

Aus der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig  
und dem Zoo Leipzig

**Untersuchungen zur Amyloidose und Akute Phase Proteinen bei  
Schwarzfußkatzen (*Felis nigripes*)  
in Menschenobhut und in der Wildbahn**

Inaugural Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)  
durch die Veterinärmedizinische Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von  
Philipp Albert Zimmermann  
aus Essen

Leipzig, 2009

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Arwid Dauschies  
Betreuer: Prof. Dr. Klaus Eulenberger

Gutachter: Prof. Dr. Klaus Eulenberger, Zoo Leipzig  
Prof. Dr. Vera Grevel, em., Potsdam  
Dr. Arne Lawrenz, Zoo Wuppertal

Tag der Verteidigung: 31.03.2009

Meinen Eltern  
und  
Karoline  
gewidmet

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>IV</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>V</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>VI</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Literaturübersicht</b> .....	<b>3</b>
2.1 Biologie der Schwarzfußkatze ( <i>Felis nigripes</i> ) .....	3
2.2 Populations-Status der Schwarzfußkatze .....	6
2.3 Amyloid als pathologisches Substrat.....	7
2.3.1 Nomenklatur und Klassifikation.....	8
2.4 Amyloidose .....	9
2.5 AA - Amyloidose .....	11
2.5.1 Pathogenese.....	11
2.5.2 Vorkommen.....	12
2.5.3 Klinisch-pathologische und hämatologische Veränderungen bei der Katze .....	14
2.5.4 Nachweismethoden.....	15
2.5.4.1 Lichtmikroskopisch-polarisationsoptisch .....	15
2.5.4.2 Biopsien .....	15
2.5.4.3 Differenzierung des Amyloidtyps.....	16
2.5.5 Mögliche Kausalfaktoren.....	17
2.5.5.1 Infektionskrankheiten und chronische Entzündungen.....	17
2.5.5.2 Genetische Disposition .....	18
2.5.5.3 Psychosoziale Belastungsfaktoren .....	18
2.5.5.4 Spontane oder idiopathische Ausbildung .....	19
2.6 Akute Phase Reaktion / Akute Phase Proteine.....	19
2.6.1 Die Akute Phase Proteine ausgewählter Tierarten .....	22
2.6.2 Die Akute Phase Proteine der Hauskatze .....	23
2.6.2.1 Serum Amyloid A (SAA od. apoSAA).....	23
2.6.2.2 $\alpha$ -1- saures Glycoprotein (AGP od. Orosomuroid).....	24

2.6.2.3	Haptoglobin (Hp).....	24
2.6.2.4	C-reaktives Protein (CRP) .....	25
2.6.3	Die Akute Phase Proteine der Raubkatzen.....	25
<b>3</b>	<b>Tiere, Material und Methoden .....</b>	<b>26</b>
3.1	Tiere.....	26
3.2	Fangmethoden .....	27
3.2.1	Fangen mittels Lebendfalle.....	28
3.2.2	Aktives Fangen mittels Nachstellen .....	28
3.3	Immobilisierung.....	30
3.3.1	Immobilisierung von Schwarzfußkatzen im Zoo Wuppertal .....	30
3.3.2	Immobilisierung von Schwarzfußkatzen im Freiland .....	30
3.4	Probenentnahme subkutanen Fettgewebes zur Untersuchung auf Amyloid- ablagerungen.....	31
3.5	Probenentnahme von Kolongewebe zur Untersuchung auf Amyloidablagerungen....	31
3.6	Untersuchung auf Amyloidablagerungen und Klassifizierung des Amyloids.....	32
3.7	Blutentnahme, Gewinnung von Blutplasma zur Untersuchung der Akute Phase Proteine, von Harnstoff und Kreatinin und der Leukozytenzahl.....	32
3.9	Bestimmung von SAA im Blutplasma .....	33
3.10	Bestimmung von AGP im Blutplasma.....	33
3.11	Bestimmung von Haptoglobin im Blutplasma .....	33
3.12	Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin im Blutplasma .....	34
3.13	Bestimmung der Leukozyten im Vollblut .....	34
3.14	Verwendete Verfahren und Software zur Datenanalyse.....	34
<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>36</b>
4.1	Amyloidose bei Schwarzfußkatzen .....	36
4.1.1	Vorkommen und Häufigkeit.....	36
4.1.2	Amyloidlokalisation .....	42
4.1.3	Nachweis von Amyloidablagerungen mittels mikroinvasiver Biopsiemethoden.....	46

## Inhaltsverzeichnis

4.1.4	Klassifizierung des Amyloids.....	48
4.2	Konzentrationen von APP in Blutproben von Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal und aus dem Freiland .....	49
4.2.1	Vergleich der APP-Konzentrationen im Blut von Schwarzfußkatzen vor und nach einer Impfung (provozierte Akute Phase Reaktion) .....	61
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>64</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>71</b>
<b>7</b>	<b>Summary.....</b>	<b>73</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>75</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AGP	$\alpha$ -1-saures Glycoprotein
APP	Akute Phase Protein
APR	Akute Phase Reaktion
AZA	Association Of Zoos And Aquariums
Chip-Nr.	Chip-Nummer
EEP	Europäisches Erhaltungszuchtprogramm
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
et al.	und andere
FIP	Feline Infektiöse Peritonitis
ggr	geringgradig
G/l	Giga pro Liter
g/l	Gramm pro Liter
Haupt-APP	Haupt-Akute Phase Protein
HDL	High density lipoproteins
Hp	Haptoglobin
hgr	hochgradig
IL	Interleukin
i. m.	intramuskulär
IUCN	The World Conservation Union
km <sup>2</sup>	Quadratkilometer
Lnn	Lymphknoten
LPS	Lipopolysaccharid
MaulSH	Maulschleimhaut
mgr	mittelgradig
mg/l	Milligramm pro Liter
mm <sup>2</sup>	Quadratmillimeter
mm/a	Millimeter Wassersäule pro Jahr
$\mu$ m	Mikrometer
$\mu$ mol/l	Mikromol pro Liter
mmol/l	Millimol pro Liter
n	Stichprobenumfang
nm	Nanometer
NN	Nebennieren
ROC	Receiver Operating Characteristic
SAA	Serum Amyloid A
SfK	Schwarzfußkatze
SSC	Species Survival Commission
SSP	Species Survival Plan
Tab.	Tabelle
TAG	Felid Taxon Advisory Group
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor $\alpha$
WAZA	World Association of Zoos and Aquariums
ZB-Nr.	Zuchtbuch-Nummer (Internationales Zuchtbuch für die Schwarzfußkatze)

**Abbildungsverzeichnis**

Abbildung	Titel	Seite
1	<i>Felis nigripes</i> (Foto Dr. A. Sliwa; www.wild-katze.org)	3
2	Namengebendes Merkmal: der schwarze Sohlenstreif (Foto Dr. A. Sliwa; www.wild-katze.org)	3
3	Verbreitungskarte <i>F. nigripes</i>	3
4	Verlassene Bauten bieten Rückzugsmöglichkeiten (Foto Dr. A. Sliwa; www.wild-katze.org)	4
5	Dr. A. Lawrenz u. Dr. A. Sliwa	6
6	Akute Phase Protein-Synthese	21
7	Aktives Nachstellen (Foto B. Wilson)	28
8	Ausgraben einer Schwarzfußkatze (Foto B. Wilson)	29
9	Entnahme eines Fettbiopsats	31
10	Präparation subkutanen Fettgewebes	31
11	Anzahl aller von 1975 bis 2007 obduzierten Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal unter Berücksichtigung der Diagnose einer Niereninsuffizienz und dem Zeitpunkt des ersten Amyloidnachweises im Jahr 1992	36
12	Anzahl aller ab 1992 obduzierten Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal unter der Berücksichtigung einer diagnostizierten Niereninsuffizienz sowie nachgewiesenen Ablagerungen von Amyloid	37
13	Altersunterschiede in Tagen zwischen Tieren, welche an einer Niereninsuffizienz in Kombination mit Ablagerungen von Amyloid bzw. an einer anderen Todesursache verstorben sind	39
14	ROC-Kurve für Harnstoffkonzentrationen von Schwarzfußkatzen bezüglich dem möglichen Vorliegen einer Amyloidose	53
15	ROC-Kurve für Kreatininkonzentrationen von Schwarzfußkatzen bezüglich dem möglichen Vorliegen einer Amyloidose	53
16	SAA Mittelwerte Schwarzfußkatzen Zoo Wuppertal	54
17	SAA Mittelwerte Schwarzfußkatzen Freiland	55
18	AGP Mittelwerte Schwarzfußkatzen Zoo Wuppertal	56
19	AGP Mittelwerte Schwarzfußkatzen Freiland	57
20	Hp Mittelwerte Schwarzfußkatzen Zoo Wuppertal	58
21	Hp Mittelwerte Schwarzfußkatzen Freiland	59
22	Konzentrationen von SAA im Blut der Schwarzfußkatzen ZB-Nr. 512 und ZB-Nr. 482 vor und nach der Impfung	61
23	Konzentrationen von AGP im Blut der Schwarzfußkatzen ZB-Nr. 512 und ZB-Nr. 482 vor und nach der Impfung	62
24	Konzentrationen von Hp im Blut der Schwarzfußkatzen ZB-Nr. 512 und ZB-Nr. 482 vor und nach der Impfung	62
25	Konzentrationen von Leukozyten im Blut der Schwarzfußkatzen ZB-Nr. 512 und ZB-Nr. 482 vor und nach der Impfung	63

## Tabellenverzeichnis

Tabelle	Titel	Seite
1	Fibrillenproteine, Vorläuferproteine und assoziierte Krankheitsbilder in der Humanmedizin	10
2	Serumkonzentrationen von Akute Phase Proteinen gesunder Hauskatzen	24
3	Proben subkutanen Fettgewebes von Schwarzfußkatzen	26
4	Serum- bzw. Plasmaproben von Schwarzfußkatzen	27
5	Kreuztabelle generalisierte Amyloidose und Niereninsuffizienz ab August 1992	38
6	Prozentuale Verteilung der Kombination Niereninsuffizienz und Amyloidablagerungen im Verhältnis zu anderen Todesursachen (Tiere nach August 1992 verstorben)	38
7	Häufigkeiten anderer Erkrankungen in Bezug auf das Vorliegen einer generalisierten Amyloidose	40
8	Häufigkeiten anderer Erkrankungen in Bezug auf das Vorliegen einer Niereninsuffizienz	40
9	Häufigkeiten weiterer Sektionsbefunde unbekannter Genese in Bezug auf das Vorliegen einer generalisierten Amyloidose	41
10	Häufigkeiten weiterer Sektionsbefunde unbekannter Genese in Bezug auf das Vorliegen einer Niereninsuffizienz	41
11	Organbeteiligung Amyloidablagerungen	43 - 44
12	Amyloidhäufigkeit in untersuchten Organen	45
13	Ergebnisse der Untersuchungen unterschiedlicher Gewebebiopsien von Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal auf Amyloidablagerungen	46 - 47
14	Ergebnisse der Untersuchungen subkutanen Fettgewebes von Schwarzfußkatzen aus dem Freiland auf Amyloidablagerungen	47
15	Art, Anzahl und Ergebnisse der durchgeführten Biopsien	48
16	APP-, Harnstoff- und Kreatinin-Konzentrationen im Serum, Schwarzfußkatzen Zoo Wuppertal	50
17	APP-, Harnstoff- und Kreatinin-Konzentrationen im Serum, Schwarzfußkatzen Freiland	51 - 52
18	Korrelationen der Messwerte SAA, AGP, Hp, Leukozyten, Harnstoff und Kreatinin	60

## 1 Einleitung

Die Schwarzfußkatze (*Felis nigripes*) ist ein heimlicher, nachtaktiver Einzelgänger und kommt endemisch in der westlichen Trockenzone des südlichen Afrikas vor (SKINNER u. SMITHERS 1990). Die Erstzucht für diese Art erfolgte in Deutschland in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts am Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie in Wuppertal (LEYHAUSEN u. TONKIN 1966). Das internationale Zuchtbuch wurde 1987 vom Zoo Frankfurt begründet und wird seit 1993 von Dr. U. Schürer, Direktor des Zoo Wuppertal, geführt (SCHÜRER u. OLBRICHT 1993, 1994, 1995, 1996, 1997, 1999; SCHÜRER u. SLIWA 2000, 2002, 2004, 2006). Vor allem in den 80er Jahren des 20. Jahrhunderts konnten in Haltungen weltweit größere Zuchterfolge von *Felis nigripes* erzielt werden. Seitdem stieg die Zahl der Todesfälle jedoch drastisch an und erreichte 1992 ihren Höhepunkt mit 21 männlichen, 15 weiblichen und 4 verstorbenen Individuen unbekanntes Geschlechts. Nach der Analyse von Sektionsbefunden stellte sich in den meisten Fällen eine Niereninsuffizienz als primäre Todesursache heraus (OLBRICHT u. SLIWA 1997). Im Anschluss zeigten weiterführende Untersuchungen, u. a. Anfärbung des histologischen Organmaterials mit Kongo Rot, dass die Zerstörung des Nierengewebes der Schwarzfußkatzen in Ablagerungen von Amyloid begründet war. Mittels immunhistochemischer Untersuchungen konnte dargestellt werden, dass es sich um eine sekundäre Ausprägungsform der Amyloidose, der so genannten AA-Amyloidose handelte (TAUGNER et al. 2002a). Die in dieser Arbeit durchgeführte Auswertung von Sektions- und Untersuchungsberichten zeigt, dass seitdem bei Sektionen verstorbener Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal, aber auch aus Haltungen weltweit (TERIO et al. 2008), regelmäßig die Diagnose einer generalisierten AA-Amyloidose gestellt wurde.

Um die Erkrankung der Schwarzfußkatzen an der AA-Amyloidose möglichst früh, vor allem vor Ausbildung einer irreversiblen, chronischen Niereninsuffizienz feststellen zu können, wurde ein *in vivo* Diagnostikverfahren für Amyloidkrankheiten aus der Humanmedizin geprüft (TAUGNER 2002b). Bei dieser Methode wird Biopsiematerial von subkutanem Abdominalfett auf Amyloidablagerungen untersucht (WESTERMARK u. STENKVIST 1973). Erste viel versprechende Ergebnisse aus diesen Untersuchungen an Schwarzfußkatzen konnten in den 90er Jahren erzielt werden (TAUGNER 2002b). Ein Ziel dieser Arbeit war es, diese Diagnostikmethode für Amyloidkrankheiten erneut zu prüfen und für Schwarzfußkatzen sowohl in menschlicher Obhut als auch im Freiland zu etablieren.

Des Weiteren wurden aus Serum bzw. Plasma von Schwarzfußkatzen die Akute Phase Proteine Serum Amyloid A (SAA),  $\alpha$ -1-saures Glycoprotein (AGP) und Haptoglobin (Hp) bestimmt, um die Ursache der sekundären reaktiven AA-Amyloidose bei Schwarzfußkatzen zu ergründen. Das in der Leber produzierte Akute Phase Protein SAA gilt als Haupt-Akute Phase Protein bei der Katze (CERON et al. 2005), und ist das Vorläuferprotein des AA-Amyloids im Serum (HUSBY G. et al. 1994).

## 1 Einleitung

Bei erhöhten Konzentrationen von SAA im Serum über einen längeren Zeitraum kommt es zu dessen Einlagerungen in Gewebe und spezifischen Organen. Dort kommt es im weiteren Verlauf der Erkrankung aufgrund einer Degradierung des Proteins zu irreversiblen Einlagerungen von AA-Amyloid (HUSBY et al. 1994). Es galt zu prüfen, ob bei Schwarzfußkatzen eine allgemeine Prädisposition für erhöhte SAA-Konzentrationen im Serum als mögliche Ursache der AA-Amyloidose vorliegt. Daneben werden aber auch chronische Infektionen als mögliche Ursachen von sekundären Amyloidosen angesehen (PEPYS 2001), und so sollte die Bestimmung von Akute Phase Proteinen Aufschluss über etwaige subklinisch vorliegende Infektionen geben.

Um prüfen zu können, ob es sich bei der Anfälligkeit der Schwarzfußkatzen für die AA-Amyloidose um eine reine Problematik der Tiere in menschlicher Obhut handelt, oder ob diese Krankheit auch bei Katzen im Freiland auftritt, wurden in einer umfangreichen Feldstudie auf der Game Farm ‚Benfontein‘ der Firma De Beers Consolidated Mines, 10 km südöstlich der Stadt Kimberley, Südafrika, erneut Schwarzfußkatzen in ihrem natürlichen Lebensraum gefangen und Probenmaterial zu Diagnosezwecken entnommen.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Biologie der Schwarzfußkatze (*Felis nigripes*)

Die Erstbeschreibung der Schwarzfußkatze (*Microfelis nigripes*) erfolgte durch BURCHELL 1824 (BURCHELL 1824) nach Sichtungen bei Kuruman in der Nördlichen Kap Provinz Südafrikas. 1931 führt SHORTRIDGE nach eigenen Beobachtungen eine südliche Unterart, *Felis (Microfelis) nigripes thomasi*, auf. Dies macht er vor allem an einer unterschiedlichen Farbgebung und Zeichnung der von ihm gesichteten Tiere fest (SHORTRIDGE 1934). SMITHERS (1971) hielt die aufgeführten Eigenschaften jedoch nicht für überzeugend. SKINNER und SMITHERS (1990) wiederum beschreiben die nördliche Unterart *Microfelis nigripes nigripes*, nördlich von Kuruman in der Kalahari, als lohfarben und die südliche Unterart *Felis (Microfelis) nigripes thomasi* in der Karoo als rehbraun (OLBRICHT u. SLIWA 1997).

OLBRICHT und SLIWA (1997) bezweifeln das Vorhandensein von Unterarten jedoch mit der Begründung, dass zwischen den Verbreitungsgebieten der aufgeführten Unterarten weder geographische noch ökologische Abgrenzungen vorhanden seien.

Zudem wurden die von den Autoren genannten unterschiedlichen Fellfärbungen und Zeichnungen bei Tieren in einem einzigen Gebiet beobachtet und als gräulich mit schwarz-braunen Markierungen und lohfarben oder rötlich mit deutlichen schwarzen Markierungen beschrieben. Allen Schwarzfußkatzen gemein ist das ihnen namensgebende Merkmal, die tiefschwarze Pfotenunterseite sowie der bis zur Ferse reichende schwarze Sohlenstreif an den Hinterpfoten (LEYHAUSEN 1962).

Die Schwarzfußkatze ist endemisch in der westlichen Trockenzone des südlichen Afrikas (SKINNER u. SMITHERS 1990). Das Vorkommen erstreckt sich von Nord-Namibia und Botswana südwärts, durch die trockenen westlichen Bereiche der Nördlichen und der Westlichen Kap-Provinz, den Free State und die Nordwestliche Provinz Südafrikas (SLIWA 1997). Sie hat eine Vorliebe für offenes Gelände. In der Literatur wird das Verbreitungsgebiet der Katze als trockenes Gelände mit kurzem Graswuchs, vereinzelt Buschwerk sowie mit Termitenhügeln



Abb.1: *Felis nigripes*



Abb.2: Namensgebendes Merkmal: Der schwarze Sohlenstreif



Abb.: 3 Verbreitungskarte *F. nigripes* (modifiziert nach BOITANI et al.1999)

als Unterschlupfmöglichkeit dargestellt (SMITHERS 1971; SLIWA 1993). Bergiges oder steinigtes Terrain wird von den Tieren gemieden.

Die Schwarzfußkatze, im Englischen Black-footed cat oder Small spotted cat, ist die kleinste Katze Afrikas (SLIWA 1997). Mit einer Schulterhöhe von 16 - 25 cm und einer Körpermasse von 1,5 - 2,4 kg (männliche Tiere) bzw. 1 - 1,6 kg (weibliche Tiere) gehört sie zu den kleinsten Katzen weltweit (SLIWA 2004).

Trotz ihrer geringen Größe legt die Schwarzfußkatze auf ihren Beutestreifzügen beachtliche Entfernungen zurück. Nach Beobachtungen von SLIWA (2005) wurden nachts durchschnittlich Distanzen von 8 km zurückgelegt. Aus weiteren Studien SLIWAs (2004) geht hervor, dass sich die durchschnittlichen jährlichen Streifgebietgrößen weiblicher und männlicher Tiere erheblich unterscheiden. Demnach beträgt die durchschnittliche jährliche Streifgebietgröße ausgewachsener residenter Kuder 20,7 km<sup>2</sup> und ist damit signifikant größer als die jährlichen Streifgebiete erwachsener Weibchen mit 10 km<sup>2</sup>.

Die räumliche Verbreitung und Organisation der Schwarzfußkatze scheint dem klassischen System der Feliden zu entsprechen, bei welchem sich die Streifgebiete großer Männchen und Streifgebiete mehrerer weiblicher Tiere überlappen (SLIWA 2004). Die Verbreitungsdichte schätzt SLIWA auf eine Katze je 5 km<sup>2</sup>.

In ihrem Verhalten wird die Schwarzfußkatze als heimlich, strikt nachtaktiv und abgesehen von kurzen Paarungszeiten, als Einzelgänger beschrieben. Die nächtlichen Aktivitätslängen der Tiere variieren mit der saisonal bedingten Länge der Nacht (SLIWA 1995a).



Abb.4: Verlassene Bauten bieten Rückzugsmöglichkeiten

Den Tag verbringen sie im Schutz von unbewohnten Springhasen-, Stachelschwein- oder Erdferkelbauten und in verlassenen Termitenhügeln, die sie erst bei Sonnenuntergang zum Jagen verlassen (OLBRICHT u. SLIWA 1997). Häufige Beobachtungen der Schwarzfußkatze in der Nähe von Termitenhügeln hat ihr auf Afrikaans auch den Namen „miershooptier“ oder „Ameisenhügeltiger“ zugetragen (SLIWA 1997). Die Verstecke werden spätestens nach einigen Tagen oder aber auch täglich gewechselt.

Bezüglich ihrer Nahrung und Ernährungsweise gelten Schwarzfußkatzen als opportunistische Jäger. Zu ihrer Hauptnahrung gehören Säugetiere unterschiedlicher Gewichtsklassen, wie Kleinnager und Spitzmäuse (72 %) und Vögel (26 %). Weiterhin zählen große weiche Insekten, Spinnen, Skorpione, kleine Schlangen und Geckos (insgesamt 2%) zu ihren Beutetieren (SLIWA 2006a). Sie können aber auch Beutetiere töten, die sie selbst an Größe und Gewicht übertreffen,

wie zum Beispiel Weißflügeltrappen (*Eupodotis afraoides*) oder Kaphasen (*Lepus capensis*). Auch Aas wird bereitwillig gefressen (SLIWA 1993, 2006a).

Von Wasser sind Schwarzfußkatzen im Allgemeinen unabhängig. Von Zeit zu Zeit trinken sie jedoch auch, wenn ihnen Wasser zur Verfügung steht (SKINNER u. SMITHERS 1990). Auch dieses Verhalten stellt eine Anpassung an ihren Lebensraum dar, in welchem durchschnittlich nur Niederschläge von 100 - 500 mm/a fallen.

Die Geschlechtsreife tritt bei Schwarzfußkatzen in Menschenobhut im Alter von sieben Monaten ein (SCHÜRER 1978). LEYHAUSEN und TONKIN (1966) beschreiben eine bemerkenswert kurze Östrus-Phase, die nicht länger als 36 Stunden andauert. Dabei wird die tatsächliche Phase der Empfangsbereitschaft des Weibchens mit 5 bis 10 Stunden beziffert.

In dieser kurz bemessenen Paarungszeit lassen sich auch laute Rufe der Katze vernehmen. Dies steht im Gegensatz zur üblichen Kommunikationsweise von *Felis nigripes*, die hauptsächlich über Spritzharnen in ihrem Territorium stattfindet (MOLTENO et al. 1998).

Nach Beobachtungen von SCHÜRER (1978) im Zoo Wuppertal können Schwarzfußkatzen zweimal pro Jahr werfen. Im Anschluss an eine Tragzeit von 63 bis 68 Tagen werden Würfe von 1 bis 4 Jungen zur Welt gebracht (OLBRICHT u. SLIWA 1997). Zur Geburt zieht sich die Katze in den Schutz von Höhlen zurück.

In menschlicher Obhut „verlangt“ das Muttertier nach sechs bis zehn Tagen nach der Geburt nach einer neuen Bruthöhle. Sie fängt an, die Jungtiere herumzutragen und lässt sich nicht wieder nieder, bevor ihr eine neue Schutzmöglichkeit angeboten wird (OLBRICHT u. SLIWA 1997). Die Autoren nehmen an, dass dieses Verhalten wahrscheinlich aus der Gefährdung der Jungtiere im Freiland durch andere Raubtiere resultiert.

Als kleiner Räuber (Karnivore) in deckungslosem Lebensraum ist die Schwarzfußkatze durch größere Räuber einschließlich Hyänen, Schakale, Greifvögel und Eulen gefährdet. Die Reproduktionsbiologie von *Felis nigripes* ist somit deutlich an ein Leben unter äußerlichem Druck angepasst. Ein kurzer Östrus und eine äußerst kurze Phase der Empfangsbereitschaft reduzieren eine Gefährdung während der Paarung. Eine lange Tragzeit, eine geringe Wurfgröße und ein schnelles Entwickeln der Jungtiere dienen in ihrer Gesamtheit einem verkürzten Zeitraum, in welchem die Jungtiere einem Raubtier zum Opfer fallen können (SUNQUIST u. SUNQUIST 2002).

Neben Räubern wie dem Schabrackenschakal (*Canis mesomelas*), dem Karakal (*Caracal caracal*) sowie großen nachtaktiven Raubvögeln wie dem Fleckenuhu (*Bubo africanus*), dem Kapuhu (*Bubo capensis*) und dem Milchuhu (*Bubo lacteus*), ist die Schwarzfußkatze durch Aufnahme von vergifteten Heuschrecken, infolge von Schutzmaßnahmen von Farmern gegen Getreidezerstörung, gefährdet (OLBRICHT u. SLIWA 1997). Des Weiteren bedrohen Hunde, eingesetzt für die Jagd auf Schakale, die Katzen (SLIWA 1995b).

### 2.2 Populations-Status der Schwarzfußkatze

Die Schwarzfußkatze gilt als selten und einzigartig. Teilweise bestehen Fehleinschätzungen bezüglich ihres Status aufgrund von Verwechslungen mit der Afrikanischen Wildkatze (*Felis lybica*) oder der Kleinfleck-Ginsterkatze (*Genetta genetta*) (VISSER 1971). Seit 1976 wird sie in Anhang 1 des Washingtoner Artenabkommens aufgeführt (OLBRICHT u. SLIWA 1997). Ihr Status in der Roten Liste für Feliden wurde im Jahr 2002 von der IUCN / SSC von der Stufe ‚Least Concern‘ auf ‚vulnerable‘ angehoben.

Damit wird ihre derzeitige Bestandszahl auf unter 10.000 geschlechtsreife Individuen eingeschätzt (NOWELL 2002). Sie ist Gegenstand eines *in situ* Naturschutzprojekts, welches von der WAZA (World Association Of Zoos And Aquariums) unter der Nr. 06016 registriert ist (SLIWA 2006b).

In den USA konzentrieren sich die Erhaltungsbemühungen auf ihre Vermehrung in Haltung. Im Jahr 2001 wurde von der ‚Felid Taxon Advisory Group‘ (TAG) der Amerikanischen Gesellschaft für Zoos und Aquarien (AZA) ein Arterhaltungsplan (Species Survival Plan, SSP) für die Schwarzfußkatze erstellt (SLIWA et al. 2005). Das internationale Zuchtbuch wird seit 1993 von Dr. U. Schürer, Direktor des Zoo Wuppertal, geführt (SCHÜRER u. OLBRICHT 1993, 1994, 1995, 1996, 1997, 1999; SCHÜRER u. SLIWA 2000, 2002, 2004, 2006). Außerdem wird das Europäische Erhaltungszuchtprogramm (EEP) im Zoo Wuppertal koordiniert.

Große Teile des heutigen Wissenstandes über *Felis nigripes* sind Dr. A. Sliwa, Kurator des Zoo Köln, ehemals des Zoo Wuppertal, zu verdanken. In der Zeit von 1993 bis 1998 hat er umfangreiche Feldstudien an dieser Art durchgeführt. In diesem Zeitraum wurden 21 Individuen gefangen, und 17 der Tiere wurden Radio-Halsbänder angelegt. Auf diese Weise konnten sie über einen Zeitraum von insgesamt 3125 Stunden und über eine Strecke von 2000 km in einem Geländefahrzeug begleitet werden (SLIWA 2005a).



Abb.5: Dr. A. Lawrenz und Dr. A. Sliwa

Diese Forschungsarbeit wurde auf Benfontein, einer 11,400 ha großen Wildtierfarm der Minengesellschaft De Beers, 10 km südöstlich der Stadt Kimberley in der Nördlichen Kapprovinz Südafrikas, durchgeführt (SLIWA 2004).

Im Jahr 2002 begann ein neues *in situ* Projekt. Ziel dieses Projektes ist einerseits, die Verbreitung der Art in den bereits bekannten Regionen eindeutig zu bestätigen und das Vorkommen in weiteren Verbreitungsgebieten zu erforschen, andererseits durch das Sammeln von Probenmaterial zur genetischen Verifizierung eventueller Inzucht in den Populationen als auch den Nachweis der Existenz vermeintlicher Unterarten zu führen. Solche Projekte sind von großer Bedeutung für die weitere Existenz der Art *Felis nigripes*, da der natürliche Lebensraum schwindet, was wiederum genetische Isolierung zur Folge hat (SLIWA 2006b).

### 2.3 Amyloid als pathologisches Substrat

RUDOLPH VIRCHOW verwendete 1853 zum ersten Mal den Begriff „amyloid“ (stärkeähnlich oder zelluloseähnlich). Diesen Ausdruck wählte er, um von ihm entdeckte wachsartige, eosinophile Ablagerungen in Geweben von Patienten mit chronischen Infektionen zu beschreiben. VIRCHOW war der Überzeugung, dass es sich bei diesen Ablagerungen um ein der Zellulose ähnliches Material handele, vor allem aufgrund dessen ähnlicher Affinität zu Jod und Schwefelsäure (VIRCHOW 1853). Demzufolge kam VIRCHOW zu dem Schluss, dass das Material eine Polysaccharidstruktur als Molekulargerüst innehaben müsse.

Infolge umfangreicher chemischer und physikalischer Untersuchungen konnte jedoch dargestellt werden, dass es sich bei Amyloid um biochemisch uneinheitliche pathologische Eiweißkörper handelt. Zu den biophysikalischen Grundeigenschaften dieser Eiweißkörper gehört ihre fibrilläre Ultrastruktur. Amyloidfibrillen haben unterschiedliche Längen, sind gerade und unverzweigt und zwischen 7,5 und 10 nm dick (COHEN u. CALKINS 1959; GLENNER et al. 1974). Von größter Bedeutung ist aber vor allem die strikte  $\beta$ -Faltblattstruktur dieser Eiweißmoleküle (GLENNER u. PAGE 1976). Zackenförmig abgewinkelte Polypeptidketten lagern sich nach Art eines Faltblattes in senkrechtem Verlauf zur Faserachse parallel zueinander. Ihre Stabilität erhalten diese Fibrillen dabei durch Verknüpfung mittels Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den jeweils benachbarten Peptidketten (DI BARTOLA u. BENSON 1989). Es handelt sich um eine Eiweißmolekülstruktur, welche in dieser Form in Geweben von Säugetieren physiologischerweise nicht vorkommt (GLENNER 1980). Demzufolge handelt es sich bei der Ablagerung von Amyloid um den ersten beschriebenen pathologischen Prozess, dessen Manifestation von einer spezifischen und einzigartigen Proteinbauweise, der  $\beta$ -Faltblattstruktur der Amyloidfibrillen, abhängig ist (EANES u. GLENNER 1968; COOPER 1974).

Die farblichen und optischen Eigenschaften des Amyloids sind in seiner fibrillären Ultrastruktur begründet. PUCHTLER et al. (1962) stellten fest, dass Amyloid, höchstwahrscheinlich aufgrund seiner der Zellulose ähnlichen Grundstruktur, mit Kongo Rot eine feste Bindung eingeht und dadurch anisotrope Funktionen gewinnt.

Aufgrund dessen lassen sich Amyloidablagerungen unter dem Polarisationsmikroskop anhand ihrer charakteristischen Doppelbrechung in Form eines phosphor- oder apfelgrünen Leuchtens erkennen (MISSMAHL 1962).

Von pathologischer Bedeutung ist die Eigenschaft des Amyloids, gegenüber physiologischen Lösungsmitteln resistent und proteolytisch nicht spaltbar zu sein. Auch dieses Charakteristikum wird der einzigartigen Fibrillenultrastruktur des Amyloids zugewiesen (GLENNER u. PAGE 1976). Vor allem die Resistenz des Amyloids gegenüber hydrolytischer Spaltung durch Enzyme ist dabei von größter Relevanz für den Organismus. Die irreversible Einlagerung und Ansammlung des inerten Materials in Gewebe hat degenerative Veränderungen, u. a. in Folge von Druckatrophie, und letztendlich das Versagen der betroffenen Organe (Herz, Nieren, Leber oder Milz) zur Folge (GLENNER 1980).

Chemische Charakterisierungen von Fibrillenproteinen aus Amyloidablagerungen haben ergeben, dass sich diese von verschiedenen autologen Vorläuferproteinen ableiten, welche alle physiologischerweise im Organismus auftreten, sich allerdings in Primärstruktur und Funktion deutlich voneinander unterscheiden. So können Apolipoproteine (Apolipoprotein AI, Apolipoprotein AII und Serum Amyloid SAA), Proteohormone (Atriales natriuretisches Peptid, Calcitonin, Insulin, Inselamyloid-Polypeptide und Prolactin), Immunglobuline ( $\lambda$ - und  $\kappa$ -Leichtketten, H-Ketten), Proteasen (Lysozym), Proteaseinhibitoren (Cystatin), Transmembranproteine (Amyloid Vorläufer Protein), Transportproteine (Transthyretin) und weitere (Gelsolin, Fibrinogen, Lactadherin, Lactorferrin,  $\beta$ 2-Microglobulin) die Vorläuferproteine für Fibrillenproteine bilden (RÖCKEN u. SHAKESPEARE 2002). Dabei ist das Verteilungsmuster des Amyloids von Ursprung und Art des abgelagerten Fibrillenproteins abhängig (vgl. Tab.1).

### 2.3.1 Nomenklatur und Klassifikation

WICHMANN (1893) nahm eine erste Unterteilung der Amyloidablagerungen in „lokalisierte“ und „generalisierte“ Ausprägungsformen vor. Diese Bezeichnungen werden auch heute noch für die Klassifikation verwendet. KING (1948) übertrug die von LUBARSCH (1929) eingeführten Bezeichnungen „typische“ und „atypische“ Amyloidosen auf eine Verteilung des Amyloids auf betroffene Organe. So bezeichnete er vor allem Nieren, Milz, Leber und Nebennieren als für Amyloidablagerungen „typische“ Organe, die den eher „untypischen“ Organen, Herz, Lungen, Muskulatur und Haut gegenüberstanden. Als „primär“ wurden atypische Ausprägungsformen bezeichnet, welchen kein erkennbares Leiden zugrunde lag. Den „typischen“ Formen wurde die Bezeichnung „sekundär“ zugeordnet, da sie infolge eines chronischen Krankheitsgeschehens auftraten. Heute werden die Bezeichnungen „primäre“ oder „sekundäre“ sowie „periretikuläre“ und „perikollagene“ Amyloidosen nicht mehr für die Klassifikation eingesetzt. Sie finden aber als zusätzliche beschreibende Bezeichnungen weiterhin Verwendung (SAEGER u. RÖCKEN 1998).

Seitdem es möglich ist, jedem Fibrillenprotein ein autologes Vorläuferprotein zuzuordnen, orientiert sich die Klassifikation des Amyloids unter anderem an diesen Vorläuferproteinen (KISILEVSKY 1992). Dabei wird in der Nomenklatur allen Amyloidproteinen ein „A“ vorangestellt. Sie unterscheiden sich durch eine jeweils folgende Abkürzung für das Vorläuferprotein (KAZATCHKINE et al. 1993) (vgl. Tab. 1).

### **2.4 Amyloidose**

COHEN et al. (1983) definierten den Begriff „Amyloidose“ als einen Krankheitskomplex, dessen Verlauf in einer pathogenen extrazellulären Ablagerung von Amyloid in Gefäßwände, das Gefäßbindegewebe und das Interstitium verschiedener Organe mündet. In diesem Zusammenhang wurde dieser Krankheitskomplex ebenfalls als „Protein-Speicherkrankheit“ beziehungsweise aufgrund der gemeinsamen Ultrastruktur der Ablagerungen als „ $\beta$ -Fibrillose“ bezeichnet (GLENNER 1980). Da eine spezifische Proteinkonformation basierend auf einer Proteinfehlfaltung für die Polymerisation dieser Proteine entscheidend ist, wurde dieser Krankheitskomplex zuweilen auch als „Konformationskrankheit“ bezeichnet (CARELL u. LOMAS 1997; DOBSON 2003).

Die Amyloidbildung resultiert dabei nicht aus einem einzelnen, einheitlichen Krankheitsprozess, sondern ist eine Folgeerscheinung verschiedener pathologischer Entwicklungsgänge wie z. B. chronischen Infektionen, entzündlichen Veränderungen verschiedenartigen Ursprungs, Tumoren nichtlymphoretikulären Ursprungs sowie Immundefekten (GLENNER 1980).

Entsprechend werden die verschiedenen Amyloidoseformen nicht ausschließlich durch ihr Vorläuferprotein definiert, sondern teilweise auch Geweben, Organsystemen, pathologischen Bedingungen sowie erworbenem oder hereditärem Vorkommen zugewiesen.

## 2 Literaturübersicht

Tab. 1: Fibrillenproteine, Vorläuferproteine und assoziierte Krankheitsbilder in der Humanmedizin  
(nach SAEGER u. RÖCKEN 1998)

<b>Fibrillenprotein</b>	<b>Vorläuferprotein</b>	<b>Zugeordnetes Krankheitsbild</b>	<b>Verteilungstyp</b>
AA	Serum Amyloid A	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reaktive Amyloide</li> <li>• Familiäres Mittelmeerfieber</li> <li>• Muckle-Wells-Syndrom</li> </ul>	g g g
AL	lambda- und kappa-leichte Kette	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Idiopathisch</li> <li>• Myelom- oder Makroglobulinämie-assoziiert</li> <li>• Familiäre Amyloidose</li> </ul>	l, g g g
AH	Ig G ( $\gamma$ 1)		g
ATTR	Transthyretin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Familiäre Amyloidosen</li> <li>• Senile kardiovaskuläre Amyloidose</li> </ul>	g l, g
AApo A-I	Apolipoprotein A-I	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Familiäre Amyloid-Polyneuropathie</li> <li>• Kanine Amyloidosen</li> <li>• Arteriosklerose-assoziierte Amyloidose</li> </ul>	l g g
AApo A-II	Apolipoprotein A-II	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Senile Amyloidose der Maus</li> </ul>	g
AGel	Gelsolin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Familiäre Amyloidose</li> </ul>	g
ACys	Cystatin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hereditäre zerebrale Amyloidose (Island-Typ)</li> </ul>	l
ALys	Lysozym	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hereditäre systemische Amyloidose</li> </ul>	g
AFib	Fibrinogen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hereditäre renale Amyloidose</li> </ul>	l
A $\beta$	$\beta$ -Vorläuferprotein	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alzheimer-Krankheit</li> <li>• Trisomie 21</li> <li>• Hereditäre zerebrale Amyloidose (holländischer-Typ)</li> </ul>	l l l
A $\beta$ 2M	$\beta$ 2-Mikroglobulin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hämodialyse-assoziiert</li> </ul>	g
APrP	Prion Protein	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Scrapie</li> <li>• Creutzfeld-Jakop-Erkrankung</li> <li>• Kuru</li> </ul>	l l l
Acal	Calcitonin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Medulläres Schilddrüsenkarzinom</li> </ul>	l
AANP	Atriales natriuretisches Peptid	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lokales Vorhofamyloid</li> </ul>	l
AIAPP	Inselamyloid-Polypeptid	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lokale Inselamyloidose (u.a. bei Diabetikern)</li> <li>• Insulinome</li> </ul>	l l
Ainsulin	Insulin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lokale Inselamyloidose des Degu</li> <li>• Subkutanes Amyloid bei Insulinpflichtigen Diabetikern</li> </ul>	l l
Aprolactin	Prolactin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amyloid in Hypophysenadenomen</li> <li>• Interstitielles seniles Amyloid der Adenohypophyse</li> </ul>	l l

g generalisiert-systemisch; l lokalisiert

## **2.5 AA - Amyloidose**

Die charakteristische Hauptkomponente der Fibrillenproteine in den Ablagerungen dieser Form der Amyloidose ist das Amyloid-A Protein. Häufig tritt diese Form der Amyloidose als sekundäre Folgeerscheinung rekurrierender bzw. chronischer entzündlicher Erkrankungen oder Infektionskrankheiten sowie Tumorerkrankungen auf und wird infolgedessen auch als „sekundäre“ bzw. „reaktive“ Form der Amyloidose bezeichnet. Dabei kann diese Form der Amyloidose bei den unterschiedlichen Spezies entweder genetisch determiniert sein oder idiopathisch auftreten (BENDITT u. ERIKSEN 1973).

Im Rahmen der AA-Amyloidose sind Amyloidablagerungen üblicherweise in einer Reihe von Organen vorzufinden (generalisierte Form) (DI BARTOLA u. BENSON 1989). Es sind aber auch lokal begrenzte Ausprägungsformen der AA-Amyloidose bekannt, wobei vor allem die Leber (LINKE et al. 1984), die Nieren (DI BARTOLA et al. 1986a) oder die Gelenke befallen sein können (COLBATZKY et al. 1991).

### **2.5.1 Pathogenese**

Trotz eingehender Forschung konnten die genauen Vorgänge, welche die Umwandlung von Vorläuferproteinen zu Proteinfibrillen mit erhöhter Ablagerungstendenz zur Folge haben, bis heute nicht genau geklärt werden. Es wurde unter anderem die These aufgestellt, dass bestimmte Proteinklassen aufgrund ihrer chemischen Struktur eine höhere Neigung innehaben, Amyloidablagerungen zu bilden, und dass die Entstehung solcher Ablagerungen mit einem unvollständigen enzymatischen Abbau der Vorläuferproteine in Zusammenhang steht (GLENNER et al. 1971; LINKE et al. 1973; SHIRAHAMA et al. 1973; LAVIE et al. 1978; SKOGEN et al. 1980).

Beim Vorläuferprotein der reaktiven AA-Amyloidose handelt es sich um das Akute Phase Protein Serum Amyloid A (SAA bzw. apoSAA), welches infolge chronischer Reizzustände vermehrt in Hepatozyten synthetisiert wird (HUSBY et al. 1994). Stark erhöhte Serumkonzentrationen von SAA über einen längeren Zeitraum in Verbindung mit einem unvollständigen enzymatischen Abbau, u. a. infolge erhöhter Konzentrationen von Proteaseinhibitoren und Dysfunktion des retikuloendothelialen Systems (FUKS u. ZUCKER-FRANKLIN 1985), sind Voraussetzung für die Einlagerung von AA-Filamenten als Zwischenprodukt und deren Akkumulierung zu Amyloidfibrillen (HUSEBEKK et al. 1985).

Es wird jedoch angenommen, dass diese Grundvoraussetzungen für die Ausbildung einer reaktiven Amyloidose alleine nicht ausreichen, da nur ein geringer Prozentsatz an Patienten mit chronischen Entzündungsgeschehen eine AA-Amyloidose entwickelt. So führte z. B. die Entdeckung zweier verschiedener Isotypen des SAA (SAA 1 und SAA 2) bei der Maus und der alleinige Nachweis von SAA 2 in den AA-Amyloidablagerungen dieser Art (ANDERS et al. 1977; HOFFMAN u. BENDITT, 1982; HOFFMANN et al. 1984) zu der Vermutung, dass

auch verschiedene polymorphe Formen der Vorläuferproteine eine unterschiedliche Tendenz aufweisen, Amyloidablagerungen auszubilden. Da es sich bei den Amyloidosen um sogenannte „Konformationskrankheiten“ handelt, ist es wiederum möglich, dass jegliche Form der Veränderung der Sekundärstruktur des SAA zu einer Ansammlung der Proteinfilamente und Ausbildung von Fibrillenproteinen führt (RÖCKEN u. SHAKESPEARE 2002).

### 2.5.2 Vorkommen

Beim Menschen konnte eine große Anzahl verschiedener amyloidogener Fibrillenproteine in den Zusammenhang mit der Amyloidose gestellt werden (vgl. Tab. 1). Im Gegensatz dazu wurde bei den meisten Säugetierspezies überwiegend Amyloid-A Protein als fibrillärer Bestandteil in Amyloidablagerungen nachgewiesen. So konnten LINKE et al. (1984) zum ersten Mal Amyloid-A Fibrillen bei Kaninchen, Katzen und Pferden immunhistochemisch mittels anti-AA-Antikörpern aufzeigen und frühere Nachweise von Amyloid-A bei Hamstern (GRUYS et al. 1979), Meerschweinchen (SKINNER et al. 1974), Hunden (GRUYS et al. 1981) und Kühen (GRUYS u. TIMMERMANN 1979) bestätigen. Zudem konnte auch bei domestizierten Schafen und Ziegen in Amyloidablagerungen Amyloid-A Protein nachgewiesen und charakterisiert werden (MENSUA et al. 2003).

Bei Europäischen Kurzhaar Katzen (LUCKE u. HUNT 1965; NAKAMATSU et al. 1966 CLARK u. SEAWRIGHT 1969; DI BARTOLA et al. 1987) und auch bei Orientalischen und Siam-Katzen (VAN DER LINDE-SIPMAN et al. 1996; GODFREY u. DAY 1998) wurde das Auftreten der AA-Amyloidose nur in Einzelfällen beschrieben. CHEW et al. (1982) konnten dagegen bei Abyssinier-Katzen eine relativ hohe Inzidenz von Nierenamyloidosen beobachten. In anschließenden Untersuchungen wurden aus vorhandenen Amyloidablagerungen Fibrillenproteine isoliert und als Amyloid-A Protein charakterisiert (DI BARTOLA et al. 1985). Stammbaumanalysen (DI BARTOLA et al. 1986b) unterstützten im weiteren Verlauf die Annahme, dass das gehäufte Auftreten der Nierenamyloidose in den in die Untersuchungen miteinbezogenen Abyssinierzuchten auf einer genetischen Grundlage basieren könne. Ein grundsätzliches Vererbungsmuster konnte allerdings nicht bestimmt werden. Ein familiäres Auftreten der AA-Amyloidose ist in der Humanmedizin als sogenanntes familiäres Mittelmeerfieber bekannt (TAN u. PEPYS 1994) und wurde ebenfalls bei der Chinesischen Hunderasse Shar Pei (DI BARTOLA et al. 1990) beobachtet.

Auch bei einigen Wildtierspezies wurde die reaktive Form der Amyloidose bereits dokumentiert. So sind in der Literatur u. a. Fälle von AA-Amyloidose beim Nerz (*Mustela vison*) (WAALLEN et al. 1980), Baumarder (*Martes martes*) (LINKE et al. 1984), Dickhornschaf (*Ovis canadensis*) (HADLOW u. JELLISON 1962), Dall-Schaf (*Ovis dalli*) (KINGSTON et al. 1982), bei der Dorcas Gazelle (*Gazella dorcas*) (RIDEOUT et al. 1989), der Echtgazelle (*Gazella gazella*) (LINKE et al. 1986) und beim Affen (HERMODSON et al. 1972) aufgeführt. Eingehende Untersuchungen zur Amyloidose bei Zoo- und Wildvögeln (ZÖLLNER 1997) ergaben, dass die reaktive

systemische Amyloidose vom Typ AA die bisher einzig bekannte Form der Amyloidose bei Vögeln darstellt und bevorzugt die Ordnungen Anseriformes, Phoenicopteriformes, Gruiformes und Charadriiformes betrifft.

Das Vorkommen der reaktiven Form der Amyloidose bei verschiedenen Wildkatzenarten konnte bis heute nur in einer geringen Anzahl von Untersuchungen an Tieren aus menschlicher Obhut bestätigt werden. So wurde eine hohe Inzidenz von AA-Amyloidose bei Geparden (*Acinonyx jubatus*) nachgewiesen (DENZLER 1989; PAPENDICK et al. 1997). Neben einer ausgeprägten Prädisposition der Nieren für Ablagerungen des Amyloidproteins wurde bei einem großen Prozentsatz der verstorbenen Tiere auch eine systemische Verteilung der Proteinablagerungen beobachtet.

Daneben wurden bei Sektionen Sibirischer Tiger (*Panthera tigris altaica*) generalisierte Ausprägungen der AA-Amyloidose mit vorherrschender Beteiligung der Nieren aufgezeigt (SCHULZE et al. 1998).

Unter den Kleinkatzen ist die Schwarzfußkatze (*Felis nigripes*) gegenwärtig die einzige Spezies, bei der das Auftreten der AA-Amyloidose in menschlicher Obhut eingehend untersucht wurde (TAUGNER et al. 2002a; TERIO 2008). Auch bei der Schwarzfußkatze überwiegt die Ablagerung des Amyloid-A Proteins in den Nieren. Systemische Ausprägungen der AA-Amyloidose wurden bei dieser Art aber ebenfalls in einem hohen Prozentsatz nachgewiesen. Die AA-Amyloidose stellt bei Schwarzfußkatzen in menschlicher Obhut weltweit die primäre Todesursache dar (TERIO 2008). Sowohl bei Geparden und Sibirischen Tigern als auch bei der Schwarzfußkatze konnten in der Regel keine primären Ursachen für die Erkrankung identifiziert werden. Somit wurde die AA-Amyloidose bei diesen Tierarten als idiopathischen Ursprungs bezeichnet und eine familiäre Prädisposition in Erwägung gezogen.

Bei Katzen aus der freien Wildbahn wurde die AA-Amyloidose bereits bei zwei Geparden (MUNSON et al. 2005) und einer Löwin (*Panthera leo*) (WILLIAMS et al. 2005) nachgewiesen. TERIO (2008) bestätigt ebenfalls den Nachweis der AA-Amyloidose am Tierkörper einer Schwarzfußkatze aus dem Freiland.

### **2.5.3 Klinisch-pathologische und hämatologische Veränderungen bei der Katze**

Eindeutige klinische Symptome einer reaktiven Amyloidose können bei Katzen in den seltensten Fällen beobachtet werden. Häufig werden unspezifische Symptome wie Lethargie, Inappetenz, Polydipsie und Polyurie sowie fortschreitender Gewichtsverlust erfasst. Im Gegensatz zu Hunden tritt Erbrechen bei Katzen viel seltener und auch erst im späten Stadium der Krankheit auf (DI BARTOLA et al. 1987).

Erst infolge massiver Ablagerungen von Amyloid in einzelnen Organen können organspezifische Symptome festgestellt werden. Bei Katzen sind vielfach gesondert die Nieren betroffen. Sie stellen aber auch im Rahmen einer generalisierten Form der reaktiven Amyloidose das primär geschädigte Organsystem dar (DI BARTOLA et al. 1986).

Einlagerungen von Amyloid vor allem in das medulläre Interstitium führen zu Verdrängung des Nierengewebes sowie zu Dilatation der Tubuli und können eine Papillennekrose zur Folge haben. Infiltration der Glomeruli führt zu Obliterationen dieser Strukturen.

Ein struppiges Fell und Harnstoff-Geruch aus dem Maul der Tiere, infolge einer langfristig entstehenden Urämie, lassen bei der äußerlichen Untersuchung auf eine Schädigung der Nieren schließen. In schweren Fällen sind palpatorisch kleine Nieren mit höckeriger unregelmäßiger Oberfläche feststellbar. Als Besonderheit und deutlicher Hinweis auf eine Schädigung der Nieren wurde bei Schwarzfußkatzen die plötzlich beginnende Aufnahme von Wasser beobachtet (persönliche Mitteilung Dr. A. Lawrenz, Zoo Wuppertal, 2006). Physiologischerweise decken Schwarzfußkatzen ihren Flüssigkeitsbedarf über die Nahrung.

Ergebnisse labortechnischer Untersuchungen können vor allem Azotämie sowie Hyperphosphatämie, nichtreaktive Anämie, metabolische Acidose, Isosthenurie und Proteinurie infolge eines chronischen Nierenversagens nachweisen. Proteinurie wird bei der Katze aufgrund der vordergründig medullären Einlagerung von Amyloid jedoch im Gegensatz zum Hund seltener beobachtet. Bei Hunden kommt es vor allem zu glomerulären Amyloid-Infiltrationen (DI BARTOLA 1989).

Bei der generalisierten Amyloidose der Katze können neben der Niere insbesondere die Milz (innerhalb der Kapsel, in Lymphfollikeln und gefäßgebunden) und der Magen (in der Submukosa und in der Lamina propria) aber auch die Leber (gefäßgebunden in den Glisson'schen Trias und an den Zentralvenen bis in die Disse'schen Räume, entlang der Lebersinusoide und auch zwischen den Hepatozyten) von massiven Einlagerungen des Amyloids betroffen sein, ohne jedoch zwingend offensichtliche Funktionsstörungen äußerlich erkennen zu lassen.

Höchstgradige Infiltrationen der Leber können zu Hepatomegalie und im äußersten Fall zu Rupturen mit inneren Blutungen führen (VAN DER LINDE-SIEPMANN et al. 1997). Eine starke Amyloideinlagerung in die Magenschleimhaut hat in Einzelfällen zur Bildung von

Geschwüren geführt (CLARK u. SEAWRIGHT 1969). Solche Läsionen können im weiteren Verlauf Erbrechen nach sich ziehen.

Des Weiteren wurden Amyloidablagerungen in der Schilddrüse (interfollikulär) und Nebenschilddrüse (gebunden an Arteriolen), im Dünndarm (multifokal, vordergründig in der Submukosa aber auch in der Lamina propria) und im Dickdarm (multifokal, vor allem in Bindegewebe und gefäßgebunden in der Submukosa), im Herz (multifokal und gefäßgebunden), in der Nebenniere (in Kapsel, Kortex, Medulla bzw. gefäßgebunden), in der Pankreas (gefäßgebunden und in internodulärem Bindegewebe), in Lymphknoten (in der Kapsel und gefäßgebunden), in der Blase (vor allem in der Submukosa), im Respirationstrakt (peribronchial und im peribronchialen Bindegewebe) und in den Gonaden (gefäßgebunden in Ovarien) nachgewiesen (DI BARTOLA et al. 1986a).

### **2.5.4 Nachweismethoden**

#### **2.5.4.1 Lichtmikroskopisch-polarisationsoptisch**

Die heute am häufigsten routinemäßig angewendete Methode zum Nachweis von Amyloidablagerungen im histologischen Präparat ist die von BENNHOLD (1932) eingeführte Kongorotfärbung, modifiziert nach PUCHTLER et al. (1962). Diese modifizierte alkalische Kongorotfärbung veränderte das Verfahren insofern, als dass früher häufig auftretende unspezifische Anfärbungen von Bindegewebestrukturen weitestgehend ausbleiben. LINKE (2000) konnte das zeitaufwendige Verfahren nach Puchler noch optimieren, so dass der Färbeprozess heute nur noch wenige Minuten erfordert.

Um fehlerhafte Diagnosestellungen zu vermeiden, werden histologische Schnittpräparate (Standarddicke von 4 bis 8 µm) nach Anfärbung unter dem Polarisationsmikroskop betrachtet. Durch ihre Affinität zu Kongorot (Kongophilie) gehen Amyloidfibrillen mit dem Farbstoff eine feste Bindung ein und gewinnen dadurch anisotrope Funktionen (SAEGER u. RÖCKEN 1998). Sie weisen einen sogenannten Dichroismus auf, einen Doppelbrechungseffekt mit Farbumschlag in ein zweifarbiges Phosphor- oder Apfelgrün. Dieser Effekt lässt somit lichtmikroskopisch-polarisationsoptisch einen selektiven Nachweis von Amyloidablagerungen zu. Falsch-positive Befunde treten bei einwandfreier Methodik nicht auf. Sog. „sampling errors“ können hingegen zu falsch-negativen Befunden führen.

#### **2.5.4.2 Biopsien**

Um generalisierte Amyloidablagerungen nachweisen zu können, haben sich in der Vergangenheit Biopate bzw. Punktate verschiedener Organe und Gewebe als probates Hilfsmittel herausgestellt. Bereits SCHILDER (1909) konnte im Rahmen seiner Studien Ablagerungen von Amyloid in subkutanem Fettgewebe bei sekundären Amyloidosen nachweisen. WESTERMARK (1972) konnte dies in seinen Untersuchungen bestätigen und zusammen mit STENKVIST (1973) zeigte er auf, dass Amyloidablagerungen in Biopsiematerial von subkutanem Fettgewebe mittels der

alkalischen Kongorotfärbung nach Puchtler nachweisbar sind. Ebenso ist die Identifizierung des jeweiligen Fibrillenproteins aus geringen Mengen subkutanen Fettgewebes möglich (WESTERMARK et al. 1979a).

Auch die Rektumsbiopsie hat sich als diagnostische Methode in der Amyloidoseforschung bewährt (CALKINS u. COHEN 1960). Dabei ist darauf zu achten, dass Biopate mit Rektum- oder auch Kolonschleimhaut Submukosa enthalten. In der Submukosa ist mehr und häufiger Amyloid zu erwarten als in der Mukosa oder der Muscularis mucosae (RÖCKEN et al. 1996).

Die Nieren, das Herz, der Gastrointestinaltrakt im Allgemeinen, die Leber, die Trachea und die paratracheale Lunge, Muskeln, verschiedene Drüsen, das Zahnfleisch, die Haut, Gelenke und weitere mögliche Gewebe und Organe haben sich für den Nachweis von Amyloidablagerungen mittels Biopsie als nützlich erwiesen (SELIKOFF u. ROBITZEK 1947; COHEN 1967; GLENNER 1980). Jedoch sind in der Regel für die Durchführung an den meisten dieser Organe größere chirurgische Eingriffe notwendig.

Im Allgemeinen ist bei den aufgeführten Biopsien der verschiedenen Organe und Gewebe bei der primären Probenentnahme darauf zu achten, dass eine Größe von 1 mm<sup>2</sup> des Materials nicht unterschritten wird, um sogenannte „Sampling errors“ zu vermeiden (LINKE 2006).

Die Probenentnahme sollte von geübtem Personal durchgeführt werden, da beispielsweise bei einer Rektumsbiopsie nur oberflächliche Schleimhautanteile gefasst werden können, und so die Gefahr besteht, nichtamyloidhaltiges Gewebe zu erhalten. Mittels fachgerechter Durchführung sollen somit falsch-negative Ergebnisse vermieden werden.

### **2.5.4.3 Differenzierung des Amyloidtyps**

Die Kaliumpermanganatoxidation nach WRIGHT et al. (1977) bietet eine einfache Möglichkeit, Amyloidosen vom Typ AA von anderen Amyloidtypen histochemisch zu unterscheiden. Amyloidfibrillenproteine besitzen eine veränderte Affinität für den Kongorotfarbstoff nach Vorbehandlung histologischer Schnitte mit einer Lösung aus Kaliumpermanganat und verdünnter Schwefelsäure. Vor allem die Affinität der Amyloidfibrillen vom Typ AA ist dadurch herabgesetzt. Demzufolge gilt ein Präparat als „kaliumpermanganat-sensitiv“ (Typ AA), wenn vorhandene Amyloidablagerungen in einem vorbehandelten Präparat ihre Affinität zu Kongorot gegenüber einem unbehandelten Präparat ganz oder teilweise verloren haben.

Zur sicheren Einordnung verschiedener Amyloidtypen werden heute vor allem immun-histochemische Verfahren angewandt. Unter Verwendung spezifischer monoklonaler bzw. polyklonaler Antikörper u. a. gegen AA-Amyloid, AL-Amyloid sowie weitere mögliche amyloidogene Proteine, kann das vorhandene Fibrillenprotein routinemäßig bestimmt werden (LINKE 2006). Diese Untersuchungen können sowohl an nativen Geweben als auch

an formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Organmaterial durchgeführt werden. Dies ermöglicht daneben auch retrospektive Analysen.

Eine weitere Methode, Fibrillenproteine exakt zu identifizieren, besteht in der Aminosäure-Sequenzbestimmung. BENDITT u. ERIKSEN (1971) gelang es nach Isolierung unterschiedlicher Amyloidproteine aus Geweben, die Reihenfolge ihrer Aminosäuren zu ermitteln. Anhand bekannter charakteristischer Aminosäuresequenzen ist es heute möglich, vorliegende Fibrillenproteine eindeutig zu klassifizieren (WESTERMARK et al. 1989b; KAPLAN et al. 1997).

### **2.5.5 Mögliche Kausalfaktoren**

#### **2.5.5.1 Infektionskrankheiten und chronische Entzündungen**

LUCKSCHANDER et al. (2003) beschreiben einen Fall der Nierenamyloidose infolge einer *Ehrlichia canis* Infektion beim Bobtail. GIORDANO et al. (2004) konnten in ihren Untersuchungen an Feliner Infektioser Peritonitis erkrankten Katzen deutlich erhöhte Serumkonzentrationen von Serum Amyloid A nachweisen. Ob es im weiteren Verlauf der häufig chronisch verlaufenden Viruserkrankung zur Ausbildung einer Amyloidose kam, geht aus der Veröffentlichung jedoch nicht hervor. Untersuchungen an kleinen Wiederkäuern (MENSUA et al. 2003), welche nachweislich an den Folgen einer AA-Amyloidose verstarben, ergaben neben einer großen Anzahl an gangränösen Pneumonien in zwei Fällen auch das Auftreten der Pseudotuberkulose als Primärursache.

PAPENDICK et al. (1997) stellen die hohe Zahl der an einer renalen bzw. generalisierten AA-Amyloidose erkrankten bzw. verstorbenen Geparden in menschlicher Obhut in den Zusammenhang mit chronischen Entzündungen. Sie wiesen bei 100 % der an Amyloidose erkrankten Tiere Entzündungen unterschiedlicher Ausprägung nach. In den häufigsten Fällen (59 %) handelte es sich dabei um eine chronische lymphoplasmatische Gastritis, gefolgt von Enteritis (32 %) und Kolitis (21 %). Die Autoren sehen aber auch Pneumonie, Pancreatitis, Hepatitis, Pleuritis, Myocarditis, Cystitis, oronasale Fisteln und Endometritis als mögliche Auslöser der AA-Amyloidose bei Geparden. Auch bei Schwarzfußkatzen konnten TERIO et al. (2004) bei 72 % der an Amyloidose erkrankten und im weiteren Verlauf verstorbenen Tiere übereinstimmende Entzündungsgeschehen feststellen. Es handelte sich dabei vor allem um Entzündungen in Dünn- und Dickdarm (62,5 %), aber auch in den Lungen (6,25 %), in den Nieren (6,25 %), am Herzen (6,25%) und im Magen (12 %). Da es sich bei den Entzündungen jedoch nur um minimale bis milde Ausprägungsformen handelte, und diese auch bei 75 % der nicht an Amyloidose erkrankten Tiere auftraten, bezweifelt die Autorin, dass diese Befunde die Primärursache der AA-Amyloidose darstellen.

### **2.5.5.2 Genetische Disposition**

Ähnlich dem Familiären Mittelmeerfieber beim Menschen, konnte auch bei Säugetieren das Vorhandensein genetischer Dispositionen für die Ausbildung von Amyloidosen aufgezeigt werden. Nachdem CHEW et al. (1982) bei acht miteinander verwandten Abyssinier-Katzen eine renale Amyloidose diagnostiziert hatten, ergaben ausführliche Nachforschungen weitere 45 Fälle der AA-Amyloidose bei dieser Katzenart (DI BARTOLA et al. 1986a).

Studien der Stammbäume dieser und weiterer Abyssinier-Katzen (DI BARTOLA et al. 1986b) ergaben eine deutliche Übereinstimmung von gemeinsamen Vorfahren bei an Amyloidose erkrankten Tieren. Analog dazu ergaben auch Untersuchungen an chinesischen Shar Pei Hunden (DI BARTOLA et al. 1990) Hinweise für eine familiäre Disposition bei dieser Art. GEISEL (1982) stellte eine hohe Inzidenz der Amyloidose bei Steinmardern (*Martes foina*) (10 % der untersuchten Tiere) fest und verwies auch in diesem Fall auf eine mögliche genetische Veranlagung.

### **2.5.5.3 Psychosoziale Belastungsfaktoren**

Schon COWAN und JOHNSON (1970) untersuchten die Entwicklung von Amyloidosen infolge psychosozialer Belastungsfaktoren bei der weißen Pekingente. Mit zunehmender Besatzungsdichte beobachteten sie in verschiedenen Gruppen das vermehrte Auftreten von Rankämpfen und Aggressionen und konnten solch anhaltende Stressreaktionen einem gesteigerten Amyloidoserisiko zuordnen. GERMANN et al. (1990) schlossen sich der Meinung von Cowan und Johnson an. Ihren Untersuchungen zufolge habe das sogenannte „Crowding“ einen deutlichen Einfluss auf die vermehrte Entwicklung von Amyloidosen bei Syrischen Hamstern. PAGE und GLENNER (1972) wiederum betrachteten den direkten Zusammenhang zwischen den Effekten des „Crowding“ und der Entstehung der Amyloidose als weniger prägnant. Ihrer Auffassung nach galten chronische Entzündungen infolge häufiger Verwundung in Rankämpfen männlicher Mäusegruppen als prädisponierende Ursache für die Ausbildung einer Amyloidose.

MUNSON et al. (2005) führen das gehäufte Auftreten (50 - 99 %) von Erkrankungen, u. a. des Sinusoidalen Obstruktionssyndrom (früher: Veno-occlusive-disease, VOD), der Glomerulosklerose, der Gastritis infolge Helicobacter-Infektion und auch der Amyloidose bei Geparden in menschlicher Obhut im Vergleich zu Tieren aus dem Freiland auf den intensiven Einfluss äußerlicher und soziobiologischer Faktoren zurück. Ihrer Auffassung nach führten u. a. die Unfähigkeit der Tiere in menschlicher Obhut natürliche Verhaltensweisen ausüben zu können, die permanente Anwesenheit von Artgenossen und auch Umsiedlungen in neue unbekannte Gehege zu erhöhtem Stress (MUNSON u. TERIO 2005). Mittels nicht-invasiver Analysemethoden, vor allem durch die Untersuchung von Kortikosteroiden in Fäzes, konnten sie vielfach eine Hyperfunktion der Nebenniere bei Geparden in menschlicher Obhut nachweisen. Pathologische Untersuchungen an weiteren Tieren wiesen häufig eine Hypertrophie der Nebennieren auf. Eine

gesteigerte neuroendokrine Aktivität kann wahrscheinlich durch zurzeit noch unzureichend geklärte Stoffwechselabläufe zu einem Anstieg des SAA und somit zur Amyloidentstehung führen.

### **2.5.5.4 Spontane oder idiopathische Ausbildung**

Obwohl die AA-Amyloidose häufig in Verbindung mit chronischen Entzündungen oder Infektionsgeschehen gestellt wurde, konnten in den meisten Fällen dieser Erkrankungen vor allem bei Hunden und Katzen keine Primärursachen diagnostiziert werden (DI BARTOLA u. BENSON 1989). Dementsprechend konnten SCHULZE et al. (1998) bei ihrer Erforschung der generalisierten AA-Amyloidose bei vier Sibirischen Tigern keinen Primärinfekt darstellen. Und auch LINKE et al. (1986) konnten trotz deutlicher Ausprägungen einer AA-Amyloidose bei einer Echtgazelle keinen Hinweis auf eine Primärerkrankung finden. In Ermangelung jeglicher Kausalfaktoren wurden solche Fälle als spontan auftretende, idiopathische Amyloidosen bezeichnet, obwohl nicht in jedem Fall eine genetische Veranlagung grundsätzlich ausgeschlossen werden konnte.

## **2.6 Akute Phase Reaktion / Akute Phase Proteine**

Die Akute Phase Reaktion (APR) beschreibt einen Komplex von vielschichtigen und unspezifischen Reaktionen des Organismus auf Gewebebeeinträchtigungen bei Mensch und Tier. Ursache für diese Reaktionen können sowohl Infektionen, Störungen immunologischer Prozesse, Neoplasien, Traumata aber auch Stress sein. Ziel der APR ist es, die Homöostase des Organismus wieder herzustellen, die Quelle der Gewebeschädigung zu entfernen sowie bakterielles Wachstum einzudämmen (WHICHER u. WESTACOTT 1992). Die APR wird der angeborenen natürlichen Immunität zugeordnet und ist für das Überleben des Organismus in der frühen Phase der Erkrankung bzw. Verletzung ausschlaggebend (ECKERSALL 2000). Häufig zu beobachtende charakteristische Begleiterscheinungen der APR sind Fieber, Neutrophilie, Veränderungen im Fettstoffwechsel, Hypoferraemie und Hypozinkaemie, gesteigerte Gluconeogenese, gesteigerter (Muskel-) Protein Stoffwechsel, erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit sowie die Aktivierung des Komplement- und Gerinnungssystems (KUSHNER 1982; BAUMANN u. GAULDIE 1994; KOJ 1985).

Hauptmerkmal der APR ist jedoch das Auftreten bzw. der rapide Anstieg einer Anzahl an Plasmaproteinen, welche als Akute Phase Proteine (APP) bezeichnet werden. APP werden zum größten Teil in der Leber synthetisiert und dienen wichtigen Aufgaben zum Erhalt bzw. Zurückerlangen der Homöostase. So gehören u. a. hämostatische Funktionen (z. B. Fibrinogen), antimikrobielle und phagozytotische Prozesse (z. B. Teile des Komplementsystems, C-reaktives Protein) sowie antithrombotische Eigenschaften (z. B.  $\alpha$ -1-saures Glycoprotein) zu ihren Aufgaben (KUSHNER 1982; BAUMANN u. GAULDIE 1994; KOJ 1985). Die Synthese der APP in der Leber wird durch verschiedene hormonähnliche Mediatoren vermittelt und stimuliert. Diese werden u. a. von Makrophagen und Monozyten lokal geschädigter Gewebe aber auch von Leukozyten

gebildet und freigesetzt (vgl. Abb. 6). Vor allem die Zytokine Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6) und der Tumornekrosefaktor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) spielen in der Vermittlung der APR eine bedeutende Rolle. Die Serumkonzentrationen der APP stehen in direktem Zusammenhang mit der Schwere der Gewebebeeinträchtigungen und somit bietet ihre Bestimmung die Möglichkeit, etwaige vorhandene Krankheitsprozesse und deren Intensität genauer zu beurteilen.

APP können anhand der Zytokine, welche ihre jeweilige Synthese stimulieren, in zwei Gruppen eingeteilt werden: APP des Typ I und APP des Typ II (BAUMANN u. GAULDIE 1994; KOJ 1985). APP des Typ I enthalten Serum Amyloid A (SAA), C-reaktives Protein (CRP), Komplementfaktor C3, Haptoglobin (Hp) und  $\alpha$ -1-saures Glycoprotein (AGP) und werden von Interleukin-1 artigen Zytokinen (IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  sowie TNF- $\alpha$ ) induziert. APP der Gruppe Typ II enthalten Fibrinogen,  $\alpha$ 1-Antichymotrypsin,  $\alpha$ 1-Antitrypsin und  $\alpha$ 2-Macroglobulin und werden von Interleukin-6 artigen Zytokinen (IL-6, IL-11 etc.) induziert. Generell synergieren IL-6 artige Zytokine mit IL-1 artigen Zytokinen in der Induktion von Typ I APP, wohingegen IL-1 artige Zytokine keinen Effekt auf die Induktion von Typ II APP haben, bzw. diese sogar teilweise hemmen (BAUMANN u. GAULDIE 1994).

Eine weitere Möglichkeit, die APP zu unterteilen, ist eine Einteilung anhand ihrer Konzentrationsänderung im Serum, einerseits bezogen auf das Volumen andererseits bezüglich ihres Auftretens im zeitlichen Ablauf der APR. So wird zwischen den sog. „positiven APP“, deren Konzentration in diesem Zeitraum ansteigt (u. a. SAA, CRP und HP) und den „negativen APP“, deren Konzentration abnimmt (z. B. Albumin und Transferrin) unterschieden. Außerdem wird zwischen „Haupt-APP“, deren Serumkonzentrationen während der Akut Phase Reaktion um ein 10- bis 100-faches ansteigen und den sog. „moderaten APP“ (Anstieg um ein 2- bis 10-faches) unterschieden. Bei Haupt-APP kommt es in der Regel zu einem frühen und steilen Anstieg ihrer Konzentration im Serum und demgemäß zu einem sehr schleunigen Abfall, während die Konzentration moderater APP über einen längeren Zeitraum ansteigt und dann über einen ähnlich langen Zeitraum allmählich wieder absinkt. Bemerkenswert ist dabei, dass wiederum bei gesunden Tieren höhere physiologische Serumkonzentrationen der „moderaten APP“ im Gegensatz zu den „Haupt-APP“ vorliegen (CERON et al. 2005). Ferner bestehen deutliche tierartliche Unterschiede bezüglich der Konstellation der APP im Rahmen der Akute Phase Reaktion.

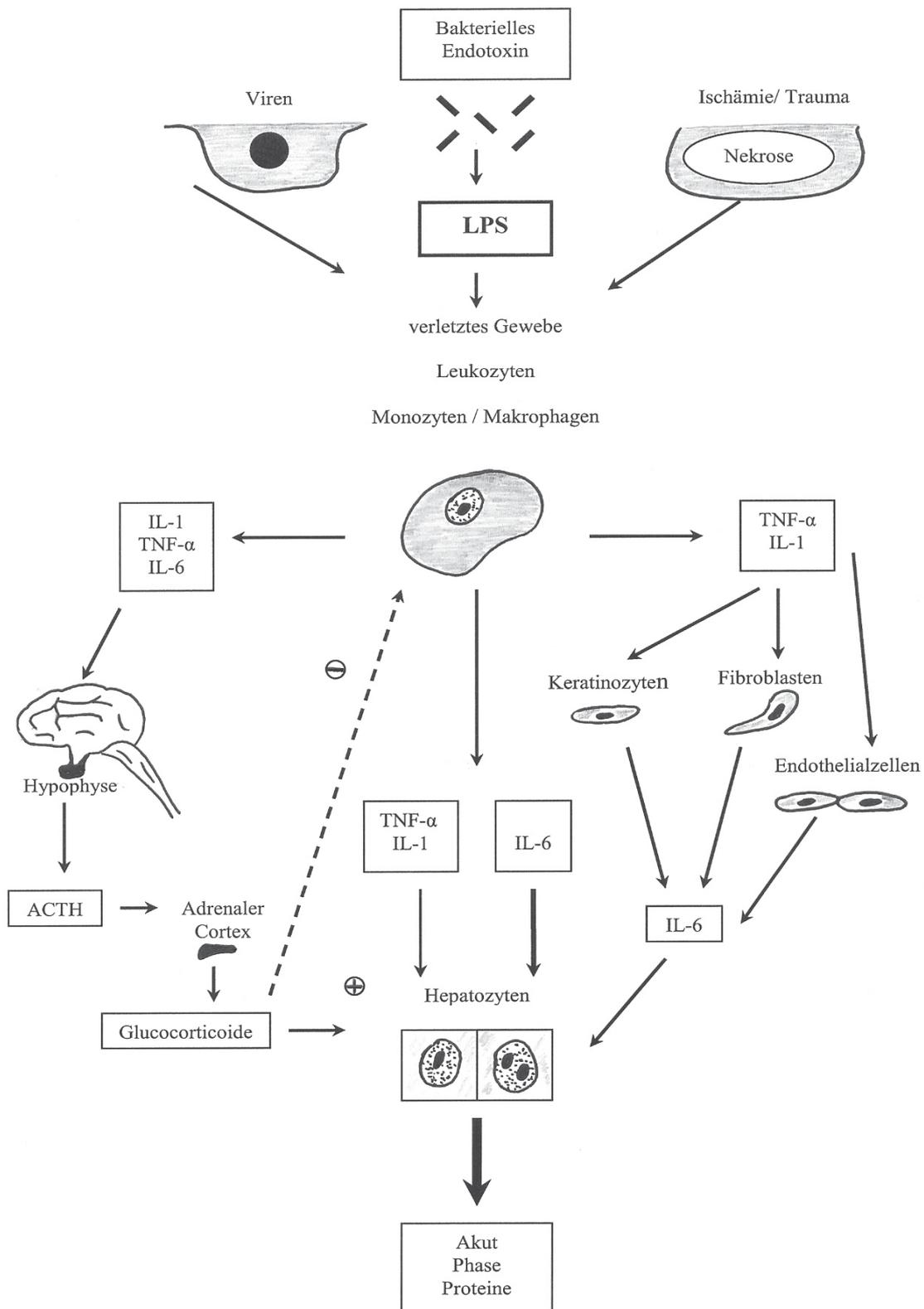


Abb. 6: Akute Phase Protein-Synthese

Schematische Darstellung der Stimulation der Akute Phase Protein-Synthese in der Leber durch IL-6, IL-1 und TNF- $\alpha$  (modifiziert nach HEINRICH et al. 1990)

### 2.6.1 Die Akute Phase Proteine ausgewählter Tierarten

#### Hund

CRP ist ein Haupt-APP des Hundes und kann innerhalb von 24 h von < 5 mg/L auf über 100 mg/L ansteigen. Infektionskrankheiten, welche zu solch einem Anstieg von CRP im Serum des Hundes führen, schließen Babesiose, Leishmaniose, Leptospirose, Parvovirose sowie *Bordetella bronchiseptica*, *Ehrlichia canis* und *Escherichia coli*- Infektionen mit ein (CERON et al. 2005). Hp hingegen gilt als moderates APP des Hundes und weist eine besondere Sensitivität gegenüber Corticosteroiden auf, was sich nachteilig auf die Überwachung von Entzündungen und Infektionskrankheiten auswirkt (MARTINEZ-SUBIELA et al. 2004). SAA wiederum gehört zu den Haupt-APP des Hundes, jedoch konzentrieren sich heutzutage die labortechnischen Untersuchungsverfahren bezüglich der APP des Hundes primär auf die Analyse des CRP.

#### Pferd

Equines SAA gilt als Haupt-APP dieser Tierart, mit deutlich erhöhten Konzentrationen im Serum bei Infektionen und Entzündungen (PEPYS et al. 1989). So konnten erhöhte Serumwerte in Folge von chirurgischen Eingriffen, aseptischer Arthritis, Septikämie, Enteritis, Pneumonie und Diarrhoe beobachtet werden (PETERSEN et al. 2004). Auch experimentell induzierte Infektionen mit Equinem Herpesvirus 1 und Equinem Influenzavirus 2 führten zu einem deutlichen Anstieg des SAA. Hp weist bei Pferden u. a. in Zusammenhang systemischer Infektionen Serumkonzentrationen eines moderaten APP auf.

#### Wiederkäuer

Beim Wiederkäuer stellt Hp das Haupt-APP dar und weist in Gegenwart von Infektionen einen über 100-fachen Anstieg auf. (CONNER et al. 1988) Es wurde gezeigt, dass die Bestimmung von Hp einen wertvollen Beitrag zur Diagnostik von u. a. Pasteurellosen (CONNER et al. 1989) Pneumonien (GODSON et al. 1996) und Mastitiden (HIRVONEN et al. 1996) beitragen kann, und auch im Zusammenhang mit der Maul- und Klauenseuche (HOFNER et al. 1994) wurde Hp als geeigneter diagnostischer Parameter dargestellt. Auch SAA konnte als Haupt-APP des Rindes identifiziert werden (HORADAGODA et al. 1993). AGP hingegen stellt beim Rind ein moderates APP dar, welches vor allem bei chronischen Entzündungsgeschehen erhöhte Serumkonzentrationen aufzuweisen scheint (HORADAGODA et al. 1999).

#### Schwein

Untersuchungen der APP haben in der Schweinehaltung und –medizin in den letzten Jahren stark an Bedeutung hinzugewonnen. Vor Allem die Bewertung Immunologischen Stresses in Zusammenhang mit subklinischen Infektionen und somit die Beurteilung des Gesundheitsstatus des Bestandes stehen bei dieser Tierart im Vordergrund. So wurde gezeigt, dass subklinische Infektionen, u. a. Ursache für verminderte Wachstumsraten bei Schweinen, mittels Bestimmungen von Hp-Konzentrationen identifiziert werden können (EURELL et al. 1992). In Folge provozierter APR konnten HP und CRP beim Schwein als Haupt-APP bestätigt werden

(ECKERSALL et al. 1996). Sie wiesen deutlich erhöhte Serumkonzentrationen nach nur 24 h auf und erreichten ihren Höhepunkt nach 48 h. Nach 6 Tagen hatte ihr Serumspiegel wieder normales Niveau erreicht. Auch von AGP konnte beim Schwein im Rahmen von Pneumonie und Meningitis erhöhte Serumkonzentrationen gemessen werden. Beim Schwein wird AGP zu den moderaten APP gezählt.

### **2.6.2 Die Akute Phase Proteine der Hauskatze**

#### **2.6.2.1 Serum Amyloid A (SAA od. apoSAA)**

SAA der Katze weist im Rahmen einer APR als erstes APP erhöhte Serumkonzentrationen auf. Ca. 8 Stunden nach Einwirken einer Noxe ist ein Anstieg der Serumkonzentration von SAA messbar und erreicht im Verlauf von 24 – 48 Stunden ihren Höhepunkt (KAJIKAWA et al. 1999). Dabei konnten SASAKI et al. (2003) im Zusammenhang unterschiedlicher Infektions- und Entzündungsgeschehen einen Anstieg bis zu einem 55-fachen der ursprünglichen Serumkonzentration des SAA feststellen. Somit stellt SAA ein Haupt-APP dieser Tierart dar. Physiologische Serumkonzentrationen von SAA vgl. Tab.2.

Serum Amyloid A Proteine stellen eine Familie von Apolipoproteinen dar, welche in zwei Hauptgruppen unterteilbar ist: zum einen existieren Akute Phase SAA und zum anderen konstitutiv exprimiertes SAA, welches jedoch ausschließlich beim Menschen und bei der Maus nachgewiesen wurde. Die meisten Tierarten scheinen zwei Akute Phase SAA-Isoformen hepatischen Ursprungs zu besitzen (apoSAA<sub>1</sub> und apoSAA<sub>2</sub>) sowie eine dritte Isoform (apoSAA<sub>3</sub>), welche extrahepatisch gebildet wird (HUSBY et al. 1994). Während der APR bilden Serum Amyloid A Proteine die Apolipoproteine der high-density-lipoprotein (HDL)-Fraktion. Des Weiteren gilt SAA als autologes Vorläuferprotein von Amyloid A, der fibrillären Hauptkomponente der reaktiven AA-Amyloidose (vgl. 2.3).

Bis heute konnte die genaue biologische Funktion von Akute-Phase SAA nicht vollständig geklärt werden. Es ist bekannt, dass SAA bei Infektionen, Entzündungen oder Verletzungen chemotaktisch auf Entzündungszellen (Makrophagen und neutrophile Granulozyten) wirkt (BADOLATO et al. 1994), eine herabregulierende Wirkung auf Entzündungsprozesse (Hemmung der Myeloperoxidase-Freisetzung und Hemmung der Lymphozyten-Proliferation) hat, und Enzyme zum Abbau extrazellulärer Matrix induziert. Ferner ist SAA in den Fettstoffwechsel und -transport involviert (UHLAR u. WHITEHEAD 1999).

Tab. 2: Serumkonzentrationen von Akute Phase Proteinen gesunder Hauskatzen.

Akute Phase Protein	Katze
Serum Amlyoid A	10.21 ± 8.32 mg/L <sup>1</sup>
α-1-saures glycoprotein	0,1-0,48 g/L <sup>2</sup> 1,20 ± 0,62 g/L <sup>1</sup>
Haptoglobin	0,04-3,84 g/L <sup>2</sup> 1,30 ± 0,64 g/L <sup>1</sup>

<sup>1</sup> GIORDANO et al. 2004

<sup>2</sup> DUTHIE et al. 1997

### 2.6.2.2 α-1- saures Glycoprotein (AGP od. Orosomuroid)

Im Rahmen der APR der Katze steigt die Serumkonzentration von AGP um ein 2- bis 5-faches an, wobei erhöhte Konzentrationen im Serum erst nach ca. 24 Stunden messbar sind und nach 48 Stunden ihren Höhepunkt erreichen (KAJIKAWA et al. 1999). Somit gehört AGP zu den moderaten APP der Katze. Die AGP- Serumkonzentrationen gesunder Katzen vgl. Tab 2.

Bei AGP handelt es sich um ein Sialoglykoprotein, welches hauptsächlich von Hepatozyten synthetisiert wird. Aufgrund seiner mannigfaltigen antiinflammatorischen und immunmodulatorischen Eigenschaften wird es der Gruppe der APP zugeordnet.

AGP hemmt u. a. die Aktivierung neutrophiler Granulozyten und erhöht die Sekretion von IL-1 Rezeptor-Antagonisten durch Makrophagen (FOURNIER et al. 2000). Ferner steigert AGP die Eliminierung von Lipopolysacchariden (LPS) indem es sich direkt an LPS bindet und so dessen Toxizität neutralisiert (MOORE et al. 1997). Auch die Lymphozytenproliferation (v. a. T-Zellen), die Aktivität natürlicher Killerzellen sowie Thrombozyten-Aggregation werden durch AGP gehemmt (ITOH et al. 1990; OKUMURA et al. 1985). Des Weiteren wird AGP eine nützliche Rolle im Prozess der Wundheilung zugesprochen, indem es stimulierende Wirkung auf Fibroblasten ausübt (MAEDA et al. 1980). Eine weitere wichtige Funktion von AGP besteht darin, ähnlich dem Serum-Albumin sowohl endogene als auch exogene Substanzen, wie z. B. Heparin, Histamin, Serotonin und Steroide zu binden (FOURNIER et al. 2000). DUTHIE et al. (1997) konnten in ihren Studien zeigen, dass AGP als wertvoller Parameter in der Diagnosestellung von FIP genutzt werden kann.

### 2.6.2.3 Haptoglobin (Hp)

Haptoglobin gehört zu der Gruppe der α<sub>2</sub>-Globuline und erfüllt Funktionen eines Akute Phase- und Transportproteins. Seine Hauptaufgabe besteht in der Bindung und im Transport von freiem toxischem und pro-inflammatorischem Hämoglobin und verhindert somit erhöhte oxidative Schädigungen von Geweben im Rahmen einer Hämolyse (YANG et al 2003). Ferner hat es hemmende Wirkung auf Phagozytose durch Granulozyten sowie deren chemotaktische

und (intrazellulär) bakterizide Funktionen und mildert somit die akute Entzündungsreaktion des Organismus (ROSSBACHER et al. 1999).

HARVEY u. GASKIN (1978) konnten erhöhte Hp-Konzentrationen im Serum nach Splenektomien, experimentell induzierten Abszessen und im Rahmen von FIP nachweisen. Die Untersuchungen von DUTHIE et al. (1997) ergeben, dass es sich bei Hp um ein moderates APP der Katze handelt, dessen erhöhte Serumkonzentrationen ähnlich dem AGP erst nach ca. 24 Stunden messbar sind und ebenfalls innerhalb von 48 Stunden Gipfelwerte erreicht (KAJIKAWA et al. 1999).

### **2.6.2.4 C-reaktives Protein (CRP)**

CRP konnte von WATANABE et al. (1992) aus Serum von Hauskatzen isoliert werden. Im Gegensatz zu SAA, AGP und Hp konnten KAJIKAWA et al. (1999) jedoch keinen signifikanten Anstieg der Serumkonzentrationen von CRP bei Hauskatzen im Rahmen von Entzündungen bzw. chirurgischen Eingriffen feststellen. Somit ist CRP nicht Bestandteil der APR der Hauskatze.

### **2.6.3 Die Akute Phase Proteine der Raubkatzen**

#### **SAA, AGP, Hp**

Derzeit sind dem Autor keine Publikationen bezüglich der Serumkonzentrationen von SAA, AGP und Hp gesunder Raubkatzen bzw. im Rahmen einer Akute Phase Reaktion dieser Tiere bekannt (Stand: August 2007).

#### **CRP**

SCHNEYER (2007) konnte in ihren Untersuchungen bei den Großkatzenarten Amurtiger (*Panthera tigris altaica*), Jaguar (*Panthera onca*) und Leopard (*Panthera pardus*) Konzentrationserhöhungen des CRP im Zusammenhang mit entzündlichen Krankheitsprozessen feststellen. Zu Kleinkatzen ist diesbezüglich jedoch nichts bekannt (Stand: August 2007).

CRP ist ein zyklisches Pentamer, welches an eine Reihe pathogener Bakterien bzw. intrazellulärer Antigene beschädigter Zellen bindet. Weitere Komponenten dieses Proteins regen einerseits die klassische Komplementaktivität an und interagieren andererseits mit spezifischen Rezeptoren an Phagozyten, um Phagozytose bzw. die Produktion von anti-inflammatorischen Zytokinen zu induzieren. Insofern verbindet CRP die unspezifische, angeborene natürliche Immunität mit der spezifischen erworbenen Immunität (DU CLOS u. MOLD 2001). Weiterhin hemmt CRP die Chemotaxis und den Respiratory burst von Neutrophilen Granulozyten (MORTENSEN u. ZHONG 2000).

### 3 Tiere, Material und Methoden

#### 3.1 Tiere

In die Untersuchungen wurden Schwarzfußkatzen sowohl aus der Haltung des Zoologischen Gartens der Stadt Wuppertal als auch Tiere aus dem Freiland einbezogen. Der Hauptanteil des Untersuchungsmaterials von Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal wurde von Dr. Arne Lawrenz, dem betreuenden Tierarzt des Zoos, gesammelt. Sämtliche Schwarzfußkatzen aus dem Freiland wurden auf der Wildtierfarm ‚Benfontein‘ der Firma De Beers Consolidated Mines, 10 km südöstlich der Stadt Kimberly, Südafrika gefangen.

In die umfassende Auswertung der Amyloidoseproblematik bei Schwarzfußkatzen in der Haltung des Zoo Wuppertals wurden Sektionsprotokolle bzw. Untersuchungsberichte über die Analysen eingesandter Organe bzw. subkutanen Fettgewebes von 72 Individuen aus den Jahren 1982 bis 2006 mit einbezogen. Grundlage dieser Untersuchungen bildeten die von 1975 bis 2007 u. a. vom Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin, vom Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen, vom Staatlichen Veterinär-Untersuchungsamt Krefeld und von Prof. Ch. Röcken an der Charité in Berlin obduzierten Tiere.

Subkutanes Fettgewebe zur histologischen und immunhistochemischen Untersuchung auf Amyloid wurde bei insgesamt 19 Tieren (11,8) entnommen. Das Probenmaterial stammte von 8 Tieren aus dem Zoo Wuppertal (6,2) sowie von 11 Tieren aus dem Freiland (7,4) (vgl. Tab. 3).

Tab. 3: Proben subkutanen Fettgewebes von Schwarzfußkatzen

SFK Zoo Wuppertal			SFK Freiland (2002-2007)		
ZB-Nr.	Proben	Zeitraum	Chip-Nr.	Proben	Zeitraum
M 512	1		68900B	1	
F 487	2	10 Monate	68A0444	1	
M 482	3	23 Monate	6895205	2	6 Monate
F 469	1		6897006	2	6 Monate
M 461	2	3 Monate	676D916	1	
M 465	1		676CA99	1	
M 452	3	28 Monate	676BF69	1	
M 417	1		68A119F	1	
			68AE822	1	
			689561F	1	
			6897D88	1	

Die unterschiedlichen Intervalle der Probenentnahme ergaben sich einerseits aus im Zoo Wuppertal allgemein einmal im Jahr stattfindenden Kontrolluntersuchungen an Schwarzfußkatzen, andererseits aus dem akut fortschreitenden Verlauf einer Erkrankung bei einzelnen Individuen.

Biopsiematerial aus dem Kolon, ebenfalls zur histologischen und immunhistochemischen Untersuchung auf Amyloid wurde bei 5 Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal entnommen.

Zur Bestimmung der Akute Phase Proteine SAA, AGP und Haptoglobin sowie zur Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin zwecks Kontrolle der Nierenfunktion wurden von 8 (5,3) Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal und in den Jahren 2005, 2006 und 2007 von 11 Schwarzfußkatzen (7,4) aus dem Freiland Serumproben gezogen. Es wurden zu diesen Untersuchungen zusätzlich ältere Serum- und Plasmaproben von 9 (4,5) Schwarzfußkatzen aus dem Freiland, entnommen in den Jahren 1993 bis 1997, herangezogen (vgl. Tab. 4).

Tab. 4: Serum- bzw. Plasmaproben von Schwarzfußkatzen

SFK Zoo Wuppertal		SFK Freiland (2002-2007)		SFK Freiland (1993-1997)	
ZB-Nr.	Proben	Chip-Nr.	Proben	Chip-Nr.	Proben
M 512	2	68900B	1	09851000-6606708	1
F 487	1	68A0444	1	09851000-5800879	2
M 482	4	6895205	2	09857000-56530?7	2
F 469	1	6897006	2	09851000-5905648	2
M 461	3	676D916	1	09851000-5963267	1
F 457	4	676CA99	1	09857000-5881829	2
M 452	3	676BF69	1	09851000-5678145	1
M 417	2	68A119F	1	09851000-5606810	2
		68AE822	1	„Taro“	2
		689561F	1		
		6897D88	1		

Für die Bestimmung der Leukozytenzahl wurden jeweils Vollblutproben der oben aufgeführten Tiere verwandt.

### 3.2 Fangmethoden

Vom 08. bis 22. November 2006 wurde auf der Game Farm ‚Benfontein‘ eine umfangreiche Fangaktion von Schwarzfußkatzen durchgeführt. Ziel war es, wie auch schon bei ähnlich durchgeführten Projekten in den Jahren 2004 und 2005, so viele Individuen wie möglich zu fangen, um Probenmaterial in möglichst repräsentativem Umfang zu erhalten.

Im Rahmen dieser Feldstudie wurden verschiedene Fangmethoden angewandt, da die Vergangenheit gezeigt hatte, dass der alleinige Versuch, Schwarzfußkatzen mittels Lebendfallen zu fangen, häufig nur zu mäßigem Erfolg führte (persönliche Mitteilung, Dr. N. Lamberski, Süd Afrika, 2006).

### 3.2.1 Fangen mittels Lebendfalle

Entlang einer Gesamtstrecke von 31,6 km wurden 40 Lebendfallen in einem ungefähren Abstand von jeweils 500 m aufgestellt. Damit konnte eine Gesamtfläche von mehr als 50 km<sup>2</sup> abgedeckt werden.

Die verwendeten Fallen waren nach zwei verschiedenen Prinzipien konstruiert. Typ I bestand aus einem stabilen Stahlrahmen, ummantelt mit einem dünnen Drahtgeflecht. Die Falltüre dieses Bautyps bildete eine massive Metallplatte, die durch Bewegung eines mit Beute bestückten Hakens im Inneren der Falle ausgelöst wird. Mit dieser Art Falle hatte Sliwa (SLIWA 1998) während seiner Feldstudien gute Erfolge erzielen können. Bei den Fallen des Typ II handelte es sich um Fallen des so genannten Tomahawk®-Typ. Diese zusammenklappbaren Fallen bestehen komplett aus einer dünnen aber durchweg stabilen Drahtkonstruktion. Auch bei diesem Bautyp wurde der Falltürmechanismus durch Bewegung eines sich im Inneren der Falle befindlichen und mit Beute bestückten Hakens ausgelöst.

Bestückt wurden die Fallen mit Teilen oder mit ganzen Tierkörpern verschiedener, frisch aufgetauter Beutetiere. Zum Einen wurden als Köder große Portionen von Guineatauben (*Columba guinea*) oder von Palmtauben (*Streptopelia senegalensis*), Helmpferlhühnern (*Numida meleagris*) sowie von Weißflügeltrappen (*Eupodotis afraoides*) verwendet, zum Anderen aber auch ganze Körper kleinerer Vogelarten (Passeriformes) als Köder genutzt. Zusätzlich zu diesen Ködern wurden verschiedene Lockmittel außen und auch im Inneren der Fallen angebracht. Z. Bsp. wurde eine Mixtur aus Sardinenklein, Ölsardinen und Dorschleber-Öl verwandt, oder aber auch Urin von oestralen Hauskatzen.

An 11 aufeinander folgenden Tagen wurde jede Falle zweimal täglich aufgesucht. In den Abendstunden (zwischen 16:00h und 19:00h) wurden die Fallen geöffnet und jeden zweiten Tag mit frischer Beute bestückt. In den Morgenstunden nach Sonnenaufgang (zwischen 05:15h bis 07:30h) wurden die Fallen kontrolliert. Fallen, die während der Nacht nicht ausgelöst worden waren, wurden geschlossen, um zu vermeiden, dass tagsüber bei hohen Temperaturen Tiere in den Fallen eingeschlossen werden.

### 3.2.2 Aktives Fangen mittels Nachstellen

Nach Sonnenuntergang (etwa ab 20:00h) wurde in neun Nächten auf unbefestigten Wegen das Forschungsareal mit einem Allradfahrzeug (Toyota Hi-Lux-Diesel, aus dem Bestand der South African National Parks Board Game Capture Unit, Kimberley) durchstreift.

Auf der Ladefläche dieses Fahrzeugs stehend suchten jeweils zwei Personen die umliegenden Flächen mit starken Handscheinwerfern (Lightforce®) nach dem charakteristischen Leuchten der



Abb.7: Aktives Nachstellen

Katzenaugen ab. In diesen Nächten wurde jeweils eine Gesamtstrecke von ca. 20 bis 40 km mit einer durchschnittlichen Geschwindigkeit von 20 bis 30 km/h zurückgelegt. Wurde anhand der charakteristischen Reflexion des Scheinwerferlichtes im Tapetum lucidum eine Schwarzfußkatze ausgemacht, wurde zunächst mittels eines Fernglases (10 x 42) die Sichtung der Zielart überprüft. Nach Bestätigung der Sichtung wurde dem aufgespürten Tier über eine kurze Distanz von jeweils ca. 100 - 600 m zügig mit dem Fahrzeug nachgestellt. Solche Manöver führten in den meisten Fällen dazu, dass sich die verfolgten Katzen unweit des Fahrzeugs schutzsuchend niederkauerten. Dann näherten sich eine oder zwei Personen dem Tier mit einem Fangnetz, um es einzufangen.

Teilweise gelang es Katzen jedoch, in Bauten von Erdferkeln (*Orycteropus afer*), Kapborstenhörnchen (*Xerus inauris*) oder von Springhasen (*Pedetes capensis*) zu flüchten. In solchen Fällen wurde versucht, das Tier auszugraben.

Die gefangenen Schwarzfußkatzen wurden umgehend immobilisiert und zum Schutz vor Licht und Geräuschen mit einem Tuch bedeckt. Nach abgeschlossener Untersuchung und Entnahme des Probenmaterials im Forschungszentrum der Farm wurde die Narkose antagonisiert und die Katzen wurden zur Erholung in eine Transportbox verbracht.



Abb.8: Ausgraben einer Schwarzfußkatze

Abschließend wurden alle Schwarzfußkatzen in einen unbewohnten Bau in der Nähe des jeweiligen Fangortes freigelassen. Solange sich die Tiere noch nicht vollständig von der Narkose erholt hatten, wurde der Bau mit einer Decke verschlossen zum Schutz vor möglichen Beutegreifern.

Die Technischen Daten wurden dem „Report on surveying and catching Black-footed cats (*Felis nigripes*) on Benfontein Game Farm, November 8th- 22nd 2006“, zusammengestellt von Dr. A. Sliwa, entnommen.

Am Fallenstellen und Nachstellen mit dem Fahrzeug haben folgende Personen teilgenommen:

Ms. Beryl Wilson, Zoology Collection Manager, McGregor Museum, South Africa

Dr. Nadine Lamberski, Senior Veterinarian, San Diego Wild Animal Park, USA

Dr. Alexander Sliwa, Curator, Köln Zoo Germany

Dr. Jason Herrick, Post-Doctoral Research Fellow, Cincinnati Zoo, USA

Mr. Philipp Zimmermann, PhD Student of veterinary science, University Leipzig,

Wuppertal Zoo, Germany

Mr. Peter Gibbs, former Farms manager, Benfontein, South Africa

Mr. Pat Callahan, Head Keeper, Cat Section, Cincinnati Zoo, USA

Mrs. Emma Parkin, private capacity

Mr. Frikkie van Dyk, private capacity

### **3.3 Immobilisierung**

#### **3.3.1 Immobilisierung von Schwarzfußkatzen im Zoo Wuppertal**

Die Probenentnahmen im Zoo Wuppertal erfolgten an durch Inhalationsnarkose immobilisierten Tieren. Die Narkose erfolgte mit Isofluran (Isoflo<sup>®</sup>, Abbott Animal Health). Zu diesem Zweck wurden die Tiere in eine speziell für diese Form der Immobilisierung von Kleinkatzen konstruierte Transport- bzw. Narkosekiste verbracht. Die direkte Einleitung des Inhalationsnarkotikums in die Kiste ermöglichte eine für das Tier gezielt stressfrei gehaltene Anflutungsphase des Isoflurans. Während der Anflutungsphase wurden 4 % bis 5 % narkotisch wirksamer Konzentration des Isoflurans bei einem Flow von 5 Liter Sauerstoff pro Minute eingesetzt.

Nach Erreichen der gewünschten Narkosetiefe wurden die Tiere aus der Kiste entnommen. Im weiteren Verlauf wurde der Kopf des Tieres in eine mittels Gummiisolierung allseits abschließende Narkosemaske eingeführt, in diese wurde zur Erhaltung der Narkose ein mit 2 bis 2,5 prozentiger Konzentration an Isofluran angereicherter Sauerstoff-Flow von 1 Liter pro Minute eingelassen. Bei dem angewandten System handelte es sich um ein halboffenes System (Matrx VMS Anesthesia Machine). Nach erfolgter Untersuchung, Probenentnahme und Vermessung wurden die Tiere zurück in die Transportkiste verbracht, in der durch Abatmung das im Tier zuletzt noch angeflutete Narkotikum eliminiert wurde.

#### **3.3.2 Immobilisierung von Schwarzfußkatzen im Freiland**

Die Probenentnahmen im Freiland erfolgten an mit Hilfe einer Neuroleptanalgesie immobilisierten Tieren. Die Schwarzfußkatzen wurden mit einer Kombination aus Medetomidin (Domitor<sup>®</sup> 1 mg/ml Medetomidinhydrochlorat) und Ketamin (Ketavet<sup>®</sup> 100 mg/ml Ketaminhydrochlorid) narkotisiert. Hierzu wurden die Tiere entweder in dem zum Fangen verwendeten Fangnetz, oder in einem während der Flucht aufgesuchten Bau mit einer Wolldecke fixiert. Die Injektion erfolgte daraufhin direkt intramuskulär.

Im Anschluss an die Untersuchung, Probenentnahmen und Vermessung wurde den Tieren zur Antagonisierung des Medetomidins eine entsprechende Dosis Atipamezol (Antisedan<sup>®</sup> 5,0 mg/ml Atipamezolhydrochlorid) verabreicht. Daraufhin wurden die Schwarzfußkatzen in eine Transportbox verbracht, um sich von der Narkose erholen zu können. Erst nach vollständig wiedererlangtem Bewusstsein wurden die Tiere in einen dem Ort des Fangens nahe liegenden Bau verbracht, um zu gewährleisten, dass sie nicht wehrlos dem Angreifen von Beutegreifern ausgesetzt wären.

Es wurden 0,5 – 1,0 mg/ kg KGW Medetomidin und 3 - 10 mg/ kg KGW Ketamin verwandt. Dementsprechend wurde zur Antagonisierung des Medetomidin eine Dosis von 0,75 mg/kg KGW Atipamezol verabreicht.

### 3.4 Probenentnahme subkutanen Fettgewebes zur Untersuchung auf Amyloidablagerungen

Unter Inhalations- bzw. Injektionsnarkose wurde den Tieren ein großer Teil des kaudalen Abdomens rasiert. Dieser Bereich wurde desinfiziert und mit steriler Folie abgedeckt. Mittels eines Skalpell wurde ca. 2 cm parallel zur Linea alba, zwischen dem 3. und 4. Zitzenpaar, ein möglichst kleiner (ca. 5 - 10 mm) Einschnitt in die Kutis vorgenommen. Durch diesen Einschnitt wurde eine geringe Menge des emporquellenden subkutanen Fettgewebes, ungefähr 2 bis 3 Biopate von der Größe eines Reiskorns, präpariert und entnommen. Dabei wurde darauf geachtet, dass möglichst kein Bindegewebe oder Blut in das Probenmaterial einbezogen war. Ein Teil des entnommenen Probenmaterials wurde daraufhin in eine kleine Viole, gefüllt mit 10 % Formalin, verbracht. Weiteres Material wurde zwischen den Oberflächen zweier Objektträger (STAR FROST® Adhäsiv-Objektträger) platziert. Der Hautschnitt wurde abschließend mit Gewebekleber (Nexaband® S/C Flüssig Wundverschluss, Abbott Animal Health) verschlossen.

Das zwischen den Star-Frost-Objektträgern befindliche Fettgewebe wurde in einem Kompressorium bis zu 12 Stunden gepresst, im Anschluss daran der obere Objektträger vorsichtig entfernt und das Quetschpräparat zur kurzzeitigen Lagerung und späteren Versand in einem adäquaten Transportbehälter bei Raumtemperatur aufbewahrt.

### 3.5 Probenentnahme von Kolongewebe zur Untersuchung auf Amyloidablagerungen

An den narkotisierten Schwarzfußkatzen wurde unter Sichtkontrolle mittels Endoskop (Richard Wolf, Typ 7265.001, Lichtquelle: STORZ Kaltlicht-Fontäne 482; Kamera: Olympus OTV-S2) mit einer Biopsiezange (Flexible PE-Zange Typ 7264.611, Zubehör zu Endoskop) eine Kolonbiopsie durchgeführt. Hierzu wurde das Endoskop etwa 4 bis 10 cm tief in das Rektum eingeführt, um Biopsiematerial aus dem Colon descendens entnehmen zu können. Es wurden jeweils 2-3 Gewebeproben entnommen. Das gewonnene Probenmaterial wurde anschließend in eine mit 10 % Formalin gefüllte Viole verbracht.



Abb.9: Entnahme eines Fettbiopats



Abb.10: Präparation subkutanen Fettgewebes

### **3.6 Untersuchung auf Amyloidablagerungen und Klassifizierung des Amyloids**

Die Untersuchungen des Probenmaterials auf Amyloidablagerungen wurden von Prof. R. P. Linke am Referenzzentrum für Amyloidkrankheiten in Martinsried, Deutschland, durchgeführt. Es wurde dazu die Methode von Westermark (1973) in einem standardisierten Verfahren angewandt. Hierzu wurden Teile des gepressten sowie 4 - 8 µm dicke Schnittpräparate des in Formalin fixierten subkutanen Fettgewebes mit einer weiterentwickelten Methode des Verfahrens nach Puchtler (1962) mit Kongo Rot angefärbt (LINKE 2006). In einem weiteren Schritt wurde dann das gefärbte Material im Polarisationsmikroskop mit sauberer spannungsfreier Optik bei maximaler Lichtstärke im einwandfreien Dunkelfeld auf apfelgrüne Doppelbrechung untersucht. Auch das aus dem Kolon descendens gewonnene Biopsiematerial wurde auf diese Weise auf Amyloidablagerungen analysiert. Konnten Amyloidablagerungen in den untersuchten Geweben nachgewiesen werden, wurden diese extrahiert und isoliert, im weiteren Verlauf in einem immunhistochemischen Verfahren mittels monoklonaler Antikörper gegen AA-Amyloid (LINKE 2006) das vorhandene Amyloid klassifiziert.

### **3.7 Blutentnahme, Gewinnung von Blutplasma zur Untersuchung der Akute Phase Proteine, von Harnstoff und Kreatinin und der Leukozytenzahl**

Vollblut- und Plasmaproben wurden mit dem Multivette<sup>®</sup>-Kanülensystem (Zusatz Li-Heparin als Antikoagulans in der Multivette<sup>®</sup>) aus der *Vena cephalica* entnommen. Um Plasma zu erhalten, wurde das Vollblut 15 Minuten lang bei 3000 Umdrehungen/min zentrifugiert (Zentrifuge Hettich EBA 8S). Bis zum Tage des Versandes wurde das Plasma bei - 20 ° C gelagert.

### **3.8 Impfung**

Die Schwarzfußkatzen im Zoo Wuppertal werden jährlich unter Verwendung des inaktivierten Fevaxyn<sup>®</sup> i-CRP-Impfstoffes gegen Calicivirusinfektion, Rhinotracheitis und Panleukopenie geimpft. Um den eventuellen Anstieg der Akute Phase Proteine SAA, AGP und Haptoglobin im Plasma in Reaktion auf die Vakzine feststellen zu können, wurden im Rahmen einer einmaligen Studie zwei Schwarzfußkatzen zu diesem Zweck in Narkose gelegt.

Nur unter diesen Bedingungen war es möglich, vor Injektion der Vakzine, Plasmaproben ziehen zu können. In einer weiteren, möglichst kurz gehaltenen Sitzung, wieder unter Narkose, wurde dann 48h später erneut eine Plasmaprobe gewonnen. Aufgrund der erhöhten Anfälligkeit der Schwarzfußkatzen auf Stresssituationen, war es nur einmalig möglich, Probenmaterial für einen direkten Vergleich der APP-Konzentrationen im Plasma in einem kurzen Zeitabstand zu gewinnen. Daher wurde nach Diskussion mit Herrn Prof. Eckersall, Universität Glasgow, UK, der Zeitraum von 48 Stunden zwischen den zwei Plasmaprobenentnahmen gezielt gewählt.

### **3.9 Bestimmung von SAA im Blutplasma**

Die Bestimmung der Akute Phase Proteine wurde von der Akute Phase Protein- Arbeitsgruppe von Prof. P. D. Eckersall am Institut für Vergleichende Medizin der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Glasgow, UK, durchgeführt. Das SAA im Blutserum der Schwarzfußkatzen wurde mittels eines „Tridelta Phase™ range SAA kit“ (Tridelta Development Ltd, Co. Wicklow, Ireland), einem ‚Solid Phase Sandwich Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)‘ ermittelt. In diesem Verfahren werden in einem ersten Schritt Mikrotiterplatten mit einem für SAA spezifischen monoklonalen Antikörper beschichtet. Im nächsten Schritt werden die Mikrotiterplatten mit den Plasmaproben, mit Standardprobenmaterial mit bekanntem SAA-Gehalt sowie mit einem Biotin-markierten monoklonalen anti-SAA-Antikörper beschickt. Im Plasma vorhandenes SAA wird nun in einem Vorgang einerseits von dem an Festphasen adsorbierten Liganden und andererseits von den Biotin-markierten Antikörpern gebunden. Nach einem anschließenden Waschvorgang, zur Entfernung ungebundenen Materials, wird der Mikrotiterplatte Streptavidin-Meerrettichperoxidase hinzugefügt und inkubiert. Nach einer zweiten Inkubationsphase wird TMB Substrat-Lösung hinzugefügt und die Konzentration an SAA in der Plasmaprobe photometrisch bestimmt.

### **3.10 Bestimmung von AGP im Blutplasma**

Die Bestimmung von  $\alpha$ -1-saurem Glycoprotein (AGP) aus dem Blutplasma der Schwarzfußkatzen wurde mittels eines immunoturbidimetrischen Tests durchgeführt. Immunoturbidimetrische Testverfahren basieren auf der Quantifizierung von Antigen-Antikörper-Komplexen in Lösung. Um AGP im Blutplasma von Katzen immunoturbidimetrisch nachweisen zu können, wurde aus der Peritonealflüssigkeit von an Feliner Infektiöser Peritonitis (FIP) erkrankten Katzen AGP gewonnen (BENCE et al. 2005). In einem weiteren Schritt wurde das gewonnene AGP mittels Ausfällung mit Perchlorsäure sowie Ionenaustausch Chromatographie gereinigt und anschließend, in Kombination mit „complete Freund’s Adjuvant“, einem Immunstimulanz und „Tween 20“, einem Suspensions-Stabilisator, Schafen injiziert. Aus dem Blut dieser Schafe wurden anti-AGP-Antikörper gewonnen. In einer standardisierten Anwendung mittels eines Cobas Mira Analyseautomaten (ABX Diagnostics, Shefford, Bedfordshire, UK) wurden diese anti-AGP-Antikörper verwandt, um das AGP im Blutplasma der Schwarzfußkatzen immunoturbidimetrisch nachzuweisen.

### **3.11 Bestimmung von Haptoglobin im Blutplasma**

Für die Bestimmung von Haptoglobin im Blutplasma von Schwarzfußkatzen wurde ein automatisiertes biochemisches Kolorimetrie-Analyseverfahren angewandt. Dieses Verfahren basiert auf der Fähigkeit von Haptoglobin, an Haemoglobin zu binden. Es wird dabei die dem Hp-Hb-Komplex-eigene Peroxidaseaktivität nach Zugabe eines entsprechenden Substrats, bei leicht saurem pH-Wert, kolorimetrisch gemessen (MAKIMURA u. SUZUKI 1982). Als Substrat für die Peroxidasereaktion wurde bei diesem Verfahren das chromogene Reagenz SB-7

(International Patent Application no. PCT/BG98/03407) verwandt. Bei diesem Reagenz handelt es sich um eine Lösung aus Peroxidase-Chromogen, Detergens und Protein-Bindungs-Inhibitoren in einem Citrat Puffer bei pH 3,8. SB-7 wurde entwickelt (ECKERSALL et al. 1999), um bei Haptoglobin Analyseverfahren den Effekt von Serum-Albumin auf die Peroxidasereaktion des Hp-Hb-Komplexes zu minimieren.

Der Test wurde nach Gebrauchsanweisungen des Herstellers für das ‚Phase Haptoglobin Assay kit‘ (Tridelta Development Ltd, Co. Wicklow, Ireland) in einem MIRA Analyseautomat der Firma Roche Diagnostics Ltd, Welwyn Garden City, UK, durchgeführt.

### **3.12 Bestimmung von Harnstoff und Kreatinin im Blutplasma**

Die Bestimmung von Kreatinin und Harnstoff im Blutplasma erfolgte ebenfalls an der veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Glasgow, UK. Es wurde dazu ein Olympus® AU600 Analyseautomat (Olympus Life and Material Science Europa GmbH) verwendet. Die Konzentration des Harnstoffs im Blutplasma wurde unter Verwendung des Enzyms Urease, mittels Messung des freigesetzten Ammoniaks analysiert. Um die Konzentration des Kreatinins im Blutplasma bestimmen zu können, wurde die Jaffe-Methode angewandt. Nach Zugabe von Pikrinsäure werden gebildete Kreatininpikrat-Komplexe photometrisch bestimmt. Die Bestimmung beruht auf einer kinetischen Messung.

### **3.13 Bestimmung der Leukozyten im Vollblut**

Die Anzahl an Leukozyten im Blut, wurde von tierärztlichen Fachangestellten des Zoo Wuppertal aus dem Vollblut der Schwarzfußkatzen (Zusatz Li-Heparin als Antikoagulans in der Multivette®) nach Überführung in eine BD-Unopette® (enthält 0,475 ml 3 % Essigsäure) in einer Zählkammer (Neubauer Zählkammer) mittels Zählung der Leukozytenkerne ermittelt.

### **3.14 Verwendete Verfahren und Software zur Datenanalyse**

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der Software SPSS® für Windows, Version 14 sowie Teile der Tabellen- und Diagramm-Erstellung mit Excel® 2000.

Zur Prüfung der Signifikanz des Zusammenhangs zwischen dem Auftreten einer chronischen Niereninsuffizienz und dem Nachweis von Amyloidablagerungen bei Schwarzfußkatzen, fand aufgrund der kleinen Zellbesetzungen der exakte Test nach Fisher Anwendung.

Bezüglich der Punkte:

- Altersunterschiede zwischen Tieren, welche an einer Niereninsuffizienz in Kombination mit Ablagerungen von Amyloid bzw. an einer anderen Todesursache verstorben sind
- Häufigkeiten anderer Erkrankungen in Bezug auf das Vorliegen einer generalisierten Amyloidose
- Häufigkeiten anderer Erkrankungen in Bezug auf das Vorliegen einer Niereninsuffizienz

### 3 Tiere, Material und Methoden

- Häufigkeiten weiterer Sektionsbefunde unbekannter Genese in Bezug auf das Vorliegen einer generalisierten Amyloidose
- Häufigkeiten weiterer Sektionsbefunde unbekannter Genese in Bezug auf das Vorliegen einer Niereninsuffizienz
- Organbeteiligung Amyloidablagerungen
- Amyloidhäufigkeit in untersuchten Organen
- Untersuchungen unterschiedlicher Gewebebiopsien von Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal bzw. aus dem Freiland auf Amyloidablagerungen
- Art, Anzahl und Ergebnisse der durchgeführten Biopsien
- Konzentrationen der APP SAA, AGP und HP sowie der Leukozyten bei Schwarzfußkatzen (ZB-Nr. 512 und ZB-Nr. 482) vor und nach einer Impfung

ließen die jeweils geringen Probenzahlen keine sichere statistische Auswertung zu, so dass hier nur Tendenzen erkannt und beschrieben werden konnten.

Zur Berechnung der Korrelation zwischen Konzentrationen der APP SAA, AGP und Hp und den Konzentrationen von Harnstoff und Kreatinin bzw. Leukozytenzahlen wurden Pearson-Korrelationskoeffizienten berechnet.

Zur Klärung, ob Konzentrationswerte von Harnstoff bzw. Kreatinin im Serum dazu geeignet sind, auf eine Amyloidose bei Schwarzfußkatzen hinzuweisen, wurden ROC-Analysen durchgeführt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Amyloidose bei Schwarzfußkatzen

#### 4.1.1 Vorkommen und Häufigkeit

Die Auswertung der Sektionsprotokolle führte zu folgenden Ergebnissen:

Bei insgesamt 49 der 72 obduzierten Schwarzfußkatzen (68,1 %) wurde eine chronische Niereninsuffizienz als Todesursache angegeben. Im August 1992 wurde erstmalig bei einem Tier in Zusammenhang mit einer chronischen Niereninsuffizienz die Diagnose einer generalisierten Amyloidose gestellt.

Es wurde in der Auswertung zwischen der Angabe „Amyloidablagerungen in einzelnen bzw. verschiedenen Organen“ und der Aussage „generalisierte Amyloidose als Hauptbefund“ anhand der Ausführungen in den Sektionsberichten der verschiedenen Institute unterschieden.

Wie in Abbildung 11 dargestellt, kam es bei  $n = 34$  Fällen mit Todesdatum vor 1992 bei 18 Tieren (52,9 %) zu einer Niereninsuffizienz. Bei den  $n = 38$  Fällen, welche nach August 1992 verstarben, wurde diese Diagnose in 31 Fällen (81,6 %) gestellt.

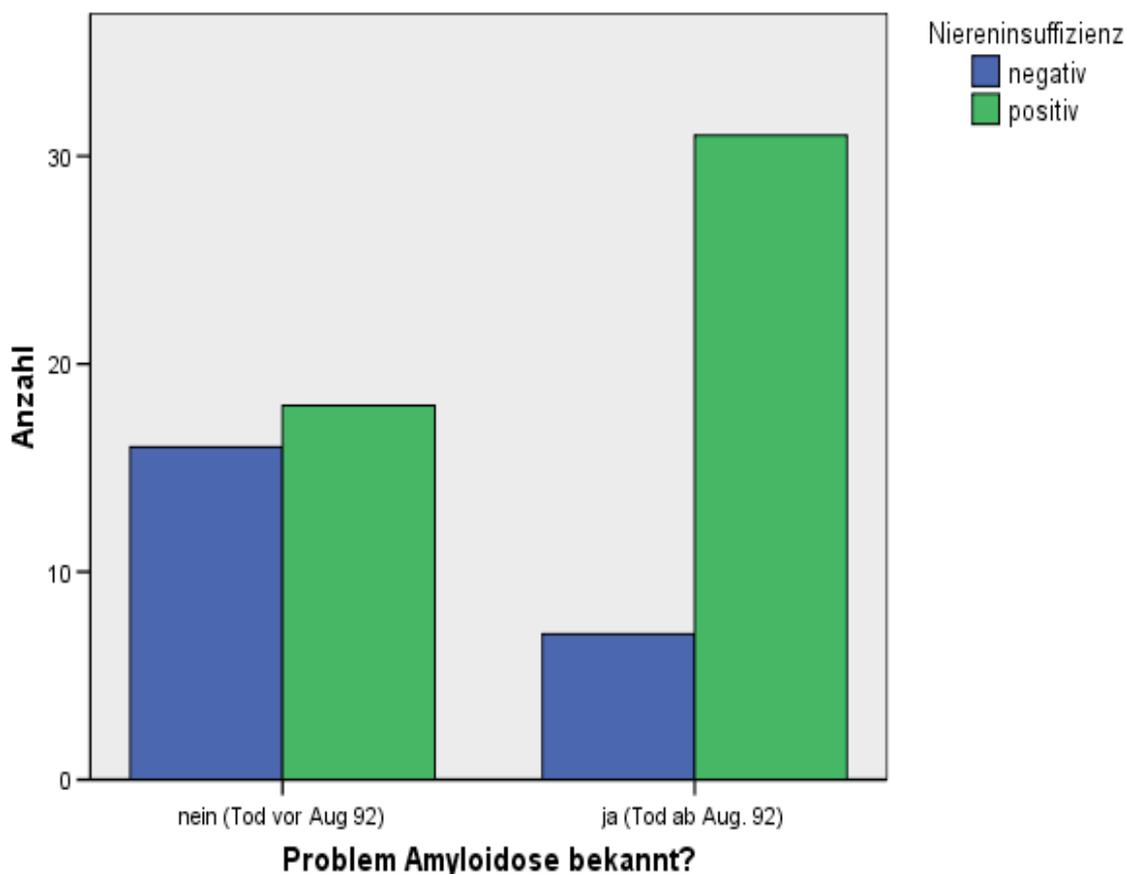


Abb. 11: Anzahl aller von 1975 bis 2007 obduzierten Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal unter Berücksichtigung der Diagnose einer Niereninsuffizienz und dem Zeitpunkt des ersten Amyloidnachweises im Jahr 1992

#### 4 Ergebnisse

Es wird davon ausgegangen, dass ab dem Zeitpunkt des ersten Nachweises von Amyloid (August 1992) alle an Niereninsuffizienz verstorbenen Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal auf Amyloidablagerungen untersucht wurden. Wie genau diese Untersuchung in jedem Einzelfall stattgefunden hat, ist jedoch nicht offenkundig. Deswegen wird bei Tieren, die ab August 1992 verstorben sind, davon gesprochen, dass entweder definitiv ein positiver Befund oder kein Befund vorliegt. Letzteres muss nicht zwingend in jedem Einzelfall heißen, dass keine Amyloidablagerungen vorhanden waren.

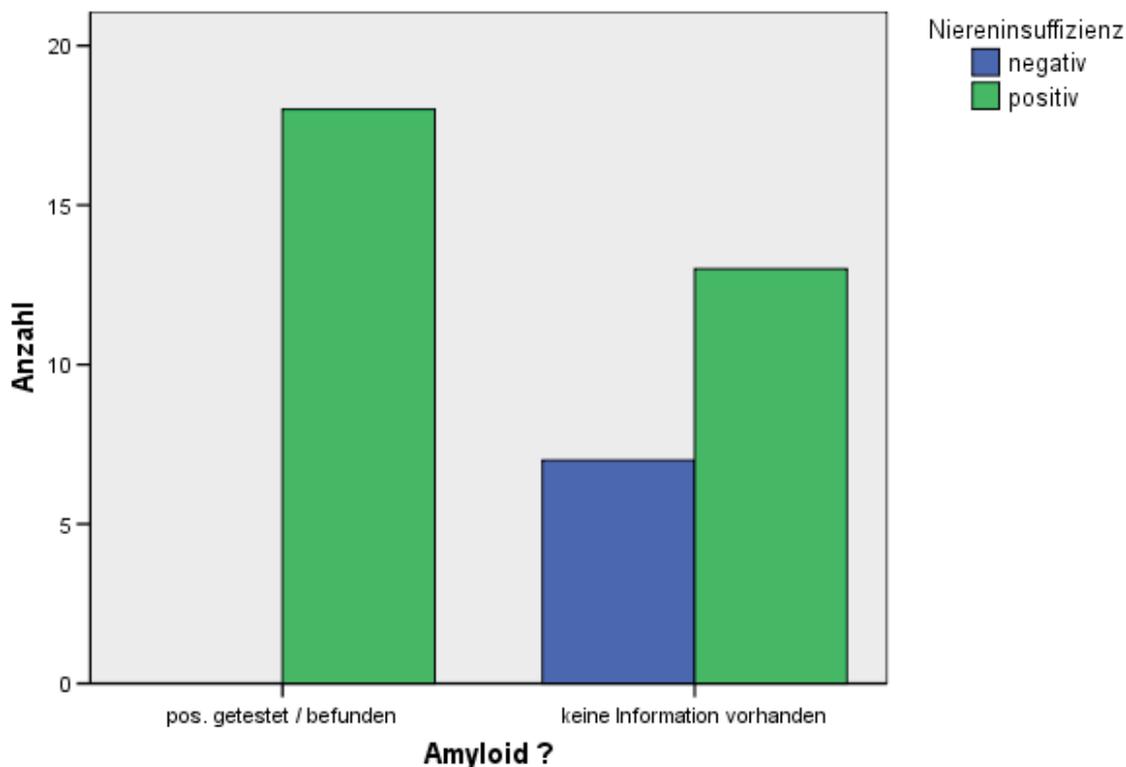


Abb. 12: Anzahl aller ab 1992 obduzierten Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal unter der Berücksichtigung einer diagnostizierten Niereninsuffizienz sowie nachgewiesenen Ablagerungen von Amyloid.

Abbildung 12 zeigt, dass nach 1992 bei insgesamt 18 (58,1 %) der  $n = 31$  an Niereninsuffizienz verstorbenen Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal Amyloidablagerungen in unterschiedlichen Organen nachgewiesen wurden.

Wie in Tabelle 5 dargestellt, wurde bei 11 (35,5 %) der  $n = 31$  Schwarzfußkatzen mit chronischer Niereninsuffizienz aufgrund von Amyloidablagerungen in mehreren Organen eine generalisierte Amyloidose als Hauptbefund diagnostiziert.

Zudem liegt bei keinem Tier ein positiver Befund einer generalisierten Amyloidose vor, welches nicht an einer Niereninsuffizienz verstorben ist.

Tab. 5: Kreuztabelle generalisierte Amyloidose \* Niereninsuffizienz ab August 1992

			Niereninsuffizienz		Gesamt
			negativ	positiv	
generalisierte Amyloidose	kein Befund (Tod ab Aug. 92)	Anzahl	7	20	27
		% von Niereninsuffizienz	100,0 %	64,5 %	71,1 %
Amyloidose	pos. Befund (Tod ab 1992)	Anzahl	0	11	11
		% von Niereninsuffizienz	,0 %	35,5 %	28,9 %
Gesamt		Anzahl	7	31	38
		% von Niereninsuffizienz	100,0 %	100,0 %	100,0 %

Eine geschlechtliche Prävalenz konnte bei diesen Untersuchungen ausgeschlossen werden. So lagen bei den insgesamt  $n = 18$  auf Amyloidablagerungen positiv getesteten Schwarzfußkatzen der Anteil der männlichen Tiere bei 11 und der Anteil der weiblichen Tiere bei 7. Bezüglich der  $n = 11$  Tiere, bei denen die generalisierte Amyloidose als Hauptbefund aufgeführt wurde, lag der Anteil der männlichen Tiere bei 6 und der Anteil der weiblichen Tiere bei 5.

Wie Tabelle 6 zeigt, weisen von diesen 38 Tieren  $n = 18$  Tiere (47,4 %) eine Kombination von sowohl Niereninsuffizienz als auch Amyloidablagerungen in verschiedenen Organen auf. 13 weitere Tiere (34,2 %) sind ebenfalls an einer Niereninsuffizienz verstorben, es lag jedoch kein Befund bezüglich Amyloidablagerungen vor. Nur bei  $n = 7$  Tieren (18,4 %) wurde eine andere Todesursache festgestellt.

Tab. 6: Prozentuale Verteilung der Kombination Niereninsuffizienz und Amyloid Ablagerungen im Verhältnis zu anderen Todesursachen (Tiere nach August 1992 verstorben)

<b>Niereninsuffizienz + Amyloid</b>		
	Häufigkeit	Prozent
andere Todesursache	7	18,4
Niereninsuffizienz + Amyloidablagerungen	18	47,4
Niereninsuffizienz, ohne Angabe zu Amyloidablagerungen	13	34,2
Gesamt	38	100,0

#### 4 Ergebnisse

Wie Abbildung 13 darstellt, besteht bezüglich des Altersunterschiedes zwischen Tieren, welche an einer Niereninsuffizienz in Kombination mit Ablagerungen von Amyloid bzw. Tieren, welche aufgrund anderer Ursachen verstarben, ein Mittelwertunterschied von fast 700 Tagen zugunsten der Tiere, die an anderen Todesursachen verstorben sind. In die Auswertung der Altersunterschiede verstorbener Schwarzfußkatzen wurden nur Tiere einbezogen, die ab August 1992 verstorben sind.

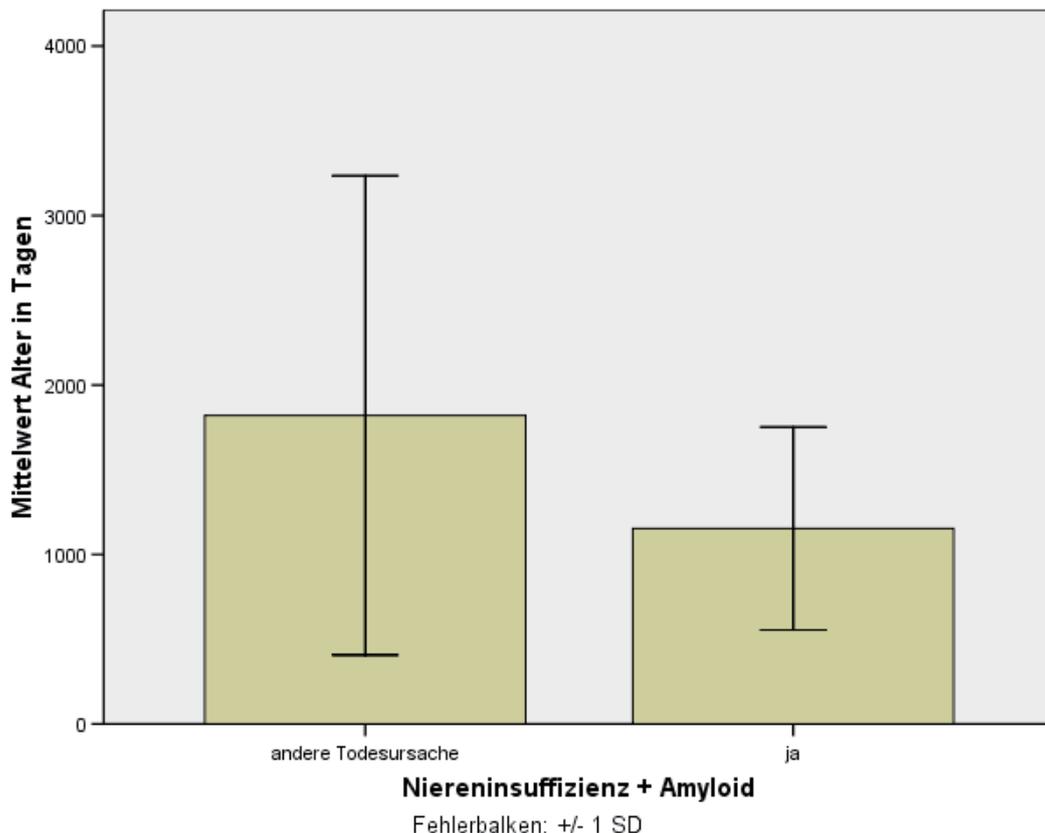


Abb. 13: Altersunterschiede in Tagen zwischen Tieren, welche an einer Niereninsuffizienz in Kombination mit Ablagerungen von Amyloid bzw. an einer anderen Todesursache verstorben sind

Es wurde eine Analyse möglicher mit einer sekundären Amyloidose assoziierter Krankheiten wie Infektionen mit dem Parvovirus, dem Coronavirus bzw. den Erregern des Katzenschnupfenkomplexes, Infektionen mit darmpathogenen Erregern wie Salmonellen und Klostridien sowie anderweitiger Entzündungsgeschehen durchgeführt.

Wie Tabelle 7 zeigt, wurde bei 2 von 5 Tieren, bei denen eine Infektion mit Klostridien als mögliche Begleiterkrankung einer sekundären Amyloidose diagnostiziert wurde die generalisierte Amyloidose als Hauptbefund aufgeführt (Tod ab 1992). Somit konnten nur bei 18,3 % der 11 Tiere mit einer generalisierten Amyloidose ein Erreger für eine Begleiterkrankung einer sekundären Amyloidose definiert werden. Um die allgemeine Häufigkeit dieser Erkrankungen im Bestand der Schwarzfußkatzen zu verdeutlichen, wurden auch aufgetretene Fälle vor 1992 in Tabelle 7 mit aufgenommen, obwohl der Befund einer generalisierten Amyloidose hier nicht zu erwarten war.

#### 4 Ergebnisse

Tab. 7: Häufigkeiten anderer Erkrankungen in Bezug auf das Vorliegen einer generalisierten Amyloidose

	generalisierte Amyloidose						
	kein Befund (Tod ab Aug. 92)		pos. Befund (Tod ab 1992)		nicht bekannt (Tod vor Aug. 92)		<u>Gesamt</u>
	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.
Parvovirus- Infektion	0	0	0	0	5	100	5
Coronavirus- Infektion	0	0	0	0	1	100	1
Katzenschnupfen- Komplex	0	0	0	0	1	100	1
Salmonellose	0	0	0	0	6	100	6
Klostridiose	3	60	2	40	0	0	5
Pyometra	1	100	0	0	0	0	1
Trauma	0	0	0	0	2	100	2

Wie aus Tabelle 8 ersichtlich konnte bei einem Tier mit Niereninsuffizienz als angegebener Todesursache eine Erkrankung am Katzenschnupfenkomplex nachgewiesen werden. Von 6 an Salmonellose erkrankten Tieren wies bei der Sektion nur ein Tier eine Niereninsuffizienz auf. Von 5 Tieren, welche positiv auf Klostridien befunden wurden, wurde bei 4 Tieren eine Niereninsuffizienz diagnostiziert. Somit konnte im Zusammenhang mit einer chronischen Niereninsuffizienz bei sechs der 49 Tiere ein Erregernachweis für eine mögliche Begleit-erkrankung vollzogen werden.

Tab. 8: Häufigkeiten anderer Erkrankungen in Bezug auf das Vorliegen einer Niereninsuffizienz

	Niereninsuffizienz				
	<u>nein</u>		<u>ja</u>		<u>Gesamt</u>
	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.
Parvovirus-Infektion	5	100	0	0	5
Coronavirus-Infektion	1	100	0	0	1
Katzenschnupfen- Komplex	0	0	1	100	1
Salmonellose	5	85	1	15	6
Klostridiose	1	20	4	80	5
Pyometra	1	100	0	0	1
Trauma	2	100	0	0	2

#### 4 Ergebnisse

Tabellen 9 und 10 zeigen eine Gegenüberstellung weiterer Sektionsbefunde unbekannter inflammatorischer Genese mit den Hauptbefunden generalisierte Amyloidose bzw. Niereninsuffizienz.

Tab. 9: Häufigkeiten weiterer Sektionsbefunde unbekannter Genese in Bezug auf das Vorliegen einer generalisierten Amyloidose

	generalisierte Amyloidose						
	kein Befund (Tod ab Aug. 92)		pos. Befund (Tod ab 1992)		nicht bekannt (Tod vor Aug. 92)		<u>Gesamt</u>
	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.
Gastritis	7	30	8	33	9	37	24
Jejunitis	0	0	3	100	0	0	3
Enteritis Dünndarm	1	25	3	75	0	0	4
Dünndarm (mgr-hgr chronisch) Enteritis	2	50	1	25	1	25	4
Dickdarm (mgr-hgr chronisch)	1	33	1	33	1	33	3

Tab. 10: Häufigkeiten weiterer Sektionsbefunde unbekannter Genese in Bezug auf das Vorliegen einer Niereninsuffizienz

	Niereninsuffizienz				
	<u>nein</u>		<u>ja</u>		<u>Gesamt</u>
	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.
Gastritis	2	8	22	92	24
Duodenitis	0	0	1	100	1
Jejunitis	0	0	3	100	3
Enteritis Dünndarm	0	0	4	100	4
Enteritis Dünndarm (mgr-hgr chronisch)	0	0	4	100	4
Enteritis Dickdarm (mgr-hgr chronisch)	0	0	3	100	3
hgr eitrig Bronchitis	0	0	1	100	1

Wie in Tabellen 9 und 10 gezeigt, wurde bei insgesamt 24 Schwarzfußkatzen eine Gastritis diagnostiziert. 22 dieser Tiere (91,7 %) verstarben an einer Niereninsuffizienz und bei 8 Tieren (33,3 %) wurde eine generalisierte Amyloidose als weiterer Hauptbefund angegeben. Der Befund einer, für sich stehenden' Gastritis wurde nur bei einzelnen Tieren gestellt. Häufiger wurde bei

einzelnen Tieren eine Gastritis in Kombination mit einer Enteritis unterschiedlichster Ausprägung diagnostiziert. So wurde bei insgesamt 8 Tieren eine Enteritis in Bereichen des Dünndarms beschrieben, bei 4 von diesen Tieren in einer mittel- bis hochgradigen Ausprägungsform. Diese 8 Tiere verstarben alle an einer Niereninsuffizienz, 4 Tiere erlitten eine generalisierte Amyloidose. Von 3 Tieren, bei denen eine Enteritis mgr bis hgr Ausprägung in Bereichen des Dickdarms nachgewiesen wurde, verstarben 100 % an Niereninsuffizienz, bei 1 Tier wurde die Diagnose der generalisierten Amyloidose gestellt. Bei 3 weiteren Tieren wurde die ausdrückliche Diagnose einer Jejunitis gestellt. Alle diese Tiere verstarben an Niereninsuffizienz in Verbindung mit einer generalisierten Amyloidose. Insofern konnten bei 8 (72,7 %) der 11 Tiere mit einer generalisierten Amyloidose eine Begleiterkrankung einer sekundären Amyloidose in Form eines Sektionsbefundes unbekannter Genese beobachtet werden. Im Zusammenhang mit einer chronischen Niereninsuffizienz wurde bei 22 (44,9 %) der 49 Tiere eine Begleiterkrankung in Form eines Sektionsbefundes unbekannter Genese aufgeführt.

Bezogen auf die Tiere mit einer generalisierten Amyloidose als Hauptbefund liegt der Anteil von Amyloidosen mit einer Begleiterkrankung durch einen definierten Erreger (18,3 %; 2 Tiere) bzw. einer Begleiterkrankung in Form eines Sektionsbefundes unbekannter Genese (72,7 %; 8 Tiere) insgesamt bei 91 % (10 Tiere). Dem gegenüber steht der Anteil idiopathischer Amyloidosen ohne erkennbare Begleiterkrankung mit nur einem Tier bei 9 %. Bei Schwarzfußkatzen welche an einer chronischen Niereninsuffizienz verstarben, konnte bei insgesamt 57,1 % der Untersuchungen (28 Tiere) Begleiterkrankungen sowohl durch einen definierten Erreger (12,2 %; 6 Tiere) als auch in Form eines Sektionsbefundes unbekannter Genese (44,9 %; 22 Tiere) festgestellt werden.

### 4.1.2 Amyloidlokalisation

In Tabelle 11 sind alle Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal aufgeführt, bei denen eine generalisierte Amyloidose diagnostiziert wurde bzw. bei denen Amyloidablagerungen in verschiedenen Organen nachgewiesen wurden. Im Sektionsbericht zum Tier mit der ZB-Nr. 234 werden eine Amyloidose und eine Niereninsuffizienz als Todesursache angegeben. Es liegen jedoch keine detaillierten Befunde zu einzelnen Organen vor. Zu den Tieren mit ZB-Nr. 456, 452 und 417 liegen Nachweise von Amyloidablagerungen in subkutanem Fettgewebe im Rahmen der mikroinvasiven Biopsiemethoden vor (vgl. Tab. 13). Jedoch existieren zu diesen Tieren keine ausführlichen Sektionsbefunde. Die Todesursache dieser Tiere wurde ebenfalls mit einer Niereninsuffizienz, im Falle der ZB-Nr. 452 in Verbindung mit einer generalisierten Amyloidose, angegeben (persönliche Mitteilung, Prof. Ch. Röcken, Berlin 2006).

Tabelle 12 enthält die untersuchten Organe in Häufigkeit der Untersuchungen dieser Organe und die jeweiligen Organuntersuchungen bezogen auf die absoluten und relativen Häufigkeiten von positiven und negativen Befunden.

Tab. 11: Organbeteiligung Amyloidablagerungen

ZB - Nr	Alter in Tagen	Geschlecht	Todesursache	Amyloid ?	Niere	Glomeruli	med. Interstitium	Leber	Milz	Magen	Darm	weitere Lokalisation
469	2553	weibl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J	J	J	N	N	N	N	N	
461	1144	männl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J	J	J	J	N	J	N	J	
457	1100	weibl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J	J	J	J	n. vh.	J	J	N	
456	976	männl.	Niereninsuffizienz	J								
452	1960	männl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J								
449	324	weibl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J	J	J	J	n. vh.	J	J	N	
448	829	männl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J	J	J	J	J	J	J	J	Speicheldrüse, Gingiva, MaulSH, Zunge, Lunge, Lymphknoten, Pankreas, Nebennieren
432	402	weibl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J	J	J	J	N	J	N	N	
430	440	männl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J	J	J	J	N	J	J	N	Pankreas
429	844	männl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J	J	J	J	N	J	J	N	

J = Ja; N = kein Amyloid; n.vh.= Organ zur Untersuchung nicht vorhanden; leeres Feld = kein schriftlicher Untersuchungsbericht bzw. keine Erwähnung

ZB - Nr	Alter in Tagen	Geschlecht	Todesursache	Amyloid ?	Niere	Glomeruli	med. Interstitium	Leber	Milz	Magen	Darm	weitere Lokalisation
417	1533	männl.	Niereninsuffizienz	J								
397	1560	weibl.	Niereninsuffizienz	J	J	J	J				N	
361	1343	männl.	Niereninsuffizienz	J	J	N	J				N	
318	2072	männl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J	J	J	J					
254	860	weibl.	Niereninsuffizienz	J	J	J	J					
253	859	männl.	Niereninsuffizienz	J	J	J	J					
244	1168	männl.	Niereninsuffizienz	J	J	N	J					
234	793	weibl.	generalisierte Amyloidose/ Niereninsuffizienz	J								

J = Ja; N = kein Amyloid; n.vh. = Organ zur Untersuchung nicht vorhanden; leeres Feld = kein schriftlicher Untersuchungsbericht bzw. keine Erwähnung

**Tab. 12: Amyloidhäufigkeit in untersuchten Organen**

	neg. Befund		pos. Befund		Gesamt Anzahl abs.
	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	
Niere, Glomeruli	2	14	12	86	14
Niere, med. Interstitium	1	7	13	93	14
Nebenniere	0	0	1	100	1
Leber	5	84	1	16	6
Milz	1	13	7	87	8
Lunge	0	0	1	100	1
Magen	3	38	5	62	8
Darm	8	80	2	20	10
Pankreas	0	0	2	100	2
Lnn	0	0	1	100	1
Speicheldrüse	0	0	1	100	1
MaulSH, Gingiva, Zunge	0	0	1	100	1

Aus den Sektionsberichten geht hervor, dass nicht in jeder Sektion alle Organe auf Amyloidablagerungen untersucht wurden bzw. nicht bei jeder durchgeführten Untersuchung der komplette Tierkörper inklusive aller Organe zur Verfügung stand, was an der jeweils unterschiedlichen Gesamtanzahl der jeweiligen Organe in Tabelle 13 abzulesen ist. Die Nieren wurden anzahlmäßig bei den meisten Tieren untersucht.

Es konnten bei 12 von 14 Tieren in den Glomeruli und bei 13 von 14 Tieren im medullären Interstitium der Nieren Amyloidablagerungen nachgewiesen werden. Neben den Nieren waren Milz und Magen häufige Lokalisationen für Amyloidablagerungen. Seltener waren Darm und Leber betroffen. Das Pankreas wurde nur bei 2 Tieren untersucht, und bei beiden wurden Amyloidablagerungen in diesem Organ festgestellt. Lunge, Nebennieren, Lymphknoten und Speicheldrüsen sowie die Maulschleimhaut, Gingiva und Zunge wurden nur bei einem Tier untersucht und positiv auf Amyloidablagerungen befunden.

#### 4.1.3 Nachweis von Amyloidablagerungen mittels mikroinvasiver Biopsiemethoden

Um Nachweismethoden von Amyloidablagerungen in vivo zu entwickeln, wurden in einem weiteren Teil dieser Arbeit verschiedene Biopsietechniken geprüft und weiterentwickelt. Die Untersuchungen des Probenmaterials auf Amyloidablagerungen wurden von Prof. R. P. Linke am Referenzzentrum für Amyloidkrankheiten in Martinsried, Deutschland, durchgeführt. Das durch die jeweils unterschiedlichen Methoden gewonnene Biopsiematerial von Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal (8 Tiere) und die entsprechenden Ergebnisse der Untersuchungen auf Amyloidablagerungen sind in Tabelle 13 aufgeführt.

In Tabelle 14 sind das von Schwarzfußkatzen aus dem Freiland (11 Tiere) gewonnene Biopsiematerial und die Ergebnisse der Untersuchungen auf Amyloidablagerungen aufgeführt. Bei der Durchführung der Biopsie an Tieren aus dem Freiland war aufgrund des hohen technischen Aufwandes nur die Entnahme von subkutanem Fettgewebe möglich. Bezüglich der Lagerung stand hier nur die Möglichkeit der Aufbewahrung in 10 % Formalin zur Verfügung.

Tab. 13: Ergebnisse der Untersuchungen unterschiedlicher Gewebebiopsien von Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal auf Amyloidablagerungen

ZB-Nr.	Geschlecht	Alter in Tagen	Entnahmedatum/ Untersuchungsdatum	Material / Lagerung	Amyloid
512	männl.	1083	06.06.2007	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		1083	06.06.2007	subk. Fettgew./gepresst	negativ
		1083	06.06.2007	Kolon / Formalin	negativ
487	weibl.	638	16.07.2005	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		1074	25.09.2006	subk. Fettgew./Formalin	negativ
482	männl.	940	09.07.2005	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		940	09.07.2005	Kolon / Formalin	negativ
		1343	16.08.2006	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		1637	06.06.2007	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		1637	06.06.2007	subk. Fettgew./gepresst	negativ
		1637	06.06.2007	Kolon / Formalin	negativ
469	weibl.	2370	27.05.2007	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		2370	27.05.2007	Kolon / Formalin	negativ
461	männl.	1412	02.05.2005	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		1505	03.08.2005	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		1505	03.08.2005	Kolon / Formalin	positiv
		post mortem	16.05.2007	subk. Fettgew./gepresst	positiv
		post mortem	16.05.2007	subk. Fettgew./Formalin	positiv
		post mortem	16.05.2007	Hautbiopsie/Formalin	negativ

## Fortsetzung Tab. 13:

ZB-Nr.	Geschlecht	Alter in Tagen	Entnahmedatum/ Untersuchungsdatum	Material / Lagerung	Amyloid
456	männl.	564	18.11.2002	subk. Fettgew./gepresst	positiv
452	männl.	805	24.01.2003	subk. Fettgew./gepresst	negativ
		1517	05.01.2005	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		1652	20.05.2005	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		post mortem	16.05.2007	subk. Fettgew./Formalin	negativ
		post mortem	16.05.2007	subk. Fettgew./gepresst	positiv
	post mortem	16.05.2007	Hautbiopsie/Formalin	negativ	
417	männl.	1521	28.02.2003	subk. Fettgew./gepresst	positiv

Tab. 14: Ergebnisse der Untersuchungen subkutanen Fettgewebes von Schwarzfußkatzen aus dem Freiland auf Amyloidablagerungen

Chip-Nr.	Geschlecht	Alter	Entnahmedatum	Material	Amyloid
676D916	männl.	subadult	02.11.2005	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
676BF69	weibl.	adult	05.11.2005	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
676CA99	männl.	Welpen (ca. 6 Mo)	05.11.2005	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
689600B	weibl.	Welpen (ca. 1,5 Mo)	09.11.2006	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
68A0444	männl.	subadult	12.11.2006	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
6895205	männl.	adult	13.11.2006	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
			11.05.2007	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
6897006	männl.	adult	19.11.2006	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
			14.05.2007	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
68A119F	männl.	Welpen (ca. 5 Mo)	09.05.2007	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
68AE822	männl.	subadult (ca. 7 Mo)	12.05.2007	subk. Fettgew./ Formalin	negativ
689561F	weibl.	adult	13.05.2007	subk. Fettgew./ Formalin	positiv
6897D88	weibl.	subadult	23.05.2007	subk. Fettgew./ Formalin	negativ

#### 4 Ergebnisse

Tabelle 15 gibt die Gesamtanzahl der Tiere wieder, an der die unterschiedlichen Formen der Biopsiemethoden durchgeführt wurden sowie für jede Biopsieart die Ergebnisse als absolute und relative Häufigkeiten. So wurden von insgesamt 17 Tieren, welche jeweils keine klinischen Anzeichen einer Niereninsuffizienz aufwiesen, Biopsien subkutanen Fettgewebes entnommen und zur Aufbewahrung in 10 % Formalin verbracht. Von diesem Material wurde 1 Probe positiv auf Amyloid getestet. Das Material entstammte einem Tier aus dem Freiland, Chip-Nummer: 689561F.

Tab. 15: Art, Anzahl und Ergebnisse der durchgeführten Biopsien

	Biopsiematerial negativ getestet		Biopsiematerial positiv getestet		Gesamt Anzahl abs.
	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	Anzahl abs.	Häufigkeit in %	
Biopsie subk. Fett in Formalin (kein Anzeichen einer Erkrankung)	16	94,1	1	5,9	17
Biopsie subk. Fett direkt gepresst (kein Anzeichen einer Erkrankung)	3	100	0	0	3
Biopsie Kolon in Formalin (kein Anzeichen einer Erkrankung)	3	100	0	0	3
Biopsie subk. Fett direkt gepresst (Anzeichen einer Erkrankung/ Niereinsuffizienz)	0	0	2	100	2
Biopsie Kolon in Formalin (Anzeichen einer Erkrankung/ Niereninsuffizienz)	0	0	1	100	1
Biopsie subk. Fett in Formalin (post mortem)	1	50	1	50	2
Biopsie subk. Fett direkt gepresst (post mortem)	0	0	2	100	2
Biopsie Haut in Formalin (post mortem)	2	100	0	0	2

Weiterhin wurde bei 2 Tieren mit Anzeichen einer Niereninsuffizienz Biopsiematerial subkutanen Fettgewebes entnommen und direkt nach Entnahme gepresst und luftgetrocknet. Beide Biopsien wurden positiv auf Amyloid getestet. Diese Biopsien entstammten Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal, Zuchtbuchnummern 417 und 456.

Um die Biopsiemethoden zu optimieren, wurde bei zwei Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal (Zuchtbuchnummern 452 und 461) post mortem Biopsiematerial subkutanen Fettgewebes entnommen und einerseits in 10 % Formalin verbracht und andererseits - wie oben erwähnt - gepresst und luftgetrocknet.

Von den 2 Biopsien welche in Formalin verbracht wurden, wurde 1 positiv auf Amyloid getestet. Die Untersuchung auf Amyloid aus dem gepressten Material verlief in beiden Fällen positiv.

Außerdem wurden bei 3 Tieren aus dem Zoo Wuppertal (Zuchtbuchnummern 469, 482 und 512), welche keine Anzeichen einer Erkrankung aufwiesen, Kolonbiopsien durchgeführt. Bei keinem der 3 Tiere konnte Amyloid im Biopsiematerial nachgewiesen werden. Aus dem Kolonbiopsiematerial einer Schwarzfußkatze (Zuchtbuchnummer 461), welche klinische Anzeichen einer Niereninsuffizienz aufwies, konnte Amyloid extrahiert werden. Die Untersuchungen der 2 gewonnenen Hautbiopsien verliefen beide negativ.

### **4.1.4 Klassifizierung des Amyloids**

Die immunhistochemische Klassifizierung des aus dem Biopsiematerial gewonnenen Amyloids (vgl. 4.1.3) wurde ebenfalls von Prof. R. P. Linke durchgeführt. Die Untersuchungen ergaben, dass es sich bei allen Ablagerungen (100 %) der Tiere sowohl aus dem Zoo Wuppertal als auch aus dem Freiland, um Ablagerungen von Amyloidfibrillen des Typ AA handelt.

## **4.2 Konzentrationen von APP in Blutproben von Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal und aus dem Freiland**

Mit der Bestimmung von SAA, AGP und Haptoglobin aus Blutproben der Schwarzfußkatzen wurde die Akute Phase Protein-Arbeitsgruppe - Prof. P. D. Eckersall - Institut für Vergleichende Medizin der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Glasgow, UK, beauftragt. Die Bestimmung von Kreatinin und Harnstoff im Blutplasma erfolgte ebenfalls in einem Labor der genannten Fakultät.

In Tabelle 16 sind die aus Blutproben von Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal gemessenen Konzentrationen der APP aufgeführt und den gemessenen Harnstoff- bzw. Kreatininkonzentrationen sowie den ermittelten Leukozytenzahlen gegenübergestellt.

Tabelle 17 zeigt die APP-Konzentrationen mit den jeweils parallel gemessenen Harnstoff- bzw. Kreatininwerten von Schwarzfußkatzen aus dem Freiland. Hier wurden auch die Leukozytenzahlen aufgeführt, soweit deren Messung durchgeführt werden konnte. Dies war aufgrund unzureichender Volumina nicht bei jedem Tier möglich.

Tab. 16: APP-, Harnstoff- und Kreatinin-Konzentrationen im Serum, SFK Zoo Wuppertal

ZB-Nr.	Entnahmedatum	SAA ( < 20 mg/L) Mean	AGP ( < 1 - 1,5 g/L) Mean	Hp ( < 2 g/L) Mean	Leukozyten (G/L)	Harnstoff 9 - 16 mMol/L	Kreatinin 80 - 130 µMol/L	Amyloid / Amyloidose?
<b>417</b>	05.11.2002	0,22	1,34	0,34	11,20	52,3	127	
	08.11.2002	0,63	1,64	0,50	6,30	49,6	317	positiv
<b>452</b>	05.01.2005	0,60	1,73	0,83	3,50	17,7	79	
	20.05.2005	0,40	1,82	0,96	6,30	28,8	232	
	24.03.2006	0,55	1,69	0,59	3,55	53,1	422	positiv
<b>457</b>	20.04.2004	0,56	1,37	1,48	6,55	69,3	347	
	26.04.2004	0,95	1,24	4,05	3,00	55,4	444	
	05.05.2004	17,95	1,10	4,57	2,40	60,1	428	
	07.05.2004	1,48	1,40	7,17	3,00	71,2	417	positiv
<b>461</b>	07.01.2005	0,59	1,19	1,14	6,50	42,6	247	
	02.05.2005	2,61	1,22	3,95	3,00	64,1	377	
	03.08.2005	4,77	1,47	2,62	3,55	90,2	772	positiv
<b>469</b>	27.05.2005	0,22	1,58	0,50	6,80	10,4	79	negativ
<b>487</b>	16.07.2005	0,44	1,19	0,26	6,30	11,3	98	negativ
<b>482</b>	09.02.2005	0,65	1,33	0,53	7,00	10,3	95	
	28.03.2006	0,30	1,56	0,67	6,80	10,8	86	
	06.06.2007	0,45	0,76	0,95	3,90	12,1	85	
	08.06.2007	49,17	1,01	4,50	5,00	15,5	66	negativ
<b>512</b>	06.06.2007	0,33	0,57	0,58	5,00	14,7	105	
	08.06.2007	40,95	1,36	6,15	8,70	14,1	57	negativ

Tab. 17: APP-, Harnstoff- und Kreatinin-Konzentrationen im Serum, SFK Freiland

Chip-Nr.	Entnahmedatum	SAA ( $< 20$ mg/L) Mean	AGP ( $< 1 - 1,5$ g/L) Mean	Hp ( $< 2$ g/L) Mean	Leukozyten (G/L)	Harnstoff (9 - 16 mMol/L)	Kreatinin (80 - 130 $\mu$ Mol/L)	Amyloid / Amyloidose?
<b>098510000-6606708 „Nanu“</b>	zwischen März 1997-Januar 1998	0,26	1,33	0,43	8,8	25,9	104	nicht bekannt
<b>098510000-5800879 „Aris“</b>	zwischen März 1997-Januar 1998	0,12	1,23	1,48	12,8	9,6	90	
	zwischen März 1997-Januar 1998	0,42	1,30	1,46		9,0	80	nicht bekannt
<b>098570000-565307 „Spok“</b>	zwischen März 1997-Januar 1998	0,40	1,12	1,70	11,0	13,5	98	
	zwischen März 1997-Januar 1998	0,06	1,14	1,19	6,0	11,0	79	nicht bekannt
<b>098510000-5905648 „Lasa“</b>	zwischen März 1997-Januar 1998	0,16	0,71	3,02	10,9	23,3	83	
	zwischen März 1997-Januar 1998	0,40	0,89	2,85	8,3	20,1	71	nicht bekannt
<b>098510000-5963267 „Rana“</b>	zwischen März 1997-Januar 1998	0,36	1,56	0,46	9,4	17,7	77	
<b>098570000-5881829 „Feli“</b>	zwischen März 1997-Januar 1998	0,10	1,20	0,48		42,9	263	
	zwischen März 1997-Januar 1998	0,24	1,33	0,62		16,1	67	nicht bekannt
<b>098510000-5678145 „Cleo“</b>	zwischen März 1997-Januar 1998	0,46	1,16	0,98		15,9	94	
<b>098510000-5606810 „Venus“</b>	zwischen März 1997-Januar 1998	0,52	1,44	1,04	6,0	13,4	96	
	zwischen März 1997-Januar 1998	0,30	1,35	0,99	3,5	12,9	60	nicht bekannt
<b>„Taro“</b>	zwischen März 1997-Januar 1998	2,14	0,87	3,62	6,8	21,4	72	
	zwischen März 1997-Januar 1998	3,23	1,04	4,10	7,2	21,2	74	nicht bekannt

Fortsetzung Tab. 17: APP-, Harnstoff- und Kreatinin-Konzentrationen im Serum, SFK Freiland

Chip-Nr.	Entnahmedatum	SAA ( $< 20$ mg/L) Mean	AGP ( $< 1 - 1,5$ g/L) Mean	Hp ( $< 2$ g/L) Mean	Leukozyten (G/L)	Harnstoff ( $9 - 16$ mMol/L)	Kreatinin ( $80 - 130$ $\mu$ Mol/L)	Amyloid / Amyloidose?
<b>676D916</b>	02.11.2005	0,14	1,16	1,95		14,3	105	nicht bekannt
<b>676BF69</b>	05.11.2005	0,81	1,52	1,15		26,4	73	nicht bekannt
<b>676CA99</b>	05.11.2005	1,41	1,53	1,30		25,7	70	nicht bekannt
<b>689600B</b>	11.11.2006	0,40	1,38	0,12	3,9	15,4	58	nicht bekannt
<b>68A0444</b>	12.11.2006	0,40	1,77	1,07		16,3	84	nicht bekannt
<b>6895205</b>	13.11.2006	0,30	1,92	0,85	7,3	21,3	94	
	11.05.2007	0,17	1,39	0,78		20,2	78	nicht bekannt
<b>6897006</b>	19.11.2006	1,07	1,49	1,23		19,7	90	
	14.05.2007	0,48	0,44	0,53		15,0	88	nicht bekannt
<b>68A119F</b>	09.05.2007	1,14	0,80	0,47		17,4	54	nicht bekannt
<b>68AE822</b>	12.05.2007	1,14	1,11	0,62		19,8	72	nicht bekannt
<b>689561F</b>	13.05.2007	0,51	0,77	0,76		19,9	93	positiv
<b>6897D88</b>	23.05.2007	1,22	0,77	0,91		24,8	60	nicht bekannt

#### 4 Ergebnisse

Es wurden ROC-Analysen durchgeführt, um zu klären, ob die Messungen von Harnstoff- und Kreatininkonzentrationen dazu geeignet sind, Hinweise darauf zu geben, ob Schwarzfußkatzen an Amyloidose erkrankt sind oder nicht.

Abbildungen 14 und 15 zeigen die aus der ROC-Analyse abgeleiteten Kurven für die gemessenen Konzentrationen von Harnstoff bzw. Kreatinin bei Schwarzfußkatzen, für die ein Befund bezüglich einer Amyloidose vorliegt

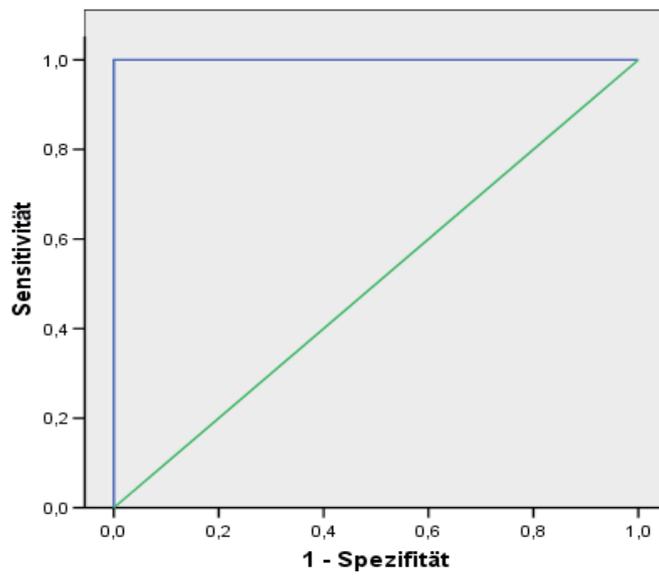


Abb. 14 : ROC-Kurve für Harnstoffkonzentrationen von Schwarzfußkatzen bezüglich dem möglichen Vorliegen einer Amyloidose

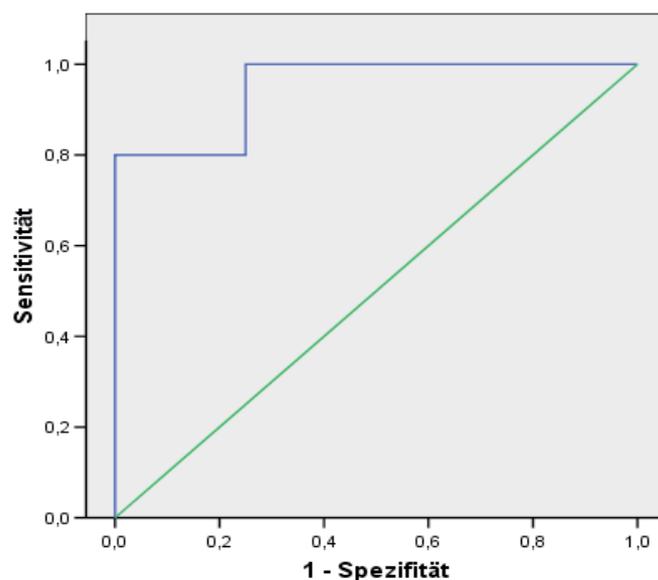


Abb. 15: ROC-Kurve für Kreatininkonzentrationen von Schwarzfußkatzen bezüglich dem möglichen Vorliegen einer Amyloidose

In Abbildungen 16 - 21 sind die Konzentrationen von SAA, AGP und Haptoglobin sowohl von Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal als auch aus dem Freiland dargestellt.

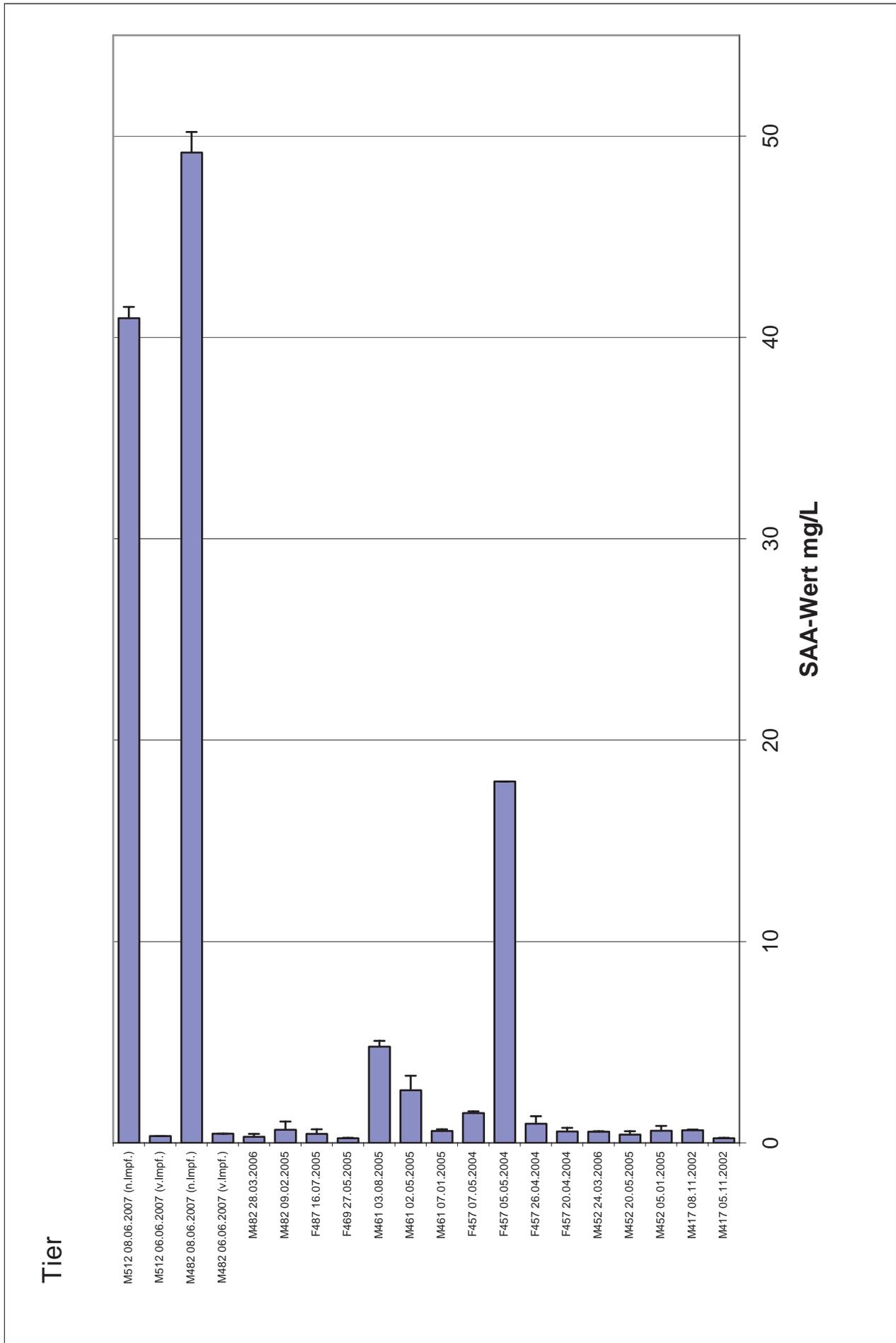


Abb. 16: SAA Mittelwerte Schwarzfußkatzen Zoo Wuppertal

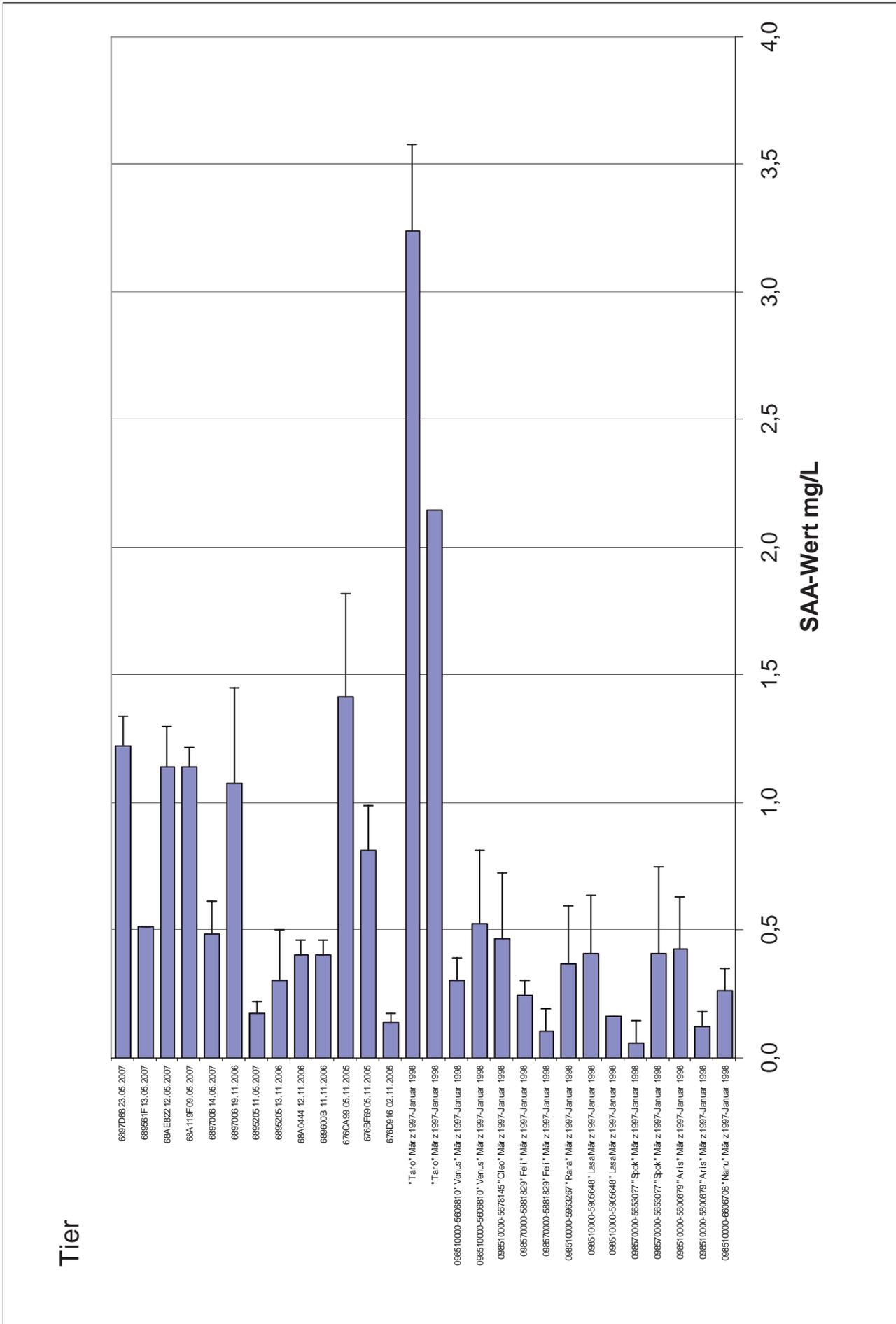


Abb. 17: SAA Mittelwerte Schwarzfußkatzen Freiland

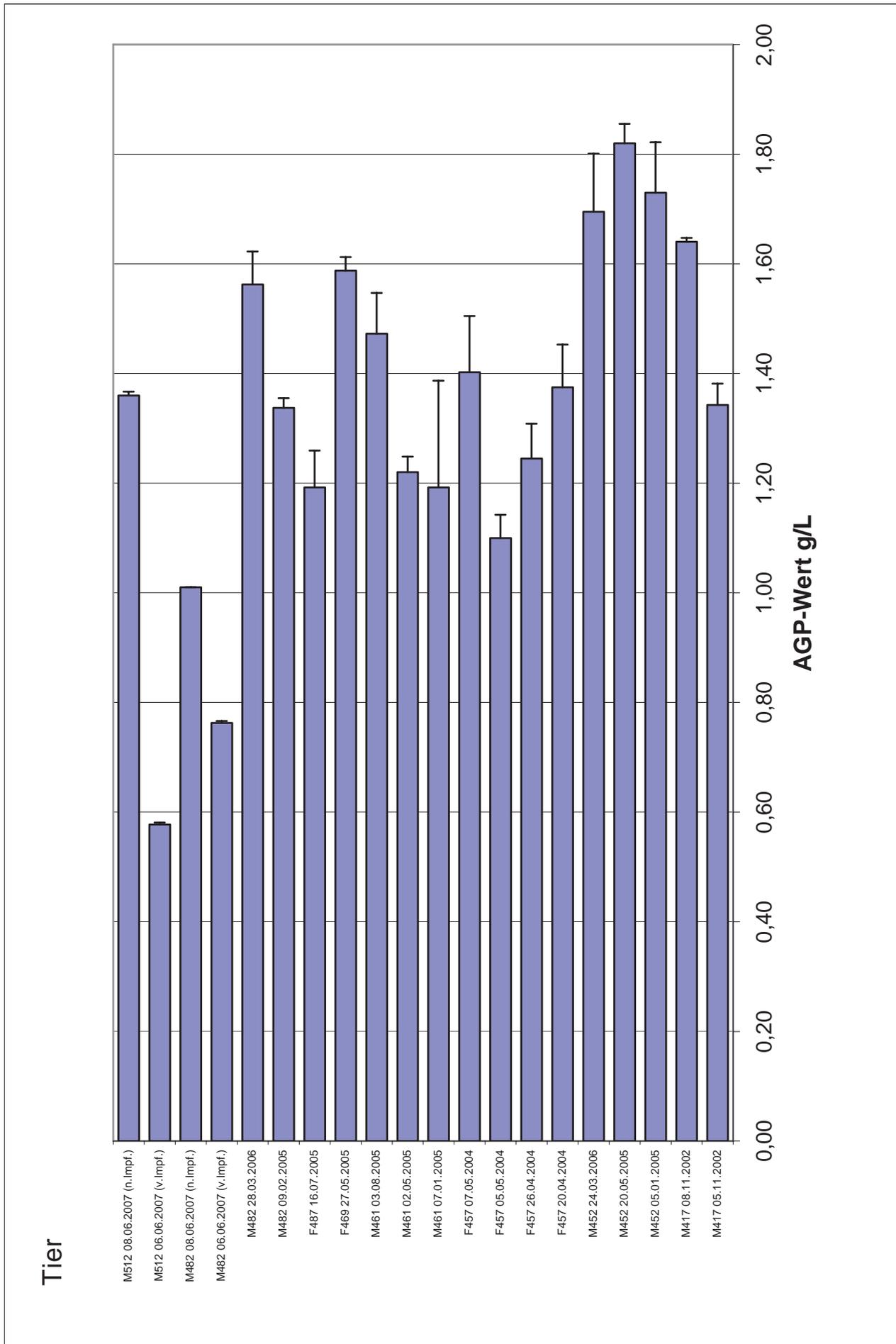


Abb. 18: AGP Mittelwerte Schwarzfußkatzen Zoo Wuppertal

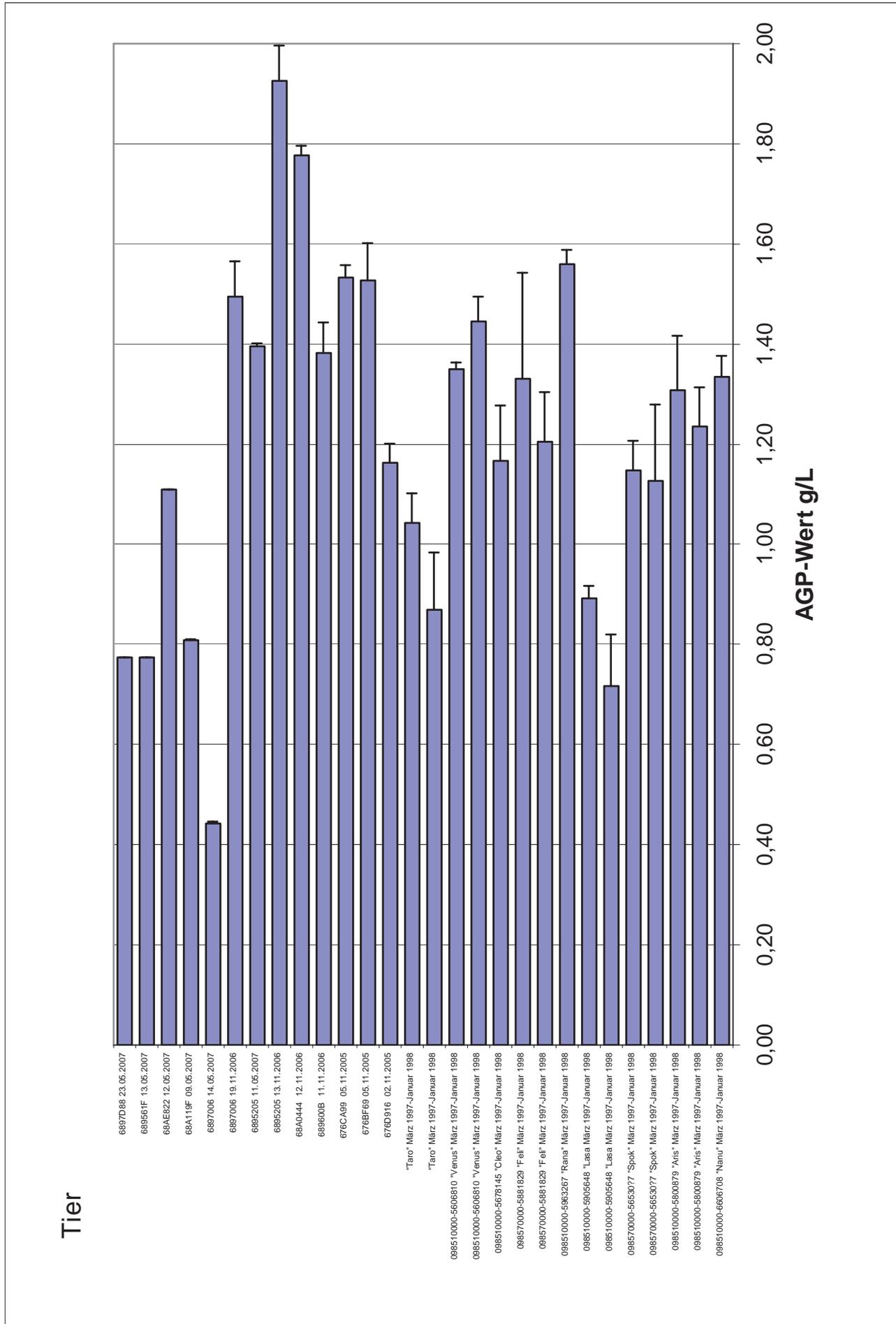


Abb. 19: AGP Mittelwerte Schwarzfußkatzen Friesland

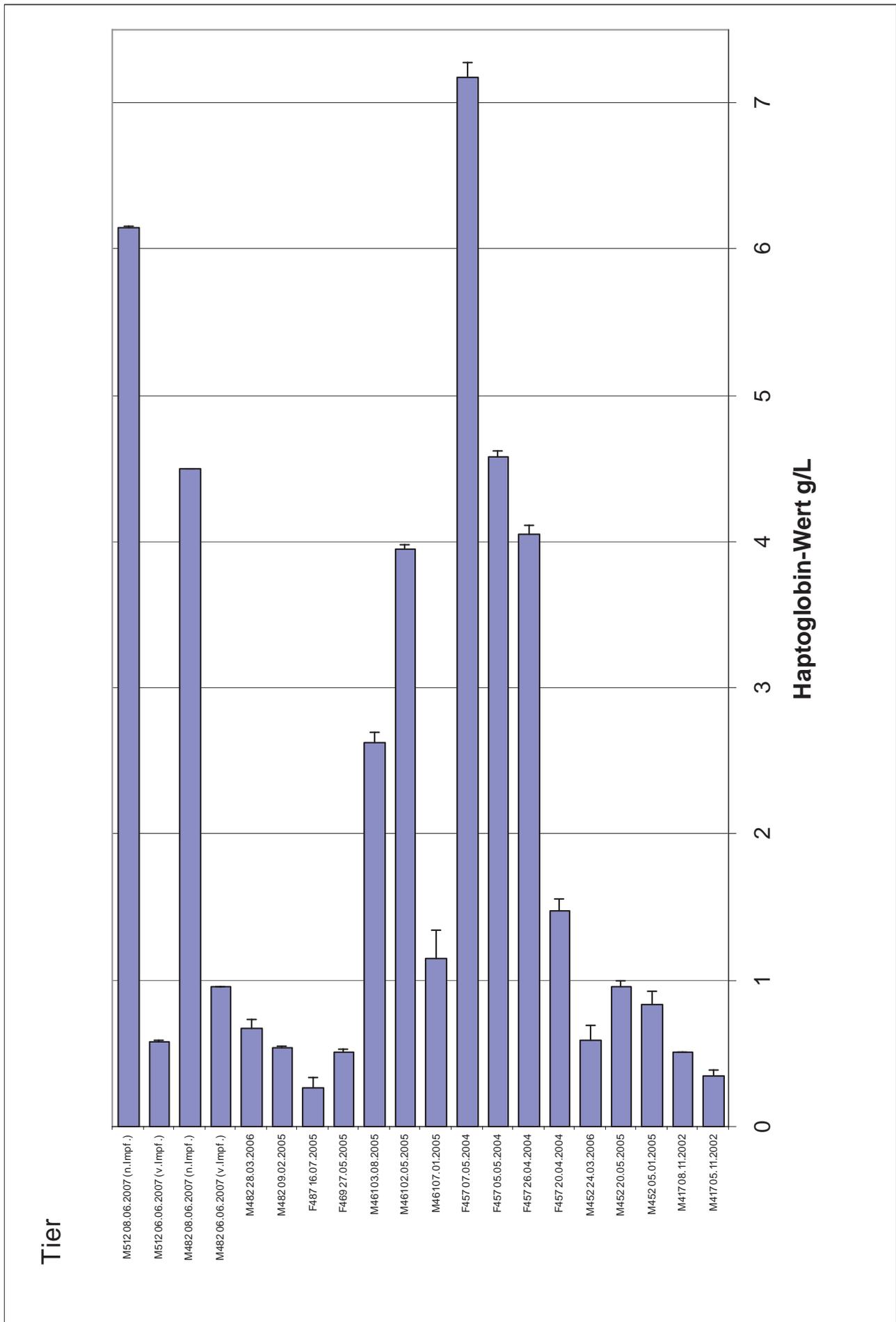


Abb. 20: Hp Mittelwerte Schwarzfußkatzen Zoo Wuppertal

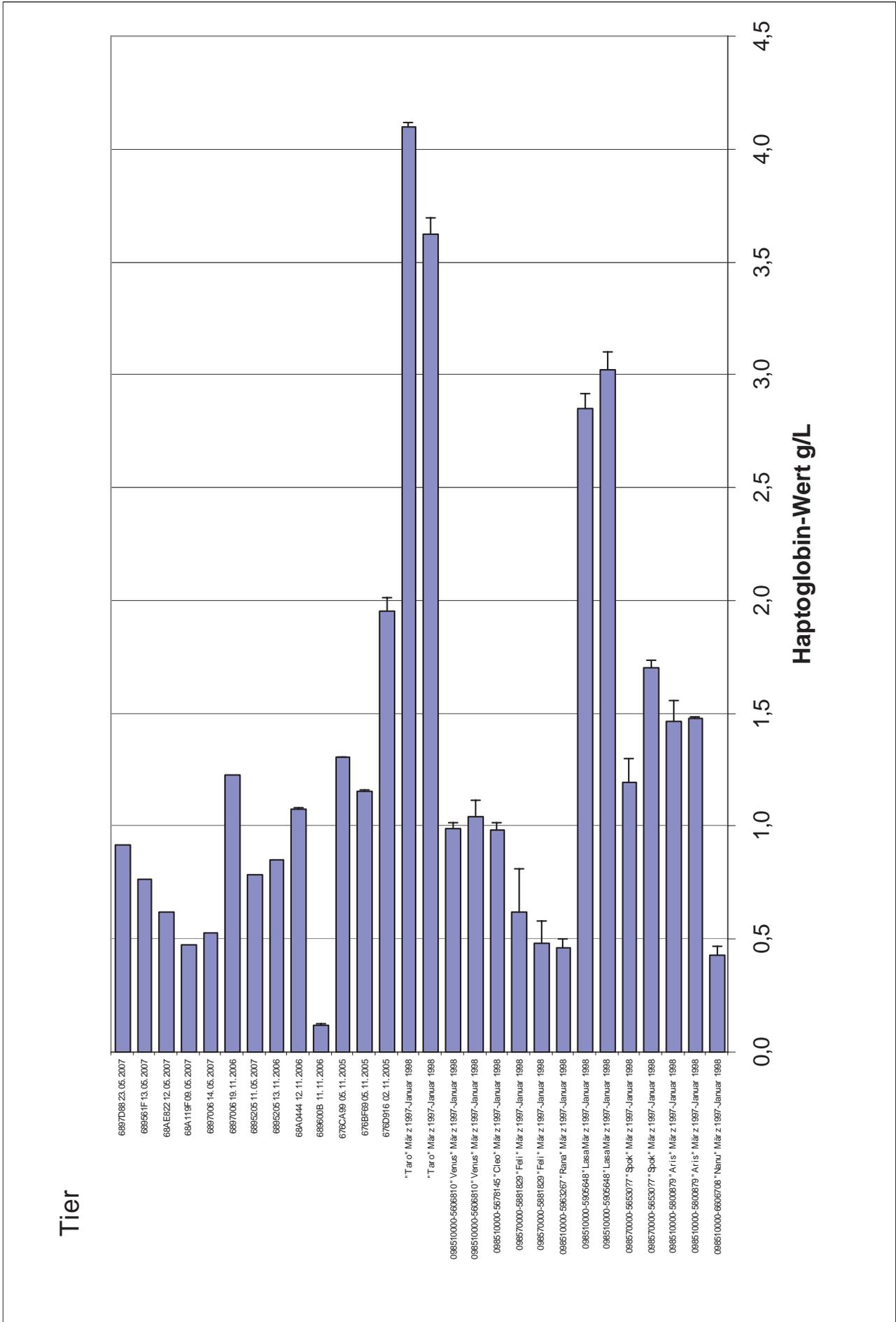


Abb. 21: Hp Mittelwerte Schwarzfußkatzen Freiland

#### 4 Ergebnisse

Die Beziehung zwischen den Variablen SAA, AGP, Haptoglobin (jeweils Mittelwerte), Leukozyten, Harnstoff und Kreatinin wurden mittels Korrelationen untersucht.

In Tabelle 18 sind die sich für die Gesamtdaten ergebenden Einzelkorrelationen aufgeführt.

Tab. 18: Korrelationen der Messwerte SAA, AGP, Hp, Leukozyten, Harnstoff und Kreatinin

		Korrelationen					
		SAA Mean (mg/L)	AGP Mean (g/L)	Haptoglobin Mean (g/L)	Leukozyten	Harnstoff (mmol/L)	Kreatinin (umol/L)
SAA Mean (mg/L)	Korrelation nach Pearson	1	-,079	,567**	-,072	-,009	-,002
	Signifikanz (2-seitig)		,595	,000	,690	,953	,990
	N	48	48	48	33	48	48
AGP Mean (g/L)	Korrelation nach Pearson	-,079	1	-,134	-,098	,174	,201
	Signifikanz (2-seitig)	,595		,366	,587	,236	,170
	N	48	48	48	33	48	48
Haptoglobin Mean (g/L)	Korrelation nach Pearson	,567**	-,134	1	-,201	,370**	,340*
	Signifikanz (2-seitig)	,000	,366		,261	,010	,018
	N	48	48	48	33	48	48
Leukozyten	Korrelation nach Pearson	-,072	-,098	-,201	1	-,387*	-,493**
	Signifikanz (2-seitig)	,690	,587	,261		,026	,004
	N	33	33	33	33	33	33
Harnstoff (mmol/L)	Korrelation nach Pearson	-,009	,174	,370**	-,387*	1	,916**
	Signifikanz (2-seitig)	,953	,236	,010	,026		,000
	N	48	48	48	33	48	48
Kreatinin (umol/L)	Korrelation nach Pearson	-,002	,201	,340*	-,493**	,916**	1
	Signifikanz (2-seitig)	,990	,170	,018	,004	,000	
	N	48	48	48	33	48	48

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

\* . Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

Bei Fallzahlen zwischen  $n = 33$  und  $n = 48$  mit gültigen Werten in beiden Variablen ergeben sich insgesamt sechs signifikante Korrelationen auf der Ebene der Gesamtgruppe:

Starke korrelative Zusammenhänge mit positivem Vorzeichen zeigen sich mit  $r = .916$  ( $p < .001$ ) zwischen Harnstoff und Kreatinin sowie zwischen Haptoglobin und dem SAA-Mittelwert ( $r = .567$ ;  $p < .001$ ). Beide Zusammenhänge sind höchst signifikant und auf dem 0,1%-Niveau abgesichert.

Mittlere Zusammenhänge in einer Höhe zwischen .370 und .493 im Betrag des Korrelationskoeffizienten ergeben sich zwischen:

- Harnstoff und Haptoglobin ( $r = .370$  ;  $p = .010$ )
- Kreatinin und Haptoglobin ( $r = .340$  ;  $p = .018$ )
- Harnstoff und Leukozyten ( $r = -.387$  ;  $p = .026$ )
- Kreatinin und Leukozyten ( $r = -.493$  ;  $p = .004$ )

Die Korrelationen zwischen Haptoglobin einerseits und Harnstoff/ Kreatinin andererseits sind positiv in der Richtung des Zusammenhanges. Höhere Werte in der einen Variablen gehen also tendenziell mit höheren Werten in der anderen Variablen einher. Die Zusammenhänge der Leukozytenzahlen mit den beiden anderen Variablen sind dagegen negativ, hier führen höhere Harnstoff- bzw. Kreatinin-Werte tendenziell zu niedrigeren Leukozytenwerten. Alle anderen Korrelationen lassen sich nicht gegen reine Zufallseffekte absichern.

#### 4.2.1 Vergleich der APP-Konzentrationen im Blut von Schwarzfußkatzen vor und nach einer Impfung (provozierte Akute Phase Reaktion)

In Abbildungen 22 - 25 sind die Konzentrationen von SAA, AGP und Hp sowie der Leukozytenzahlen im Blut der Schwarzfußkatzen ZB-Nr. 512 und ZB-Nr. 482 sowohl vor als auch nach der Impfung graphisch dargestellt. 48 h nach der Impfung wurde ein Anstieg der Konzentrationen von SAA um ein 110-faches, von AGP um ein 2-faches und von Hp um ein 7-faches gemessen. Die Leukozytenzahl stieg um ein 1 1/2- bis 2-faches an.

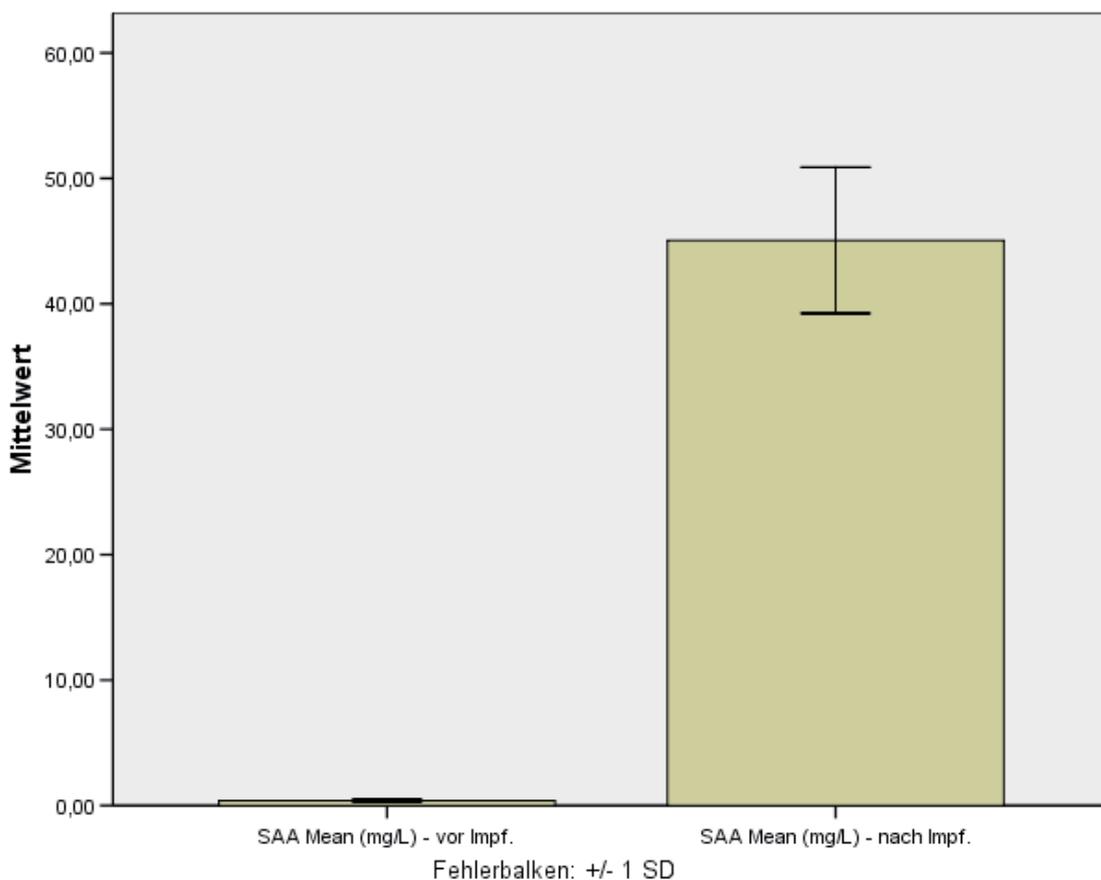


Abb. 22: Konzentration von SAA im Blut der Schwarzfußkatzen ZB-Nr. 512 und ZB-Nr. 482 vor und nach der Impfung

## 4 Ergebnisse

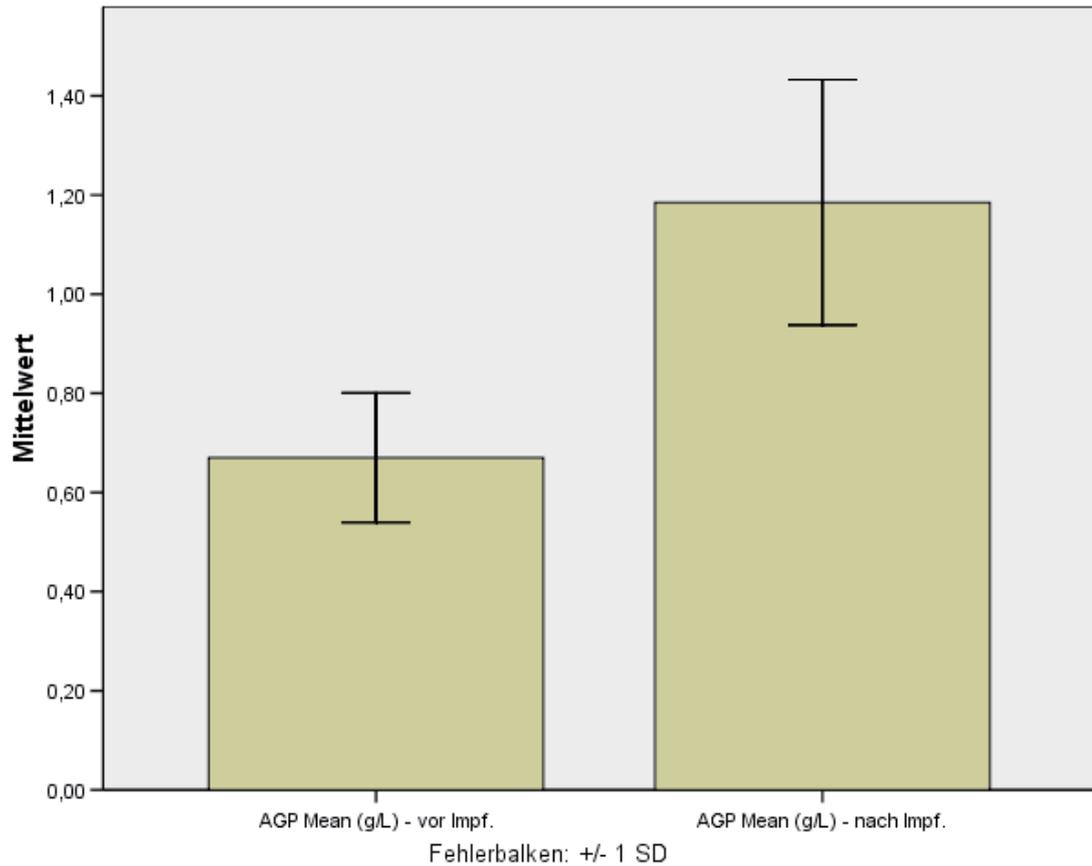


Abb. 23: Konzentration von AGP im Blut der Schwarzfußkatzen ZB-Nr. 512 und ZB-Nr. 482 vor und nach der Impfung

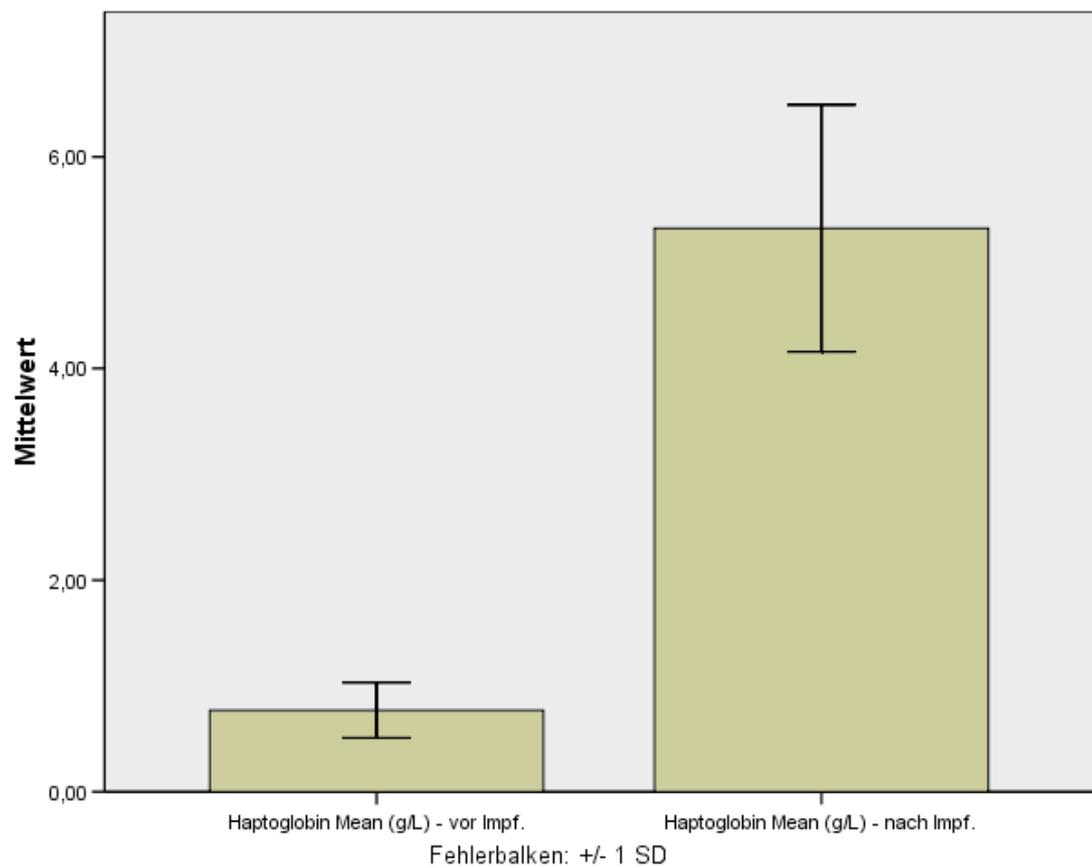


Abb. 24: Konzentration von Hp im Blut der Schwarzfußkatzen ZB-Nr. 512 und ZB-Nr. 482 vor und nach der Impfung

## 4 Ergebnisse

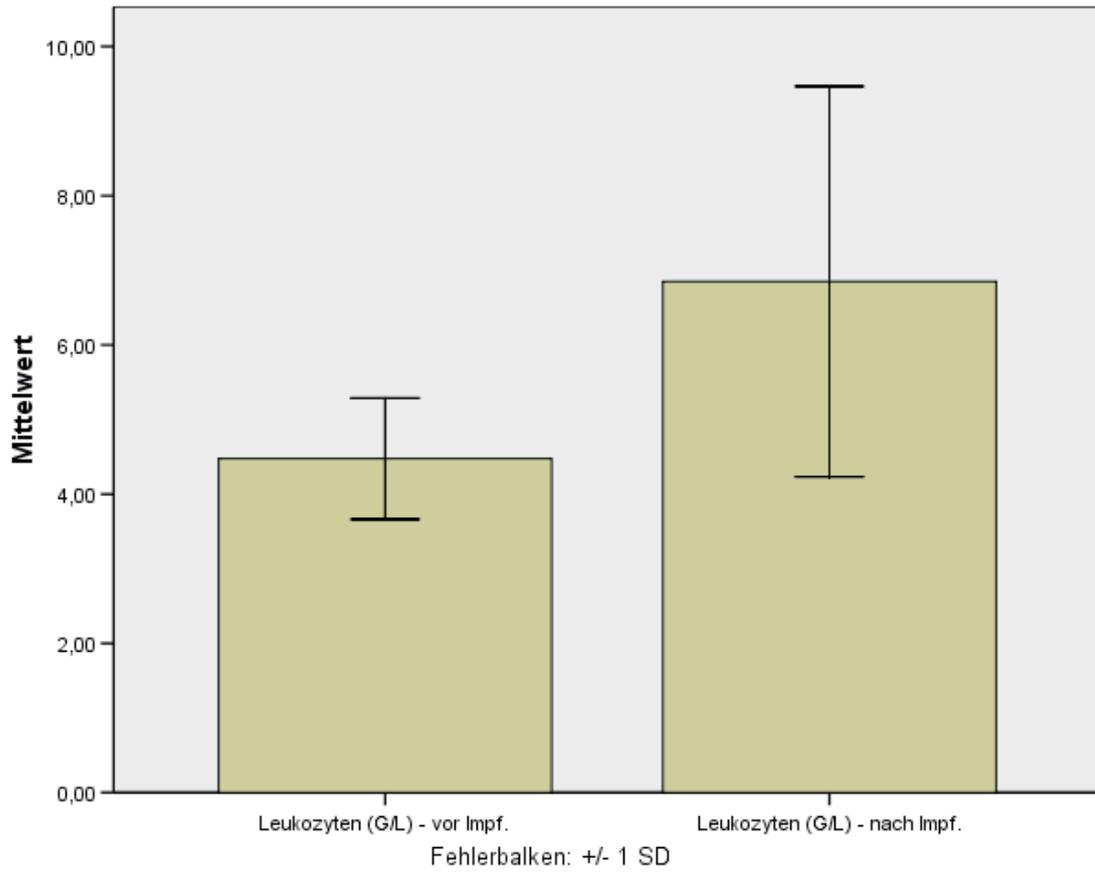


Abb. 25: Konzentration von Leukozyten im Blut der Schwarzfußkatzen ZB-Nr. 512 und ZB-Nr. 482 vor und nach der Impfung

## 5 Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es u. a., die Inzidenz der Amyloidose bei Schwarzfußkatzen, bei denen eine Niereninsuffizienz als Todesursache angegeben wurde, zu deuten. Dazu musste das Untersuchungsmaterial in zwei Fraktionen unterteilt werden. Die eine Fraktion umfasst die Tiere, die vor August 1992 - dem Zeitpunkt des ersten Nachweises von Amyloidablagerungen bei Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal - verstorben waren. Die zweite Fraktion umfasst Tiere, die nach diesem ersten Nachweis untersucht wurden. Für Tiere mit Todesdatum vor August 1992 ist davon auszugehen, dass eine Untersuchung auf Amyloid nicht stattgefunden hat. Der Nachweis von Amyloid bei an Niereninsuffizienz verstorbenen Schwarzfußkatzen mit Todesdatum ab August 1992 ist mit einer festgestellten Inzidenz von 58,1 % ein sehr häufig auftretender Befund. Mit einer Inzidenz von 35,5 % stellt der Hauptbefund der generalisierten Amyloidose in Verbindung mit einer chronischen Niereninsuffizienz bei Schwarzfußkatzen eine sehr häufig auftretende Krankheit dar. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit Untersuchungen von TERIO (2008), die bei 84 % der untersuchten Schwarzfußkatzen vor allem aus der nordamerikanischen Population Amyloidablagerungen in mindestens einem Organ nachweisen konnte sowie den Untersuchungen von DENZLER (1989) und PAPENDICK et al. (1997), die eine hohe Inzidenz von Amyloidose bei Geparden aus menschlicher Obhut diagnostiziert haben.

Trotz der geringen Fallzahl lässt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer chronischen Niereninsuffizienz und dem Nachweis von Amyloidablagerungen bei Schwarzfußkatzen feststellen. Somit kann angenommen werden, dass sich auf der Basis der Verteilung ab August 1992, d. h. mit Nachweis von Amyloidablagerungen, bei 58,1 % der an Niereninsuffizienz verstorbenen Tiere, in der Fraktion der Tiere mit Befund einer Niereninsuffizienz und einem Todesdatum vor August 1992 wenigstens 10 Tiere mit Amyloidablagerungen befunden haben müssen.

Da retrospektiv nicht definitiv festgestellt werden konnte, ob tatsächlich alle Tiere mit dem Befund einer chronischen Niereninsuffizienz nach 1992 auf Amyloidablagerungen hin untersucht wurden, ist davon auszugehen, dass die allgemeine Inzidenz der Amyloidose bei Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal entsprechend den Untersuchungsergebnissen von TERIO (2008) sogar noch höher liegen dürfte. Es ist außerdem bemerkenswert, dass bei allen Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal, die ab dem Jahr 2000 verstorben sind, Amyloidablagerungen in verschiedenen Organen nachgewiesen wurden.

Übereinstimmend mit den Beobachtungen von TERIO (2008) ließ sich auch bei dieser Untersuchung keine Geschlechtsprädisposition feststellen.

Bezüglich einer eventuellen Altersprävalenz konnte bei der Fraktion der Schwarzfußkatzen, welche nach August 1992 verstarben und die Merkmalskombination Niereninsuffizienz und generalisierte Amyloidose aufwiesen, ein Mittelwertunterschied von fast 700 Tagen zugunsten der Tiere festgestellt werden, welche aufgrund anderer Ursachen verstarben. Die durchschnittliche

Lebensdauer dieser Tiere liegt somit bei mehr als dem 1½-fachen der Lebensdauer der Tiere mit Niereninsuffizienz und generalisierter Amyloidose. Es lässt sich angesichts der geringen Fallzahlen jedoch keine Signifikanz im Hinblick auf eine Altersprävalenz feststellen. Diese Beobachtung steht in Einklang mit der von DI BARTOLA et al. (1986), welche bei Abyssinier-Katzen ebenfalls keine eindeutige Korrelation zwischen Alter und Amyloidose feststellen konnten. Nach den Beobachtungen dieser Autoren ist davon auszugehen, dass der Grad der Amyloidablagerung und somit das Fortschreiten der Erkrankung in zunehmendem Alter bei betroffenen Katzen keinem einheitlichen Muster folgt. So konnten sie einerseits rapide und schwere Verlaufsformen bei Tieren beobachten, welche bereits in einem jungen Alter verstarben, andererseits erreichten Tiere mit milderem Verlauf der Amyloidose, deren Nierenfunktion nur in einem geringen Maß eingeschränkt war, ein fortgeschrittenes Alter.

Ob es sich bei der generalisierten Amyloidose der Schwarzfußkatzen um die sogenannte sekundäre reaktive Form der Amyloidose handelt, konnte nicht eindeutig geklärt werden. In 91 Prozent der Fälle von generalisierter Amyloidose wurden bei den untersuchten Schwarzfußkatzen Anzeichen chronischer Krankheiten festgestellt. In Übereinstimmung mit TERIO (2008) wurden dabei am häufigsten chronische Entzündungen innerhalb des Gastrointestinaltrakts unbekannter Genese beobachtet. Die Autorin bezweifelt jedoch, dass es sich bei diesen Befunden um die Primärursache der Amyloidose der Schwarzfußkatzen handelt, da auch 75 % der von ihr untersuchten, nicht an Amyloidose verstorbenen Tiere, entsprechende Entzündungsgeschehen aufwiesen. Im untersuchten Sektionsgut konnte bei insgesamt 57,1 % der Schwarzfußkatzen, welche an einer chronischen Niereninsuffizienz verstarben, entsprechende Entzündungsgeschehen nachgewiesen werden. Zu Tieren, welche an einer anderen Todesursache starben, lagen diesbezüglich keine Informationen vor. Übereinstimmend mit DI BARTOLA u. BENSON (1998) konnte das Auftreten der mit der Amyloidose assoziierten Begleiterkrankungen nur selten in Verbindung zu einem definierten Erreger gestellt werden. Aufgrund der langen Verlaufszeit, sowohl der Amyloidose als auch der assoziierten chronischen Entzündungsgeschehen, ist auch nicht in jedem Fall abzuschätzen, ob es sich bei letzteren um eine Ursache oder eine Folge der Amyloidose handelt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen der Serumkonzentrationen von SAA, AGP und Hp scheinen die Theorie, dass es sich bei der Amyloidose der Schwarzfußkatzen nicht um eine sekundäre, systemisch reaktive Amyloidose handelt, zu bestätigen. Die Untersuchungen von SASAKI et al. (2003), KAJIKAWA et al. (1999), HARVEY u. GASKIN (1978) und DUTHIE et al. (1997) zeigten einen Anstieg von SAA, AGP und Hp um ein Vielfaches im Rahmen einer APR in Zusammenhang mit unterschiedlichsten Infektionskrankheiten und Entzündungsgeschehen. Zudem konnten BENSON u. COHEN (1979) in ihren Untersuchungen zeigen, dass SAA nicht nur als Indikator für Entzündungen sowohl akuter als auch chronischer Natur dienen kann, sondern auch als diagnostischer Parameter in der Differenzierung zwischen primären, idiopathischen bzw. sekundären, reaktiven Amyloidoseformen geeignet ist. Die Autoren konnten bei Patienten mit

einer sekundären reaktiven Amyloidose signifikant höhere Serumkonzentrationen messen als bei Patienten mit einer Amyloidose der primären, idiopathischen Ausbildungform. In vorliegender Untersuchung ergab sich bei keinem der an Amyloidose verstorbenen Tiere eine Erhöhung der Serumkonzentrationen der aufgeführten APP über die Normwerte hinaus. Weiterhin konnte zwischen den Serumkonzentrationen von SAA und AGP einerseits und den Konzentrationen von Harnstoff und Kreatinin, andererseits keine Korrelation festgestellt werden. Die ROC-Analyse zeigt jedoch, dass gerade diese Parameter dazu geeignet sind, anzuzeigen, ob Schwarzfußkatzen an einer Amyloidose erkrankt sind oder nicht. Zwischen den Serumkonzentrationen von Hp bzw. denen von Harnstoff und Kreatinin zeigten sich mittlere korrelative Zusammenhänge. Diese Ergebnisse sowie die negative Korrelation der Leukozytenzahlen mit den beiden Variablen Harnstoff und Kreatinin zeigen, dass bei keinem der an Amyloidose verstorbenen Tiere Infektionen oder Entzündungen einer derartigen Ausprägung vorgelegen haben können, dass sie für eine sekundäre reaktive Amyloidose verantwortlich gemacht werden könnten.

Außerdem ließen sich in vorliegender Untersuchung, sowohl bei Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal als auch bei Tieren aus dem Freiland, keine generell erhöhten Serumkonzentrationen von SAA über die von Prof. Eckersall (persönliche Mitteilung, Glasgow, 2007) angegebenen Normwerte (20 mg/L) hinaus nachweisen. Die Wahrscheinlichkeit einer genetischen Disposition für grundsätzlich erhöhte Serumkonzentrationen von SAA ist bei dieser Tierart also als sehr gering einzuschätzen.

MUNSON et al. (2005) führen das gehäufte Auftreten von Amyloidose bei Geparden in menschlicher Obhut im Vergleich zu Tieren aus dem Freiland auf den intensiven Einfluss morphologisch nicht erfassbarer Faktoren, wie äußerliche (Umwelt-) Einflüsse und soziobiologische Faktoren, zurück. Die Autoren vermuten, dass solche psychosoziale Belastungsfaktoren hinsichtlich der Amyloidogenese dem gleichen pathogenetischen Prinzip gehorchen wie chronische Erkrankungen. Langandauernde Stresszustände könnten über neuroendokrine Mechanismen zu einer Aktivierung von Makrophagen mit nachfolgender Interleukin-Freisetzung führen, was eine vermehrte Bildung von APP zur Folge habe. Wie oben aufgeführt, ließen sich jedoch bei keinem der Tiere aus dem Zoo Wuppertal erhöhte Werte dieser Serumparameter nachweisen. Dieses Ergebnis lässt nicht auf eine Dauerbelastung der Tiere durch psychosoziale Faktoren schließen. Um die Vermutung bezüglich solcher Mechanismen belegen zu können, sind weitere Untersuchungen u. a. mittels nicht invasiver Analysemethoden, zum Beispiel durch die Messung von Kortikosteroiden in Fäzes erforderlich, welche auf eine mögliche Hyperfunktion der Nebennieren schließen ließe (MUNSON u. TERIO 2005).

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von SCHULZE et al. (1998) müssen in Ermangelung jeglicher eindeutiger primärer Kausalfaktoren die bei Schwarzfußkatzen auftretenden Fälle von Amyloidose als idiopathische generalisierte Amyloidosen bezeichnet werden. Eine genetische familiäre Veranlagung, ähnlich dem Familiären Mittelmeerfieber beim Menschen und wie sie DI BARTOLA et al. (1986b, 1990) bei Abyssinier-Katzen und der Hunderasse

Shar Pei nachgewiesen haben, kann jedoch nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden. Weitere entsprechende Untersuchungen sind notwendig, um diese Theorie zu prüfen.

Die Lokalisation der Amyloidablagerungen im Untersuchungsgut unterscheidet sich nicht von den von anderen Untersuchern beschriebenen Lokalisationen (NAKAMATSU et al. 1966; CLARK u. SEAWRIGHT 1969; DI BARTOLA 1986b; TERIO 2008). Das am häufigsten betroffene Organ war die Niere, wobei Ablagerungen zu gleichen Teilen im medullären Interstitium bzw. in den Glomeruli nachgewiesen wurden, gefolgt von Milz und Magen.

Seltener fanden sich Ablagerungen in den verschiedenen Darmabschnitten und in der Leber. Es wurden in einem Fall Organe in die Untersuchung mit einbezogen, welche bei Routineuntersuchungen im Allgemeinen nicht histologisch untersucht werden. So konnten bei diesem Tier Ablagerungen von Amyloid in den Nebennieren, in der Lunge, in Lymphknoten, in der Speicheldrüse, in der Maulschleimhaut, in der Gingiva und in der Zunge nachgewiesen werden. In zwei Fällen wurde das Pankreas untersucht, und in beiden Fällen war der Befund auf Amyloidablagerungen für dieses Organ positiv. Diese Befunde stehen im Einklang mit den Untersuchungen von DI BARTOLA et al. (1986a). Die Autoren konnten zeigen, dass häufig auch in diesen Organen Amyloidablagerungen vorkommen können. Somit ist bei einem Hinweis einer vorliegenden generalisierten Amyloidose auch die Untersuchung dieser Organe angezeigt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zu verschiedenen mikroinvasiven Biopsiemethoden als mögliche Nachweismethoden von Amyloidablagerungen *in vivo*, lassen aufgrund der geringen Fallzahlen nur Einzelfallbeobachtungen zu. In Übereinstimmung mit WESTERMARK u. STENKVIST (1973) und TAUGNER (2002b) konnte erneut gezeigt werden, dass ein Nachweis von Amyloidablagerungen in subkutanem Fettgewebe vom lebenden Objekt möglich ist. Erstmals gelang der Nachweis von Amyloidablagerungen mittels Biopsie aus diesem Gewebe bei einer Schwarzfußkatze aus dem Freiland (Chip-Nr. 689561F) *in vivo*. Dieser Fall zeigt, dass diese Biopsietechnik als potenzielle Diagnostikmethode auch für Feldstudien im Rahmen der Amyloidoseforschung bei Schwarzfußkatzen geeignet ist. Es handelt sich derzeit bei diesem Fall um einen Einzelfall des Nachweises von Amyloidablagerungen bei Schwarzfußkatzen ohne klinische Anzeichen einer Erkrankung. Das aufgeführte Tier wurde 2007 mit einem Senderhalsband versehen und wird seitdem in regelmäßigen Abständen telemetrisch überwacht. Weitere Probenentnahmen von diesem Tier sind für das Jahr 2008 geplant, um erstmals den Verlauf und den Grad weiterer Amyloidablagerungen an einem Tier aus dem Freiland zu untersuchen.

Weiterhin konnte mittels der genannten Biopsiemethode in zwei Fällen bei Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal (ZB-Nr. 417 und ZB-Nr. 456), welche beide deutliche klinische Anzeichen einer Niereninsuffizienz aufwiesen, ein positiver Befund auf Amyloidablagerungen in subkutanem Fettgewebe erhoben werden.

In weiteren Untersuchungen wurde versucht, diese Biopsiemethode zu optimieren. Übereinstimmend mit den Untersuchungen von LINKE (2006) wurde mit der wiederholten Materialentnahme an zwei Tierkörpern post mortem (ZB-Nr. 452 und ZB-Nr. 461) gezeigt, dass bei dieser Technik ein hohes Risiko so genannter ‚Sampling Errors‘ existiert. Untersuchungen von am lebenden Objekt kurz vor dem Versterben entnommenen Biopsien dieser beiden nachweislich an einer Amyloidose verstorbenen Tiere waren negativ verlaufen. Nach Entnahme verhältnismäßig größerer Mengen subkutanen Fettgewebes von unterschiedlichen Lokalisationen im Bereich des Abdomens post mortem konnten eindeutig Amyloidablagerungen in diesem Gewebe festgestellt werden. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass bei dieser Biopsietechnik darauf zu achten ist, die Mindestgröße des erforderlichen Gewebematerials keinesfalls zu unterschreiten. Falsch-negative Ergebnisse sollen vermieden werden, indem gezielt größere Mengen des Biopsiematerials an verschiedenen Lokalisationen im Bereich der eröffneten Unterhaut gesammelt werden. Werden diese Aspekte beachtet, kann die beschriebene Biopsiemethode einen wertvollen Beitrag zur Diagnostik in der Amyloidoseforschung an Schwarzfußkatzen leisten.

Um eine Validierung des eventuellen Einflusses der zwei verschiedenen Lagerungstechniken des Biopsiematerials, einerseits in 10 % Formalin, andererseits direkt gepresst und luftgetrocknet, auf den Nachweis von Amyloid durchführen zu können, sollten in Zukunft immer beide Techniken parallel angewendet werden.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen von CALKINS u. COHEN (1960) konnten in den eigenen Untersuchungen mittels einer Kolonbiopsie *in vivo* Amyloidablagerungen in der Submukosa des genannten Darmabschnittes bei einem Tier (ZB-Nr. 461) mit deutlichen Anzeichen einer Niereninsuffizienz nachgewiesen werden. Auch bei dieser Biopsietechnik ist das Risiko des so genannten ‚Sampling Errors‘ sehr groß. Es bedarf geübten Personals zur fachgerechten Entnahme entsprechenden Gewebes. Zudem ist großer technischer Aufwand notwendig, um diese Methode sachgemäß durchführen zu können. In weiteren Untersuchungen ist zu prüfen, ob diese Methode nur für die Forschung an Tieren in Menschenobhut geeignet ist, oder ob sich diese Form der Untersuchung auch in der Feldforschung etablieren kann.

Die Charakterisierung des Amyloidproteins der Schwarzfußkatzen wurde an Biopsiematerial von subkutanem Fettgewebe und aus der Submukosa des Kolons mittels Kongorotfärbung und immunhistochemischen Methoden von Prof. R. P. Linke - Referenzzentrum für Amyloidkrankheiten - Martinsried, Deutschland, vorgenommen. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von TAUGNER (2002a) und TERIO (2008) zeigten alle untersuchten Amyloidablagerungen, sowohl von Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal als auch von dem Individuum aus dem Freiland, im Rahmen der immunhistochemischen Untersuchung unter Verwendung eines Antikörpers gegen Amyloid-A eine eindeutig positive Reaktion und konnten demzufolge nach immunhistochemischen Kriterien als Typ AA charakterisiert werden.

In Einklang mit dem Nachweis von Ablagerungen des Amyloid-Protein A aus subkutanem Fettgewebe einer Schwarzfußkatze aus dem Freiland *in vivo*, sowie den oben erwähnten Untersuchungen von TERIO (2008), bei denen die Autorin am Tierkörper einer Schwarzfußkatze aus dem Freiland den Nachweis einer AA-Amyloidose führen konnte, steht die Beobachtung von Dr. A. Lawrenz (persönliche Mitteilung, Wuppertal, 2007) an einem Tier in freier Wildbahn *in vivo* aus dem Jahr 1997. Er konnte an diesem Tier alle klinischen Merkmale feststellen, die bei Tieren in menschlicher Obhut auf das Vorliegen einer schweren Nierenschädigung hinweisen. Auch die Aufnahme von Wasser wurde bei diesem Tier beobachtet, ein weiteres deutliches Anzeichen auf eine Schädigung der Nieren bei Schwarzfußkatzen. Alle diese Befunde lassen auf das Vorhandensein einer generalisierten Amyloidose bei diesem Tier schließen. Es sind dennoch weitere Untersuchungen notwendig, um das Vorkommen der AA-Amyloidose bei Schwarzfußkatzen aus dem Freiland genauer prüfen zu können.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zur Validierung der APP von Schwarzfußkatzen decken sich mit den Ergebnissen von HARVEY u. GASKIN (1978), DUTHIE et al. (1997), KAJIKAWA et al. (1999) und SASAKI et al. (2003) an Hauskatzen. Die Autoren konnten nachweisen, dass Serumkonzentrationen von SAA bei Hauskatzen im Rahmen einer APR um das 55-fache ansteigen und somit dieses APP der Definition eines Haupt-APP entspricht. Die APP AGP und Hp zeigten in ihren Untersuchungen einen Anstieg der Serumkonzentrationen um das 2 bis 5-fache und stellten somit sogenannte moderate APP bei Hauskatzen dar. Im Rahmen einer jährlichen Wiederholungsimpfung an zwei Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal (ZB-Nr. 482 u. ZB-Nr. 512) wurden die Serumkonzentrationen der APP SAA, AGP und Hp vor und 48h nach der Impfung gemessen. Der Anstieg von SAA um ein 110-faches, von AGP um ein 2-faches und von Hp um ein 7-faches läßt den Schluss zu, dass es sich bei SAA bei dieser Tierart ebenfalls um ein Haupt-APP handelt und dass AGP und Hp zu den moderaten Vertretern dieser Plasmaproteine gehören. Eine eindeutige Signifikanz dieser Werte lässt sich jedoch aufgrund der sehr geringen Fallzahlen nicht ausdrücken. Dies kann letztlich nur bestätigt werden, wenn entsprechende Untersuchungen gezielt an einer größeren Anzahl von Individuen durchgeführt werden. Es besteht jedoch wie bei vielen Forschungsarbeiten an Zootieren das Problem, dass zu solchen Untersuchungen jedes Mal eine Vollnarkose der Tiere notwendig ist. Diese Problematik wird bei Schwarzfußkatzen zusätzlich noch durch die Vermutung, dass vermehrte Stresssituationen ebenfalls Auslöser einer AA-Amyloidose darstellen können, erschwert. Aus diesen Gründen war es auch nicht möglich, den präzisen zeitlichen Ablauf des Anstiegs der Serumkonzentrationen der einzelnen APP zu dokumentieren. Auf Empfehlung von Herrn Prof. Eckersall, Universität Glasgow, UK, wurde ein Zeitraum von 48 Stunden zwischen den zwei Probenentnahmen gewählt, da nach dieser Zeit aussagekräftige Werte zu Veränderungen der Serumkonzentrationen aller drei APP zu vermuten waren.

In vorliegender Untersuchung konnte eine eindeutige Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von SAA und Hp bei Schwarzfußkatzen sowohl aus dem Zoo Wuppertal

als auch aus dem Freiland festgestellt werden. Weiterhin konnten keine Korrelationen zwischen den Serumkonzentrationen von SAA und AGP bei dieser Tierart abgeleitet werden. In diesen Ergebnissen besteht ein Widerspruch zu den Untersuchungen von KAJIKAWA et al. (1999). Die Autoren hatten eine eindeutige Korrelation zwischen SAA und AGP bzw. eine weniger deutliche Korrelation zwischen SAA und Hp bei Hauskatzen festgestellt. Zur Klärung, ob es sich bei Hp bei Schwarzfußkatzen um einen präziseren Parameter als AGP in der Validierung einer APR handelt, müssen weitere Untersuchungen durchgeführt werden. Anhand der Ergebnisse vorliegender Untersuchungen ist zu vermuten, dass die APP-Messung bei Schwarzfußkatzen bei der Diagnostik einer vorliegenden APR, z. B. im Rahmen entzündlicher Erkrankungen, erfolgreich eingesetzt werden kann.

## 6 Zusammenfassung

Philipp Zimmermann

Untersuchungen zur Amyloidose und Akute Phase Proteinen bei Schwarzfußkatzen (*Felis nigripes*) in Menschenobhut und in der Wildbahn

Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig und Zoologischer Garten Leipzig

Eingereicht im April 2008

74 Seiten, 25 Abbildungen, 18 Tabellen, 155 Literaturangaben

Schlüsselworte: Schwarzfußkatzen (*Felis nigripes*), Amyloidose, mikroinvasive Biopsiemethoden, Akute Phase Proteine

Die Schwarzfußkatze (*Felis nigripes*) ist ein heimlicher, nachtaktiver Einzelgänger und kommt endemisch in der westlichen Trockenzone des südlichen Afrikas vor. 1975 begann die Haltung von Schwarzfußkatzen im Wuppertaler Zoo, und seit 1993 wird dort das internationale Zuchtbuch geführt. Nach einer starken kontinuierlichen Abnahme des Bestandes in den 80er Jahren des 20. Jahrhunderts besteht die europäische Population derzeit aus nur 6 Individuen (Stand: Januar 2008).

In einer retrospektiven Auswertung von Sektionsberichten wurde eine Niereninsuffizienz als Haupttodesursache dieser Art festgestellt. Bei nahezu 100 % der europäischen Schwarzfußkatzen wurde dieser Befund als Todesursache angegeben. Weiterführende Untersuchungen führten in den häufigsten Fällen zu der Diagnose einer generalisierten AA-Amyloidose.

Mit dem Ziel, eine AA-Amyloidose schon ante mortem nachweisen zu können, wurden in dieser Arbeit mögliche Methoden zum Nachweis von Amyloidablagerungen *in vivo* geprüft. Von narkotisierten Schwarzfußkatzen wurden Biopate subkutanen Fettgewebes oder von Rektum- bzw. Kolonschleimhaut entnommen und auf Amyloidablagerungen untersucht.

Die Arbeit schließt weiterhin die Analyse von Akute Phase Proteinen (APP) im Serum oder Plasma der Schwarzfußkatzen als potenzielle Nachweismethoden der Amyloidose sowie eines möglichen Ursprungs dieser Krankheit mit ein. Bei dem APP Serum Amyloid A (SAA) handelt es sich um das Vorläuferprotein der AA-Amyloidose. Stark erhöhte Serumkonzentrationen von SAA über einen längeren Zeitraum sind die Voraussetzungen für die Einlagerung von AA-Filamenten und deren Akkumulierung zu Amyloidfibrillen in Geweben. Daneben handelt es sich bei APP um Plasmaproteine, deren Konzentration im Rahmen von Infektionen, Entzündungsgeschehen und Traumata rapide ansteigt. Die Bestimmung dieser Proteine bietet die Möglichkeit, vorhandene Krankheitsprozesse zu ermitteln und deren Intensität genauer zu beurteilen und in diesem Fall eventuell vorhandene Primärursachen einer reaktiven AA-Amyloidose bei Schwarzfußkatzen zu ermitteln.

In die Untersuchungen zu den APP dieser Tierart wurde zusätzlich zur Bestimmung von SAA die Messung von  $\alpha$ -1-saurem Glycoprotein (AGP) und Haptoglobin (Hp) in Serum oder Plasma mit einbezogen.

Um zu prüfen, ob es sich bei der AA-Amyloidose der Schwarzfußkatzen allein um eine Problematik dieser Tiere in menschlicher Obhut handelt, oder ob diese Krankheit auch bei Katzen im Freiland auftritt, wurden in den Jahren 2005, 2006 und 2007 Feldstudien in Südafrika durchgeführt. In einer Reihe von Fangaktionen konnte von verschiedenen narkotisierten Tieren biologisches Probenmaterial gewonnen werden, darunter Biopiate subkutanen Fettgewebes sowie Blut.

Es konnten Amyloidablagerungen in Biopiaten aus subkutanem Fett sowohl von Tieren aus Menschenobhut als auch bei einem Tier aus dem Freiland nachgewiesen werden. Des Weiteren wurde in einem Biopiat aus der Submukosa des Kolon Ablagerungen von Amyloid festgestellt. Die Untersuchungen zu den verschiedenen Biopsiemethoden zeigen, dass diese Techniken einen nützlichen Beitrag in der Diagnostik der Amyloidose bei Schwarzfußkatzen leisten können.

Die Konzentrationen von APP im Plasma bzw. Serum von Schwarzfußkatzen weisen Übereinstimmungen zu den Konzentrationen der Haupt- bzw. moderaten APP bei Hauskatzen auf. Die Messungen zeigen, dass SAA bei dieser Tierart ein Haupt-APP darstellt und dass AGP und Hp zu den moderaten Vertretern dieser Plasmaproteine gehören. Es konnten jedoch bei keinem der Tiere, welche Anzeichen einer Niereninsuffizienz bzw. einer Amyloidose aufwiesen, erhöhte Konzentrationen dieser APP festgestellt werden. Diese Tatsache führt zu der Hypothese, dass weder Infektionen noch Entzündungsgeschehen die Primärursache für die AA-Amyloidose bei Schwarzfußkatzen darstellen. Weiterhin konnten weder bei Schwarzfußkatzen aus dem Zoo Wuppertal noch bei Tieren aus dem Freiland Anzeichen generell erhöhter Serumkonzentrationen von SAA festgestellt werden. Somit ist die Wahrscheinlichkeit einer genetischen Disposition für erhöhte Serumkonzentrationen von SAA als Ursache der AA-Amyloidose bei dieser Tierart als sehr gering einzuschätzen.

Es konnten in Einzelfällen Ablagerungen von Amyloid A in Organen von Schwarzfußkatzen aus dem Freiland nachgewiesen werden. Diese Befunde lassen die Vermutung zu, dass die AA-Amyloidose bei dieser Art kein ausschließliches Problem der Tiere in Menschenobhut darstellt.

## 7 Summary

Philipp Zimmermann

Research on amyloidosis and acute phase proteins in captive and wild black-footed cats (*Felis nigripes*)

Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig, and Zoological Garden Leipzig

Submitted in April 2008

74 pages, 25 figures, 18 tables, 155 references

Keywords: Black-footed cats, amyloidosis, microinvasive biopsy techniques, acute phase proteins

The black-footed cat is a secretive, nocturnal and solitary felid endemic to the south-west arid zone of the Southern African Subregion. In 1975 Wuppertal Zoo started keeping black-footed cats and the international studbook for this species has been compiled there since 1993. The European population of captive black-footed cats currently consists of only 6 animals after a constant decline starting in the mid-eighties of the last century (State: January 2008)

A retrospective study of necropsy records of captive black-footed cats stated kidney failure as the main mortality cause in this species worldwide, approaching almost 100 % in European cats. Further analysis led to the diagnosis of generalised reactive AA-Amyloidosis in most of the cases.

With the aim of a possible pre-mortem detection of AA-Amyloidosis, evaluations of *in vivo* diagnostic tools were performed. Subcutaneous fat and colon biopsies were taken from sedated cats and prepared in order to detect deposits of amyloid.

Furthermore, this study includes the evaluation of acute phase protein (APP)-levels in serum or plasma of black-footed cats as potential diagnostic procedures referring to AA-Amyloidosis and its possible origin. APP serum amyloid A (SAA) is the precursor protein in AA-Amyloidosis. High elevated plasma levels of SAA over a prolonged period of time lead to the deposition of AA-filaments and further on to the accumulation of amyloid fibrils in tissues. Moreover APP's are plasma proteins which rapidly increase in concentration following infection, inflammation or trauma. The evaluation of these proteins can provide valuable diagnostic information in the detection and monitoring of diseases, in this case potential primary causes for reactive AA-Amyloidosis in black-footed cats. Concerning this the measurement of concentrations of APP's  $\alpha$ -1-acid glycoprotein (AGP) and Haptoglobin (Hp) in addition to SAA in serum and plasma have been included.

## 7 Summary

In order to determine whether AA-Amyloidosis solely emerges in the captive population of black-footed cats or is an existing disorder in free-ranging animals as well, field research has been conducted in South Africa in 2005, 2006 and 2007. In various trapping periods cats were captured, sedated and biological samples such as subcutaneous fat and blood have been collected. Deposits of amyloid were found in biopsies of subcutaneous fat in captive black-footed cats as well as in a free-ranging animal. Also amyloid deposits have been found in a biopsy of the submucosa of the colon of a captive cat.

Results of the different biopsy techniques showed that these techniques might establish as a helpful diagnostic tool in AA-Amyloidosis in black-footed cats.

Concentrations of APP's measured either in plasma or serum of black-footed cats showed correspondence to the major and moderate APP's in domestic cats. This study shows that SAA is a major APP in this species whereas AGP and Hp seem to be rather moderate representatives of the APP's. Furthermore no raised levels of either of these proteins were detected in serum or plasma of cats with signs of renal insufficiency / Amyloidosis, leading to the hypothesis of an infection or inflammation not to be the primary cause for the disease. On the other hand no signs of generally-raised levels of SAA in black-footed cats were observed. These results leave a very low probability for the theory of a genetic predisposition of elevated SAA-levels as a cause for AA-Amyloidosis in this species.

Deposits of Amyloid Protein A have been detected in organs of a small number of free-ranging black-footed cats. These findings lead to the conclusion that AA-Amyloidosis in this species isn't a mere problem of captive animals.

## 8 Literaturverzeichnis

Anders RF, Natvig JB, Sletten K, Husby G, Nordstog K. Amyloid-related serum protein SAA in endotoxin-induced amyloidosis of the mink. *J Immun.* 1977; 118: 229-34.

Badolato R, Wang JM, Murphy WJ, Lloyd AR, Michiel DF, Baussermann LL, Kelvin DJ, Oppenheim JJ. Serum Amyloid A is a chemoattractant: Induction of migration, adhesion, and tissue infiltration of Monocytes and polymorphonuclear leukocytes. *J Exp Med.* 1994; 180: 203-9.

Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. *Immunol Today.* 1994; 15: 74-80.

Bence LM, Addie DD, Eckersall PD. An Immunoturbidimetric assay for rapid quantitative measurement of feline alpha-1-acid glycoprotein in serum and peritoneal fluid. *Vet Clin Path.* 2005; 34 (4): 335-40.

Benditt EP, Eriksen N. The major proteins of human and monkey amyloid substance: common properties including unusual N-terminal amino acid sequences. *FEBS- Letters.* 1971; 19: 169-73.

Benditt EP, Eriksen N. The chemical classes of amyloid substance in man, monkeys and ducks. *Am J Pathol.* 1973; 65: 231-52.

Bennhold H: Eine spezifische Amyloidfärbung mit Kongorot. *Münch Med. Wochenschr.* 1932; 69: 1537-41.

Bointani L, Corsi F, De Biase A, D'inzillo Carranza I, Ravagli M, Reggiani G, Sinibaldi I, Trapanese P. A databank for the conservation and management of the African mammals. EU Commission, Istituto di Ecologia Applicata, Roma, Italy. 1999.

Burchell WJ. Travels in the interior of Southern Africa. Longman, Hurst, Rees, Orme, Brown, and Green, London. 1824; 2: 592.

Calkins E, Cohen AS. Diagnosis of Amyloidosis. *Bull. Rheum. Dis.* 1960; 10: 215-218  
Carell, KW, Lomas DA. Conformational disease. *Lancet.* 1997; 350: 134-138.

Cerón J, Eckersall PD, Subiela SM. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Path.* 2005; 34: 85-99.

Chew DJ, DiBartola SP, Boyce JT, Gasper PW. Renal amyloidosis in related Abyssinian cats. J. Am Vet Med Ass. 1982; 181: 139-42.

Clark L, Seawright AA. Generalized Amyloidosis in seven cats. Pathol Vet. 1969; 6: 117-34.

Cohen AS, Calkins E. Electron microscopic observation on a fibrous component in amyloid of diverse origin. Nature. 1959; 183: 1202-3.

Cohen AS. Amyloidosis. N Engl J Med. 1967; 277: 574-83, 628-38.

Cohen AS, Shirahama TS, Sipe, JD, Skinner M. Amyloid proteins, precursors, mediators and enhancer. Lab Invest. 1983; 48: 1-4.

Colbatzky F, Brunnberg L, Linke RP, Geisel O, Hermanns W. AA-like Amyloidosis confined to arthritic joints in two dogs with rheumatoid arthritis. J Comp Pathol. 1991; 105: 331-43.

Conner JG, Eckersall PD, Wiseman A, Aitchison TC, Douglas TA. Bovine acute phase response following turpentine injection. Res Vet Sci. 1988; 44: 82-88.

Conner JG, Eckersall PD, Wiseman A, Bain RK, Douglas TA. The acute phase response in calves following infection with *Pasteurella haemolytica* und *Ostertagia ostertagii* and endotoxin administration. Res Vet Sci. 1989; 47: 203-7.

Cooper JH. Selective amyloid staining as a function of amyloid composition and structure: histochemical analysis of the alkaline Congo red, standardized toluidine blue, and iodine methods. Lab Invest. 1974; 31: 232-38.

Cowan DF, Johnson WC. Amyloidosis in the White Peking Duck. Lab Invest. 1970; 23: 551-55.

Denzler T. Pathologische Veränderungen bei Carnivoren im Zoologischen Garten Basel: Übersicht und Beitrag zur renalen Amyloidose bei Geparden (*Acinonyx jubatus*). Bern, Uni. Bern 1989.

Di Bartola SP, Benson MD, Dwulet FE, Cornacoff JB. Isolation and Characterization of Amyloid Protein AA in the Abyssinian Cat. Lab Invest. 1985; 52 (5): 485-89.

Di Bartola SP, Tarr MJ, Benson MD. Tissue distribution of amyloid deposits in Abyssinian cats with familial amyloidosis. J Comp Pathol. 1986(a); 96: 387-89.

Di Bartola SP, Hill RL, Fechheimer, Powers JD. Pedigree analysis of Abyssinian cats with familial Amyloidosis. *Am J Vet Res.* 1986(b); 47 (12): 2666-8.

Di Bartola SP, Rutgers C, Zack PM, Tarr J. Clinicopathologic findings associated with chronic renal disease in cats: 74 cases (1973-1984). *JAVMA.* 1987; 190 (9): 1196-1202.

Di Bartola SP, Benson MD. The pathogenesis of reactive systemic Amyloidosis. *J Vet Intern Med.* 1989; 3: 31-41.

Di Bartola SP, Tarr MJ, Parker AT, Powers JD, Pultz JA. Clinicopathologic findings in dogs with renal Amyloidosis: 59 cases (1976-1986). *JAVMA* 1989; 195 (3): 358-64.

Di Bartola SP, Tarr MJ, Webb DM, Giger U. Familial renal Amyloidosis in Chinese Shar Pei dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1990; 197: 483-87.

Dobson CM. Protein folding and misfolding. *Nature.* 2003; 426 (6968): 884-90.

Du Clos TW, Mold C. The role of C-reactive protein in the resolution of bacterial infection. *Curr Op Inf Dis.* 2001; 14: 289-93.

Duthie S, Eckersall PD, Addie DD, Lawrence CE, Jarrett O. Value of  $\alpha$ -1-acid glycoprotein in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Vet Rec.* 1997; 141: 299-303.

Eeanes ED, Glenner GG. X-Ray diffraction studies of amyloid filaments. *J Histochem Cytochem.* 1968; 16: 673-7.

Eckersall PD, Saini PK, McComb C. The acute-phase response of acid-soluble glycoprotein, alpha (1)-Acid glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin und c-reaktives protein, in the pig. *Vet Immunol Immunopathol.* 1996, 51: 377-85.

Eckersall PD, Duthie S, Moffatt D, Horadagoda NU, Doyle S, Parton R, Bennett D Fitzpatrick JL. An automated biochemical assay for haptoglobin: prevention of interference from albumin. *Comp Haematol Int.* 1999; 9: 117-24.

Eckersall PD. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Revue Méd Vét.* 2000; 151: 577-84.

Eckersall PD. Acute phase proteins as markers of infection and inflammation: monitoring animal health, animal welfare and food safety. *Ir Vet J.* 2000, 53: 307-11.

Eurell TE, Bane DP, Hall WF, Schaeffer DJ. Serum Haptoglobin concentration as an indicator of weight gain in pigs. *Can J Vet Res.* 1992; 56: 6-9.

Fournier T, Medjoubi-N N, Porquet D. Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2000; 1482: 157-71.

Fuks A, Zucker-Franklin D. Impaired Kupffer cell function precedes development of secondary Amyloidosis. *J Exp Med.* 1985; 161: 1013-28.

Geisel O. Die idiopathische generalisierte Amyloidose der Marder. *Tierärztliche Praxis.* 1982; 10: 535-47.

Germann PG, Kohler M, Ernst H, Baumgart H, Mohr U. The relation of amyloidosis to social stress induced by crowding in the Syrian Hamster (*Mesocricetus auratus*). *Z Versuchstierkd.* 1990; 33: 271-75.

Giordano A, Spagnolo V, Colombo A, Paltrinieri S. Changes in some acute phase protein and immunoglobulin concentrations in cats affected by feline infectious peritonitis or exposed to feline coronavirus Infection. *Vet J.* 2004; 167: 38-44.

Glenner GG, Ein D, Eanes ED, Bladen HA, Terry W, Page DL. Creation of „amyloid“ fibrils from Bence Jones proteins *in vitro*. *Science.* 1971; 174 (4010): 712-14.

Glenner GG, Eanes E D, Bladen HA, Linke RP, Termine JD.  $\beta$ -pleated sheet fibrils. A comparison of native amyloid with synthetic protein fibrils. *J Histochem Cytochem.* 1974; 22: 1141-58.

Glenner GG, Page DL. Amyloid, amyloidosis and amyloidogenesis. *Int Rev Exp Pathol.* 1976; 15: 1-92.

Glenner GG. Amyloid deposits and Amyloidosis: the  $\beta$ -fibrilloses. *N Engl J Med.* 1980; 302: 1283-92; 1333-43.

Godfrey DR, Day MJ. Generalised amyloidosis in two Siamese cats: spontaneous liver haemorrhage and chronic renal failure. *J Small Anim Pract.* 1998; 39: 442-7.

Godson DL, Campos M, Attah-Poku SK, Redmond MJ, Cordeiro DM, Sethi MS, Harland RJ, Babiuk LA. Serum Haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Vet Immunol Immunopathol.* 1996; 51: 277-92.

Gruys E, Timmermanns HJF, van Ederen AM. Deposition of amyloid in the liver of hamsters. An enzyme-histochemical and electron-microscopical study. *Lab Anim.* 1979; 13: 1-9.

Gruys E, Timmermanns HJF. Diagnosis of secondary amyloid in bovine renal amyloidosis. *Vet Sci Com.* 1979; 3: 21-37.

Gruys E, Biewenga WJ, Hol PR. Canine glomerular Amyloidosis. Proceedings of the European Amyloid Research Symposium 1982 Edited by Bacon PA, Tribe CR, John Wright & Sons Limited, Bristol, London and Boston (1983); 177-80.

Hadlow WJ, Jellison WL. Amyloidosis in rocky mountain bighorn sheep. *J Am Vet Med Assoc.* 1962; 141: 243-47.

Harvey JW, Gaskin JM 1978. Feline Haptoglobin. *Am J Vet Res.* 1978; 39: 549-53.

Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J.* 1990; 265: 621-36.

Hermanson MA, Kuhn RW, Walsh KA. Amino acid sequence of monkey amyloid protein A. *Biochemistry* 1972; 11: 2934-38.

Hirvonen J, Pyorala S Jousimies-Somer H. Acute phase response in heifers with experimentally induced mastitis. *J Dairy Res.* 1996; 63: 351-60.

Hoffman JS, Benditt EP. Secretion of serum amyloid protein and assembly of serum amyloid protein-rich high-density lipoprotein in primary mouse hepatocyte culture. *J Biol Chem.* 1982; 257 (10): 518-22.

Hoffman JS, Ericsson LH, Eriksen N, Walsh KA, Benditt EP. Murine tissue amyloid protein AA. NH<sub>2</sub>-terminal sequence identity with only one of two serum amyloid protein (apoSAA) gene products. *J Exp Med.* 1984; 159: 641-46.

Hofner MC, Fosbery MW, Eckersall PD, Donaldson AI. Haptoglobin response of cattle infected with foot-and-mouth disease virus. *Res Vet Sci.* 1994; 57: 125-28.

Horadagoda A, Eckersall PD, Alsemgeest SPM, Gibbs HA. Purification and quantitative measurement of bovine serum amyloid A. *Res Vet Sci.* 1993; 55: 317-25.

Horadagoda NU, Knox KMG, Gibbs HA, Reid SWJ, Horadagoda A, Edwards SER Eckersall PD. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet J.* 1999; 144: 437-41.

Husby G, Marhaug G, Dowton B, Sletten K, Sipe JD. Serum amyloid A (SAA): Biochemistry, genetics and the pathogenesis of AA-Amyloidosis. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest.* 1994; 1: 119-37.

Husebekk A, Skogen B, Husby G, Marhaug G. Transformation of amyloid precursor SAA to protein AA and incorporation in amyloid fibrils in vivo. *Scand J Immunol.* 1985; 21: 283-87.

Itoh H, Tamura K, Motoi Y, Takase K, Nakamura T. Serum alpha-1-acid glycoprotein in cattle with inflammatory disease and that after operation. *Jap J Vet Sci.* 1990; 52: 1293-96.

Kajikawa T, Furuta A, Onishi T, Tajima T, Sugii S. Changes in concentrations of serum amyloid A protein, alpha-1-acid glycoprotein, haptoglobin, and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery. *Vet Immunol Immunopathol.* 1999; 68: 91-8.

Kaplan B, Kumar S, Pras A, Gallo G. Immunochemical characterization of amyloid in diagnostic biopsy tissues. *Amyloid J Protein Fold. Disord.* 1997; 4: 80-6.

Kazatchkine MD, Husby G, Araki S, Benditt EP, Benson MD, Cohen AS, Frangione B, Glenner GG, Natvig JB, Westermark P. Nomenclature of amyloid and amyloidosis – WHO-IUSIS nomenclature sub-committee. *Bull Who.* 1993; 71: 105-8.

King LS. Atypical amyloid disease, with observations on a new silver stain for amyloid. *Am J Pathol.* 1948; 24: 1095-1115.

Kingston RS, Shih M, Snyder SP. Secondary Amyloidosis in Dall's sheep. *J Wildl Dis.* 1982; 18: 381-3.

Kisilevsky T. Proteoglycans, glycosaminoglycans, amyloid-enhancing factor, and amyloid deposition. *J Int Med.* 1992; 232: 515-16.

Koj A. Biological functions of acute phase proteins. In: Gordon AH, Koj A, editors. *The Acute Phase Response to Injury and Infection.* Amsterdam: Elsevier; 1985. p. 145-60.

Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. *Ann NY Acad Sci.* 1982; 389: 39-48.

Lavie G, Zucker-Franklin D, Franklin EC. Degradation of serum amyloid A protein by surface-associated enzymes of human blood monocytes. *J Exp Med.* 1978; 418: 1020-31.

Leyhausen P. Ein Katzenzweig aus Südwestafrika. *Umschau in Wissenschaft und Technik* 1962; 60: 24.

Leyhausen P, Tonkin B. Breeding the black-footed cat (*Felis nigripes*) in captivity. The Zoological Society of London. *Int Zoo Yearbk.* 6. 1966; 178-82.

Linke RP, Zucker-Franklin D, Franklin EC. Morphologic, chemical and immunologic studies of amyloid-like fibrils formed by Bence Jones Proteins by proteolysis. *J Immun.* 1973; 111: 10-23.

Linke RP, Geisel O, Eulitz M, Natrath WBJ. Idiopathic amyloidosis in the stone marten (*martes foina*). Identification of amyloid fibril proteins in tissue sections using the immunoperoxidase-technique. *Blut.* 1980; 41: 465-68.

Linke RP, Hol PR, Gruys E, Geisel O, Natrath WBJ, Trautwein G. Immunohistochemical identification and crossreactions of Amyloid-A fibril protein in man and eleven other species. *J Comp Pathol.* 1984; 94: 339-56.

Linke RP, Hol PR, Geisel O. Immunohistochemical identification of generalized AA-amyloidosis in a mountain gazelle (*Gazella gazella*). *Vet Pathol.* 1986; 23: 63-7.

Linke RP. Highly sensitive diagnosis of amyloid and various amyloid syndromes using congo red fluorescence. *Virchows Arch PathAnat.* 2000; 436: 439-48.

Linke RP. Congo red staining of amyloid. Improvements and practical guide for a more precise diagnosis of amyloid and the different amyloidoses. In: Uversky VN, Fink AL, editors. Protein misfolding, aggregation and conformational diseases. *Protein Reviews*, Volume 4, (M.Z. Atassi, editor); Springer; 2006; Chapter 11.1: 239-76.

Lubarsch O. Zur Kenntnis ungewöhnlicher Amyloidablagerungen. *Virchows Arch Path Anat Physiol.* 1929; 271: 867-89.

Lucke VM, Hunt VM. Interstitial nephropathy and papillary necrosis in the domestic cat. *J Pathol Bacteriol.* 1965; 89: 723-28.

Luckschander N, Kleiter M, Willmann M. Durch *Ehrlichia canis* verursachte Nierenamyloidose. *Schweiz Arch Tierheilk.* 2003; 145 (10): 482-85.

Maeda H, Murakami O, Kann M, Yamane I. The growth-stimulating effect of alpha-1-acid glycoprotein in cells in culture. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1980; 163: 223-27.

Martinez-Subiela S, Ginel PJ, Ceron JJ. Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs. *Vet Rec.* 2004; 154, 814-17.

Makimura O, Suzuki H. Qualitative determination of bovine serum Haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. *Nippon Juigaku Zasshi.* 1982; 44 (1): 15-21.

Mensua C, Carrasco L, Bautista MJ, Biescas A, Fernandez A, Murphy CL, Weiss, DT, Solomon A, Lujan L. Pathology of AA-Amyloidosis in Domestic Sheep and Goats. *Vet Pathol.* 2003; 40: 71-80.

Missmahl HP. Die Beeinflussung des polarisierten Lichtes durch die Amyloidsubstanz. *Ann Histochem [Suppl].* 1962; 2: 225-34.

Molteno AJ, Sliwa A, Richardson PRK. The role of scent marking in a free-ranging, female black-footed cat (*Felis nigripes*). *J Zool. (London)* 1998; 245: 35-41.

Moore DF, Rosenfeld MR, Gribbon PM, Winlove CP, Tsai CM. Alpha-1-acid (AAG, Orosomucoid) glycoprotein: Interaction with bacterial lipopolysaccharide and protection from sepsis. *Inflammation* 1997; 21: 69-82.

Mortensen RF, Zhong W. Regulation of phagocytotic leukocyte activities by C-reactive protein. *J Leukocyte Biol.* 2000; 67, 495-500.

Munson L, Terio K, Michael Worley, Jago M, Bagoth-Smith A, Marker L. Extrinsic factors significantly affect patterns of disease in free-ranging and captive cheetah (*Acinonyx jubatus*) populations. *J Wildl Dis.* 2005; 41 (3): 542-48.

Munson L, Terio K. Impact of stress on the Health of captive wildlife: The Cheetah Paradigm. In: 56<sup>th</sup> Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACVP) and 40<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP), 2005, Boston, MA, USA.

Nakamatsu M, Goto M, und Morito M. A case of generalized Amyloidosis in the cat. *Jap J Vet Sci.* 1966; 28: 259-65.

Nowell K. Revision of the Felidae Red List of Threatened Species. *Cat News.* 2002; 37: 4-7.

Okumura Y, Kudo J, Ikuta T, Kurokawa S, Ishibashi II, Okubo II. Influence of acute-phase proteins on the activity of natural killer cells. *Inflammation*. 1985; 9: 211-19.

Olbricht G, Sliwa A. *In situ* and *ex situ* observations and management of Black-footed cats. *Int. Zoo Yearbk*. 1997; 35: 81-9.

Page DL, Glenner GG. Social interaction and wounding in the genesis of 'spontaneous' murine Amyloidosis. *Am J Pathol*. 1972; 67: 555-67.

Papendick RE, Munson L, O'Brien TD, Johnson KH. Systemic Amyloidosis in Captive Cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Vet Pathol*. 1997; 34: 549-56.

Pepys MB, Balitz ML, Tennent GA, Kent J, Ousey J, Rosedale PD. Serum Amyloid A (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response. *Equine Vet J*. 1989; 21: 106-9.

Pepys MB. Pathogenesis, diagnosis and treatment of systemic Amyloidosis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2001; 356 (1406): 203-11.

Petersen HH, Nielsen JP, Heegard PMH. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet Res*. 2004; 35: 163-87.

Puchtler H, Sweat F, Levine M. On the binding of congo red by amyloid. *J Histochem Cytochem*. 1962; 10: 355-64.

Rideout BA, Montali RJ, Wallace RS, Bush M, Phillips LG, Antonovych TT, Sabnis SG. Renal medullary Amyloidosis in Dorcas Gazelles. *Vet Pathol*. 1989; 26: 129-35.

Röcken C, Schwotzer EB, Linke RP, Saeger W. The classification of amyloid deposits in clinico-pathological service: evaluation of previous experience in view of the current knowledge. *Histopathology*. 1996; 29: 325-35.

Röcken CH, Shakespeare A. Pathology, diagnosis and pathogenesis of AA Amyloidosis. *Virchows Arch*. 2002; 440 (2): 111-22.

Rosbacher J, Wagner L, Pasternack MS. Inhibitory effect of Haptoglobin on granulocyte chemotaxis, phagocytosis and bactericidal activity. *Scand J Immunol*. 1999; 50: 399-404.

Saeger W, Röcken CH. Amyloid: Mikroskopischer Nachweis, Klassifikation und klinischer Bezug. *Pathologe*. 1998 19: 345-54.

Sasaki K, Ma Z, Khatlani TS, Okuda M, Inokuma H, Onishi T. Evaluation of feline serum amyloid A (SAA) as an inflammatory marker. J Vet Med Sci. 2003; 65: 545-48.

Schilder P. Über die amyloide Entartung der Haut. Z Pathol. 1909; 3: 782-94.

Schneyer N. Untersuchungen zum C-reaktiven Protein bei Zootieren – unter besonderer Berücksichtigung von Vertretern der Primaten und Feliden. Leipzig, Uni. Leipzig 2007.

Schürer U. Breeding black-footed cats in captivity. Carnivore 1978; 1: 109-11.

Schürer U, Olbricht G. Internationales Zuchtbuch für die Schwarzfußkatze (*Felis nigripes*) 1993, 1994, 1995, 1996, 1997, 1999. Wuppertal: Zoolog. Garten der Stadt Wuppertal.

Schürer U, Sliwa A. Internationales Zuchtbuch für die Schwarzfußkatze (*Felis nigripes*) 2000, 2001, 2003, 2005 Wuppertal: Zoolog. Garten der Stadt.

Schulze C, Brüggemann M, Böer, Brandt HP, Pohlenz J, Linke RP. Generalized AA-amyloidosis in Siberian Tigers (*Panthera tigris altaica*) with Predominant Renal Medullary Amyloid Deposition. Vet Pathol. 1998; 35: 70-4.

Selikoff IJ, Robitzek EH. Gingival biopsy for the diagnosis of generalized amyloidosis. Am J Pathol. 1947; 23: 1099.

Shirahama T, Benson MD, Cohen AS, Tanaka A. Fibrillar assemblage of variable segments of immunoglobulin light chains: an electro-microscope study. J Immun. 1973; 110: 21-30.

Skinner M, Cathcart ES, Cohen AS, Benson MD. Isolation and identification by sequence analysis of experimentally induced guinea pig amyloid fibrils. J Exp Med. 1974; 140: 871-76.

Skinner und Smithers 1990, The Mammals of the Southern African Subregion.

Skogen B, Thorsteinsson L, Natvig JB. Degradation of protein SAA to an AA-like fragment by enzymes of monocytic origin. Scand J Immuno. 1980; 11: 533-40.

Sliwa A. Diet and Feeding Behaviour of the Black-footed cat (*Felis nigripes Burchell*, 1824) in the Kimberley Region, South Africa. Der Zoologische Garten N.F. 1993; 64: 83-96.

Sliwa A. Black-footed cats. In: Vision of Wildlife, Ecotourism and the Environment in Southern Africa. 1995 (a); Annual of the Endangered Wildlife Trust, Johannesburg: 56-9.

Sliwa A. The Black-footed cat, efficient rodent killer. *Farmer's Weekly* 1995 (b); 85016: 16-9.

Sliwa A. *Felis nigripes*. In: Mills G, Hes L editors. *Säugetiere des südlichen Afrika; Eine illustrierte Enzyklopädie*. Könemann Verlagsgesellschaft mbH, 1999.

Sliwa A. Update on black-footed cat Field Research Project for the years 1997/1998 International Studbook for the Black-footed cat (*Felis nigripes*). Wuppertal 1999 (ISSN 0944-6338): 8-11.

Sliwa A. Home range size and social organization of black-footed cats (*Felis nigripes*). *Mamm Biol.* 2004; 69 (2): 96-107.

Sliwa A. Field Research with Black-Footed Cats (*Felis nigripes*) in South Africa. In: *Felid TAG Conference Proceedings 2005*.

Sliwa A. Seasonal and sex-specific prey composition of black-footed cats *Felis nigripes* *Acta Theriol.* 2006 (a); 51 (2): 195-204.

Sliwa A. Black-footed cat research. WAZA Project 06016. *WAZA Magazine* 2006 (b); 8: 23.

Smithers RHN. *The mammals of Botswana*. Marson Printers Ltd, Salisbury, Rhodesia 1971.

Steel DM, Whitehead AS. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunol Today.* 1994; 15: 81-88.

Sunquist M, Sunquist F. Black-footed Cat - *Felis nigripes*. In: *Wild Cats of the world* Chicago, London. 2002; 75-82.

Tan SY, Peby MB. Amyloidosis. *Histopathology.* 1994; 25: 403-14.

Taugner F, Sliwa A, Lawrenz A, Olbricht G, Linke RP. Generalised AA-Amyloidosis in Black-footed cats (*Felis nigripes*). In: *Proceedings of the 20<sup>th</sup> Meeting of the European Society of Veterinary Pathology*. Grugliasco (TO), Italy. 18.-21.9.2002 (a): 126.

Taugner F, Lawrenz A, Sliwa A, Olbricht G, Stadler A, Schürer U, Linke RP. Einfache mikroinvasive in vivo Nachweismethode für generalisierte Amyloidose bei Zootieren. In: *Proceedings der 22. Arbeitstagung d. Zootierärzte im deutschsprachigen Raum, München, 01.- 03.11. 2002* (b).

Terio KA, Lamberski N, O'Brien T, Munson L. Amyloidosis in Black-Footed Cats (*Felis nigripes*). In: Proceedings of the joint Conference of AAWV, WDA and ACZM. San Diego, California. Aug. 28 – Sep. 03 2004: 451.

Terio KA, O'Brien T, Lamberski N, Famula TR, Munson L. Amyloidosis in Black-Footed Cats (*Felis nigripes*). In Press. Vet Pathol. 2008.

Uhlar CM, Whitehead A. Serum amyloid A, the major vertebrate acute phase reactant. Eur J Biochem. 1999; 265: 501-23.

Van der Linde-Sipman JS, Niewold TA, Tooten PCJ, de Neijs-Backer M, Gruys E. Generalized AA-Amyloidosis in Siamese and Oriental cats. Vet Immunol Immunopathol 1997; 56: 1-10.

Virchow R. Über eine im Gehirn und Rückenmark des Menschen aufgefundene Substanz mit der chemischen Reaktion der Cellulose. Virchows Arch Path Anat. 1854; 6: 135- 37.

Visser J. The small cats. Afr Wildl. 1977; 31(1): 26-8.

Waaen K, Sletten K, Husby G, Nordstoga K. The primary structure of protein AA in endotoxin-induced amyloidosis of the mink. Eur J Biochem. 1980; 104: 407-12.

Watanabe A, Morimatsu M, Yoshimatsu K, Yamamoto S, Terao A, Tsukazaki K, Saito M, Naiki M. Isolation of C-reactive Protein from cat serum. J Small Anim Prac. 1992; 33, 71-7.

Westermarck P. Occurrence of amyloid deposits in the skin in secondary systemic Amyloidosis. Acta Pathol Microbiol Scand. 1972; 80: 718-20.

Westermarck P, Stenkvis B. A new method for the Diagnosis of systemic Amyloidosis Arch Intern Med. 1973; 132: 522-23.

Westermarck P, Stenkvis B, Natvig JB, Oldin-Stenkvis E. Demonstration of protein AA in subcutaneous fat tissue by fine needle biopsy. Ann Rheum Dis 1979; 38: 68-71.

Westermarck P, Benson MD, Juul J, Sletten K. Use of subcutaneous abdominal fat biopsy specimen for detailed typing of amyloid fibril protein-AL by amino acid sequence analysis. J Clin Pathol. 1989; 42: 817-19.

Whicher JT, Westacott CI. The acute phase response. In: Whicher JT, Evans SW, editors. *Biochemistry of Inflammation*. London: Kluwer Academic; 1992: 243-72.

Wichmann G. Die Amyloiderkrankung. *Beitr Z Pathol Anat uz allg Pathol*. 1893; 13: 487-628.

Williams JH, van Wilpe E, Momberg M. Renal medullary AA Amyloidosis, hepatocyte dissociation and multinucleated hepatocytes in a 14-year-old free-ranging lioness (*Panthera leo*). *J S Afr Vet Ass*. 2005; 76 (2): 90-8.

Wright, J.R.; Calkins, E.; Humphrey, R.L. Potassium permanganate reaction in Amyloidosis. A histological method to assist in differentiating forms of disease. *Lab Invest*. 1977; 36: 274 - 81.

Yang F, Haile DJ, Berger FG, Herbert DC, Van Beuren E, Ghio AJ. Haptoglobin reduces lung injury associated with exposure to blood. *Am J Physiol*. 2003; 284: 402-9.

Zöllner A. Untersuchungen zur Amyloidose bei Zoo- und Wildvögeln sowie zur Histo- und Immunhistochemischen Charakterisierung des aviären Amyloidproteins. Berlin, FU Berlin 1997.

## Danksagung

Nach Abschluss der Untersuchungen möchte ich Allen danken, die mich von Beginn bis zum Ende dieser Arbeit unterstützt haben.

Herrn Dr. Arne Lawrenz, betreuender Tierarzt des Zoo Wuppertal, und Herrn Dr. Alexander Sliwa, Kurator des Zoo Köln, vormals Zoo Wuppertal, gilt mein ausdrücklicher Dank für das mir entgegengebrachte Vertrauen und für die Überlassung des Themas der vorliegenden Dissertation.

Ganz besonders danke ich Herrn Prof. Klaus Eulenberger, betreuender Tierarzt des Zoo Leipzig, für seine Bereitschaft, diese Arbeit zu betreuen und für sein von ihm als selbstverständlich erachtetes Verständnis für die Sorgen eines jungen Menschen in der Promotion.

Herrn Dr. Schürer, Direktor des Zoo Wuppertal, danke ich, dass er diese Arbeit im Zoo Wuppertal ermöglicht hat. Ich danke auch stellvertretend für alle Mitarbeiter des Zoo Wuppertal Herrn Flender, Verwaltungsdirektor des Zoo Wuppertal, Frau Katrin Gries und Frau Nora Börger, tierärztliche Fachangestellte des Zoo Wuppertal, für ihre Unterstützung und Aufmunterung.

Herrn Prof. Linke, Direktor des Referenzzentrums für Amyloidkrankheiten in Martinsried, Deutschland, danke ich für die ausführliche Untersuchung des Probenmaterials auf Ablagerungen von Amyloid und dessen Klassifizierung. Mein Dank gilt Frau Dr. Bence und Herrn Prof. Eckersall am Institut für Vergleichende Medizin der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Glasgow, UK für ihren freundlichen Empfang in Glasgow und die Messung der Akute Phase Proteine.

Besonderer Dank gilt auch Karoline, die den Werdegang dieser Arbeit mit Sanftmut beeinflusst hat. Ebenso danke ich meinem Bruder und meinen Freunden, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen.

Mein aufrichtigster Dank gilt meinen Eltern, die mein Studium und diese Arbeit ermöglichten, allen meinen Vorhaben wohlwollende Unterstützung entgegenbrachten und mich immer ihren unerschütterlichen Glauben an mich spüren lassen.

Und nicht zuletzt:



**Thank You Africa**