

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Untersuchungstiere

Die Grundlage für diese Arbeit bilden die Falken eines deutschen Falkenzüchters. In seinem Bestand werden Gerfalken (*Falco rusticolus*), Sakerfalken (*Falco cherrug*), Wanderfalken (*Falco peregrinus*), Lannerfalken (*Falco biarmicus*) und Berberfalken (*Falco peregrinus pelegrinoides*) sowie deren Hybride (Ger-Saker-Hybridfalken, Ger-Wander-Hybridfalken, Wander-Berber-Hybridfalken, Ger-Lanner-Hybridfalken) gehalten und gezüchtet.

Die Zuchttiere leben paarweise oder einzeln in Außenvoliere und werden hauptsächlich mit selbst aufgezogenen, vier Wochen alten Hähnchen gefüttert. Somit waren für alle Tiere die gleichen Bedingungen gegeben.

Aus dem Bestand ist bekannt, dass bei verstorbenen Tieren regelmäßig Amyloidosen nachgewiesen wurden.

Die Untersuchungen für diese Arbeit wurden zwischen September 2005 und Februar 2006 durchgeführt. Dafür wurden insgesamt 64 Tiere untersucht, die aufgrund unterschiedlicher Anamnesen bzw. zur Routinekontrolle im Institut für Geflügelkrankheiten der Freien Universität Berlin vorgestellt wurden.

Für die Untersuchungen sind die Tiere verhaubt, um den Stress für die Falken zu minimieren, und werden zu den einzelnen Untersuchungen von einer erfahrenen Hilfsperson gefangen und fixiert.

3.2 Anamnese und Allgemeinuntersuchung

Jedem Falken wurde zunächst eine interne, fortlaufende Nummer zugewiesen. Es wurde von jedem Falken die Ringnummer überprüft sowie die jeweilige Spezies mithilfe der CITES-Bescheinigung, des Abstammungsnachweises sowie des Habitus erfasst. Des Weiteren wurden Alter, Geschlecht und Gewicht ermittelt. Hierbei wurde das Alter anhand der Jahreszahl des Fußringes und anhand des Schlupfdatums auf der CITES-Bescheinigung bestimmt. Das Geschlecht jeden Tieres lässt sich ebenfalls aus der CITES-Bescheinigung entnehmen und wurde bei der später durchgeführten endoskopischen Untersuchung überprüft. Das Gewicht wurde

während der ersten durchgeführten Narkose ermittelt. Hierfür wurden die Falken ohne Falkenhaube, aber mit angelegtem Geschüh gewogen und auf 10 g gerundet. Vorberichtlich erfasst wurden außerdem Angaben über die Zuchtaktivität bzw. die Legetätigkeit, über frühere oder momentane Erkrankungen und über das Allgemeinbefinden und Fressverhalten der letzten Tage vor Untersuchungsbeginn. Bei einer Allgemeinuntersuchung wurde auf das Allgemeinbefinden, auf klare Augen, freie Nasenlöcher, auf eine ungestörte, gleichmäßige und regelmäßige Atmung und auf den Zustand des Federkleides geachtet. Jede Abweichung wurde im Untersuchungsprotokoll erfasst.

Für die Bestimmung des Ernährungszustandes jedes einzelnen Tieres wurde das Gewicht herangezogen sowie der Bemuskelungszustand der Brustmuskulatur (*Musculi pectorales*) palpatorisch erfasst.

3.3 Spezielle Untersuchungen

3.3.1 Ablauf der Untersuchungen

Die speziellen Untersuchungen fanden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen statt und gestalteten sich in ihrem zeitlichen Ablauf wie folgt:

- Tag 1: a) Blutentnahme für blutchemische und hämatologische Untersuchung
- b) Röntgen
- c) Computertomographie (CT)
- Tag 2: d) Sonographie inklusive Leberbiopsie
- e) Endoskopie inklusive Leberbiopsie

Für alle durchgeführten speziellen Untersuchungen wurden die Falken mittels Inhalationsnarkose (Blutentnahme, Röntgen, Endoskopie) oder Injektionsnarkose (CT, Sonographie) betäubt.

Alle entnommenen Leberbiopate wurden anschließend histopathologisch untersucht.

3.3.2 Narkose

3.3.2.1 Inhalationsnarkose

Narkosegerät: Typ Nr. 8201405, Drägerwerk AG, Lübeck

Inhalationsnarkotikum: Isoflo[®], ABBOTT Laboratories Ltd., Queenborough-Kent, UK

Narkosemaske: Kleintiermaske für Katzen, mittel, 57 mm, Heiland Vet GmbH & Co. KG, Hamburg

Die Einleitung der Inhalationsnarkose erfolgt mit 5 % Volumenanteilen Narkosegas sowie 0,7 l/min Sauerstoff und 1,5 l/min Druckluft. Die Narkose wird im Verlauf mit 2,5 % Volumenanteilen Isofluran aufrechterhalten. Die Tiefe der Narkose wird regelmäßig anhand des Reflexschemas von Korbel (2003 b) überprüft und die Tiefe nach den entsprechenden Empfehlungen eingestellt. Die Narkose wird über die Dauer der jeweiligen Untersuchung aufrechterhalten. Die Narkoseausleitung erfolgt durch Schließen der Narkosegaszufuhr.

3.3.2.2 Injektionsnarkose

Injektionsnarkotika:

Ketamin Gräub, 10 %, Hersteller Dr. E. Gräub AG, Bern,

Pharmazeutischer Unternehmer: A. Albrecht GmbH & Co. KG,
Aulendorf

Xylazin 2 %, CEVA Tiergesundheit GmbH, Düsseldorf

Desinfektion: Kodan Tinktur Forte Farblos, Schülke & Meyer GmbH, Norderstedt

Spritzen zur Injektion: Omnican F[®] Feindorsierspritze, B. Braun Melsungen AG,
Melsungen

Ketamin (0,07 mg pro Kilogramm Körpergewicht) und Xylazin (0,006 mg pro Kilogramm Körpergewicht) wurden als Gemisch in die *Vena ulnaris* oder in die *Vena metatarsalis plantaris superficialis* injiziert.

Nach Eintritt der Narkose wird dem Falken die Haube abgenommen, um besser den Verlauf der Narkose überwachen zu können (Korbel, 2003 b).

Nach ca. 10 Minuten beginnt die Aufwachphase. Der Falke wird nun wieder verhaubt und in der sich anschließenden Nachschlafphase alle 5 – 10 Minuten auf Atmung und Reaktionsvermögen kontrolliert.

3.3.3 Blutuntersuchung

3.3.3.1 Entnahme und Aufbereitung

Spritzen: Terumo® Syringe 5 ml, Terumo Europe N. V., Leuven, Belgium

Kanülen: Neolus® 22G x 1 ¼“ (07 x 30 mm), BSN medical GmbH & Co. KG,
Hamburg

Desinfektion: Kodan Tinktur Forte Farblos, Schülke & Meyer GmbH, Norderstedt

Blutprobenröhrchen:

Lithium-Heparin-Mikro-Probengefäße für Blutproben 1,3 ml, SARSTEDT
Aktiengesellschaft & Co., Nümbrecht

Röhrchen zur Serumgewinnung mit Gerinnungsaktivator und
Präparierungsträger, 10 ml, SARSTEDT Aktiengesellschaft & Co.,
Nümbrecht

Objektträger: Menzel-Gläser, geschnitten/ Mattrand, Menzel GmbH & Co. KG,
Braunschweig

Die Blutentnahme findet zu Beginn der speziellen und zum Teil invasiven Untersuchungen statt, um eventuelle Veränderungen der Leber- und Muskelwerte durch Manipulationen ausschließen zu können.

Die Blutentnahme wird an der rechten Jugularvene (*Vena jugularis dextra*), wenn dies nicht möglich ist an der linken Jugularvene (*Vena jugularis sinistra*), vorgenommen (Ferrer *et al.*, 1987; Hernandez, 1991 b; Korbel, 1990; Lumeij und Remple, 1992).

Es werden für die anstehenden Untersuchungen ca. 3,5 ml Blut benötigt. Davon werden ca. 1,3 ml Blut in die Lithium-Heparin-Röhrchen zur Plasmagewinnung (siehe Kapitel 3.3.3.4), ca. 1,5 – 2 ml in präparierte Röhrchen zur Serumgewinnung (siehe Kapitel 3.3.3.4) und ca. 0,1 ml in die Mikrokapillaren zur Bestimmung des Hämatokrits (siehe Kapitel 3.3.3.3) gefüllt.

Zusätzlich werden pro Tier ca. 0,1 – 0,2 ml Blut für die Anfertigung von Blutaussstrichen benötigt (siehe Kapitel 3.3.3.2 und 3.3.3.3). Pro Tier werden etwa fünf Blutausstriche angefertigt. Dies erfolgt nach den Vorgaben von Echols (1999) (siehe auch Kapitel 2.3.2.3).

3.3.3.2 Färbungen der Blutausstriche: Modifizierte Wright-Giemsa-Färbung nach Samour (2006)

Färbelösung:

3 g Wright Pulver: Wright's Eosin-Methylenblau, N° 1.09278.0025, Merck KGaA, Darmstadt, D

0,3 g Giemsa Pulver: Giemsa's Azur-Eosin-Methylenblau, N° 1.09203.0025, Merck KGaA, Darmstadt, D

5 ml Glycerin: Charge 04252672, Carl Roth GmbH + Co., Karlsruhe, D

1000 ml Methanol (acetonefrei): N° 1.06009.2500, Merck KGaA, Darmstadt, D

Puffer pH 6,8: N° 1.11374.0100, Merck KGaA, Darmstadt, D

Der luftgetrocknete Blutausstrich wird auf eine Färbebank gelegt und zunächst drei Minuten mit der entsprechend der Anleitung hergestellten Färbelösung bedeckt. Anschließend wird der aufgetragenen Färbelösung die gleiche Menge Puffer pH 6,8 hinzugefügt. Färbelösung und Puffer werden nun auf dem Objektträger vorsichtig durch Luftstrom mit einer Pipette oder einem Strohhalm vermischt, bis ein metallgrüner Schimmer auf der Oberfläche erscheint. Nach sechs Minuten Einwirkzeit wird das Färbelösung-Puffer-Gemisch abgekippt und der Objektträger mit Puffer pH 6,8 für eine Minute bedeckt. Anschließend wird der Puffer abgekippt und der Objektträger reichlich mit Puffer gespült. Mit Hilfe eines Tuches wird die Rückseite des Objektträgers von Farbresten gereinigt.

3.3.3.3 Hämatologie

Hämatokrit

Mikro-Hämatokritröhrchen: Assistent[®], Na-heparinisiert, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen

Verschlusskitt für Hämatokrit-Kapillaren: Hettich Zentrifugen, Tuttlingen

Hämatokrit-Zentrifuge: Haematokrit 20, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen

Für die Bestimmung des Hämatokrits wird Blut des Patienten in je zwei Mikrokapillaren aufgezogen, so dass diese mindestens 50 % bis maximal 75 % gefüllt sind. Die gefüllten Mikrokapillaren werden nun fünf Minuten bei 7000 U/min

zentrifugiert. Der Hämatokrit wird mithilfe einer speziellen gerätespezifischen Schablone an der Grenze zwischen Blutkuchen und Serum abgelesen und in Prozent angegeben.

Leukozytenschätzung

Mikroskop: Leica DM4000B, Leica Microsystems Wetzlar GmbH, Wetzlar, D

Die gefärbten und fixierten Blutaussstriche werden für die Leukozytenschätzung nach Lane (1991) unter dem Mikroskop in vierhundertfacher Vergrößerung betrachtet. Hierzu werden in 10 Einzelgesichtsfeldern alle Leukozyten gezählt. Die Ergebnisse, angegeben als Gesamtleukozytenzahl pro μl Blut, erhält man nach den Vorgaben von Christen (2004). Dazu werden die 10 Einzelergebnisse addiert und die Summe mit dem Faktor 200 multipliziert.

Differenzialblutbild

Mikroskop: Leica DM4000B, Leica Microsystems Wetzlar GmbH, Wetzlar, D

Zählgerät: 6-stelliges mechanisches Zählgerät, Heathrow, N° 9.521.801

Die Erstellung des Differenzialblutbildes erfolgt nach den in der Literatur bereits etablierten Kriterien in 1000facher Vergrößerung und unter Ölimmersion (Barger, 2003; Christen *et al.*, 2004; Samour, 2006). Dabei erfolgt die Differenzierung der weißen Blutzellen nach Beschreibungen von Campbell und Dein (1984) sowie Samour (2006). Die exakte Zählung der einzelnen Zellen wird durch die Benutzung eines Zählgerätes mit verschiedener Tastenbelegung gewährleistet. Nach Abschluss der Zählung von 200 Zellen werden für jede einzelne Zellart ihre Anteile am gesamten weißen Blutbild in Prozent angegeben.

3.3.3.4 Blutchemie

Zentrifuge: Eppendorf Centrifuge Typ 5415C, Eppendorf, Hamburg

Pipette: Eppendorf-Pipetten mit einem Messbereich bis 200 μl , Eppendorf, Hamburg

Pipettenspitzen: Safe Seal Tips 200 μl , Biozym, Hess.-Oldendorf

Probengefäße: Safe-Lock Tubes 1,5 ml, Eppendorf, Wesseling-Berzdorf

Das in den Lithium-Heparin-Röhrchen gesammelte Blut wird umgehend fünf Minuten bei 5000 Umdrehungen (= 3490.625g) zentrifugiert, um das Plasma zu separieren. Dieses wird in ein 2-ml-Eppendorfgefäß überführt.

Das Blut in den speziellen Probengefäßen zur Serumgewinnung wird unverarbeitet versendet.

In einem kommerziellen Labor (VetMedLabor GmbH, Ludwigsburg) werden folgende Blutwerte (aufgeführt in alphabetischer Reihenfolge) bestimmt:

- Albumin in g/dl
- ALT (Alanin-Amino-Transferase) in U/l
- AST (Aspartat-Amino-Transferase) in U/l
- CK (Kreatin-Kinase) in U/l
- Cholesterin in mmol/l
- Gallensäuren in $\mu\text{mol/l}$
- Gesamteiweiß in g/dl
- GLDH (Glutamat-Dehydrogenase) in U/l
- LDH (Laktat-Dehydrogenase) in U/l

Die Analyse der ermittelten blutchemischen Werte erfolgt anhand der in der Literatur angegebenen Referenzwerte (Lierz, 2002; Lierz, 2003; Lierz und Hafez, 2006; Lumeij *et al.*, 1998; Samour und Naldo, 2003), siehe auch Kapitel 2.3.2.3.

3.3.4 Röntgen

3.3.4.1 Untersuchung

Röntgengerät: Collimax X-Ray Collimator, Model r-120H, Collimax Corporation,
Tokyo, Japan

Röntgenfilme: Fuji Medical X-Ray Film 100 NIF 24 x 30 cm, UM-MA HC For
Mammography, Fuji Photo Film Co., Ltd., Tokyo, Japan

Röntgenkassetten: Fuji EC-MA Cassette 24 x 30 cm UM MAMMO FINE, Fuji Photo
Film Co., Ltd., Tokyo, Japan

Entwicklungsmaschine: Optimax X-Ray Film Processor, Modell 1170-1-0000,
PROTEC Medizintechnik GmbH & Co. KG, Oberstenfeld

Entwickler: Adefo Mediroll Entwicklerkonzentrat, Adefo-Chemie GmbH, Nürnberg

Fixierer: Adefofix Fixierkonzentrat, Adefo-Chemie GmbH, Dietzenbach

Um eine gute Auswertbarkeit der Röntgenbilder zu gewährleisten, fasteten die Tiere vor Beginn der Untersuchungen mindestens 16 Stunden.

Es wird je eine Aufnahme im ventrodorsalen (vd) und eine im laterolateralen (ll) Strahlengang angefertigt. Bei der vd-Aufnahme wird auf die exakte Überlagerung von Brustbein und Wirbelsäule geachtet. Bei der ll-Aufnahme wird der Vogel routinemäßig auf seine linke Körperseite gelegt, so dass sich die beiden Hüftgelenke überlagern.

Für die Röntgenaufnahmen wird kein Raster verwendet. Der zu röntgende Vogel wird direkt auf die Kassette mit enthaltenem Röntgenfilm gelegt und durch zwei Personen manuell fixiert.

Für beide Röntgenaufnahmen wird der zu röntgende Bereich individuell so eingestellt, dass der Vogel von einigen Zentimetern cranial des Brusteinganges bis einige Zentimeter caudal der Kloake abgebildet wird.

Für beide Standardaufnahmen wurde jeder Falke mit 40 kV und 16 mAs geröntgt.

3.3.4.2 Beurteilung der Röntgenbilder

Die Beurteilung der Röntgenbilder erfolgt nach Vorgaben von Beregi (1999) und Krautwald (1987). Dabei wird vor allem auf Form und Größe des Leberschattens sowie auf die symmetrische Ausdehnung der Luftsäcke geachtet.

3.3.4.3 Messungen im Röntgenbild

Zur Beurteilung der tatsächlichen Lebergröße wird in der ventrodorsalen Röntgenaufnahme die Leber jedes Vogels in ihrer laterolateralen Ausdehnung gemessen: zum einen auf Höhe des 8. Brustwirbelkörpers (BWK) und zum anderen auf Höhe der maximalen Ausdehnung der Leber, siehe Abbildung 1.

In Anlehnung an die Arbeit von Straub *et al.* (2002) werden zusätzlich in der ventrodorsalen Röntgenaufnahme die Herzbreite und die Thoraxbreite jeweils auf Höhe des 5. Brustwirbelkörpers (BWK) sowie die Breite des rechten Coracoids direkt proximal der *Facies articularis humeri* erfasst, siehe Abbildung 1.

In der laterolateralen Röntgenaufnahme wird die Länge des Sternums gemessen, siehe Abbildung 2.

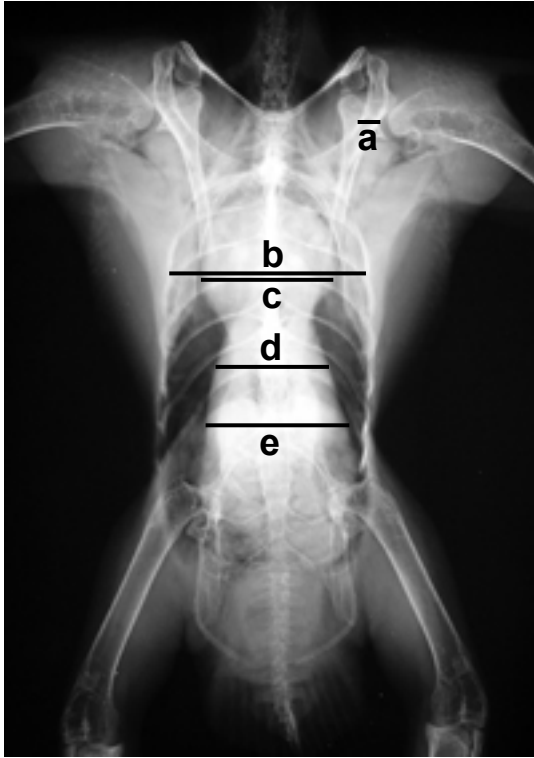


Abbildung 1.: Röntgen, Falke Nr. 49, ventrodorsaler Strahlengang, Messungen: a) Coracoidbreite, b) Thoraxbreite auf Höhe des 5. Brustwirbelkörpers, c) Herzbreite auf Höhe des 5. Brustwirbelkörpers, d) Leberbreite auf Höhe des 8. Brustwirbelkörpers, e) maximale Leberbreite

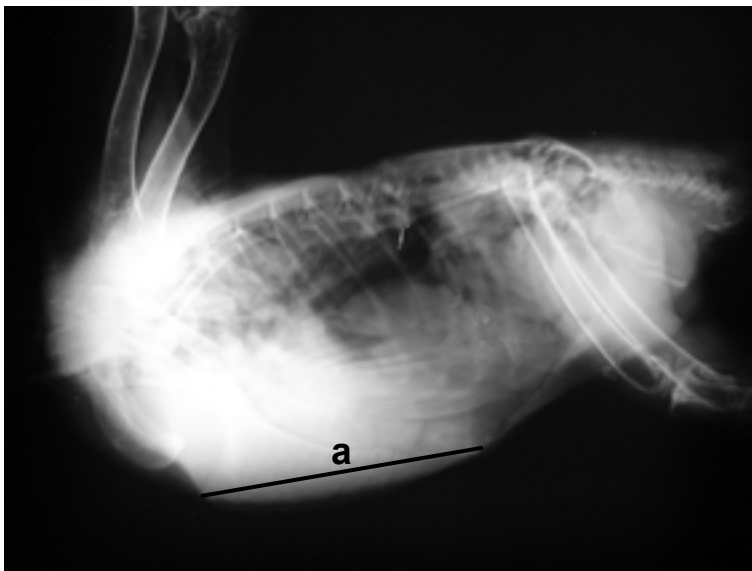


Abbildung 2.: Röntgen, Falke Nr. 49, laterolateraler Strahlengang, Messung: a) Sternumlänge

Durch die Bildung der Quotienten aus Herzbreite und Thoraxbreite sowie aus Herzbreite und Sternumlänge haben Straub *et al.* (2002) nachgewiesen, dass eine mathematische Beziehung zwischen der Größe innerer Organe und knöcherner Strukturen besteht. Dies dient als Grundlage für die Messungen und Berechnungen der absoluten und relativen Lebergröße in dieser Arbeit.

Dem entsprechend werden aus den Einzelwerten der Leberbreite und der Sternumlänge für jeden Falken Verhältnisse, so genannte Ratios, gebildet. Der Quotient aus röntgenologisch erfasster Leberbreite auf Höhe des 8. BWK und der entsprechenden Sternumlänge wird als Rö-Leber-BWK/Sternum-Ratio bezeichnet. Analog dazu wird der Quotient aus maximaler Leberbreite und Sternumlänge als Rö-Leber-max/Sternum-Ratio bezeichnet. Diese Ratios dienen der besseren Vergleichbarkeit der Leberausmaße verschiedener Falkenarten und verschieden großer Individuen.

3.3.5 Computertomographie (CT)

3.3.5.1 Technische Daten

Computertomograph: Siemens SOMATOM Sensation 16

Schichtdicke: 0,75 mm

Kollimation: 0,75 mm

Spannung: 120 kV

Leistung: 180 mAs

Strahlendosis: 1,75 mGy/vol

Scandauer: ca. 20 s

3.3.5.2 Untersuchung

Verweilkanüle: Vasofix[®] Braunüle[®] 22G x 1“ (0,9 x 25 mm), B. Braun Melsungen AG, Melsungen

Mandrin: Mandrin/Stylet Vasofix[®] / Vasocan[®] 22G x 25 mm, B. Braun Melsungen AG, Melsungen

Klebeband: tesa[®] Textilband, 1,9 cm, BDF Beiersdorf AG, Hamburg

Desinfektion: Kodan Tinktur Forte Farblos, Schülke & Meyer GmbH, Norderstedt

Kontrastmittel: Ultravist[®]-300, Schering Deutschland GmbH, Berlin

Natriumchlorid: Isotonische Natriumchlorid-Lösung ad us. vet., B. Braun Melsungen AG, Melsungen

Direkt nach Einsetzen der Narkose wird dem Vogel am linken Flügel eine Braunüle® in die *Vena ulnaris* gelegt, mit Klebeband fixiert und zunächst mit einem Mandrin verschlossen. Das narkotisierte Tier wird dann in Dorsallage mit dem Kopf voran auf dem Untersuchungstisch des Computertomographen platziert. Der zu untersuchende Bereich umfasst bei den Falken jeweils den Bereich von einigen Zentimetern cranial des Brusteinganges bis einige Zentimeter caudal der Kloake.

Zuerst wird ein Nativscan des Vogels durchgeführt. Ein kompletter CT-Scan dauert mit Hilfe des verwendeten Gerätes pro Vogel etwa 20 Sekunden und ergibt, abhängig von der Größe des Tieres, ca. 270 – 480 Einzelbilder.

Nach Abschluss des Nativscans werden dem Vogel über die Braunüle® Kontrastmittel in die Vene injiziert (3 ml pro kg Körpergewicht). Die Menge des Kontrastmittels wurde an die für den Menschen angegebene Dosis von 1-3 ml pro kg Körpergewicht angelehnt, wobei aufgrund der höheren Stoffwechselrate des Vogels die höchste Dosis von 3 ml/kg Körpergewicht gewählt wurde.

In einem Vorversuch zur Durchführung der Kontrastmitteluntersuchungen wurden die Scans nach 30 Sekunden, 1 Minute und 5 Minuten durchgeführt. Anhand der daraus resultierenden Ergebnisse erfolgt der erste Scan 50 Sekunden nach Beginn der Kontrastmittelinjektion (venöse Phase), ein weiterer Scan 5 Minuten nach Kontrastmittelinjektion (Spätaufnahme).

Nach Abschluss dieser insgesamt 3 Komplettskans wird dem Falken die Braunüle® entfernt und die Punktionsstelle sowie die Aufwachphase kontrolliert.

Die Sicherung der Daten erfolgt auf CD-R.

3.3.5.3 Beurteilung inklusive Messungen von Größe und Dichte der Leber

Software: eFilm 1.9.6, Merge Healthcare Companies, Milwaukee, WI, USA

Messung der Lebergröße

Mit Hilfe der Software eFilm wird an verschiedenen Stellen die Größe der Leber gemessen. Aufgrund der besseren Darstellung der Leber werden die Messungen der Lebergrößen in den venösen Kontrastmittelaufnahmen (50 Sekunden post KM)

durchgeführt. Dazu wird die jeweilige axiale Schnittbildebene ausgewählt, in der die Aufteilung der Leberpfortader in ihre beiden Äste gut sichtbar ist. In dieser Schnittebene werden nun zunächst die maximale laterolaterale Ausdehnung der Leber (siehe Abbildung 3, Messung a) sowie jeweils die ventrodorsale Ausdehnung des rechten und des linken Leberlappens gemessen (siehe Abbildung 3, Messung b und c).

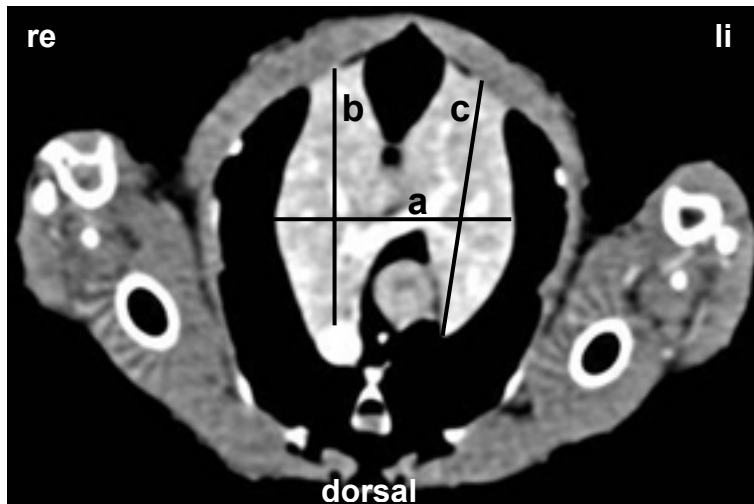


Abbildung 3.: CT Falke Nr. 27, axiale Schnittebene, 50 s post KM, Leber: a) Messung der laterolateralen Ausdehnung, b) Messung der ventrodorsalen Ausdehnung des rechten Leberlappens, c) Messung der ventrodorsalen Ausdehnung des linken Leberlappens

Zur Kontrolle werden in der sagittalen Schnittebene nochmals zwei Messungen der ventrodorsalen Ausdehnung der Leber durchgeführt. Hierzu wird die Schnittebene ausgewählt, in der die Leber die größte ventrodorsale Ausdehnung aufweist. Dann wird die ventrodorsale Messung zwischen der ventralsten Lebergrenze am Caudalende des Sternums und a) der dorsalsten Stelle nahe der Herzbasis sowie b) der am weitesten gerade nach dorsal reichenden Stelle vorgenommen, siehe Abbildung 4.

Zur Ermittlung der craniocaudalen Ausmaße der Leber wird die sagittale Schnittebene mit der größten craniocaudalen Ausdehnung gewählt. In dieser Ebene wird zwischen der am weitesten cranial liegenden Lebergrenze nahe der Herzspitze (c) sowie der am weitesten cranial liegenden Lebergrenze nahe der Herzbasis (d) und jeweils der am weitesten caudal liegenden Lebergrenze gemessen, siehe Abbildung 4.

Die einzelnen Messungen der Leberausdehnung im CT und ihre im Folgenden verwendeten Abkürzungen sind zur Übersicht in Tabelle 6 aufgelistet.

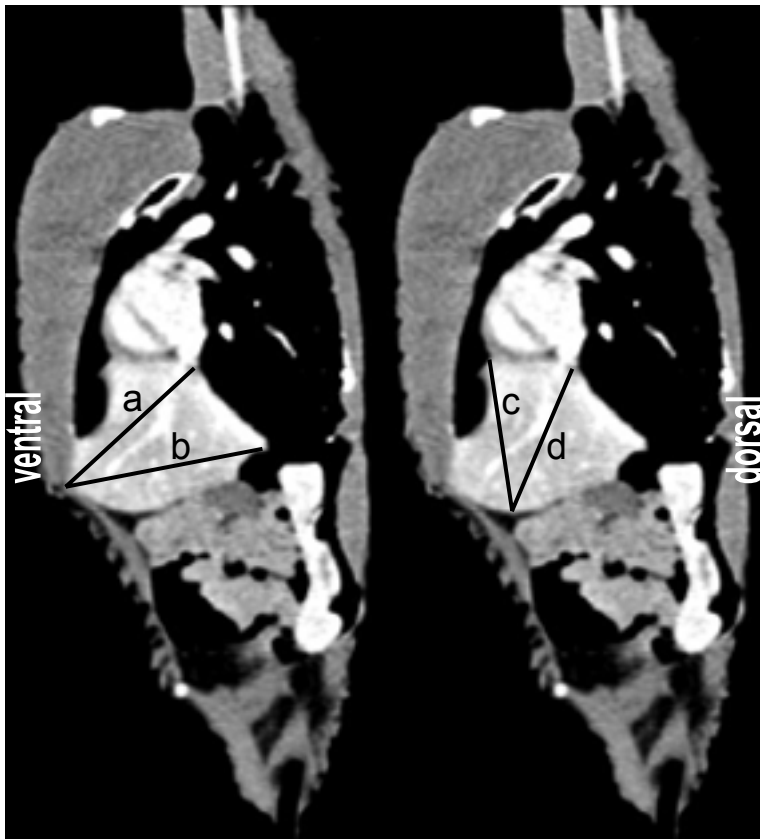


Abbildung 4.: CT Falke Nr. 27, sagittale Schnittebene, 50 s post KM, Leber: a) Messung der ventrodorsalen Ausdehnung vom Sternum zur Herzbasis, b) Messung der ventrodorsalen Ausdehnung vom Sternum zur dorsalsten Lebergrenze, c) Messung der craniocaudalen Ausdehnung von der Herzspitze zur caudalsten Lebergrenze, d) Messung der craniocaudalen Ausdehnung von der Herzbasis zur caudalsten Lebergrenze

Tabelle 6.: Übersicht über verwendete Bezeichnungen der Lebermessungen im CT-Bild mit den entsprechend im Folgenden benutzten Abkürzungen

Messung der Leberausdehnung im CT	Im Folgenden verwendete Abkürzung
Axiale Schnittbildebene, maximale laterolaterale Ausdehnung (siehe Abb. 3, Messung a)	Axial ll
Axiale Schnittbildebene, ventrodorsale Ausdehnung des rechten Leberlappens (siehe Abb. 3, Messung b)	Axial vd rechts
Axiale Schnittbildebene, ventrodorsale Ausdehnung des linken Leberlappens (siehe Abb. 3, Messung c)	Axial vd links
Sagittale Schnittbildebene, Messung der ventrodorsalen Ausdehnung vom Sternum zur Herzbasis (siehe Abb. 4, Messung a)	Sag vd St-Basis
Messung der ventrodorsalen Ausdehnung vom Sternum zur dorsalsten Lebergrenze (siehe Abb. 4, Messung b)	Sag vd St-Spitze
Messung der craniocaudalen Ausdehnung von der Herzspitze zur caudalsten Lebergrenze (siehe Abb. 4, Messung c)	Sag cc Spitze-caudal
Messung der craniocaudalen Ausdehnung von der Herzbasis zur caudalsten Lebergrenze (siehe Abb. 4, Messung d)	Sag cc Basis-caudal

Analog zu den Ratios aus den röntgenologischen Messungen wird aus den im computertomographischen Bild gemessenen Leberausdehnungen und den jeweiligen im Röntgenbild erfassten Sternumlängen der Quotient Leberdimension/Sternumlänge gebildet (CT-Leber/Sternum-Ratio). Die Sternumlänge lässt sich im sagittal umgerechneten CT-Schnittbild nicht immer in ihrer gesamten Länge darstellen und messen, weshalb auch für die Berechnung der CT-Ratios die röntgenologisch erfasste Sternumlänge gewählt wird.

Die Bezeichnung der errechneten Ratios erfolgt nach der CT-Schnittebene und der Ausrichtung der Messlinie. Zur Benennung der Quotienten dient jeweils die in Tabelle 6 aufgelistete Abkürzung. So wird beispielsweise der Quotient aus laterolateraler Leberbreite im axialen Schnittbild und der Sternumlänge des Vogels als CT-axial-II/Sternum-Ratio bezeichnet.

Die Ratios dienen der besseren Vergleichbarkeit der Leberausmaße verschiedener Falkenarten und verschieden großer Individuen.

Dichtemessung der Leber

Die Dichtemessung der Leber erfolgt in der axialen Schnittebene auf Höhe der Pfortaderaufzweigung, siehe Abbildung 5. Hierzu werden jeweils in der Nativaufnahme und in beiden Kontrastmittelaufnahmen insgesamt sechs Dichtemessungen á 0,3 cm² vorgenommen. Drei dieser sechs Messungen erfolgen im rechten, drei im linken Leberlappen, jeweils einheitlich von ventral nach dorsal. Pro Leberlappen werden aus den jeweils drei erhobenen einzelnen Dichtewerten arithmetische Mittelwerte erstellt. Alle sich anschließenden statistischen Untersuchungen werden mit diesen Mittelwerten durchgeführt.

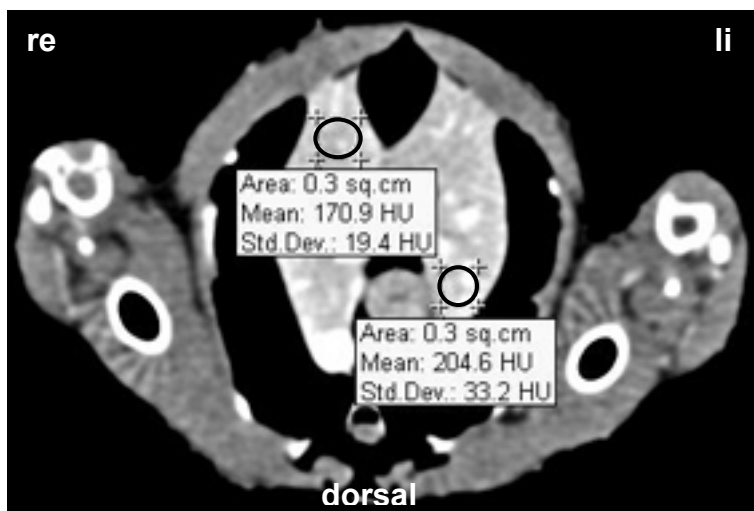


Abbildung 5.: CT Falke Nr. 27, axiale Schnittebene, 50 s post KM, Leber, Beispiel zweier Dichtemessungen

3.3.6 Ultraschall

3.3.6.1 Untersuchung

Ultraschallgerät: Sigma Iris 440, Kontron AG, Eiching/München

Schallkopf: mechanischem Schallkopf, 7,5 MHz

Ultraschallgel: Echoson, Sonogel Vertriebs GmbH, Bad Camberg

Zum Zeitpunkt der Ultraschalluntersuchung haben die Falken etwa 40 Stunden gefastet.

Die Untersuchung erfolgt in dorsaler Lage, wobei als Ankopplungsstelle für den Ultraschallkopf ein etwa 4 x 4 cm großes Areal (abhängig von der Größe des Vogels) caudal des Brustbeines dient, siehe Abbildung 6. Dieser Bereich wird von Federn befreit und der mit Gel bestrichene Ultraschallkopf an dieser Stelle angelegt.

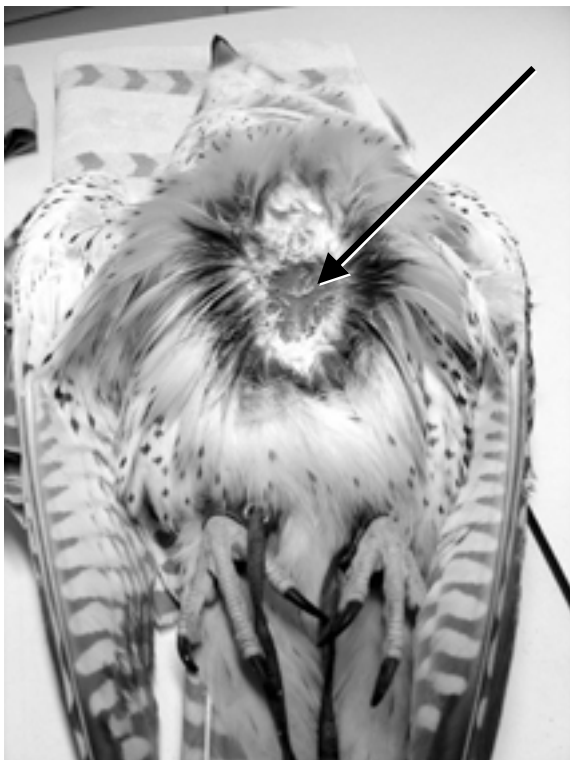


Abbildung 6.: Falke Nr. 39 (Gerfalke), narkotisiert und vorbereitet für sonographische Untersuchung der Leber (Pfeil markiert das Ultraschallfeld)

Zuerst wird der Schallkopf mittig und nach cranial ausgerichtet, dann die Untersuchung auf die linke und rechte Körperseite ausgedehnt, um alle Leberlappen darstellen zu können. Es erfolgt zunächst die Untersuchung aller Leberbereiche im

Längsschnitt, anschließend im Querschnitt, mit einer Eindringtiefe der Ultraschallwellen von ca. 3 – 4 cm bei ca. 7,5 MHz. Es wird hierbei subjektiv die Echogenität des Lebergewebes beurteilt.

Durch die Leber hindurch kann sonographisch bei einer Eindringtiefe der Ultraschallwellen von ca. 4 – 5 cm bei 7,5 – 10 MHz auch das Herz dargestellt werden. Eine Untersuchung des Herzens ist im Zusammenhang mit der Beurteilung der Leber wichtig, da sich aufgrund von Störungen der Herzfunktion Stauungen im Blutkreislauf auch auf die Größe und Struktur der Leber und auf die Weiten der Lebergefäße auswirken können. Am Herzen werden jeweils die diastolischen und systolischen Weiten der rechten und linken Herzkammer kurz unterhalb des Klappenansatzes (Mitral- bzw. Trikuspidalklappe) gemessen. Zusätzlich wird mittels Dopplertechnik der Blutfluss an Mitral-, Trikuspidal- und Aortenklappe bestimmt. Auf die Ergebnisse dieser Messungen soll an entsprechender Stelle nur dann kurz eingegangen werden, wenn Beeinträchtigungen der Leber durch eine gestörte Herzfunktion zu erwarten sind.

3.3.6.2 Sonographisch geführte Biopsie

Biopsiezange: Quick-Core[®] Biopsy Needle QC-16,15.0-20T, William Cook Europe, Denmark

Quick-Core[®] Biopsy Needle QC-20,15.0-20T, William Cook Europe, Denmark

Formalin: Firma Roth

Probengefäße: Safe-Lock Tubes 2,0 ml, Eppendorf, Wesseling-Berzdorf, N° 0030 120.094

Desinfektion: Kodan Tinktur Forte Farblos, Schülke & Meyer GmbH, Norderstedt

Nach Abschluss der sonographischen Untersuchung (siehe Kapitel 3.3.6.1) wird dem noch narkotisierten Vogel mittels manuell geführter Biopsiezange eine Gewebeprobe der Leber entnommen. Dafür wird der Bereich, an dem auch die Ultraschalluntersuchung durchgeführt wurde, vom Ultraschallgel befreit und die Haut desinfiziert. Für die Biopsienahme wird eine Eindringtiefe der Schallwellen von 3 – 4 cm gewählt. Die Entnahme erfolgt leicht links der Körpermitte. Dazu wird mit Hilfe des Ultraschallkopfes eine geeignete Stelle der Leber aufgesucht, die möglichst wenig bis keine großen Lebergefäße enthält. Idealerweise wird dann die bereits

gespannte 16 G-Biopsiezange oberhalb des Ultraschallkopfes in einem 45°-Winkel zu diesem durch die Haut des Falken eingeführt, siehe Abbildung 7. Unter Sichtkontrolle auf dem Ultraschallmonitor wird die Biopsiezange in die Leber vorgeführt. Befindet sich die Schnittstelle der Biopsiezange komplett im Lebergewebe wird der Spannmechanismus betätigt und somit ein etwa 1 – 2 cm langes und 1 – 2 mm breites Stück aus dem Lebergewebe geschnitten. Nach Probenentnahme wird die Entnahmestelle sonographisch auf etwaig entstehende Blutungen kontrolliert, um gegebenenfalls Maßnahmen ergreifen zu können.



Abbildung 7.: Falke Nr. 39 (Gerfalke), narkotisiert, Entnahme einer sonographisch geführten Leberbiopsie

In Anlehnung an diesbezügliche Publikationen (Helmer, 2006; Tillmann, 2004; Zebisch *et al.*, 2004) wurden bei fünf Tieren die Leberbiopsate mit Hilfe einer 20G-Nadel entnommen, um diese mit den Biopsaten der 16 G-Nadeln zu vergleichen. Das jeweilige Gewebestück wird mit Hilfe einer Kanüle vorsichtig aus der Biopsienadel entnommen und in einem Eppendorfgefäß mit 5%igem Formalin fixiert. Die Inzisionsstelle der Haut, die durch das Einführen der Biopsiezange entstanden ist, wird kontrolliert, jedoch im Normalfall nicht vernäht.

3.3.7 Endoskopie

3.3.7.1 Untersuchung

Endoskop: Hopkins Optik 4,0 mm, 0°, Karl Storz-Endoskope, Tuttlingen

Blitzgenerator 600, Karl Storz-Endoskope, Tuttlingen

Telecam DX pal: Karl Storz-Endoskope, Tuttlingen

Desinfektion: Kodan Tinktur Forte Farblos, Schülke & Meyer GmbH, Norderstedt

Schere: Feine Schere, 9 cm, gerade, sp/sp, Vet Eickemeyer[®], Tuttlingen

Pinzette: Anatomische Pinzette 13 cm, mittelbreit, Vet Eickemeyer[®], Tuttlingen

Nadelhalter: nach Mayo-Hegar, mit Hartmetalleinlage, 15 cm, Vet Eickemeyer[®],
Tuttlingen

Nadel-Faden-Kombination: Polysorb Braided Lactomer 9-1, 4/0 (1,5 metric), mit
halbbrunder Rundkörpernadel, USSC Sutures, USA

Videogerät: Panasonic NV-HS825, Matsushita Audio Video (Deutschland) GmbH,
Peine

Video: Sony[®] E-240DDXE Super VHS, France

Monitor: Sony[®] PVM-20N5E, U. K.

Die Endoskopie wird mit einem Zugang von der linken Körperseite des Vogels und nach den Angaben von Lierz (2006) durchgeführt.

Für eine bessere Übersichtsdarstellung und exakte Beurteilung der inneren Organe wird mit dem 4,0-mm-Endoskop untersucht. Besonderes Augenmerk wird bei der Betrachtung der Leber auf Farbe, Oberflächenbeschaffenheit, Schärfe der Leberränder, Auflagerungen, Größe, Abgrenzung zu benachbarten Organen und fokale Veränderungen gelegt.

Zusätzlich werden Niere, Milz, Luftsäcke und Gonaden beurteilt. Auf die Ergebnisse dieser Untersuchungen wird nur dann kurz eingegangen, wenn sie im Zusammenhang mit Erkrankungen stehen können, die die Leber betreffen.

3.3.7.2 Endoskopisch geführte Biopsie

Endoskop: Hopkins Optik 2,7 mm, 30°, Karl Storz-Endoskope, Tuttlingen

Arbeitskanal: Karl-Storz-Endoskope, Tuttlingen

Biopsiezange: Karl-Storz-Endoskope, Tuttlingen

Eppendorfgefäße: Safe-Lock Tubes 2,0 ml, Eppendorf, Wesseling-Berzdorf,

N° 0030 120.094

Formalin: Firma Roth

Im Rahmen der durchgeführten endoskopischen Untersuchung wird von jedem Falken eine Gewebeprobe der Leber entnommen. Bei endoskopisch erkennbaren pathologischen Veränderungen der Niere, der Milz oder des Luftsackes werden auch diese biopsiert.

Die Biopsie wird mittels einer flexiblen Biopsiezange und einem 2,7-mm-Endoskop mit passendem Arbeitskanal entnommen. In der Routine wird das Leberbiopat vom Leberrand entnommen. Bei sichtbaren und fokalen Veränderungen wird der Rand der veränderten Stelle biopsiert.

Nach Entnahme der jeweiligen Gewebeprobe wird diese vorsichtig in ein Eppendorfgefäß mit 5%igem Formalin überführt.

3.3.8 Histopathologie

Mikroskop: Olympus CX21

Die Anfertigung und Untersuchung der histopathologischen Schnittpräparate fand im Institut für Tierpathologie der Freien Universität Berlin statt.

Zunächst wurden alle Gewebebiopate in 5%igem Formaldehyd über 24 h fixiert. Nach Entwässerung und Paraffineinbettung wurden 3 µm dicke Schnittpräparate angefertigt und mit Hämalaun (Romeis, 1989 b) sowie Eosin (HE) nach Hansen gefärbt (Romeis, 1989 c). Die Präparate wurden anschließend systematisch histopathologisch untersucht. Für den Nachweis von Amyloidablagerungen in den Gewebeproben wurden zusätzlich 1 µm dicke Schnittpräparate hergestellt und mit Kongorot gefärbt (Romeis, 1989 f). Die Untersuchung auf Lichtdoppelbrechung des Amyloids erfolgte durch Polarisationsmikroskopie.

Darüber hinaus wurden zur Identifizierung von im HE-Präparat diagnostizierten Pigmentablagerungen Turnbull-Blau-Färbungen zum Nachweis von eisenhaltigem Hämosiderin (Romeis, 1989 d) und Färbungen mit Fouchets Reagenz zum Nachweis von Gallepigmenten durchgeführt (Romeis, 1989 e).

Die Untersuchung der endoskopisch und sonographisch entnommenen Leberbiopate fand unabhängig voneinander statt, um einen Vergleich beider Methoden bezüglich ihrer histopathologischen Auswertbarkeit anstellen zu können.

Alle histopathologischen Veränderungen wurden tabellarisch dokumentiert. Dabei wurden die erhobenen Befunde in Graden ihrer Ausprägung angegeben, um die spätere statistische Verwertung und Aufarbeitung in Verbindung mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen zu ermöglichen. Dabei wurden die Schweregrade jeder **einzelnen** histopathologischen Diagnose folgendermaßen eingeteilt:

Grad 0 = negativ;

Grad 1 = minimal;

Grad 2 = geringgradig;

Grad 3 = mittelgradig;

Grad 4 = hochgradig.

3.4 Statistische Auswertung und Darstellung der Ergebnisse

Software: SPSS Version 13.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA

Die statistische Auswertung und die graphischen Darstellungen der gewonnenen Daten erfolgten mit dem Statistikprogramm SPSS Version 13.0.

Gruppenvergleiche zwischen zwei Gruppen erfolgten je nach Datenlage mittels t-Test für gepaarte oder unabhängige Stichproben.

Gruppenvergleiche zwischen mehreren Gruppen erfolgten mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA, analyses of variances) und im Falle der Ablehnung der globalen Nullhypothese durch paarweisen Vergleich mit Bonferroni-Korrektur. Der Fehler erster Art (α) wird hierbei auf 5 % festgelegt (entspricht $p \leq 0,05$).

Korrelationskoeffizienten nach Pearson gelten ab einer Überschreitungswahrscheinlichkeit (p-Wert) kleiner oder gleich 0,05 ($p \leq 0,05$) als von Null verschieden.

Als signifikant wird eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$ definiert. Als hoch signifikant gilt eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,001$.

Grundsätzlich werden aus Gründen der Übersichtlichkeit nur die statistisch signifikanten Ergebnisse angegeben. Im Ergebnisteil nicht erwähnte Gruppenvergleiche und Teildaten wurden nach statistischer Berechnung als nicht signifikant eingestuft.

Ergebnisse in Tabellen sind in der Regel als Mittelwerte \pm Standardabweichung oder als Perzentile angegeben, um einen Überblick über die Verteilung des Parameters zu geben.

Zur graphischen Darstellung werden Kreisdiagramme und gestapelte Balkendiagramme für prozentuale Verteilungen verwendet. Zur optischen Verdeutlichung unterschiedlicher Varianzen von Gruppen werden Balkendiagramme mit Mittelwert \pm Standardfehler eingesetzt. Darstellungen von Korrelationen erfolgen mit Hilfe von Streu-Punkt-Diagrammen.