide Messparameter bei der BWBP sowohl von dem Atemfluss aus der Nase als auch den Thoraxbewegungen abhängig sind (Kirschvink, 2008; Lin et al., 2014; Rozanski and Hoffman, 1999), sind sie besonders anfällig für Artefakte aufgrund von Bewegung, Lautäußerungen und Schnüffeln. Die Möglichkeit der Veränderungen der Parameter aufgrund von Artefakten muss daher berücksichtigt werden, sollten Artefakte nicht durch Software-Systeme oder zusätzliche visuelle Kontrolle aus der Interpretation ausgeschlossen werden (Lin et al., 2016). In den vorliegenden Studien sollte der Einfluss der Artefakte jedoch zu vernachlässigen sein, da spezielle Softwareprogramme zu ihrem Ausschluss verwendet wurden.

Ein Messparameter der BWBP, der bei gesunden Mäusen und Menschen nachweislich von Angst und Stress beeinflusst wird, ist das Minutenvolumen (MV) (Boiten et al., 1994; Quindry et al., 2016). Auch die Ergebnisse der vorliegenden Studien stimmen mit diesen Aussagen überein. So konnte in Studie 1 eine signifikante Reduktion von MV/BW zwischen T1-T2 und T1-T3 festgestellt werden. In Studie 2 korrelierte MV/BW mit dem CSS signifikant zu allen drei Messzeitpunkten. Durch das Absinken des Stresslevels über die drei Messeinheiten kommt es auch zu einer Reduktion von MV/BW. Bei der Erhöhung von MV/BW unter Stress könnte ein Zusammenhang mit der erhöhten Atemfrequenz bzw. Hyperventilation gesehen werden.

Der einzige Messparameter der BWBP, bei welchem weder eine Beeinflussung durch die Akklimatisierungszeit, noch eine Korrelation mit dem CSS festgestellt werden konnte, ist TV/BW. Auf Grundlage der vorliegenden Studie kann daher ein Einfluss von Stress auf TV/BW ausgeschlossen werden. Die Ergebnisse stimmen mit vorherigen Studien zur Akklimatisierungszeit bei gesunden Katzen und Mäusen

überein, in denen ebenfalls keine signifikanten Veränderungen dieses Parameters beobachtet wurden (Hörner-Schmid et al., 2024; Quindry et al., 2016).

Da das Lungengewebe nachweislich im Laufe der Zeit strukturelle Veränderungen durchläuft (Fowler et al., 1987; Hirt et al., 2003; Horsley et al., 1993; Janssens et al., 1999; McKenzie et al., 2010; Skloot, 2017; Sprung et al., 2006), war die Untersuchung des Einflussfaktors Alter auf die Messparameter der BWBP ein wesentlicher Bestandteil der Studie 1. In vergangenen Studien konnte bereits ein Einfluss des Alters auf verschiedene Lungenfunktionsparameter bei Katzen (Hirt et al., 2003), Menschen (Fowler et al., 1987; Horsley et al., 1993; Janssens et al., 1999) und Mäusen (McKenzie et al., 2010; Receno et al., 2020) nachgewiesen werden. In der vorliegenden Studie ließ sich ein Einfluss des Alters auf alle Messparameter der BWBP außer PIF/BW und PEF/BW feststellen. Im Gegensatz zu Untersuchungen einer vergangenen Studie bei gesunden Katzen (Hirt et al., 2003) konnte in der vorliegenden Studie gezeigt werden, dass alte Katzen (A3: 8-16 Jahre) ein signifikant höheres Penh aufweisen als solche mittleren Alters (A2: 3-7 Jahre). Vergleicht man die Populationen beider Studien miteinander, so wird offensichtlich, dass die mittlere Altersgruppe A2 der 3-7 jährigen Katzen in der Studie von Hirt et al. nicht vertreten ist (Hirt et al., 2003). Hirt und Mitarbeiter vergleichen lediglich junge Katzen im Alter von 1-2 Jahren mit alten Katzen (12-13 Jahre) (Hirt et al., 2003). Die jungen Katzen (A1: 1-2 Jahre) der vorliegenden Studie zeigen Penh-Werte, die im Bereich zwischen denen der Katzen mittleren Alters und denen der alten Katzen liegen. Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen A1 und A2 konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Aus den Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die Referenzbereiche von Penh für junge und alte Katzen höher liegen als die für Katzen mittleren Alters. Vergleicht man die medianen Penh-Werte der alten Katzen aus der Studie von Hirt et al. (Hirt et al., 2003) mit den Werten der alten Katzen aus der vorliegenden Studie, so zeigt sich eine bessere Übereinstimmung. Die medianen Penh-Werte der jungen Katzen A1 der vorliegenden Studie sind hingegen etwas niedriger als die der jungen Katzen aus der Vergleichsstudie (Hirt et al., 2003). Im Vergleich zu den in der Literatur berichteten Penh-Werten bei Katzen mit unteren Atemwegserkrankungen zeigen die Messungen der Gruppe A3 lediglich geringfügig niedrigere Werte (Allerton et al., 2013; Gareis et al., 2022). Die signifikant höheren Penh Werte der alten Katzen der Gruppe A3 im Vergleich zu denen der Gruppe A2 könnten somit auf eine

altersbedingte Bronchokonstriktion zurückzuführen sein, wie sie in der Humanmedizin bereits beschrieben wurde (Fowler et al., 1987; Janssens et al., 1999). Die vorliegenden Studienergebnisse zum Einfluss des Alters auf den Messparameter TV/BW stimmen mit den Ergebnissen der oben genannten Vergleichsstudie überein (Hirt et al., 2003). So zeigen junge Katzen einen signifikant niedrigeres TV im Vergleich zu alten (Hirt et al., 2003). Somit bestätigen die Ergebnisse der vorliegenden Studie die Notwendigkeit einer altersabhängigen Interpretation der Messparameter der BWBP mit Ausnahme von PIF/BW und PEF/BW.

Der Einflussfaktor Geschlecht auf die Messparameter der BWBP wurde in der vorliegenden Studie ebenfalls untersucht. Aus den Ergebnissen vergangener Studien bei gesunden Katzen (Kirschvink et al., 2006b), Menschen (Jacobs Jr et al., 1992; Thurlbeck, 1982) und Mäusen (Flandre et al., 2003; Rascedilla˜ id et al., 2012; Schulz et al., 2002) geht hervor, dass es teilweise signifikante Unterschiede zwischen den Messparametern männlicher und weiblicher Probanden gibt. In der Humanmedizin wurde nachgewiesen, dass Männer ein größeres Lungenvolumen (Falaschetti et al., 2004a; Thurlbeck, 1982), eine höhere forcierte Vitalkapazität und ein höheres forciertes exspiratorisches Volumen in 1 Sekunde (Falaschetti et al., 2004a) als Frauen aufweisen. Bei männlichen Katzen konnten in Vorgängerstudien ebenfalls signifikant höhere Werte für die Messparameter TV, MV, PIF und PEF nachgewiesen werden (Kirschvink et al., 2006b). Im Gegensatz dazu konnten in der vorliegenden Studie, in Übereinstimmung mit den Ergebnissen einer weiteren Studie bei gesunden Katzen (Hirt et al., 2003), keine signifikanten geschlechtsspezifischen Unterschiede hinsichtlich der gemessenen Parameter festgestellt werden. Betrachtet man die vom Geschlecht potentiell beeinflussten Messparameter, so wird ersichtlich, dass es sich dabei um volumen- und pseudoflussabhängige Parameter handelt. Aufgrund des höheren Gewichts weisen männliche Säugetiere generell ein größeres Lungenvolumen auf (Kirschvink et al., 2006b; Thurlbeck, 1982). Ein Einfluss des Geschlechts auf die Messparameter der BWBP kann somit reduziert werden, wenn gewichtsabhängige Parameter unter Berücksichtigung des Gewichts berechnet und interpretiert werden. Werden die Parameter, wie in der vorliegenden Studie, unter Berücksichtigung des Gewichts interpretiert, kann keine Geschlechtsabhängigkeit mehr festgestellt werden.

Ein bedeutendes Ziel der vorliegenden Studie 2 war die Evaluierung des

Stresslevels während einer 30-minütigen Messeinheit in der Plethysmographiekammer bei gesunden adulten Katzen. Die BWBP wird als besonders stressfreie und gut tolerierte Lungenfunktionsdiagnostik beschrieben (Lin et al., 2014). Fundierte Untersuchungen zu dieser Fragestellung wurden bis zum jetzigen Zeitpunkt jedoch nicht publiziert. Das Stresslevel wurde in der vorliegenden Studie anhand des angepassten Cat-Stress-Scores (CSS) nach Kessler und Turner beurteilt (Kessler and Turner, 1997). Die Kategorisierung wurde allein durch die Adspektion der Körperhaltung und Wahrnehmung von Lautäußerungen vorgenommen, eine Manipulation der Katzen war nicht notwendig. Es konnte nachgewiesen werden, dass 75 % der gesunden adulten Katzen zu Beginn der Messung angespannt waren (CSS 3/7). In vorherigen Studien konnte festgestellt werden, dass Katzen ihr angespanntes Verhalten durch eine steife und geduckte Körperhaltung, einen versteckten und geschützten Bauch und einen schlagenden, eng am Körper liegenden Schwanz sowie weit geöffnete Augen ausdrücken (Hammerle et al., 2015; Horwitz and Rodan, 2018; Kessler and Turner, 1997; McCune, 1994; Overall, 2013; Rodan et al., 2011a), was mit den Feststellungen der vorliegenden Studie übereinstimmt. Durch die fremde Umgebung, Gerüche und Geräusche in der plethysmographischen Kammer wird bei den Katzen eine Stressreaktion ausgelöst (Horwitz and Rodan, 2018; Karn-Buehler and Kuhne, 2022; Riemer et al., 2021), was durch die veränderte Körperhaltung zum Ausdruck gebracht wird (Hewson, 2008; Horwitz and Rodan, 2018; Karn-Buehler and Kuhne, 2022; McCune, 1994; Mills, 2016; Overall, 2013; Quimby et al., 2011; Riemer et al., 2021). Dabei ist es abhängig von Charakter, Sozialisierung und vorangegangenen Erfahrungen, auf welchen Stressor die jeweilige Katze reagiert und wie stark die Stressreaktion ausfällt (Dybdall et al., 2007; Horwitz and Rodan, 2018; McCune, 1994; Riemer et al., 2021; Steimer, 2002). Es wird diskutiert, dass aggressive Katzen voraussichtlich ein höheres Stresslevel aufweisen als freundliche Katzen (Klintip et al., 2022). Eine Kategorisierung des Grundcharakters der jeweiligen Katze vor der BWBP Messung wurde in der aktuellen Studie jedoch nicht vorgenommen, sodass hierfür keine Aussage getroffen werden kann. In der vorliegenden Studie konnte bei der Mehrheit der Katzen (75%) ein angespannter Zustand (CSS 3/7) zu Beginn der Messung festgestellt werden. Davon waren drei Katzen (6,3%) stark angespannt (CSS 4/7). Bei der Anwendung des CSS wird kritisiert, dass das Stresslevel inaktiver und passiver Katzen möglicherweise zu niedrig eingeschätzt wird (McCobb et al., 2005; Ramos et al., 2013). Dadurch

könnte die tatsächliche Anzahl stark angespannter Tiere möglicherweise unterschätz worden sein. Auch in anderen Studien bei stationär untergebrachten Katzen konnte ein CSS zwischen 2/7 und 3/7 festgestellt werden (Kessler and Turner, 1997; Klintip et al., 2022; Paz et al., 2022). Auf Grundlage der vorliegenden Studienergebnisse kann daher die Aussage widerlegt werden, dass die BWBP eine komplett stressfreie Form der Lungenfunktionsdiagnostik bei Katzen darstellt. Allerdings erreichte keine Katze aus der vorliegenden Studienpopulation einen steifen, ängstlichen oder gar panischen Zustand während der gesamten Messeinheit. Acht Katzen zeigten zu Beginn der Messung bereits einen aufmerksamen und entspannten Zustand (CSS 2/7) und eine Katze war bereits zu Beginn der Messungen komplett entspannt (CSS 1/7). Um das Stresslevel für die Katzen möglichst gering zu halten, wurden die Katzen in der vorliegenden Studie innerhalb einer Katzentransportbox in die plethysmographische Messkammer gestellt. Die Transportbox soll Katzen als Versteckmöglichkeit dienen, was zu einer signifikanten Reduktion des Stresslevels führen kann (Wright and Baugh, 2018). Ein wichtiger Faktor bei der Anwendung von Transportboxen ist dabei, dass die Katzen bereits an diese gewöhnt wurden, da dies sonst bei erstmaliger Anwendung durch die Bewegungseinschränkungen ein weiterer Auslöser für Stress sein kann (McCune, 1994; Pratsch et al., 2018). Weiterhin wurde in der vorliegenden Studie ein Pheromonderivat (Feliway®) angewendet, was bei richtiger Anwendung nachweislich zu einer Reduktion des Stresslevels bei Katzen führen kann (da Silva et al., 2017; Griffith et al., 2000; Pereira et al., 2016). Es muss davon ausgegangen werden, dass der Stresslevel der Katzen zu Beginn der Messung höher sein kann, sollten keine Versteckmöglichkeiten angeboten und keine Pheromonderivate angewendet werden. In der vorliegenden Studienpopulation zeigte keine Katze einen steifen, ängstlichen oder panischen Zustand während der gesamten Messeinheit. Es wird darauf hingewiesen, dass in der vorliegenden Studie nur adulte und gesunde Katzen, die gut sozialisiert und an eine Transportbox gewöhnt waren, zugelassen wurden. Es muss davon ausgegangen werden, dass kranke und schlecht sozialisierte Katzen ein noch höheren Stresslevel aufweisen (McCobb et al., 2005). Zum aktuellen Zeitpunkt liegen jedoch keine Publikationen zu der Anwendung des CSS bei kranken Katzen vor. Die Gewöhnung und das Training an Situationen, Umgebungen und Personen kann eine Reduktion des Stresslevels/ der Stressantwort zur Folge haben (Levine, 1985; Miller and O'Callaghan, 2002; Quindry et al., 2016; Ulrich-Lai and Herman, 2009), weshalb auch in der

vorliegenden Studie im Verlauf der BWBP Messung durch die Akklimatisierungszeit eine Reduktion des CSS nachgewiesen werden konnte. Signifikant war die Reduktion zwischen den Zeitpunkten T1-T2 und T1-T3. Der mediane CSS wurde maximal um ein Level je Messeinheit pro Katze reduziert. Zum Zeitpunkt T2 konnte bei 60,4 % der Katzen ein aufmerksamer und entspannter Zustand (CSS 2/7) festgestellt werden. Zwischen T2-T3 konnte keine signifikante Reduktion des CSS mehr festgestellt werden. Der „komplett entspannte“ Zustand (CSS 1/7) wurde nur von zwei Katzen erreicht. Dies ist darauf zurückzuführen, dass sich die Katzen zwar zunächst an die Situation gewöhnen können, jedoch unweigerlich fremden Geräuschen, Gerüchen und wiederkehrenden Reizen ausgesetzt sind, welchen sie nicht aus dem Weg gehen können. Auffällig war, dass bei drei Katzen während T3 ein Anstieg des medianen CSS zu verzeichnen war. Dieses Phänomen trat insbesondere bei aktiveren Tieren auf, die die durch die Kammer bedingte Einschränkung offenbar zunehmend als belastend empfanden. In einer Studie mit Tiermodellen wurde vor der Messung eine mehrtägige Gewöhnung an die plethysmographische Kammer vorgenommen (Kirschvink et al., 2006b). Alle Katzen der vorliegenden Studie befanden sich zum Zeitpunkt der Messung zum ersten Mal in der plethysmographischen Kammer. Da im klinischen Alltag mehrtägige Eingewöhnungsphasen in der Regel nicht möglich sind, spiegeln die vorliegenden Studienergebnisse damit weitgehend die unter praktischen Bedingungen zu erwartenden Reaktionen wider. Bei wiederholten plethysmographischen Untersuchungen und positiven Vorerfahrungen mit dieser Lungenfunktionsdiagnostik ist mit einem niedrigeren Stresslevel zu rechnen. Es wird erwartet, dass kurze Wartezeiten in der Klinik, eine Separation von Wartezimmern für Katzen und Hunde und ein katzenfreundliches Handling entscheidend für ein möglichst niedriges Stressniveau bei Katzen sind. Dennoch sind weitere Studien zur Bestätigung dieser Hypothese notwendig. Durch die Anwendung von katzenspezifischer bzw. klassischer Musik und die Anwesenheit der Besitzer könnte das Stresslevel möglicherweise noch weiter reduziert werden (Alworth and Buerkle, 2013; Hampton et al., 2020; Paz et al., 2022).

Die vorliegende Studie weist einige Limitationen auf. Einigen Studien zufolge reicht die Evaluierung des CSS allein nicht aus, um das Stresslevel bei Katzen aussagekräftig zu beurteilen (McCobb et al., 2005; Zimmer and Reusch, 2003). Zwar wurde in der vorliegenden Arbeit der CSS von nur einer Person evaluiert,

jedoch ist die Beurteilung des CSS subjektiv, weshalb die Ergebnisse je nach Beobachter variieren könnten. In der vorliegenden Studie sollte daher kritisch betrachtet werden, dass der Stresslevel allein anhand des CSS beurteilt wurde. Die Vitalparameter der Katzen wurden nur vor der Messung bestimmt. Zukünftige Studien könnten zusätzlich die Vitalparameter und die Messung von Stressmarkern mit in die Beurteilung einbeziehen. Eine weitere Limitation der vorliegenden Studie besteht darin, dass der Gesundheitsstatus der Studienpopulation nur durch eine klinische Untersuchung evaluiert wurde.

Dennoch sind dies die ersten veröffentlichten Studienergebnisse zur Bestimmung des Einflusses der Akklimatisierungszeit und des Stresslevels bei der BWBP bei gesunden adulten Katzen. Auf Grundlage der vorliegenden Arbeit wird deutlich, dass die Akklimatisierungszeit signifikanten Einfluss auf die Messparameter hat und die Katzen zunächst ein erhöhtes Stresslevel aufweisen, was mit längerer Akklimatisierungszeit weiter absinkt. Anhand der Studienergebnisse wird eine standardisierte Akklimatisierungszeit von 20 Minuten für zukünftige Studien empfohlen.

VI. SUMMARY

In the present study, the influence of acclimatization time on respiratory function parameters measured by barometric whole-body plethysmography (BWBP) was investigated in 48 healthy adult cats (study 1). Three time intervals of ten minutes each were compared. The same study population was used to evaluate the stress level (CSS) and its correlation with the BWBP-measurement-parameters (study 2).

The results of study 1 suggest that the acclimatization time is an important factor influencing the measurement parameters of BWBP, as all measurement parameters except for TV/BW were significantly influenced by it. A significant change in the measurement parameters MV/BW ($p < 0.001$), PIF/BW ($p < 0.001$), PEF/BW ($p = 0.002$), Pause ($p = 0.03$) and Penh ($p = 0.03$) was observed between the time points T1 and T2. For the parameters AF ($p = 0.002$), Ti ($p = 0.02$), Te ($p = 0.04$), and Tr ($p = 0.01$), significant differences were detected between the timepoints T2 and T3. Between timepoints T1 and T3, all parameters except for TV/BW showed significant changes, which is why a standardized acclimatization period of 20 minutes can be recommended.

In study 2 it could be shown, that the cats included in the study experienced mild stress during the initial BWBP-session, despite the procedure being non-invasive and without manipulation. During the first measurement period, 75% of the cats exhibited tense behavior (Cat-Stress-Score (CSS) 3/7). With increasing acclimatization time and habituation to the situation, a significant reduction in the median CSS was observed between time points T1–T2 ($p < 0.001$) and T1–T3 ($p < 0.001$). Analysis of the CSS in relation to the BWBP measurement parameters revealed a significant correlation between the score and all parameters except for TV/BW, Pause, and Penh.

Since the acclimatization time significantly influences almost all measurement parameters of the BWBP and the CSS is significantly correlated with most measurement parameters, the necessity of a sufficiently long acclimatization period and the consideration of stress levels when interpreting results becomes evident. These findings should be taken into account when planning future studies.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde bei 48 gesunden, adulten Katzen der Einfluss der Akklimatisierungszeit auf Messparameter der Lungenfunktionsmessung mittels barometrischer Ganzkörperplethysmographie (BWBP) untersucht (Studie 1). Hierbei wurden drei Zeitabschnitte von jeweils zehn Minuten miteinander verglichen. Die gleiche Studienpopulation wurde zur Evaluierung des Stresslevels über diesen Zeitraum und dessen Korrelation mit den Messparametern der BWBP herangezogen (Studie 2).

Die Ergebnisse der ersten Studie zeigen, dass die Akklimatisierungszeit einen bedeutenden Einflussfaktor auf die Messparameter der BWBP darstellt, da alle Messparameter außer TV/BW signifikant davon beeinflusst wurden. Zwischen den Zeitabschnitten T1-T2 konnte eine signifikante Veränderung der Messparameter MV/BW ($p < 0,001$), PIF/BW ($p < 0,001$), PEF/BW ($p = 0,002$), Pause ($p = 0,03$) und Penh ($p = 0,03$) festgestellt werden. Für die Messparameter AF ($p = 0,002$), Ti ($p = 0,02$), Te ($p = 0,04$) und Tr ($p = 0,01$) konnte eine signifikante Veränderung zwischen den Messzeitpunkten T2-T3 nachgewiesen werden. Zwischen den Zeitpunkten T1-T3 unterlagen alle Parameter außer TV/BW signifikanten Veränderungen, weshalb eine standardisierte Akklimatisierungszeit von 20 Minuten empfohlen wird.

In Studie 2 konnte gezeigt werden, dass die eingeschlossenen Katzen bei der erstmaligen BWBP zu Beginn der Messungen leichten Stress empfanden, obwohl die Messung ohne Manipulation stattfindet und nicht invasiv ist. So zeigten 75% der Katzen während des ersten Messabschnittes ein angespanntes Verhalten (Cat-Stress-Score (CSS) 3/7). Mit zunehmender Akklimatisierungszeit und Gewöhnung an die Situation konnte eine signifikante Reduktion des medianen CSS zwischen den Zeitpunkten T1-T2 ($p < 0,001$) und T1-T3 ($p < 0,001$) nachgewiesen werden. Die Untersuchung des CSS in Zusammenhang mit den Messparametern der BWBP ergab eine signifikante Korrelation des Scores mit allen Messparametern außer TV/BW, Pause und Penh.

Da die Akklimatisierungszeit fast alle Messparameter der BWBP beeinflusst und der CSS mit den meisten Messparametern signifikant korreliert ist, wird die Notwendigkeit einer ausreichend langen Akklimatisierungszeit sowie der

Berücksichtigung des Stresslevels bei der Interpretation der Ergebnisse deutlich. Diese Erkenntnisse sollten bei der Planung zukünftiger Studien berücksichtigt werden.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Abrahams, V., Hilton, S., Zbrożyna, A., 1960. Active muscle vasodilatation produced by stimulation of the brain stem: its significance in the defence reaction. The Journal of physiology 154, 491.

Abrahams, V., Hilton, S., Zbrożyna, A., 1964. The role of active muscle vasodilatation in the alerting stage of the defence reaction. The Journal of physiology 171, 189.

Abramson, A.L., Goldstein, M.N., Stenzler, A., Steele, A., 1982. The use of the tidal breathing flow volume loop in laryngotracheal disease of neonates and infants. Laryngoscope 92, 922-926.

Ali, N., Nater, U.M., 2020. Salivary Alpha-Amylase as a Biomarker of Stress in Behavioral Medicine. Int J Behav Med 27, 337-342.

Allerton, F.J., Leemans, J., Tual, C., Bernaerts, F., Kirschvink, N., Clercx, C., 2013. Correlation of bronchoalveolar eosinophilic percentage with airway responsiveness in cats with chronic bronchial disease. J Small Anim Pract 54, 258-264.

Allwood, M.A., Handwerger, K., Kivlighan, K.T., Granger, D.A., Stroud, L.R., 2011. Direct and moderating links of salivary alpha-amylase and cortisol stress-reactivity to youth behavioral and emotional adjustment. Biol Psychol 88, 57-64.

Alworth, L.C., Buerkle, S.C., 2013. The effects of music on animal physiology, behavior and welfare. Lab Anim (NY) 42, 54-61.

Amis, T.C., Smith, M.M., Gaber, C.E., Kurpershoek, C., 1986. Upper airway obstruction in canine laryngeal paralysis. Am J Vet Res 47, 1007-1010.

Anderson, C.T., Breen, P.H., 2000. Carbon dioxide kinetics and capnography during critical care. Critical Care 4, 1-9.

Antoni, F.A., 1986. Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion: advances since the discovery of 41-residue corticotropin-releasing factor. Endocrine reviews 7, 351-378.

Ayres, D.A., 2012. Pulse oximetry and CO-oximetry. Advanced monitoring and procedures for small animal emergency and critical care, 274-285.

Balakrishnan, A., King, L.G., 2014. Updates on pulmonary function testing in small animals. Veterinary Clinics: Small Animal Practice 44, 1-18.

Balakrishnan, A., Tong, C.W., 2020. Clinical Application of Pulmonary Function Testing in Small Animals. Vet Clin North Am Small Anim Pract 50, 273-294.

Bates, J., Irvin, C., Brusasco, V., Drazen, J., Fredberg, J., Loring, S., Eidelman, D., Ludwig, M., Macklem, P., Martin, J., Milic-Emili, J., Hantos, Z., Hyatt, R., Lai-Fook, S., Leff, A., Solway, J., Lutchen, K., Suki, B., Mitzner, W., Paré, P., Pride, N., Sly, P., 2004. The use and misuse of Penh in animal models of lung disease. Am J Respir Cell Mol Biol 31, 373-374.

Bay, J.D., Johnson, L.R., 2004. Feline bronchial disease/asthma, In: Textbook of respiratory disease in dogs and cats. Elsevier, pp. 388-396.

Beerda, B., Schilder, M.B., Janssen, N.S., Mol, J.A., 1996. The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. Horm Behav 30, 272-279.

Bernaerts, F., Merveille, A.-C., Bolognin, M., Leemans, J., Gustin, P., Clercx, C., 2006. Investigation of airway reactivity by barometric whole body plethysmography in cats with spontaneous bronchial disease, In: 24th Symposium of the Veterinary Comparative Respiratory Society.

Bernaerts, F., Talavera, J., Leemans, J., Hamaide, A., Claeys, S., Kirschvink, N., Clercx, C., 2010. Description of original endoscopic findings and respiratory functional assessment using barometric whole-body plethysmography in dogs suffering from brachycephalic airway obstruction syndrome. The Veterinary Journal 183, 95-102.

Blair, J., Adaway, J., Keevil, B., Ross, R., 2017. Salivary cortisol and cortisone in the clinical setting. Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity 24, 161-168.

Blanchard, R.J., McKittrick, C.R., Blanchard, D.C., 2001. Animal models of social stress: effects on behavior and brain neurochemical systems. Physiology & behavior 73, 261-271.

Boiten, F.A., Frijda, N.H., Wientjes, C.J., 1994. Emotions and respiratory patterns: review and critical analysis. Int J Psychophysiol 17, 103-128.

Borrill, Z.L., Houghton, C.M., Tal-Singer, R., Vessey, S.R., Faiferman, I., Langley, S.J., Singh, D., 2008. The use of plethysmography and oscillometry to compare long-acting bronchodilators in patients with COPD. British journal of clinical pharmacology 65, 244-252.

Buisman, M., Hasiuk, M.M.M., Gunn, M., Pang, D.S.J., 2017. The influence of demeanor on scores from two validated feline pain assessment scales during the perioperative period. Vet Anaesth Analg 44, 646-655.

Burns, K., 2012. Cat friendly practice program takes off: American Association of Feline Practitioners growing with program. J Am Vet Med Assoc 241, 1264-1265.

Carlstead, K., Brown, J.L., Strawn, W., 1993. Behavioral and physiological correlates of stress in laboratory cats. Applied Animal Behaviour Science 38, 143-158.

Caro-Vadillo, A., Montoya-Alonso, J.A., García-Guasch, L., 2022. Impact of Obesity on Lung Function in Cats with Bronchoconstriction. Vet Sci 9.

Children, Y., 1990. Changes in Airway Reactivity with Age in Normal Infants. AM REV RESPIR DIS 142, 1372-1376.

Chrousos, G.P., 2009. Stress and disorders of the stress system. Nature reviews endocrinology 5, 374-381.

Clercx, C., Gustin, P., Landser, F., Van de Woestijne, K., 1993. Measurement of total respiratory impedance in dogs by the forced oscillation technique. Veterinary Research Communications 17, 227-239.

Close, R., Reinhold, P., Lekeux, P., 1994. Monofrequency forced oscillation technique for the investigation of pulmonary function in calves: in vitro and in vivo studies. Res Vet Sci 56, 363-372.

Cook, C., Mellor, D., Harris, P., Ingram, J., Matthews, L., 2000. Hands-on and hands-off measurement of stress, In: The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. CABI Publishing Wallingford UK, pp. 123-146.

Coote, J., Hilton, S., Zbrożyna, A., 1973. The pontomedullary area integrating the defence reaction in the cat and its influence on muscle blood flow. The Journal of physiology 229, 257-274.

Crapo, R.O., 1994. Pulmonary-function testing. New England Journal of Medicine 331, 25-30.

Cyr, N.E., Romero, L.M., 2009. Identifying hormonal habituation in field studies of stress. General and comparative endocrinology 161, 295-303.

D'ALONZO, G.E., Smolensky, M.H., 1991. Chronophysiologic determinants of asthma. Annals of the New York Academy of Sciences 618, 123-139.

da Silva, B.P., Knackfuss, F.B., Labarthe, N., Mendes-de-Almeida, F., 2017. Effect of a synthetic analogue of the feline facial pheromone on salivary cortisol levels in the domestic cat. Pesquisa Veterinária Brasileira 37, 287-290.

Damian, G., Burman, R., Flaherty, D., 2024. Guide to capnography in dogs and cats. In Practice 46, 340-356.

Data Sciences, I., 2017. FinePointe™ WBP Application Manual.

Debono, M., Ghobadi, C., Rostami-Hodjegan, A., Huatan, H., Campbell, M.J., Newell-Price, J., Darzy, K., Merke, D.P., Arlt, W., Ross, R.J., 2009. Modified-release hydrocortisone to provide circadian cortisol profiles. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 94, 1548-1554.

Dethlefsen, U., 1985. Ein neues therapieprinzip bei nachtlichem asthma. Med Klin. 80, 44-47.

Dijkstra, E., Teske, E., Szatmári, V., 2018. Respiratory rate of clinically healthy cats measured in veterinary consultation rooms. Vet J 234, 96-101.

Doonan, C., 2018. The effects of Feliway on the stress of cats during veterinary examination.

Drorbaugh, J.E., Fenn, W.O., 1955. A barometric method for measuring ventilation in newborn infants. Pediatrics 16, 81-87.

Droste, S.K., de Groote, L., Atkinson, H.C., Lightman, S.L., Reul, J.M., Linthorst, A.C., 2008. Corticosterone levels in the brain show a distinct ultradian rhythm but a delayed response to forced swim stress. Endocrinology 149, 3244-3253.

Dunn, A.J., Berridge, C.W., 1990. Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses? Brain Res Brain Res Rev 15, 71-100.

Dybdall, K., Strasser, R., Katz, T., 2007. Behavioral differences between owner surrender and stray domestic cats after entering an animal shelter. Applied Animal Behaviour Science 104, 85-94.

Ellis, S.L., Rodan, I., Carney, H.C., Heath, S., Rochlitz, I., Shearburn, L.D., Sundahl, E., Westropp, J.L., 2013. AAFP and ISFM feline environmental needs guidelines. J Feline Med Surg 15, 219-230.

Emmerson, T., 2014. Brachycephalic obstructive airway syndrome: a growing problem. Wiley Online Library, pp. 543-544.

Falaschetti, E., Laiho, J., Primatesta, P., Purdon, S., 2004a. Prediction equations for normal and low lung function from the Health Survey for England. Eur Respir J 23, 456-463.

Falaschetti, E., Laiho, J., Primatesta, P., Purdon, S., 2004b. Prediction equations for normal and low lung function from the Health Survey for England. European Respiratory Journal 23, 456-463.

Farah, C.S., Salome, C.M., 2012. Asthma and obesity: a known association but unknown mechanism. Respirology 17, 412-421.

Farnworth, M.J., Chen, R., Packer, R.M., Caney, S.M., Gunn-Moore, D.A., 2016. Flat Feline Faces: Is Brachycephaly Associated with Respiratory Abnormalities in the Domestic Cat (Felis catus)? PLoS One 11, e0161777.

Flandre, T.D., Leroy, P.L., Desmecht, D.J., 2003. Effect of somatic growth, strain, and sex on double-chamber plethysmographic respiratory function values in healthy mice. J Appl Physiol (1985) 94, 1129-1136.

Fowler, R.W., Pluck, R.A., Hetzel, M.R., 1987. Maximal expiratory flow-volume curves in Londoners aged 60 years and over. Thorax 42, 173-182.

Gaidica, M., Dantzer, B., 2020. Quantifying the autonomic response to stressors—one way to expand the definition of "stress" in animals. Integrative and Comparative Biology 60, 113-125.

Galler, A., Shibly, S., Bilek, A., Hirt, R.A., 2013. Inhaled budesonide therapy in cats with naturally occurring chronic bronchial disease (feline asthma and chronic bronchitis). J Small Anim Pract 54, 531-536.

García-Guasch, L., Caro-Vadillo, A., Laporta, M., Montoya-Alonso, J., 2008. Barometric whole-body plethysmography reference values in different age-range cats with natural bronchial disease, In: 18th European College of Veterinary Internal Medicine–Companion Animals Congress; Ghent, Belgium.

Garcia-Guasch, L., Caro-Vadillo, A., Manubens-Grau, J., Carreton, E., Camacho, A.A., Montoya-Alonso, J.A., 2015. Pulmonary function in obese vs non-obese cats. J Feline Med Surg 17, 494-499.

García-Guasch, L., Caro-Vadillo, A., Manubens-Grau, J., Carretón, E., Camacho, A.A., Montoya-Alonso, J.A., 2015. Pulmonary function in obese vs non-obese cats. J Feline Med Surg 17, 494-499.

Garcia-Guasch, L., Caro-Vadillo, A., Manubens-Grau, J., Carreton, E., Morchon, R., Simon, F., Montoya-Alonso, J.A., 2012. Evaluation of pulmonary function variables by using plethysmography in cats with respiratory disease associated to Dirofilaria immitis. Vet Parasitol 187, 254-258.

Gareis, H., Hörner-Schmid, L., Zablotski, Y., Palić, J., Schulz, B., 2022. Evaluation of barometric whole-body plethysmography for therapy monitoring in cats with feline lower airway disease. PLoS One 17, e0276927.

Gareis, H., Schulz, B., 2021. Lungenfunktionsmessung bei der Katze–eine Übersicht. Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere/Heimtiere 49, 441-454.

German, A.J., Ryan, V.H., German, A.C., Wood, I.S., Trayhurn, P., 2010. Obesity, its associated disorders and the role of inflammatory adipokines in companion animals. The Veterinary Journal 185, 4-9.

Gillies, G., Linton, E., Lowry, P., 1982. Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by vasopressin. Nature 299, 355-357.

Goldman, M.D., Saadeh, C., Ross, D., 2005. Clinical applications of forced oscillation to assess peripheral airway function. Respiratory physiology & neurobiology 148, 179-194.

Gooding, M.A., Duncan, I.J., Atkinson, J.L., Shoveller, A.K., 2012. Development and validation of a behavioral acclimation protocol for cats to respiration chambers used for indirect calorimetry studies. Journal of Applied Animal Welfare Science 15, 144-162.

Goossens, M., Meyer, H., Voorhout, G., Sprang, E., 1995. Urinary excretion of glucocorticoids in the diagnosis of hyperadrenocorticism in cats. Domestic Animal Endocrinology 12, 355-362.

Granger, D.A., Kivlighan, K.T., El-Sheikh, M., Gordis, E.B., Stroud, L.R., 2007. Salivary α-amylase in biobehavioral research: recent developments and applications. Annals of the New York Academy of sciences 1098, 122-144.

Gray, T.S., Carney, M.E., Magnuson, D.J., 1989. Direct projections from the central amygdaloid nucleus to the hypothalamic paraventricular nucleus: possible role in stress-induced adrenocorticotropin release. Neuroendocrinology 50, 433-446.

Griffith, C.A., Steigerwald, E.S., Buffington, C.T., 2000. Effects of a synthetic facial pheromone on behavior of cats. Journal of the American Veterinary Medical Association 217, 1154-1156.

Grippo, A.J., Moffitt, J.A., Johnson, A.K., 2002. Cardiovascular alterations and autonomic imbalance in an experimental model of depression. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 282, R1333-R1341.

Grosenbaugh, D.A., Alben, J.O., Muir, W.W., 1997. Absorbance spectra of inter-species hemoglobins in the visible and near infrared regions. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 7, 36-42.

Gurney, M., Gower, L., 2022. Randomised clinical trial evaluating the effect of a single preappointment dose of gabapentin on signs of stress in hyperthyroid cats. J Feline Med Surg 24, e85-e89.

Gustin, P., Bakima, M., Art, T., Lekeux, P., Lomba, F., Van De Woestijne, K., 1988. Pulmonary function values and growth in Belgian white and blue double-muscled cattle. Research in Veterinary Science 45, 405-410.

Haas, A., Borsook, D., Adler, G., Freeman, R., 2022. Stress, hypoglycemia, and the autonomic nervous system. Autonomic Neuroscience 240, 102983.

Hackett, T.B., 2002. Pulse oximetry and end tidal carbon dioxide monitoring. Vet Clin North Am Small Anim Pract 32, 1021-1029.

Hahn, W.W., Clark, J.A., 1967. Psychophysiological reactivity of asthmatic children. Psychosom Med 29, 526-536.

Hall, M., Vasko, R., Buysse, D., Ombao, H., Chen, Q., Cashmere, J.D., Kupfer, D., Thayer, J.F., 2004. Acute stress affects heart rate variability during sleep. Biopsychosocial Science and Medicine 66, 56-62.

Halloy, D.J., Kirschvink, N.A., Vincke, G.L., Hamoir, J.N., Delvaux, F.H., Gustin, P.G., 2004. Whole body barometric plethysmography: a screening method to investigate airway reactivity and acute lung injuries in freely moving pigs. Vet J 168, 276-284.

Hamelmann, E., Schwarze, J., Takeda, K., Oshiba, A., Larsen, G., Irvin, C., Gelfand, E., 1997. Noninvasive measurement of airway responsiveness in allergic mice using barometric plethysmography. American journal of respiratory and critical care medicine 156, 766-775.

Hammerle, M., Horst, C., Levine, E., Overall, K., Radosta, L., Rafter-Ritchie, M., Yin, S., 2015. 2015 AAHA Canine and Feline Behavior Management Guidelines. J Am Anim Hosp Assoc 51, 205-221.

Hampton, A., Ford, A., Cox III, R.E., Liu, C.-c., Koh, R., 2020. Effects of music on behavior and physiological stress response of domestic cats in a veterinary clinic. Journal of feline medicine and surgery 22, 122-128.

Harmon, A.G., Towe-Goodman, N.R., Fortunato, C.K., Granger, D.A., 2008. Differences in saliva collection location and disparities in baseline and diurnal rhythms of alpha-amylase: a preliminary note of caution. Hormones and Behavior 54, 592-596.

Harper, R.M., Frysinger, R.C., Trelease, R.B., Marks, J.D., 1984. State-dependent alteration of respiratory cycle timing by stimulation of the central nucleus of the amygdala. Brain Res 306, 1-8.

Hendricks, J.C., 1992. Brachycephalic airway syndrome. Veterinary Clinics of North America: small animal practice 22, 1145-1153.

Hendricks, J.C., King, L.G., 1993. Practicality, usefulness, and limits of pulse oximetry in critical small animal patients. Journal of veterinary emergency and critical care 3, 5-12.

Hennessy, M.B., Heybach, J.P., Vernikos, J., Levine, S., 1979. Plasma corticosterone concentrations sensitively reflect levels of stimulus intensity in the rat. Physiology & behavior 22, 821-825.

Hennessy, M.B., Levine, S., 1977. Effects of various habituation procedures on pituitary-adrenal responsiveness in the mouse. Physiology & behavior 18, 799-802.

Herbert, D.A., Mitchell, R.A., 1971. Blood gas tensions and acid-base balance in awake cats. Journal of Applied Physiology 30, 434-436.

Herd, J.A., 1991. Cardiovascular response to stress. Physiological reviews 71, 305-330.

Herman, J.P., Figueiredo, H., Mueller, N.K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M.M., Choi, D.C., Cullinan, W.E., 2003. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo–pituitary–adrenocortical responsiveness. Frontiers in neuroendocrinology 24, 151-180.

Herman, J.P., McKlveen, J.M., Ghosal, S., Kopp, B., Wulsin, A., Makinson, R., Scheimann, J., Myers, B., 2016. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. Comprehensive physiology 6, 603.

Hewson, C., 2008. Stress in small animal patients: Why it matters and what to do about it. Irish Veterinary Journal 61, 249-254.

Hilton, S., 1982. The defence-arousal system and its relevance for circulatory and respiratory control. Journal of Experimental Biology 100, 159-174.

Hirt, R.A., Dederichs, D., Boehler, A., Hoffman, A.M., 2003. Relationship of age, sex, body weight, and hematologic and respiratory variables with airway reactivity in adult cats. Am J Vet Res 64, 26-31.

Hirt, R.A., Galler, A., Shibly, S., Bilek, A., 2011. Airway hyperresponsiveness to adenosine 5'-monophosphate in feline chronic inflammatory lower airway disease. The Veterinary Journal 187, 54-59.

Hirt, R.A., Leinker, S., Mosing, M., Wiederstein, I., 2008. Comparison of barometric whole body plethysmography and its derived parameter enhanced pause (PENH) with conventional respiratory mechanics in healthy Beagle dogs. Vet J 176, 232-239.

Hjemdahl, P., Freyschuss, U., Juhlin-Dannfelt, A., Linde, B., 1984. Differentiated sympathetic activation during mental stress evoked by the Stroop test. Acta physiologica Scandinavica. Supplementum 527, 25-29.

Hoffman, A.M., 2007. Airway physiology and clinical function testing. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 37, 829-843.

Hoffman, A.M., Dhupa, N., Cimetti, L., 1999a. Airway reactivity measured by barometric whole-body plethysmography in healthy cats. Am J Vet Res 60, 1487-1492.

Hoffman, A.M., Dhupa, N., Cimetti, L., 1999b. Airway reactivity measured by barometric whole-body plethysmography in healthy cats. American Journal of Veterinary Research 60, 1487-1492.

Homma, I., Masaoka, Y., 2008. Breathing rhythms and emotions. Exp Physiol 93, 1011-1021.

Hörner-Schmid, L., Gareis, H., Palić, J., Schulz, B., 2024. Influence of acclimatization time on barometric whole-body plethysmography in cats with lower airway disease. J Vet Intern Med 38, 2654-2663.

Horsley, J.R., Sterling, I.J., Waters, W.E., Howell, J.B., 1993. How common is increased airway reactivity amongst the elderly? Gerontology 39, 38-48.

Horwitz, D.F., Rodan, I., 2018. Behavioral awareness in the feline consultation: Understanding physical and emotional health. J Feline Med Surg 20, 423-436.

Hülsmann, S., Khan, A., Hagos, L., Hindermann, M., Nägel, T., Dullin, C., 2021. Evaluation of a mechanical lung model to test small animal whole body plethysmography. Sci Rep 11, 17099.

Iki, T., Ahrens, F., Pasche, K.H., Bartels, A., Erhard, M.H., 2011. Relationships between scores of the feline temperament profile and behavioural and adrenocortical responses to a mild stressor in cats. Applied Animal Behaviour Science 132, 71-80.

Jacobs Jr, D.R., Nelson, E.T., Dontas, A.S., Keller, J., Slattery, M.L., Higgins, M., 1992. Are race and sex differences in lung function explained by frame size. Am Rev Respir Dis 146, 644-649.

Jacobson, J.D., Miller, M.W., Matthews, N.S., Hartsfield, S.M., Knauer, K.W., 1992. Evaluation of accuracy of pulse oximetry in dogs. American journal of veterinary research 53, 537-540.

Janssens, J.P., Pache, J.C., Nicod, L.P., 1999. Physiological changes in respiratory function associated with ageing. Eur Respir J 13, 197-205.

Karn-Buehler, J., Kuhne, F., 2022. Perception of stress in cats by German cat owners and influencing factors regarding veterinary care. J Feline Med Surg 24, 700-708.

Kasckow, J., Baker, D., Geracioti Jr, T., 2001. Corticotropin-releasing hormone in depression and post-traumatic stress disorder. Peptides 22, 845-851.

Kelmer, E., Scanson, L.C., Reed, A., Love, L.C., 2009. Agreement between values for arterial and end-tidal partial pressures of carbon dioxide in spontaneously breathing, critically ill dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association 235, 1314-1318.

Kessler, M.R., Turner, D.C., 1997. Stress and Adaptation of Cats (Felis Silvestris Catus) Housed Singly, in Pairs and in Groups in Boarding Catteries. Animal Welfare 6, 243-254.

Kirschvink, N., 2008. Barometric whole body plethysmography and enhanced pause (PENH): how relevant are they? Vet J 176, 125-126.

Kirschvink, N., Kersnak, E., Leemans, J., Delvaux, F., Clercx, C., Snaps, F., Gustin, P., 2007a. Effects of age and allergen-induced airway inflammation in cats: radiographic and cytologic correlation. Vet J 174, 644-651.

Kirschvink, N., Leemans, J., Delvaux, F., Snaps, F., Clercx, C., Gustin, P., 2005. Bronchodilators in bronchoscopy-induced airflow limitation in allergen-sensitized cats. J Vet Intern Med 19, 161-167.

Kirschvink, N., Leemans, J., Delvaux, F., Snaps, F., Clercx, C., Gustin, P., 2007b. Non-invasive assessment of airway responsiveness in healthy and allergen-sensitised cats by use of barometric whole body plethysmography. Vet J 173, 343-352.

Kirschvink, N., Leemans, J., Delvaux, F., Snaps, F., Jaspart, S., Evrard, B., Delattre, L., Cambier, C., Clercx, C., Gustin, P., 2006a. Inhaled fluticasone reduces bronchial responsiveness and airway inflammation in cats with mild chronic bronchitis. Journal of Feline Medicine and Surgery 8, 45-54.

Kirschvink, N., Leemans, J., Delvaux, F., Snaps, F., Marlin, D., Sparkes, A., Clercx, C., Gustin, P., 2006b. Non-invasive assessment of growth, gender and time of day related changes of respiratory pattern in healthy cats by use of barometric whole body plethysmography. Vet J 172, 446-454.

Klintip, W., Jarudecha, T., Rattanatumhi, K., Ritchoo, S., Muikaew, R., Wangsud, S., Sussadee, M., 2022. First study on stress evaluation and reduction in hospitalized cats after neutering surgery. Veterinary World 15, 2111.

Koolhaas, J., Korte, S., De Boer, S., Van Der Vegt, B., Van Reenen, C., Hopster, H., De Jong, I., Ruis, M., Blokhuis, H., 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 23, 925-935.

Krainer, D., Dupré, G., 2022. Brachycephalic Obstructive Airway Syndrome. Vet Clin North Am Small Anim Pract 52, 749-780.

Lajqi, N., Ilazi, A., Kastrati, B., Islami, H., 2015. Comparison of glucocorticoid (budesonide) and antileukotriene (montelukast) effect in patients with bronchial asthma determined with body plethysmography. Acta Informatica Medica 23, 347.

Lazarus, R., Sparrow, D., Weiss, S.T., 1997. Effects of obesity and fat distribution on ventilatory function: the normative aging study. Chest 111, 891-898.

Lazarus, R.S., Speisman, J.C., Mordkoff, A.M., 1963. The relationship between autonomic indicators of psychological stress: Heart rate and skin conductance. Psychosomatic medicine 25, 19-30.

Leemans, J., Kirschvink, N., Bernaerts, F., Clercx, C., Cambier, C., Gustin, P., 2009. A pilot study comparing the antispasmodic effects of inhaled salmeterol, salbutamol and ipratropium bromide using different aerosol devices on muscarinic bronchoconstriction in healthy cats. Vet J 180, 236-245.

Lekeux, P., Hajer, R., Breukink, H., 1984. Effect of somatic growth on pulmonary function values in healthy Friesian cattle. American Journal of Veterinary Research 45, 2003-2007.

Levine, S., 1985. A definition of stress?, In: Animal stress. Springer, pp. 51-69.

Lewis, L.M., Stothert, J., Standeven, J., Chandel, B., Kurtz, M., Fortney, J., 1992. Correlation of end-tidal CO2 to cerebral perfusion during CPR. Annals of emergency medicine 21, 1131-1134.

Lim, R., Zavou, M.J., Milton, P.L., Chan, S.T., Tan, J.L., Dickinson, H., Murphy, S.V., Jenkin, G., Wallace, E.M., 2014. Measuring respiratory function in mice using unrestrained whole-body plethysmography. J Vis Exp, e51755.

Lin, C.H., Lee, J.J., Liu, C.H., 2014. Functional assessment of expiratory flow pattern in feline lower airway disease. J Feline Med Surg 16, 616-622.

Lin, C.H., Wu, H.D., Lee, J.J., Liu, C.H., 2015. Functional phenotype and its correlation with therapeutic response and inflammatory type of bronchoalveolar lavage fluid in feline lower airway disease. Journal of Veterinary Internal Medicine 29, 88-96.

Lin, C.H., Wu, H.D., Lo, P.Y., Lee, J.J., Liu, C.H., 2016. Simultaneous visual inspection for barometric whole-body plethysmography waveforms during pulmonary function testing in client-owned cats. J Feline Med Surg 18, 761-767.

Liou, T.G., Kanner, R.E., 2009. Spirometry. Clinical reviews in allergy & immunology 37, 137-152.

Littleton, S.W., 2012. Impact of obesity on respiratory function. Respirology 17, 43-49.

Liu, N.C., Adams, V., Kalmar, L., Ladlow, J., Sargan, D., 2016. Whole-body barometric plethysmography characterizes upper airway obstruction in 3 brachycephalic breeds of dogs. Journal of veterinary internal medicine 30, 853-865.

Lloyd, J.K.F., 2017. Minimising Stress for Patients in the Veterinary Hospital: Why It Is Important and What Can Be Done about It. Vet Sci 4.

Lo Feudo, C.M., Ferrucci, F., Bizzotto, D., Dellacà, R., Lavoie, J.P., Stucchi, L., 2024. Differences in pulmonary function measured by oscillometry between horses with mild-moderate equine asthma and healthy controls. Equine Vet J.

Lockhart, J., Wilson, K., Lanman, C., 2013. The effects of operant training on blood collection for domestic cats. Applied Animal Behaviour Science 143, 128-134.

Lofgren, J.L., Mazan, M.R., Ingenito, E.P., Lascola, K., Seavey, M., Walsh, A., Hoffman, A.M., 2006. Restrained whole body plethysmography for measure of strain-specific and allergen-induced airway responsiveness in conscious mice. J Appl Physiol (1985) 101, 1495-1505.

Lundblad, L.K., Irvin, C.G., Adler, A., Bates, J.H., 2002. A reevaluation of the validity of unrestrained plethysmography in mice. J Appl Physiol (1985) 93, 1198-1207.

Manens, J., Bolognin, M., Bernaerts, F., Diez, M., Kirschvink, N., Clercx, C., 2012. Effects of obesity on lung function and airway reactivity in healthy dogs. The Veterinary Journal 193, 217-221.

Marques, A.H., Silverman, M.N., Sternberg, E.M., 2010. Evaluation of stress systems by applying noninvasive methodologies: measurements of neuroimmune biomarkers in the sweat, heart rate variability and salivary cortisol. Neuroimmunomodulation 17, 205-208.

Masaoka, Y., Homma, I., 1999. Expiratory time determined by individual anxiety levels in humans. J Appl Physiol (1985) 86, 1329-1336.

Masaoka, Y., Homma, I., 2001. The effect of anticipatory anxiety on breathing and metabolism in humans. Respir Physiol 128, 171-177.

Matthews, N.S., Hartke, S., Allen, J.C., Jr., 2003. An evaluation of pulse oximeters in dogs, cats and horses. Vet Anaesth Analg 30, 3-14.

Mazan, M.R., Hoffman, A.M., Kuehn, H., Deveney, E.F., 2003. Effect of aerosolized albuterol sulfate on resting energy expenditure determined by use of open-flow indirect calorimetry in horses with recurrent airway obstruction. Am J Vet Res 64, 235-242.

McCobb, E.C., Patronek, G.J., Marder, A., Dinnage, J.D., Stone, M.S., 2005. Assessment of stress levels among cats in four animal shelters. J Am Vet Med Assoc 226, 548-555.

McCune, S., 1994. Caged cats: avoiding problems and providing solutions.

McDowell, L.J., Wells, D.L., Hepper, P.G., Dempster, M., 2016. Lateral bias and temperament in the domestic cat (Felis silvestris). J Comp Psychol 130, 313-320.

McEwen, B.S., 2007. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. Physiol Rev 87, 873-904.

McGough, E., Boysen, P., 1989. Benefits and limitations of pulse oximetry in the ICU. J Crit Illness 4, 23.

McKenzie, R., Burton, M.D., Royce, S.G., Tang, M.L., 2010. Age and sex influences on airway hyperresponsiveness. J Asthma 47, 651-654.

McKiernan, B.C., Dye, J.A., Rozanski, E.A., 1993. Tidal breathing flow-volume loops in healthy and bronchitic cats. J Vet Intern Med 7, 388-393.

Miller, D.B., O'Callaghan, J.P., 2002. Neuroendocrine aspects of the response to stress. Metabolism-Clinical and Experimental 51, 5-10.

Mills, D., 2016. What are stress and distress, and what emotions are involved. ISFM guide to feline stress and health: managing negative emotions to improve feline health and wellbeing. International Society of Feline Medicine, Tisbury, UK.

Mills, D.S., Dube, M.B., Zulch, H., 2012. Stress and pheromonatherapy in small animal clinical behaviour. John Wiley & Sons.

Mitzner, W., Tankersley, C., 2003. Interpreting Penh in mice. J Appl Physiol (1985) 94, 828-831; author reply 831-822.

Mormède, P., Andanson, S., Aupérin, B., Beerda, B., Guémené, D., Malmkvist, J., Manteca, X., Manteuffel, G., Prunet, P., van Reenen, C.G., 2007. Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. Physiology & behavior 92, 317-339.

Morris, J.F., 1976. Spirometry in the evaluation of pulmonary function. Western Journal of Medicine 125, 110.

Mortola, J., 1991. Physiology of postnatal growth. The Lung: Scientific Foundations. New York, Raven Press Ltd, 1735-1748.

Murugan, A., Sharma, G., 2008. Obesity and respiratory diseases. Chronic respiratory disease 5, 233-242.

Nater, U.M., Rohleder, N., 2009. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. Psychoneuroendocrinology 34, 486-496.

Neff, T.A., 1988. Routine oximetry. A fifth vital sign? Chest 94, 227.

Nibblett, B.M., Ketzis, J.K., Grigg, E.K., 2015. Comparison of stress exhibited by cats examined in a clinic versus a home setting. Applied Animal Behaviour Science 173, 68-75.

O'Neill, D.G., Jackson, C., Guy, J.H., Church, D.B., McGreevy, P.D., Thomson, P.C., Brodbelt, D.C., 2015. Epidemiological associations between brachycephaly and upper respiratory tract disorders in dogs attending veterinary practices in England. Canine Genetics and Epidemiology 2, 1-10.

Oechtering, G., 2010. Brachycephalic syndrome-new information on an old congenital disease.

Onmaz, A.C., Stoklas-Schmidt, C., van den Hoven, R., 2013. Daily variability of forced oscillometry parameters in horses suffering recurrent airway obstruction, a pilot study. Vet Res Commun 37, 11-17.

Oostveen, E., MacLeod, D., Lorino, H., Farré, R., Hantos, Z., Desager, K., Marchal, F., 2003a. The forced oscillation technique in clinical practice: methodology, recommendations and future developments. Eur Respir J 22, 1026-1041.

Oostveen, E., MacLeod, D., Lorino, H., Farre, R., Hantos, Z., Desager, K., Marchal, F., Measurements, E.T.F.o.R.I., 2003b. The forced oscillation technique in clinical practice: methodology, recommendations and future developments. European respiratory journal 22, 1026-1041.

Overall, K., 2013. Manual of Clinical Behavioral Medicine for Dogs and Cats-E-Book. Elsevier Health Sciences.

Padgett, D.A., Glaser, R., 2003. How stress influences the immune response. Trends in immunology 24, 444-448.

Padrid, P., 2009. Kirk's Current Veterinary Therapy XIV.

Parameswaran, K., Todd, D.C., Soth, M., 2006. Altered respiratory physiology in obesity. Can Respir J 13, 203-210.

Paz, J.E., da Costa, F.V., Nunes, L.N., Monteiro, E.R., Jung, J., 2022. Evaluation of music therapy to reduce stress in hospitalized cats. J Feline Med Surg 24, 1046-1052.

Perdrizet, G.A., 1997. Hans Selye and beyond: responses to stress. Cell stress & chaperones 2, 214.

Pereira, J.S., Fragoso, S., Beck, A., Lavigne, S., Varejão, A.S., da Graça Pereira, G., 2016. Improving the feline veterinary consultation: the usefulness of Feliway spray in reducing cats' stress. J Feline Med Surg 18, 959-964.

Place, N., Kenagy, G., 2000. Seasonal changes in plasma testosterone and glucocorticosteroids in free-living male yellow-pine chipmunks and the response to capture and handling. Journal of Comparative Physiology B 170, 245-251.

Porges, S.W., 1995. Cardiac vagal tone: a physiological index of stress. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 19, 225-233.

Pratsch, L., Mohr, N., Palme, R., Rost, J., Troxler, J., Arhant, C., 2018. Carrier training cats reduces stress on transport to a veterinary practice. Applied Animal Behaviour Science 206, 64-74.

Proulx, J., 1999. Respiratory monitoring: arterial blood gas analysis, pulse oximetry, and end-tidal carbon dioxide analysis. Clin Tech Small Anim Pract 14, 227-230.

Pulopulos, M.M., Baeken, C., De Raedt, R., 2020. Cortisol response to stress: The role of expectancy and anticipatory stress regulation. Hormones and behavior 117, 104587.

Quimby, J.M., Smith, M.L., Lunn, K.F., 2011. Evaluation of the effects of hospital visit stress on physiologic parameters in the cat. J Feline Med Surg 13, 733-737.

Quindry, J.C., Ballmann, C.G., Epstein, E.E., Selsby, J.T., 2016. Plethysmography measurements of respiratory function in conscious unrestrained mice. J Physiol Sci 66, 157-164.

Ramos, D., Arena, M., Reche-Junior, A., Daniel, A., Albino, M.V.C., Vasconcellos, A., Viau, P., Oliveira, C.A.d., 2012. Factors affecting faecal glucocorticoid levels in domestic cats (Felis catus): a pilot study with single and large multi-cat households. Animal Welfare 21, 285-291.

Ramos, D., Reche-Junior, A., Fragoso, P.L., Palme, R., Yanasse, N., Gouvêa, V., Beck, A., Mills, D., 2013. Are cats (Felis catus) from multi-cat households more stressed? Evidence from assessment of fecal glucocorticoid metabolite analysis. Physiology & behavior 122, 72-75.

Rascedilla˜ id, O., Chirita, D., Iancu, A., Stavaru, C., Radu, D., 2012. Assessment of routine procedure effect on breathing parameters in mice by using whole-body plethysmography.

Receno, C.N., Cunningham, C.M., Eassa, B.E., Purdy, R., DeRuisseau, L.R., 2020. Method to obtain pattern of breathing in senescent mice through unrestrained barometric plethysmography. Journal of visualized experiments: JoVE, 10.3791/59393.

Reiche, E.M.V., Nunes, S.O.V., Morimoto, H.K., 2004. Stress, depression, the immune system, and cancer. The lancet oncology 5, 617-625.

Reinero, C.R., 2011. Advances in the understanding of pathogenesis, and diagnostics and therapeutics for feline allergic asthma. The veterinary journal 190, 28-33.

Reinhold, P., 1993. Oscillatory measurements, blood gas analysis and clinical observations after intravenous clenbuterol administration in healthy and acutely pneumonic calves. Vet Res Commun 17, 143-151.

Reinhold, P., 1997. Respiratory mechanics in animals. 2. The forced oscillation technique--review. Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift 110, 257-266.

Reinhold, P., Close, R., Lekeux, P., 1994. [Monofrequency oscilloresistometry--possibilities and limits of a non-invasive method for respiratory resistance measurement in calves]. Dtsch Tierarztl Wochenschr 101, 146-150.

Reinhold, P., Genicot, B., Close, R., Lekeux, P., 1996a. Use of the monofrequency forced oscillation technique to measure changes in upper airway resistance in Friesian and blue Belgian calves. Res Vet Sci 61, 227-230.

Reinhold, P., Macleod, D., Lekeux, P., 1996b. Comparative evaluation of impulse oscillometry and a monofrequency forced oscillation technique in clinically healthy calves undergoing bronchochallenges. Res Vet Sci 61, 206-213.

Reinhold, P., Smith, H.J., Close, R., Genicot, B., Lekeux, P., 1998. Validation of impulse oscillometry in Friesian and Blue Belgian calves with respect to changes in extrathoracic upper airway resistance. Res Vet Sci 65, 93-101.

Riemer, S., Heritier, C., Windschnurer, I., Pratsch, L., Arhant, C., Affenzeller, N., 2021. A Review on Mitigating Fear and Aggression in Dogs and Cats in a Veterinary Setting. Animals (Basel) 11.

Ritz, T., Ayala, E.S., Trueba, A.F., Vance, C.D., Auchus, R.J., 2011a. Acute stress-induced increases in exhaled nitric oxide in asthma and their association with endogenous cortisol. Am J Respir Crit Care Med 183, 26-30.

Ritz, T., Simon, E., Trueba, A.F., 2011b. Stress-induced respiratory pattern changes in asthma. Psychosom Med 73, 514-521.

Ritz, T., Steptoe, A., DeWilde, S., Costa, M., 2000. Emotions and stress increase respiratory resistance in asthma. Psychosom Med 62, 401-412.

Rodan, I., 2010. Understanding feline behavior and application for appropriate handling and management. Top Companion Anim Med 25, 178-188.

Rodan, I., Sundahl, E., Carney, H., Gagnon, A.-C., Heath, S., Landsberg, G., Seksel, K., Yin, S., 2011a. AAFP and ISFM Feline-Friendly Handling Guidelines. Journal of Feline Medicine and Surgery 13, 364-375.

Rodan, I., Sundahl, E., Carney, H., Gagnon, A.C., Heath, S., Landsberg, G., Seksel, K., Yin, S., 2011b. AAFP and ISFM feline-friendly handling guidelines. J Feline Med Surg 13, 364-375.

Romero, L.M., 2004. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. Trends in ecology & evolution 19, 249-255.

Rose, R.M., 1980. Endocrine responses to stressful psychological events. Psychiatric Clinics of North America 3, 251-276.

Rozanski, E.A., Hoffman, A.M., 1999. Pulmonary function testing in small animals. Clin Tech Small Anim Pract 14, 237-241.

Rozanski, E.A., Hoffman, A.M., 2004. Lung mechanics using plethysmography and spirometry. Textbook of respiratory disease in dogs and cats. St Louis: Saunders, 175-180.

Sanders, A.B., 1989. Capnometry in emergency medicine. Annals of emergency medicine 18, 1287-1290.

Schatz, S., Palme, R., 2001. Measurement of faecal cortisol metabolites in cats and dogs: a non-invasive method for evaluating adrenocortical function. Veterinary research communications 25, 271-287.

Schiweck, C., Piette, D., Berckmans, D., Claes, S., Vrieze, E., 2019. Heart rate and high frequency heart rate variability during stress as biomarker for clinical depression. A systematic review. Psychological medicine 49, 200-211.

Schlueter, C., Budras, K.D., Ludewig, E., Mayrhofer, E., Koenig, H.E., Walter, A., Oechtering, G.U., 2009. Brachycephalic feline noses: CT and anatomical study of the relationship between head conformation and the nasolacrimal drainage system. Journal of feline medicine and surgery 11, 891-900.

Schmitt, P.M., Göbel, T., Trautvetter, E., 1998. Evaluation of pulse oximetry as a monitoring method in avian anesthesia. Journal of Avian Medicine and Surgery, 91-99.

Schnapp, L.M., Cohen, N.H., 1990. Pulse oximetry. Uses and abuses. Chest 98, 1244-1250.

Schulz, H., Johner, C., Eder, G., Ziesenis, A., Reitmeier, P., Heyder, J., Balling, R., 2002. Respiratory mechanics in mice: strain and sex specific differences. Acta physiologica scandinavica 174, 367-375.

Selye, H., 1950. The physiology and pathology of exposure to stress.

Selye, H., 1951. The general-adaptation-syndrome. Annual review of medicine 2, 327-342.

Selye, H., Fortier, C., 1950. Adaptive reaction to stress. Biopsychosocial Science and Medicine 12, 149-157.

Şemsi, R., Kökbaş, U., Arslan, B., Ergünol, E., Kayrın, L., Sepici Dinçel, A., 2022. The Saliva Cortisol and Amylase Levels Related with Stress Response Compared by Different Analytical Methods. Appl Biochem Biotechnol 194, 1166-1177.

Shen, X., Bhargava, V., Wodicka, G., Doerschuk, C., Gunst, S., Tepper, R., 1996. Greater airway narrowing in immature than in mature rabbits during methacholine challenge. Journal of Applied Physiology 81, 2637-2643.

Sherwood, A., Allen, M.T., Obrist, P.A., Langer, A.W., 1986. Evaluation of beta-adrenergic influences on cardiovascular and metabolic adjustments to physical and psychological stress. Psychophysiology 23, 89-104.

Shreve, K.R.V., Udell, M.A., 2017. Stress, security, and scent: The influence of chemical signals on the social lives of domestic cats and implications for applied settings. Applied animal behaviour science 187, 69-76.

Sideleva, O., Suratt, B.T., Black, K.E., Tharp, W.G., Pratley, R.E., Forgione, P., Dienz, O., Irvin, C.G., Dixon, A.E., 2012. Obesity and asthma: an inflammatory disease of adipose tissue not the airway. American journal of respiratory and critical care medicine 186, 598-605.

Siegford, J.M., Walshaw, S.O., Brunner, P., Zanella, A.J., 2003. Validation of a temperament test for domestic cats. Anthrozoös 16, 332-351.

Skloot, G.S., 2017. The Effects of Aging on Lung Structure and Function. Clin Geriatr Med 33, 447-457.

Snowdon, C.T., Teie, D., Savage, M., 2015. Cats prefer species-appropriate music. Applied Animal Behaviour Science 166, 106-111.

Spengler, C.M., Shea, S.A., 2000. Endogenous circadian rhythm of pulmonary function in healthy humans. American journal of respiratory and critical care medicine 162, 1038-1046.

Spiess, J., Rivier, J., Rivier, C., Vale, W., 1981. Primary structure of corticotropin-releasing factor from ovine hypothalamus. Proceedings of the National Academy of Sciences 78, 6517-6521.

Sprung, J., Gajic, O., Warner, D.O., 2006. Age related alterations in respiratory function--anesthetic considerations. Canadian journal of anesthesia 53, 1244.

Steimer, T., 2002. The biology of fear- and anxiety-related behaviors. Dialogues Clin Neurosci 4, 231-249.

Stella, J., Croney, C., Buffington, T., 2014. Environmental factors that affect the behavior and welfare of domestic cats (Felis silvestris catus) housed in cages. Applied Animal Behaviour Science 160, 94-105.

Sztajzel, J., 2004. Heart rate variability: a noninvasive electrocardiographic method to measure the autonomic nervous system. Swiss medical weekly 134, 514-522.

Talavera, J., Kirschvink, N., Schuller, S., Garrérès, A.L., Gustin, P., Detilleux, J., Clercx, C., 2006. Evaluation of respiratory function by barometric whole-body plethysmography in healthy dogs. Vet J 172, 67-77.

Thawley, V., Waddell, L.S., 2013. Pulse oximetry and capnometry. Top Companion Anim Med 28, 124-128.

Thayer, J.F., Åhs, F., Fredrikson, M., Sollers III, J.J., Wager, T.D., 2012. A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: implications for heart rate variability as a marker of stress and health. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 36, 747-756.

Thurlbeck, W.M., 1982. Postnatal human lung growth. Thorax 37, 564-571.

Tsigos, C., Chrousos, G.P., 1994. Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and dysregulation in psychiatric and autoimmune disorders. Endocrinol Metab Clin North Am 23, 451-466.

Tsigos, C., Kyrou, I., Kassi, E., Chrousos, G.P., 2020. Stress: endocrine physiology and pathophysiology. Endotext [Internet].

Turner-Warwick, M., 1988. Epidemiology of nocturnal asthma. The American journal of medicine 85, 6-8.

Ulrich-Lai, Y.M., Herman, J.P., 2009. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. Nature reviews neuroscience 10, 397-409.

Van de Velde, H., Janssens, G., De Rooster, H., Polis, I., Peters, I., Ducatelle, R., Nguyen, P., Buyse, J., Rochus, K., Xu, J., 2013. The cat as a model for human obesity: insights into depot-specific inflammation associated with feline obesity. British Journal of Nutrition 110, 1326-1335.

Van Den Borst, B., Schols, A.M., de Theije, C., Boots, A.W., Köhler, S.E., Goossens, G.H., Gosker, H.R., 2013. Characterization of the inflammatory and metabolic profile of adipose tissue in a mouse model of chronic hypoxia. Journal of applied physiology 114, 1619-1628.

van Haaften, K.A., Forsythe, L.R.E., Stelow, E.A., Bain, M.J., 2017. Effects of a single preappointment dose of gabapentin on signs of stress in cats during transportation and veterinary examination. J Am Vet Med Assoc 251, 1175-1181.

Viau, V., Meaney, M.J., 1996. The inhibitory effect of testosterone on hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress is mediated by the medial preoptic area. Journal of neuroscience 16, 1866-1876.

Vitale, K.R., 2018. Tools for managing feline problem behaviors: pheromone therapy. Journal of feline medicine and surgery 20, 1024-1032.

von Leupoldt, A., Dahme, B., 2005. Emotions and airway resistance in asthma: study with whole body plethysmography. Psychophysiology 42, 92-97.

Vrijkotte, T.G., Van Doornen, L.J., De Geus, E.J., 2000. Effects of work stress on ambulatory blood pressure, heart rate, and heart rate variability. Hypertension 35, 880-886.

Wallace, M.L., 2024. Surgical management of brachycephalic obstructive airway syndrome: An update on options and outcomes. Vet Surg 53, 1173-1184.

Wientjes, C.J., Grossman, P., Gaillard, A.W., 1998. Influence of drive and timing mechanisms on breathing pattern and ventilation during mental task performance. Biol Psychol 49, 53-70.

Wientjes, C.J.E., 1993. Psychological influences upon breathing: situational and dispositional aspects.

Willemse, T., Vroom, M.W., Mol, J.A., Rijnberk, A., 1993. Changes in plasma cortisol, corticotropin, and α-melanocyte-stimulating hormone concentrations in cats before and after physical restraint and intradermal testing. American Journal of Veterinary Research 54, 69-72.

Winkler, J., Hagert-Winkler, A., Wirtz, H., Hoheisel, G., 2009. [Modern impulse oscillometry in the spectrum of pulmonary function testing methods]. Pneumologie 63, 461-469.

Wright, C., Baugh, S., 2018. Effectiveness of providing a box, or partially covering the cage front, on reducing cat stress. The Veterinary Nurse 9, 328-332.

Wyatt, T.D., 2009. Fifty years of pheromones. Nature 457, 262-263.

Yaribeygi, H., Panahi, Y., Sahraei, H., Johnston, T.P., Sahebkar, A., 2017. The impact of stress on body function: A review. EXCLI journal 16, 1057.

Young, K., Walker, S., Lanthier, C., Waddell, W., Monfort, S.L., Brown, J.L., 2004a. Noninvasive monitoring of adrenocortical activity in carnivores by fecal glucocorticoid analyses. General and comparative endocrinology 137, 148-165.

Young, K.M., Walker, S.L., Lanthier, C., Waddell, W.T., Monfort, S.L., Brown, J.L., 2004b. Noninvasive monitoring of adrenocortical activity in carnivores by fecal glucocorticoid analyses. Gen Comp Endocrinol 137, 148-165.

Yozova, I.D., Sano, H., Weidgraaf, K., Candy, E.J., Cockrem, J.F., 2021. A randomized cross-over trial assessing salivary and urinary cortisol concentrations after alfaxalone and propofol administration in healthy cats. Domest Anim Endocrinol 74, 106557.

Zeiler, G.E., Fosgate, G.T., van Vollenhoven, E., Rioja, E., 2014. Assessment of behavioural changes in domestic cats during short-term hospitalisation. J Feline Med Surg 16, 499-503.

Zibrak, J.D., O'Donnell, C.R., Marton, K., 1990. Indications for pulmonary function testing. Annals of Internal Medicine 112, 763-771.

Zimmer, C., Reusch, C., 2003. Untersuchungen zum Kortisol-Kreatinin-Verhältnis im Urin (UCC) bei gesunden Katzen. Schweizer Archiv für Tierheilkunde 145, 323-328.

IX. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Dr. Bianka Schulz, ohne die all das nicht möglich gewesen wäre. Vielen Dank Bianka, für deine unermüdliche Geduld, Unterstützung, Gelassenheit, und die ausgiebigen Korrekturen und Beratungen. Ich bin sehr dankbar über alle schönen Erfahrungen, die ich dank dir machen durfte.

Vielen Dank auch an Yury Zablotski, der mir den Einstieg in die Statistik so leicht gemacht hat und mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, ohne die weder das Studium der Tiermedizin noch die Promotion möglich gewesen wären. Vielen Dank, dass ihr all meine Wünsche unterstützt und mir immer den Rücken stärkt.

Bei meinen Freundinnen und Freunden möchte ich mich bedanken, für ihr Verständnis, ihre Unterstützung und die schönen Unternehmungen abseits von Arbeit und Laptop.

Außerdem möchte ich mich bei meinen Tieren Caba, Betty und Urmel bedanken, die mir jeden Tag Freude schenken und mich bei allem begleiten.