

Aus dem Institut für Tieranatomie der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Tieranatomie II

Vorstand: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F Sinowatz

## **Entwicklung von Mesonephros und Nachniere beim Rind**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Rebecca Melanie Sticklat  
aus  
Grafrath

München 2009

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Sinowatz

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Mansfeld

Tag der Promotion: 6. Februar 2009

Für Christian,  
meine Eltern und Wilhelm

---

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung .....	3
2.	Literatur .....	4
2.1.	Embryologie der Nierenentwicklung .....	4
2.1.1	Die Vorniere .....	4
2.1.2	Die Urniere .....	6
2.1.3	Die Nachniere .....	8
2.1.4	Entwicklung des Harnleiters, der Harnröhre und der Harnblase .....	11
2.2.	Anatomie der Nachniere des adulten Rindes .....	13
2.3.	Histologie der adulten Niere .....	14
2.3.1	Das Nephron .....	14
2.3.2	Tubulussystem .....	14
2.3.3	Sammelrohre .....	15
2.3.4	luxtaglomerulärer Apparat .....	16
3.	Material und Methoden .....	17
3.1.	Untersuchungsmaterial .....	17
3.2.	Probennahme .....	18
3.2.1	Präparation von Embryonen bis 2 cm SSL: .....	18
3.2.2	Präparation von Embryonen/Feten von 2 cm bis 10 cm SSL: .....	18
3.2.3	Präparation von Feten ab 10 cm SSL: .....	18
3.3.	Fixierung .....	20
3.4.	Einbetten und Ausgießen in Paraffin .....	20
3.5.	Schneiden .....	20
3.6.	Lichtmikroskopie .....	20
3.7.	Elektronenmikroskopie .....	21
3.8.	Immunhistochemie .....	22
3.9.	Lektine .....	23
4.	Ergebnisse .....	25
4.1.	Lichtmikroskopie .....	25
4.1.1	Histomorphologie .....	25
4.1.2	Untersuchung der Glomerula-Durchmesser in den verschiedenen Entwicklungsstadien 28	
4.1.3	PAS Färbung: Perjodic-acid-Schiff-Reaction .....	31
4.1.4	Alcianblau-Färbung bei pH 1,0 und pH 2,5 .....	34
4.1.5	Trichromfärbung nach Goldner .....	36
4.1.6	Heidenhains Eisenhämatoxylin (1892) .....	38
4.1.7	Silberimprägnation nach Gomori (1937) .....	39
4.2.	Elektronenmikroskopie .....	40
4.2.1	Urniere .....	41
4.2.2	Nachniere Proximaler Tubulus .....	43
4.2.3	Nachniere; Distaler Tubulus .....	45
4.2.4	Nachniere; Sammelrohr .....	46
4.2.5	Nachniere Glomerulum .....	49
4.2.6	Nachniere; Macula densa .....	49
4.3.	Immunhistochemie .....	52
4.3.1	Immunzytochemischer Nachweis von Östrogenrezeptor (OER) .....	52
4.3.2	Immunzytochemischer Nachweis von Progesteronrezeptor .....	53
4.3.3	Immunzytochemischer Nachweis von Laminin .....	55
4.3.4	Immunzytochemischer Nachweis von Cytokeratin .....	56
4.3.5	Vimentin .....	58
4.4.	Lektine .....	59
4.4.1	Concanavalin A (ConA) .....	59
4.4.2	Dolichos biflorus Agglutinin (DBA) .....	61
4.4.3	Griffonia/ bandeiraea simplicifolia Lektin I .....	63
4.4.4	Lens culinaris Agglutinin (LCA= LcH) .....	64
4.4.5	Peanut Agglutinin (PNA) .....	66
4.4.6	Phaseolus vulgaris Agglutinin E (PHA-E) .....	68
4.4.7	Phaseolus vulgaris Agglutinin L (PHA-L) .....	69
4.4.8	Pisum sativum Agglutinin (PSA) .....	71
4.4.9	Ricinus communis Agglutinin (RCA I) .....	72



---

4.4.10	Sophora japonica Agglutinin (SJA).....	74
4.4.11	Soybean Agglutinin (SBA).....	75
4.4.12	Ulex europaeus Agglutinin (UEA-I).....	76
4.4.13	Wheat germ Agglutinin (WGA).....	77
4.4.14	Succinylated wheat germ Agglutinin (WGA succ.).....	79
5.	Diskussion.....	80
5.1.	Morphologie.....	80
5.2.	Histochemie.....	81
5.3.	Immunhistologie.....	81
5.4.	Lektine.....	84
5.5.	Elektronenmikroskopie.....	85
6.	Zusammenfassung.....	86
7.	Summary.....	86
8.	Verzeichnisse.....	90
8.1.	Literaturverzeichnis.....	90
8.2.	Abkürzungsverzeichnis.....	95
8.3.	Verzeichnis der Tabellen.....	97
8.4.	Verzeichnis der Abbildungen.....	98
9.	Anhang.....	100
9.1.	Lichtmikroskopie.....	100
9.1.1	H.E.- Färbung / Hämalaun- Eosin.....	100
9.1.2	Trichromfärbung nach Masson und Goldner.....	100
9.1.3	PAS- Reaktion nach McManus ohne Amylase.....	100
9.1.4	PAS mit Amylasevorbehandlung.....	101
9.1.5	Alcianblau für saure Mukosubstanzen pH 2,5.....	101
9.1.6	Alcianblau für sulfatierte Mucosunstanzen.....	101
9.1.7	Silberimprägnation nach Gomori.....	102
9.1.8	Heidenhains Eisenhämatoxylin.....	102
9.2.	Immunhistologie.....	104
9.3.	Lektine.....	106
9.4.	Puffer und Fixierungslösungen.....	107
10.	Danksagung.....	108
11.	Lebenslauf.....	109

## 1. Einleitung

Die Entwicklung der Nieren verläuft bei Amnioten über drei Nierengenerationen. Zuerst wird eine Vorniere, dann eine Urnieren und zuletzt die Nachnieren angelegt. (Rüsse, Sinowatz 1998; Stark 1955).

Die Vorniere hat im Säugetierembryo in der Regel nach heutigen Kenntnissen keine Ausscheidungsfunktion. Eine Ausnahme liegt jedoch beim Schaf vor (Davies 1951).

Die Urnieren und im vermehrten Maße die Nachnieren hingegen leisten einen wichtigen Beitrag bei der Ausscheidung des Embryos, wobei diese Funktion nicht überlebenswichtig ist, da während der vorgeburtlichen Entwicklung wichtige Ausscheidungsfunktionen von der Plazenta übernommen werden. Dies beweisen ohne Nieren geborene Individuen verschiedener Spezies, die sich bis zur Geburt nahezu normal weiterentwickeln konnten. Erst nach der Geburt kommt es zu Stoffwechselproblemen mit tödlichem Ausgang.

Die hier vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Ur- und Nachnierenentwicklung beim Rind. Ergebnisse wurden mit Hilfe von licht-, elektronen-, immun- und lektinhistochemischen Methoden erbracht.

## 2. Literatur

### 2.1. *Embryologie der Nierenentwicklung*

Alle drei Nierengenerationen des Säugerembryos leiten sich vom intermediären Mesoderm des Embryos ab. Das intermediäre Mesoderm (auch Urogenitalplatte genannt) verbindet kurzzeitig das laterale mit dem paraxialen Mesoderm (Rüsse/ Sinowatz, 1998). Diese Verbindung ist nur temporär ausgebildet und löst sich jedoch sehr bald. Im kranialen und vorderen thorakalen Bereich ist es segmentiert und bildet Zellhaufen, die späteren Nephrotome. Im kaudalen Bereich liegt es als ein unsegmentiertes Blastem, als nephrogener Strang vor (Rüsse/ Sinowatz 1998). Aus ihm entstehen die Kanälchen der Ur- und Nachniere (Fischel 1929). Der nephrogene Strang wird durch ein Zwischenblastem unterbrochen, das aus lockerem Mesenchym besteht. Diese liegt beim Menschen auf Höhe des 3. Lendensegmentes. Durch dieses Zwischenblastem findet eine Unterteilung in einen langen kranialen und einen kurzen kaudalen Abschnitt statt. Aus dem kranialen Anteil entsteht die Urniere, aus dem kaudalen die sezernierenden Anteile der Nachniere. Daher bezeichnet man den kranialen Anteil auch als meso- und den kaudalen Anteil als metanephrogenes Gewebe (Fischel 1929).

#### 2.1.1 Die Vorniere

Die Entwicklung der Vorniere beginnt bei den meisten Säugetieren im 5 bis 6-Somitenstadium (Rüsse/ Sinowatz, 1998). Anschließend werden von kranial nach kaudal die drei Generationen von Nieren zeitlich aufeinander folgend, angelegt: die Vorniere (Pronephros), die Urniere (Mesonephros) und die Nachniere (Metanephros) (Rüsse/ Sinowatz, 1998). Diese Entwicklungsfolge ist auch bei anderen Amnioten üblich (Fischel 1929). Bei einigen Vertretern des Stammes Chordata, genauer gesagt der Überklasse Agnata (Kieferlose), bleibt die Vorniere zeitlebens erhalten und funktionstüchtig.

Eine vorübergehend funktionstüchtige Vorniere bilden auch viele höhere Wirbeltiere aus. Der Pronephros wird allerdings bei ihnen zu einem relativ späten Zeitpunkt der Entwicklung ab- oder umgebaut (Ahne 1986/Fischel 1929). Zu diesen Tieren gehören die Petromyzonten, Selachier, Ganoiden, Teleostier, Dipneusten und Amphibien (Fischel 1929). Die Urnieren übernehmen bei diesen Tieren später die Funktion der Vornieren (Fischel 1929).

Bei Tierarten, welche zeitlebens eine funktionierende Vorniere besitzen, erstreckt sich diese über den gesamten Rumpfbereich. Bei Amnioten erstreckt sie sich nur auf einen kleinen Bereich am Hinterkopf (Fischel 1929). Diese Stelle liegt beim Säugetier auf der Höhe des 5. bis 10. Somitenpaares (Rüsse/ Sinowatz, 1998). Von allen Säugern besitzt der Mensch die am deutlichsten ausgebildete Vorniere (Fischel 1929). Diese wird aber im Vergleich zu der Vorniere bei *Brachiostoma* nur unvollständig ausgebildet.

Generell ist die Vorniere ein sehr einfaches Organ. Sie besteht aus einem Drüsenkörper, einem Ausführungsgang und Harnkanälchen. Letztere werden auch als Querkanälchen bezeichnet, da sie

bei ihrer Entstehung quer zur Körperlängsachse verlaufen. Sie ist ein paariges Organ, wobei jeweils eine Vorniere in der rechten und in der linken Körperhälfte liegt (Fischel 1929).

Die Vorniere bildet sich an der parietalen Lamelle des entsprechenden Ursegmentstieles durch Zellvermehrung. Dabei wird ein zunächst solider Epithelstrang gebildet, welcher bald einen Hohlraum aufweist (Rüsse; Sinowatz 1998). Dieser Strang wächst lateral auf das Ektoderm zu, und wird dann als Vornierenwulst bezeichnet. Dieser Wulst biegt kaudalwärts um und wächst in diese Richtung weiter bis er auf den nächsten Vornierenwulst trifft und verwächst dann mit diesem. Durch die Verwachsung weiterer metamer angeordneter Kanälchen entsteht ein epithelialer Längsstrang. Kaudalwärts wächst dieser Strang, etwas schmaler, lateral der übrigen Ursegmentstiele und des nephrogenen Gewebes, eng am Ektoderm anliegend, bis zum primitiven Enddarm. Der Strang durchbricht dann die Kloakenwand (beim Schaf mit 19 Somitenpaaren). Anschließend wird in dem Strang ein Lumen gebildet, beim Schaf mit 7 mm SSL (Rüsse/ Sinowatz, 1998). Nun lässt sich der Vornierengang, welcher in die Kloake mündet von den Vornierenkanälchen, die aus den Vornierenwülsten hervorgegangen sind, unterscheiden. Da alle Vornierenkanälchen in den Vornierengang münden, bezeichnet man ihn auch als Sammelgang der Vorniere. Der Vornierengang spielt später noch als Urnierengang und primärer Harnleiter eine wichtige Rolle, da er induktive Reize an seine benachbarten Gewebe abgibt (Rüsse/ Sinowatz 1998). Die oben beschriebene Abtrennung des Ursegmentstieles von den Urwirbeln und den Seitenplatten ist kurz nach der Bildung des Vornierenganges vollendet. Dabei wird der mediale Anteil des Ursegmentstieles in embryonales Bindegewebe umgewandelt. Die entstandene Lücke wird vom lateralen Anteil des Mesoderms wieder ausgefüllt. Die lateralen Lamellen bilden das Ergänzungs- bzw. Nephrostomkanälchen aus, welches mit der Leibeshöhle kommuniziert. Dieser erste Abschnitt des Vornierenkanälchens hat eine trichterförmige Öffnung in die Leibeshöhle, den Vornierentrichter oder das Nephrostom (Fischel 1929).

Im folgendem wird der Aufbau eines Vornierensegmentes dargestellt. Im Bereich des Nephrostomes wölbt sich die Wand der Leibeshöhle nach medial vor, da unter ihr ein von der Aorta abgegebenes Gefäß eine Aufspaltung in ein Kapillarknäuel erfährt. Dieses wird als äußeres Glomerulum bezeichnet, da es außerhalb des Drüsenkörpers zu liegen kommt. Trennt sich der vorgewölbte Bereich der Leibeshöhle von der übrigen Leibeshöhle ab, nennt man diesen Bereich äußere Vornierenkammer. Verfolgt man das Vornierenkanälchen ein wenig weiter medial, erweitert es sich, an der Übergangsstelle von Ergänzungs- zu Hauptkanälchen, zur inneren Vornierenkammer. Zur inneren Vornierenkammer wird ein weiteres Gefäß aus der Aorta entsandt, welches sich zu einem Gefäßknäuel aufspaltet und wieder zu einem abführenden Gefäß vereinigt. Es stellt das innere Glomerulum dar, welches im Drüsenkörper der Vorniere liegt. Das Hauptkanälchen findet Anschluss an den Vornierengang (Fischel 1929).

Bei den Tieren, welche zeitlebens eine Vorniere besitzen, befinden sich Zilien am Vornierentrichter, welche einen Flüssigkeitsstrom von der Leibeshöhle in Richtung Vorniere bewirken. Auch Stoffe aus dem Blut werden über die Glomerula in die Vornierenkanälchen sezerniert und über den Vornierengang in die Kloake abgegeben. Es handelt sich bei der Tätigkeit der Vorniere dieser Tierarten nicht nur um einfache Filtration, denn die Epithelzellen der Kanälchen und der Glomerula sezernieren und resorbieren auch aktiv Stoffe (Fischel 1929).

Diesen histologischen Feinbau besitzt die Vorniere der Amnioten nicht. Teilweise werden sogar Teile der Vornierenkanälchen nicht vollständig ausgebildet. Bei menschlichen Embryonen kommt es vor, dass die innere Vornierenkammer kein Gefäßknäuel besitzt. Dafür wird ein sehr großes äußeres Glomerulum angelegt, welches aber keine Funktion ausüben kann, da die übrigen Vornierenanteile nicht vollständig ausgebildet sind.

Embryonen des Schafes zeigen ein verhältnismäßig gut ausgeprägtes exkretorisches System im Bereich des 7. bis 14. Somitenpaares, welches gut ausdifferenziert und aus vollständigen Tubuli und Glomerula besteht. Dieses bleibt beim Schaf auch lange während der Embryonalentwicklung erhalten. Allerdings besitzt der Schafembryo keine externen Glomerula, somit auch keine äußere Vornierenkammer. Nephrostome werden nicht ausgebildet. Daher kann man bei diesem System nicht von einer Vorniere im engeren Sinne sprechen (Davies 1951). Bei Katzenembryos werden hingegen sehr gut ausgeprägte Vornierenkammern gebildet (Fraser 1920).

Bei Schafembryos erreicht der Vornierengang schon bei Embryonen mit 19 Somitenpaaren die Kloake. Dies geschieht bei vielen Säugetieren und dem Menschen erst etwas später. Die Entwicklung erlaubt es dem exkretorischen System des Schafes, frühzeitig seine Ausscheidungsfunktion aufzunehmen, wofür auch eine frühe rapide Ausdehnung der Allantois spricht (Davies 1951). Bei den meisten Amnioten bleibt die Vorniere funktionslos (Fischel 1929).

### 2.1.2 Die Urniere

Der Bereich, in dem sich die Urniere erstreckt, reicht beim Menschen vom 6. Hals- bis zum 3. Lendensegment. Sie wächst kranialwärts auch in den Bereich der Vorniere (Fischel 1929). Beim Rind erstreckt sie sich in voller Ausdehnung über 18 Somitenpaare. Dieses Gebiet reicht vom Hinterrand der Lungenanlage bis in die Beckenhöhle hinein (Rüsse/ Sinowatz 1998). Die Urniere entwickelt sich paarig. Beim Menschen beginnt die Entwicklung der Urniere bei Embryonen, mit 2 mm SSL. Zu diesem Zeitpunkt ist die Vorniere schon weit in ihrer Entwicklung fortgeschritten ist (Fischel 1929). Nach Induktion durch den Vornierengang zerfällt der nephrogene Gewebsstrang kranial in eine Reihe solider Zellhaufen, während sein kaudales Ende jedoch noch nicht voll ausgebildet ist.

Bei niedrigen Wirbeltieren erfolgt die Urnierenentwicklung segmental den Ursegmenten entsprechend. Dies ist bei Säugetieren nicht der Fall. Bei diesen zerfallen die Ursegmente zu mehreren Zellhaufen, deren Zahl bei den einzelnen Spezies unterschiedlich ist. Nach kurzer Zeit entstehen aus den Zellhaufen die Urnierenbläschen, indem im Zentrum des Zellhaufens Zellen auseinanderweichen. Die kranialen Bläschen sind kugelig, die kaudalen durch Platzmangel mehr würfelförmig. Neue Urnierenbläschen entstehen wahrscheinlich auch durch Teilung und Sprossung.

Die weitere Differenzierung der Urnierenbläschen schreitet von kranial nach kaudal fort. Sie nehmen ellipsoide Form an und bilden einen Epithelspross aus der in dorsolateraler Richtung zum Vornierengang zieht. Anschließend vereinigt sich der Epithelspross mit dem Vornierengang. Der Epithelspross ist die Anlage des Haupt- bzw. Querkanälchens der Urniere. Im Laufe der weiteren Differenzierung erhält der Epithelspross ein Lumen, welches sich in den Vornierengang öffnet. Damit

ist der Vornierengang zum Urnierengang oder primären Harnleiter geworden. Weitere Bezeichnungen für ihn sind Wolff-Gang oder Wolff-Körper.

Der Rest des Urnierenbläschens unterliegt noch weit reichenden Umbauvorgängen:

Es erweitert sich während sich seine Wand stark verdünnt, wobei es sich ventromedial einrollt und nun wie ein doppelwandiger Löffel aussieht. In die konvexe Seite des „Löffels“ wächst eine Arterie ein und bildet ein Gefäßknäuel, das Urnierenglomerulum. Diese Gefäße entstammen den zahlreichen Aa. mesonephridicae, welche wiederum direkte Zweige der Aorta darstellen. Das Vas efferens des Glomerulum mündet in die V. cardinalis. caudalis (Rüsse/ Sinowatz 1998).

Der Bereich um das Glomerulum wird Bowman Kapsel genannt und entspricht einer inneren Nierenkammer. Das Glomerulum und seine Kapsel fasst man unter dem Begriff Nieren- oder Malpighi Körper zusammen. Diese jungen Malpighi-Körper können sich auch durch Zweiteilung noch vermehren. Für diese zusätzlichen Glomerula wachsen bei Vogel und Mensch vom Wolff-Gang her Ausführungsgänge aus. Sie bezeichnet man auch als die Ureteren der Urnieren.

Die Urniere besitzt einen Pfordaderkreislauf. Äste der V. cardinalis caudalis verlaufen in der Urniere, deren Kapillaren vereinigen sich zu den Vv. mesonephridicae reventes.

Die Bowman Kapsel besteht aus zwei Lamellen. Die dem Glomerulum anliegende viszerale Lamelle wird von kubischen Zellen gebildet, die parietale, äußere Lamelle besteht aus einem abgeplatteten Epithel. Zwischen den Lamellen befindet sich ein Spaltraum. Da beim Menschen die Bowman Kapsel stark an Größe zunimmt, erscheint das Glomerulum dagegen eher klein. Dieses Größenverhältnis ist bei anderen Säugetieren ausgeglichener, wodurch die Glomerula relativ größer erscheinen (Fischel 1929).

Die Ausbildung von Vor- und Urnieren ist bei Ruminanten im Vergleich zu anderen Säugetieren etwas unterschiedlich. Beim Rinderembryo lässt sich zusätzlich zu den normal großen Glomerula in der Urniere vielfach größeres Riesenglomerulum (Davies 1951) erkennen. Die volle Ausdehnung erreicht die Urniere beim Rind mit 15- 19 mm SSL, beim Schaf mit 12 mm SSL. Das Organ selbst ist dann 4-6 mm lang (Rüsse/ Sinowatz 1998).

Während der Bildung des Mesonephros kommt es zu starkem Längenwachstum der Hauptkanälchen. An ihnen lassen sich zwei Schenkel unterscheiden. Der mediale Teil wird als Tubulus secretorius bezeichnet. Er besitzt ein helles, zylindrisches Epithel. Der laterale Schenkel zeigt ein dunkleres, kubisches Epithel und wird Tubulus collectivus genannt. Dieser mündet entweder einzeln oder gemeinsam mit anderen Tubuli collectivi in den Wolff Gang ein.

Der Wolff Gang verläuft jeweils auf der lateralen Seite der Urniere. Die Vena cardinalis posterior liegt seitlich daneben bzw. darüber. Im medialen Bereich der Urniere befinden sich die Glomerula, lateral die Urnierenkanälchen. Medial der Urniere ist jeweils die Anlage der Keimdrüse lokalisiert (Fischel 1929).

In der „Blütezeit“ der Urniere erreicht sie bei den Säugetieren ein beachtliches Ausmaß, vom Bereich des Halses bis in die Lendengegend, wobei schon während das Organ kaudal noch nicht voll ausdifferenziert ist, kranial die Degeneration der Urniere beginnt (Fischel 1929). Mit der Rückbildung

der kranialen Urnierenanteile wird auch der entsprechende Abschnitt des Wolff Ganges abgebaut. Der frei gewordene Platz wird zunächst durch Bindegewebe aufgefüllt.

Durch die mächtige Ausprägung der Urniere wird die dorsale Leibeshöhlenwand in die Leibeshöhle vorgewölbt. Eine Falte, die *Plica mesonephridica*, entsteht. Der kraniale Teil der Falte setzt sich ins Zwerchfell fort und wird als Zwerchfellband der Urniere bezeichnet. Dieses wird bei der kranialen Degeneration der Urniere nach kaudal verlagert. Das geschieht, bis bei männlichen Tieren die *Aa. spermaticae* und bei weiblichen Tieren die *Aa. Ovaricae*, eine weitere Verlagerung verhindern. So wird aus dem oberen Urnierenband das Gekröse der oben genannten Gefäße.

Der Urniere fehlen Nephrostome und externe Glomerula. Die Kanälchen der Urniere sind im Vergleich zu denen der Vorniere länger und stärker gewunden. Die kaudalsten Kanälchen werden zu Strukturen des Geschlechtsapparates umdifferenziert. Bei weiblichen Tieren liefern die oberen Kanälchen der Urniere die Querkanälchen des *Epoophoron* (Rosenmüllersches Organ), die unteren das *Paroophoron*. Bei männlichen Tieren liefern die oberen Kanälchen die *Ductuli efferentes*, die unteren die *Paradidymidis*. Daher bezeichnet man den oberen Teil des Urnierenrestes als *Epigenitalis*, den unteren als *Paragenitalis* (Fischel 1929).

Manchmal bleiben Teile des Urnierenganges in der Nähe der weiblichen Genitalien bestehen, diese Abschnitte werden Gartner Gänge genannt, welche jedoch meistens kurze Zeit *post partum* nicht mehr nachweisbar sind.

Die Wolff Gänge liefern bei beiden Geschlechtern die Ureterknospe, aus welcher sich Ureter, das Nierenbecken und die Sammelrohre der Nachniere entwickeln. Beim männlichen Geschlecht wird der gesamte kaudale Abschnitt der Wolff Gänge zu Bestandteilen des Genitaltraktes umgebildet: *Hydatide* des Nebenhodens, *Ductus epididymidis*, *Ductus deferens* und *Ductus ejaculatorius*.

Der Harn der Urniere wird in der Allantois gesammelt. Wiederkäuer, Pferd, Schwein und Fleischfresser bilden einen Allantoiskreislauf aus. Dabei gelangen harnpflichtige Stoffe über die Allantoiswand in die Plazenta und können so vom mütterlichen Organismus ausgeschieden werden. Bei Primaten und Nagern bleibt die Allantois rudimentär, bei diesen Tieren kann über die innigere Plazentaverbindung ein direkter Stoffaustausch erfolgen (Rüsse/ Sinowatz 1998).

### 2.1.3 Die Nachniere

In der ebenfalls paarig angelegten Nachniere kann man harnbereitende und harnleitende Funktionseinheiten unterscheiden.

Harnleitende Strukturen sind der Ureter (sekundärer Harnleiter), Nierenkelche und (wenn ausgebildet) das Nierenbecken, sowie die Sammelrohre verschiedener Ordnung. Der Wolff Gang biegt in Höhe des 5. Lumbalsegmentes in eine horizontale Richtung um. An dieser Stelle bildet sich bald eine dorsale Ausstülpung, die als Ureterknospe bezeichnet wird. Sie stellt, wie erwähnt, die Anlage für die harnleitenden Strukturen dar. Anschließend wächst die Ureterknospe Richtung kraniodorsal. Nun vergrößert sich ihr oberes Ende zu dem halbkugelförmigen primären Nierenbecken. Der restliche Teil der Ureterknospe wächst zu einem langen Stiel, aus welchem der Ureter entsteht.

Die Ureterknospe wächst auf das medial der Urnierengänge gelegene metanephrogene Gewebe zu. So erhält die Ureterknospe einen kappenförmigen Überzug aus metanephrogenem Gewebe, das nun mit der Ureterknospe nach dorsal weiter wächst, bis es hinter der Urniere zu liegen kommt. Anschließend streckt sich das primäre Nierenbecken, so dass man einen kranialen und einen kaudalen Pol unterscheiden kann. Die Polenden entwickeln sich zu langen Röhren weiter (kraniale und kaudale Polröhre).

In der Mitte des primären Nierenbeckens werden meistens zwei Blindsäcke ausgestülpt. Diese werden zur dorsalen und ventralen Zentralröhre. Pol- und Zentralröhren bezeichnet man als primäre Sammelröhre (SR) oder Sammelrohr 1. Ordnung. An den Enden der Sammelröhre 1. Ordnung bilden sich kurz darauf Ampullen aus, aus denen sich Sammelröhre 2. Ordnung weiterentwickeln. Diese Differenzierung kann bis zu Sammelrohren 20. Generation weiterführen. Die jüngsten Sammelröhre liegen am tiefsten in der Nierenrinde und sind später, im ausgereiften Organ, die initialen Sammelröhre. Durch die dichotome Verzweigung der Sammelrohren entsteht ein Ureterbäumchen (primär aus SR 1. Ordnung, sekundär aus SR 2. Ordnung,...). Die Teilung der SR verläuft individuell nicht gleichzeitig und daher sind die Anzahl der Bäumchenäste von Tier zu Tier verschieden und unsymmetrisch.

Aus den SR 1.-4. Ordnung differenzieren sich die Calices majores weiter. Aus den SR 3. und 4. Ordnung gehen die Calices minores hervor. Bei Tieren welche ein Nierenbecken besitzen, verschmelzen die Sammelröhre niedriger Ordnung miteinander, die Form des Nierenbeckens ist aber sehr verschieden. Beim Rind findet keine Verschmelzung der Sammelröhre zu einem Nierenbecken statt. Der Harn wird über die Sammelröhre durch die Calices in die Kelchstiele und dann in ein großes kraniales und kaudales Sammelrohr geleitet, welche sich am Hilus zum Ureter vereinigen (Nickel 1982).

Im metanephrogenen Gewebe sind eine äußere und eine innere Schicht zu unterscheiden. Die Außenschicht wandelt sich zu embryonalem Bindegewebe um, welches später die bindegewebigen Anteile der Nachniere liefert. Die Innenschicht behält ihren epithelialen Charakter und bildet sich zu den epithelialen Bestandteilen der Nephrone weiter.

In dem bereits erwähnten kappenförmigen Überzug der Ureterknospe findet die Unterteilung in zwei Zonen ebenfalls statt. Durch die Bildung der Sammelröhre wird die Kappe zuerst gedehnt, und zerfällt dann zu so vielen Teilen wie Sammelröhre entstehen. Nun liegt jedem Sammelrohr an seinem noch blinden Ende eine Kappe aus metanephrogenem Gewebe auf. Jetzt kommt es zu einer starken Zellvermehrung im metanephrogenen Gewebe wodurch die Kappen an Größe zunehmen und nun auch die Seiten der Sammelröhre bedecken. Das Wachstum des metanephrogenen Gewebes orientiert sich an dem der Sammelröhre, so dass jedes neu gebildete Sammelrohr immer einen Überzug aus methanephrogenem Gewebe erhält. Ein Ureterbäumchen und das ihm aufliegende methanephrogene Gewebe nennt man auch primäre Nierenpyramide bzw. primäre Malphigi Pyramide.

Durch starkes Wachstum krümmen sich die Ureterbäumchen medialwärts besonders stark an ihrer Spitze und bilden so am Hilus eine Hülle, an der Nierenoberfläche, in welche der Ureter einmündet. Die Nierenoberfläche erhält so ein gelapptes Aussehen, welches beim Rind auch beim adulten Tier



erhalten bleibt (Nickel, 1982). Im Unterschied dazu verschwindet beim Menschen, Katze, Hund, Schwein und kleinen Wiederkäuern in der Jugend in der Regel diese Lappung.

Das aus der Außenschicht des metanephrogenen Gewebes entstandene embryonale Bindegewebe liegt in einer dünnen Schicht um die Nierenpyramiden. Es ist die Anlage der primären Columnae renales. Bei der Entwicklung der Ureterbäumchen wächst auch das Bindegewebe mit und so entstehen entsprechend den Ureterbäumchen auch sekundäre, tertiäre Columnae renales usw. Die jüngeren Columnae dringen nicht mehr so tief vor, wodurch eine immer feinere Lappung entsteht. So entstehen sekundäre und tertiäre Nierenlappen (Renculi) auf der Nierenoberfläche.

Im Wurzelbereich von alten und jungen Sammelrohren ballt sich das metanephrogene Gewebe zu Nachnierenkugeln zusammen, welche sich dann vom übrigen metanephrogenen Gewebe abschnüren. Dies geschieht beim Menschen im 2. Entwicklungsmonat. Bald darauf entsteht in den Nachnierenkugeln eine Lichtung, wodurch sie zu Nachnierenbläschen werden (Fischel 1929).

Das Nachnierenbläschen hat auf der einen Seite eine dicke und auf der anderen Seite eine dünne Wand. Aus der dünnen Seite entsteht die Bowman Kapsel und aus der dicken Wand die übrigen Nephronabschnitte.

Diese Nephronanlagen entstehen schon an Sammelrohren 1. Ordnung, parallel zu deren Teilung, jedoch bleiben nur die Nephrone ab den Sammelrohr 5. Ordnung bestehen.

Die Ausreifung der Nachnierenbläschen zu Nephronen beginnt in der Nachniere in der gleichen Weise wie in der Urniere. Zunächst erweitert sich das Urnierenbläschen zum Urnierenkanälchen. Dieses wächst auf die Sammelrohre zu und verschmilzt mit ihnen. Durch Längenwachstum bildet sich nun eine S-förmige Schleife mit einem oberen und einem unteren Bogen. Der untere Bogen erweitert sich und nimmt die Form eines Löffels an. In der Kuhle des Löffels befindet sich embryonales Bindegewebe, welches nun zügig kapillarisiert wird. Diese Kapillaren werden mit dem Blutgefäßsystem verbunden und bilden das Nachnierenglomerulum. Der löffelförmige Abschnitt des Nachnierenkanälchens entwickelt sich zur Bowman-Kapsel weiter. Der malpighische Körper der Nachniere besteht aus dem Glomerulum, Kapillaren und aus der Glomerulumkapsel.

Der obere Bogen des Kanälchens unterliegt einem sehr starken Längenwachstum und bildet deshalb Schlingen. Die Henle Schleife wächst aus dem mittleren Abschnitt des oberen Bogens heraus. Aus den restlichen Anteilen gehen der Tubulus distalis mit Pars convoluta und Pars recta und der Tubulus proximalis mit Pars convoluta und Pars recta hervor.

Die Differenzierung der Nephrone erfolgt in einer Generation immer zur gleichen Zeit. Wie auch die Sammelrohre höherer Generationen zur Nierenoberfläche hin immer kleiner werden, so werden auch die jüngeren Nephrone immer feiner und kleiner. Beim Menschen ist dieser Größenunterschied innerhalb der ersten 12 Monate p.p. nicht mehr zu erkennen, da die Nephrone mit peripherer Lage noch wachsen, die zentral gelegenen jedoch nicht.

Im Vergleich zur Urniere weist die Nachniere eine weitaus größere Anzahl an Nephronen auf, und die Harnkanälchen sind bedeutend länger mit spezialisierteren Epithelien. Dies bedeutet, dass der

Nachniere eine wesentlich höhere und ausdifferenzierte Fläche zur Ex- und Sekretion zur Verfügung steht.

Eine Unterteilung in Rinde und Mark beginnt sobald sich die 5. und 6. Generation von Sammelrohren ausgebildet hat. Dies geschieht beim Menschen im 3. Monat der Fetalentwicklung. Die Nierenrinde besteht aus den Malpighi Körperchen, Pars convoluta der proximalen und distalen Tubuli, den Schaltstücken, den initialen Sammelrohren und den aufsteigenden Teilen der Henleschen Schleifen (Nickel, 1982). Das Nierenmark besteht aus den übrigen Anteilen der Henle Schleifen (Teile der pars recta des proximalen und distalen Tubulus und dem Tubulus intermedius), den Sammelrohren bis auf die initialen Sammelrohre und einem Bindegewebsnetz. Die Markstrahlen sind Bündel von Sammelrohren, sie sind makroskopisch als radiäre Streifung in der inneren Schicht des Nierenmarkes zu erkennen.

Einige SLC Gene (solute carrier) fungieren als Marker für die einzelnen Nephronabschnitte. Diese Gene wurden in der Evolution der Wirbeltiere hochkonserviert. Auch in der Vorniere von *X. laevis* sind äquivalente Gensegmente zu finden, was dafür spricht, dass der Grundbauplan des Nephrons schon sehr früh in der Evolutionsgeschichte der Vertebraten entwickelt wurde. Eines der ersten Gene welches von WNT- $\beta$  Katenin induziert wird, ist FGF8 (fibroblast growth factor 8). Es löst eine Kaskade aus, an welcher LIM1 (=LHX1) und der Transkriptionsfaktor BRN1 (= POU3F3) beteiligt sind. Sowohl LIM1 als auch FGF8 werden in den unreifen Nierenbläschen exprimiert. Sie sind für deren weitere Entwicklung wichtig. Diese Gene sind für die Entwicklung des distalen Tubuls von großer Bedeutung. BRN1 nimmt auch großen Einfluss auf die Entwicklung der Henleschleife. Die Transkriptionsfaktoren welche auf diese Region wirken, sind von der Iroquis Gruppe und können schon in der Vorniere von *X. laevis* identifiziert werden. Das wichtigste Steuerelement scheint hier das Gen *Irx3* zu sein.

Für den proximalen Tubulus sind die Gene der NOTCH Gruppe wichtig.

DLL1, ein Ligand von NOTCH, steuert die Ausformung des proximalen Tubulus.

Für die Glomerulumentwicklung ist die Expression von VEGF (vascular endothelial growth factor) durch Podozytenvorläufer wichtig. Dadurch werden Endothelzellen animiert, PDGF (platelet derived growth factor) und extrazelluläre Matrixproteine, auszuschütten. Dadurch entsteht eine Beeinflussung von Mesangiumzellen. Etliche Transkriptionsfaktoren sind daran beteiligt, wobei nicht nur aktivierende Faktoren eine Rolle spielen sondern auch an bestimmten Stellen hemmende. Funktioniert die Inhibition nicht richtig, kann dies zu pathologischen Veränderungen führen.

Der komplette Mechanismus der Entwicklung eines so komplexen Organes wie der Niere ist noch nicht geklärt (Schedl, 2007).

#### 2.1.4 Entwicklung des Harnleiters, der Harnröhre und der Harnblase

Die Anlage des Ureters (Harnleiter) sprosst aus dem Wolff Gang aus. Vesica urinaria (Harnblase) und Urethra (Harnröhre) entstehen aus dem Sinus urogenitalis (Rüsse und Sinowatz, 1998).

Das Wachstum des Ureters wird unter anderem durch GDNF (Glial-derived neurotropic factor), welcher von den Mesenchymzellen der Umgebung des sich entwickelnden Ureters gebildet wird, gefördert. GDNF bindet an RET Rezeptoren an der Spitze des Ureters. Durch die Bindung an RET Rezeptoren wird WNT11 exprimiert, dieses wird in der Spitze des Ureters gebildet. WNT11 stimuliert wieder die Produktion von GDNF in den Mesenchymzellen und gehört somit zu einem positiven Rückkopplungsmechanismus. Die RET Expression der Ureterknospe ist auch für die Bereitstellung von RA (Retinoic acid), welche von Stroma Zellen gebildet wird, nötig. (Schedl, 2007)

Zur besseren Übersicht folgt zunächst ein kurzer Überblick der Kloakenentwicklung:

Bei sehr jungen Embryonen besteht die Kloake nur aus einem Blindsack. Kraniodorsal mündet in diesen Sack der Enddarm ein, beidseits lateral die Wolff Gänge und ventral der Allantoisgang. Die ventrale Kloakenwand wird von der Kloakenmembran gebildet. Diese erstreckt sich von der Schwanzknospe bis zum Bauchstiel und ist sehr dünnwandig. Von kranial nach kaudal fortschreitend wächst das Mesenchym in der Gegend um die Kloakenmembran zwischen deren ekto- und entodermalen Anteil ein. Kranial entsteht eine hügelartige Erhöhung, das Tuberculum cloacae. An den Seiten des Tuberculum bilden sich die Genitoanalwülste (Tori genitoanales) aus. Mit der Bildung der Plica urorectalis zwischen Darm und Allantoisgang wird die Kloake in zwei Teile gegliedert. Bei menschlichen Embryonen beginnt die Bildung dieser Falte in der 5. Schwangerschaftswoche. Nach Vereinigung der Falten zum Septum urorectale ist die Aufteilung der Kloake in einen schmalen dorsalen und einen größeren kaudalen Bereich vollendet. Das Septum urorectale nähert sich der Kloakenmembran an. Dadurch lassen sich bald eine kraniale Membrana urogenitalis und eine kaudale Membrana analis zu unterscheiden. Die Membrana urogenitalis bildet das Ende des Sinus urogenitalis an der Pars phallica. Der dorsale Teil ist nun der alleinige Ausgang für den Enddarm. Ventral teilen die Mündungsstellen der Wolff Gänge einen kranialen Teil und einen kaudalen ab. Kranial entstehen Harnblase mit Urachus und die Harnröhre, kaudal verbleibt der restliche Sinus urogenitalis.

Die sich entwickelnde Harnblase ist zunächst schlauchförmig, weitet sich jedoch bald zu einem sackförmigen Gebilde aus. Die ventrale Harnblasenwand wird von den sich zwischen den ektodermalen und entodermalen Teil der Kloakenmembran schiebenden Mesenchymzellen gebildet. Am kranialen Ende der Harnblase mündet der Urachus, welcher sich im Nabelbereich in den Allantoisgang fortsetzt.

Die Ureteren der Nachniere laufen etwas oberhalb der Mündungsstelle der Wolff Gänge in diese ein. Zunächst haben Ureter und Wolff Gang ein gemeinsames Endstück. Eine Furche, der Uretersporn, dringt in das gemeinsame Endstück vor und trennt diese. Damit erhalten Ureter und Wolff Gang eine getrennte Mündungsstelle. Das Gewebe des Uretersporns wächst nach der Trennung der beiden Gänge rasch in die Länge und bildet später das Blasendreieck (Trigonum vesicae). Sein Epithel ist mesodermalen Ursprungs, das der übrigen Harnblase ist entodermalen Ursprungs.

Die primäre Harnröhre, aus einem ursprünglich kurzen Stück zwischen der Harnblase und dem Sinus urogenitalis entstanden, wird beim weiblichen Geschlecht zur bleibenden Urethra. Beim männlichen Geschlecht bildet sich aus diesem Anteil nur der obere Bereich, das Orificium urethrae bis zur Mündung des Ductus ejaculatorius (Verschmelzungsprodukt aus Ductus deferens und Ductus excretorius der Samenblasendrüse bei Wiederkäuern, Pferd und Mensch) (Clara 1965; König 1999).

Der Rest des Sinus urogenitalis spaltet sich in eine Pars pelvina und eine Pars phallica auf, deren weiterer Umbau geschlechtsabhängig erfolgt (Clara 1965).

## **2.2. Anatomie der Niere des adulten Rindes**

Die Nieren des Rindes sind paarig angelegte Organe, welche im retroperitonealen Raum, jeweils rechts und links der Wirbelsäule liegen. Die rechte Niere liegt, mit dem Hilus nach medial, im Bereich des 13. Brustwirbels bis zum 3. Lendenwirbel. Die linke Niere wird durch die Ausdehnung des dorsalen Pansensackes über die Medianebene auf die rechte Körperseite geschoben. Dort liegt sie im Bereich des 2. oder 3. bis zum 5. Lendenwirbel, also hinter der rechten Niere. Die linke Niere ist 19 bis 25 cm lang, die rechte 18 bis 24 cm. Beide Nieren wiegen zusammen zwischen 1,2 und 1,5 kg.

Die Rindernieren sind mehrwarzig und gefurcht, ihre Farbe ist braunrot.

Die Form der rechten Niere ist platt und unregelmäßig oval, die der linken Niere hat kranial einen spitz zulaufenden Pol, kaudal einen verdickten Pol. Sie sieht teilweise pyramidenförmig aus. Die Nieren des Rindes besitzen einen weiten Hilus, welcher in einen buchtigen Sinus übergeht (Nierengrube).

Die Niere ist von einer bindegewebigen Capsula fibrosa umgeben, welche wenig nachgiebig ist. Die Kapsel der Nieren beim Rind zeigen beträchtliche Fettauflagerungen, man nennt sie daher auch Fettkapsel. Dieses Fett hat die übliche Konsistenz von Rindertalg.

Auf der Nierenoberfläche sind 12-25 verschieden große Renculi zu sehen. Die Renculi repräsentieren jeweils einen Lobus renalis oder mehrere verschmolzene Nierenlappen. Benachbarte Renculi sind an ihren Kontaktflächen verschmolzen. Die Markpyramiden ragen an ihrer Spitze warzenförmig in den Sinus renalis hinein, daher hat das Rind eine mehrwarzige Niere. Dem Rind fehlt ein Nierenbecken. Der Harn wird hier von den Nierenwarzen in den zugehörigen Nierenkelch geleitet, von dort aus in die unterschiedlich langen Kelchstiele weitergeleitet, welche in ein kraniales und ein kaudales Sammelrohr münden. Diese beiden Sammelrohre vereinigen sich schließlich zum Harnleiter. Dieses Röhrensystem liegt in der Nierengrube, in reichlich Fettgewebe eingebettet.

Der rechte Harnleiter verläuft, wie auch bei anderen Tieren, kaudalwärts zunächst im retroperitonealen Raum in einem leicht konvexen Bogen nach medial. Seine Pars abdominalis liegt der Lendenmuskulatur an und kreuzt die großen Äste der Aorta abdominalis und Vena cava caudalis an deren Ventralseite. Die Pars pelvina des Ureters tritt in die Plica urogenitalis ein. Der Ureter tritt von dorsal im Grenzbereich von Corpus und Cervix der Harnblase im schrägen Winkel durch deren Wand. Der linke Harnleiter läuft zunächst rechts der Medianebene neben der linken Niere, dann ventral des rechten Harnleiters, kreuzt dann die Medianebene nach links und erreicht wie bei anderen Tieren über die linke Dorsalseite der Harnblase seine Eintrittsstelle im schrägen Winkel.

Betrachtet man die Niere im Äquatorialschnitt, fällt auf den ersten Blick die Unterteilung der Niere in Rinde und Mark auf. Die Rinde ist dunkelbraunrot, fein gekörnt und zeigt einige dunkle Pünktchen. Das Mark setzt sich über eine rotviolette Grenzschicht, dem Stratum subcorticale von der Rinde ab. Die Farbe des Markes ist blasser wie die der Rinde außerdem fällt eine feine radiäre Streifung auf

(Markstrahlen). Man kann aufgrund des histologischen Baus noch eine Zona intermedia und eine Zona basalis (Innenzone) unterscheiden (Nickel, 2004).

### **2.3. Histologie der adulten Niere**

#### **2.3.1 Das Nephron**

Das Nephron ist die kleinste Funktionseinheit in der Niere. Beim Menschen gibt es in beiden Nieren zusammen etwa 2,5 Millionen Nephrone (Hees und Sinowatz, 2000). Beim Hund sind es 800.000, bei der Katze 1 Millionen, beim Schwein 2 Millionen, beim Pferd 5,4 Millionen und beim Rind sogar 8 Millionen in beiden Nieren (König, 1999).

Das Nephron besteht aus dem Nierenkörperchen (Corpusculum renale) und dem Tubulusapparat. Die Nierenkörperchen liegen in der Nierenrinde. Das Nierenkörperchen besteht aus dem Glomerulum und der es umgebenden Bowman- Kapsel. Das Glomerulum hat ein Vas afferens und ein Vas efferens, welche im Gefäßpol des Glomerulums in das Kapillarknäuel, bzw. aus diesem heraus ziehen. An der Wand der afferenten Arteriole befinden sich Polkissenzellen. Auf der gegenüberliegenden Seite befindet sich der Harnpol des Glomerulums.

Die Bowman-Kapsel baut sich aus einem inneren und einem äußeren Blatt auf. Das innere Blatt liegt den Gefäßschlingen direkt auf, die Zellen des inneren Blattes heißen Podozyten. Wie der Name besagt, besitzen diese Zellen zahlreiche füschenförmige Fortsätze. Zwischen den Fortsätzen liegen kleine Zwischenräume, die Filtrationsschlitze. Diese werden von einer 5 nm dünnen Schlitzmembran überspannt. In dieser Membran sind Poren, die alle Moleküle bis zu einer Größe knapp unterhalb von 69.000 Dalton hindurch lassen.

Zwischen den zwei Blättern der Bowman-Kapsel liegt ein Spaltraum, in dem der Primärharn filtriert wird. Beim Menschen werden bis zu 180 Liter Primärharn am Tag gebildet. 99% des Primärharns werden im Tubulussystem rückresorbiert.

Die Kapillarschlingen des Glomerulums werden durch Mesangiumzellen, welche sternförmig zwischen den Schlingen liegen, zusammengehalten. Im Bereich der Mesangiumzellen sind gelegentlich auch Makrophagen zu finden (Hees und Sinowatz, 2000).

#### **2.3.2 Tubulussystem**

Das Tubulussystem besteht aus einem einschichtigen Epithel und einer Basalmembran. Außen liegen ihm retikuläre Fasern an. Das Tubulussystem kann in folgende Abschnitte unterteilt werden:

1. Proximaler Tubulus: Er beginnt am Harnpol und geht dann in eine Pars convoluta über, welche ganz in der Nähe des Nierenkörperchens liegt und gewunden ist. Hier wird der Hauptteil des Primärharns rückresorbiert. Die Pars recta des proximalen Tubulus verläuft gerade bis ins Mark der Niere. Histologisch zeigt sich der proximale Tubulus eosinophil, mit einem einschichtigen isoprismatischen Epithel und einem unregelmäßigen Lumen. Sein

---

Durchmesser beträgt 40- 60  $\mu\text{m}$ . Die Zellgrenzen sind undeutlich, luminal tragen die Zellen einen Mikrovillisaum. Basal kann eine grobe Streifung festgestellt werden, welche sich unter dem Elektronenmikroskop als Einfaltungen der Basalmembran und dazwischen gelegenen Mitochondrien identifizieren lässt.

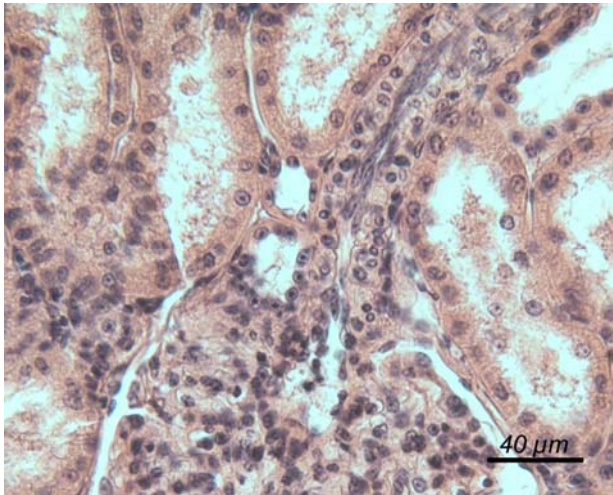
2. Intermediärer Tubulus: Dieser beginnt nach dem geraden Teil des proximalen Tubulus. Der Verlauf des Intermediären Tubulus erfolgt zunächst weiter ins Mark und dann in einem Bogen wieder zurück Richtung Rinde. Der Durchmesser des intermediären Tubulus beträgt 12-15 $\mu\text{m}$ . Er hat ein sehr flaches Epithel, so dass sich die Bereiche in denen die Kerne liegen, in das Lumen vorwölben. Vereinzelt kommen kleine Mikrovilli vor.
3. Distaler Tubulus: Der distale Tubulus schließt sich mit seiner Pars recta an den intermediären Tubulus an. Er läuft zurück Richtung Glomerulum, auf dessen Höhe er in seine Pars convoluta übergeht. Noch in der Pars recta liegt der Tubulus dem Glomerulum eng an, wobei er die Macula densa ausbildet. Er hat ein kubisches Epithel mit hellen Zellen, keinen Bürstensaum und eine basale Streifung.
4. Verbindungstubulus: Er stellt den Übergang vom distalen Tubulus in das Sammelrohr dar. Sein Epithel besteht aus hellen Haupt- und dunklen Schaltzellen.

### 2.3.3 Sammelrohre

Die Sammelrohre dienen als Transportwege des Harns bis zu den Papillae renales und den Calices renales. Hier wird nur noch wenig am Harn verändert. Im Mark sind die Sammelrohre von einem kubischen Epithel, welches markwärts hochprismatisch wird, ausgekleidet. Auch hier gibt es Haupt- und Schaltzellen. Zellgrenzen sind deutlich erkennbar.

### 2.3.4 luxtaglomerulärer Apparat

Es handelt sich bei diesem Apparat um eine Zusammenfassung von Strukturen, die Vorgänge in der Niere und im Körper steuern. Zu ihm zählen die Polkissen- Zellen, die Macula densa und extraglomeruläre Mesangiumzellen. Diese Strukturen liegen am Gefäßpol der Glomerula (Hees; Sinowatz 2000)



**Bild 1:** Adultes Tier, HE Färbung, Gefäßpol eines Glomerulums mit Macula densa und Polkissenzellen im Vas afferens, 250 fach

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Untersuchungsmaterial

Untersucht wurden 32 Embryonen und Feten von Rindern der Rasse deutsches Fleckvieh, sowie die Nieren von 3 Kühen und 2 Bullen. Die Proben wurden im Schlachthof München entnommen. Das Alter der Feten wurde durch Scheitel-Steiß- Längenmessung ermittelt (Rüsse und Sinowatz, 1998).

#### Scheitelsteißlängen:

Tab. 1 Untersuchungsmaterial Embryonen und Feten

SSL (cm)	Fixierung	Nummer	Geschlecht
1,5	B	4/06	id
2,8	EM	13/06	id
3,2	F	153/06	m
3,5	B	3/06	m
5,0	F	21/06	m
5,7	EM	12/06	m
5,8	F	154/06	m
7,0	B	1/06	w
8,2	B	7/06	m
"	EM	3/06	m
9,0	F	27/06	m
"	B	28/06	m
10,5	F	70/06	w
11,0	B	6/06	w
"	EM	2/06	w
13,0	F	68/06	m
15,0	B	8/06	w
18,0	F	71/06	w
18,3	F	149/06	m
19,5	F	29/06	w
"	B	30/06	w
20,0	B	10/06	m
22,3	F	151/06	m
23,0	B	11/06	m
28,0	B	9/06	m
28,0	B	2/06	w
"	EM	4/06	w
30,2	F	150/06	m
32,0	F	22/06	m
41,5	F	67/06	w
42,0	B	5/06	m
"	EM	5/06	m
46,3	F	159/06	w
51,5	F	17/06	w
"	B	18/06	w
"	EM	7/06	w
61,7	F	152/06	m
68,5	F	69/06	m
69,3	F	155/06	w
69,3	B	156/06	w
86,0	F	19/06	m
"	B	20/06	m
"	EM	8/06	m
89,7	F	148/06	m

F Formol, B Bouin, EM  
Elektronenmikroskopie, w weiblich, m-  
männlich, id nicht identifiziert, SSL  
Scheitel Steiß Länge



Tab. 2 Untersuchungsmaterial adulte Tiere

Adult	Fixierung	Nummer
Bulle	F	23/06
Bulle	B	24/06
Bulle	F	25/06
Bulle	B	26/06
Kuh	F	31/06
Kuh	B	32/06
Kuh	F	33/06
Kuh	B	34/06
Kuh	F	157/06
Kuh	B	158/06

F Formol, B Bouin, EM  
Elektronenmikroskopie, w weiblich, m-  
männlich, id nicht identifiziert, SSL  
Scheitel Steiß Länge

### 3.2. Probennahme

Direkt nach der Schlachtung der Tiere wurde der Uterus und die Eihäute eröffnet. Nach Durchtrennung der Nabelschnur wurde die Frucht entnommen und folgendermaßen weiter bearbeitet:

#### 3.2.1 Präparation von Embryonen bis 2 cm SSL:

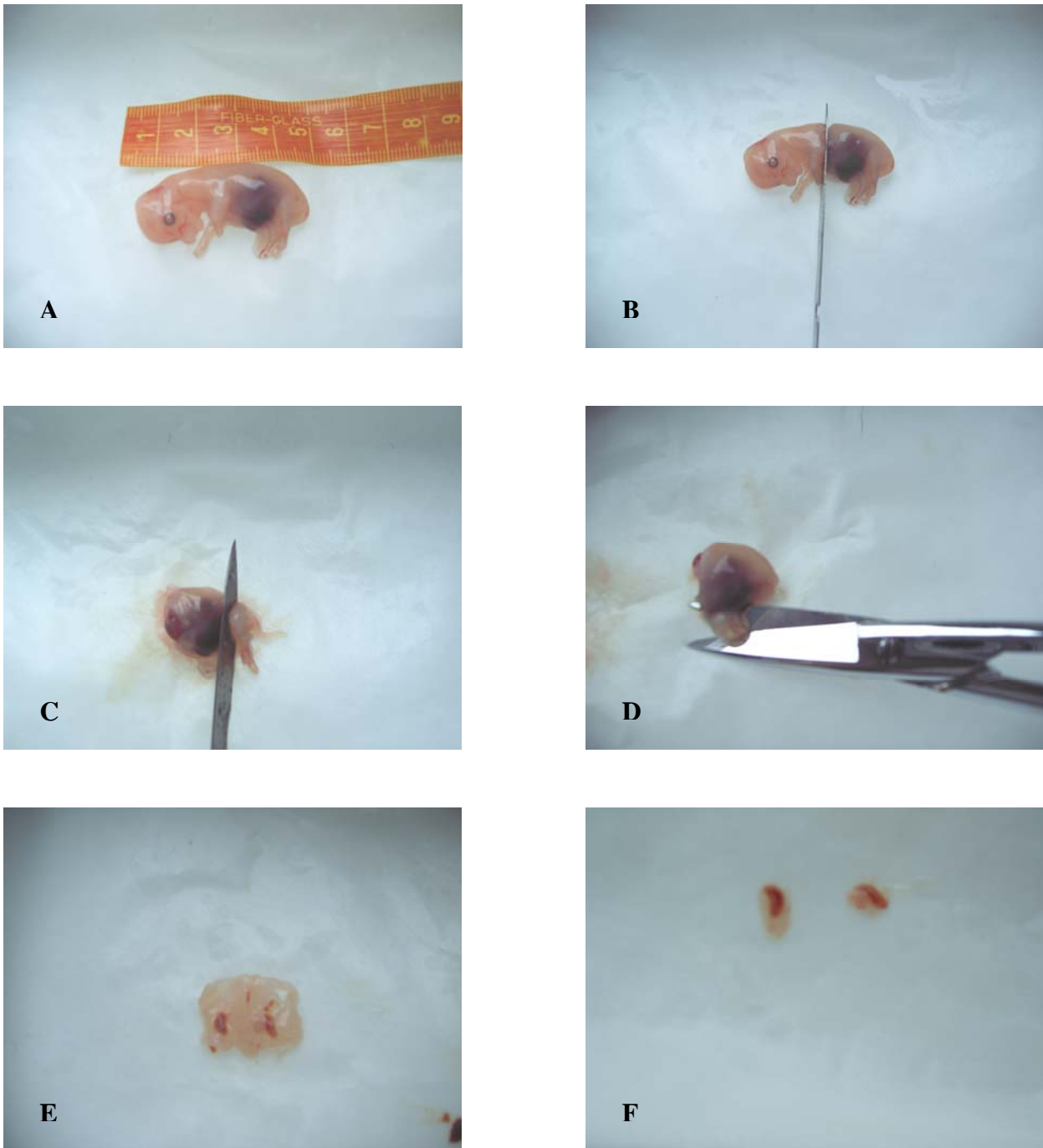
Nach Eröffnen der Bauchdecke wurden die Embryonen komplett ins Fixationsmittel eingelegt. Die Embryonen sind nach der Fixation im 70% igen Alkohol dekapitiert worden.

#### 3.2.2 Präparation von Embryonen/Feten von 2 cm bis 10 cm SSL:

Sofort nach der Entnahme aus dem Uterus wurde mit einem Skalpell hinter der Vordergliedmaße ein Transversalschnitt angelegt. Ein weiterer Schnitt erfolgte ganz knapp vor der Hintergliedmaße. Daraufhin wurde die Bauchdecke mit einer Schere eröffnet und Magen-Darmtrakt sowie ggf. Leberreste entnommen. Im Anschluss wurde der Rumpf aufgeklappt. Die Sicht auf die beiden Nieren und Umieren war nun frei und die Organe wurden stumpf vom Rumpf abpräpariert. Das Organmaterial wurde nun sofort in das Fixationsmedium verbracht.

#### 3.2.3 Präparation von Feten ab 10 cm SSL:

Auf Höhe des fetalen Knies wurde mit einem Skalpell ein ungefähr 1 cm großer Schnitt gemacht, welcher mit einer Schere unter Fingerschutz zu einem Flankenschnitt ausgeweitet wurde. Mit den Fingern wurde die oben liegende Niere aufgesucht und vorsichtig aus dem retroperitonealen Raum gelöst. Danach wurden Nierengefäße und der Harnleiter mit der Schere durchtrennt und das Organ entnommen. Anschließend wurden kleine Stücke von 1 cm Seitenlänge aus der Niere geschnitten, und diese in das Fixationsmittel geben. Bei großen Feten war auch die kontralaterale Niere durch einen Schnitt zugänglich, bei kleineren Feten wurde ein zweiter Flankenschnitt angelegt.



**Bild 2: Präparation der Embryonen/ Feten mit einer SSL von 2-10 cm:**

**A** Messen der SSL

**B** Transversalschnitt hinter der Vordergliedmaße

**C** Transversalschnitt ganz knapp vor der Hintergliedmaße

**D** Eröffnung der Bauchdecke mit einem Scherenschlag und Entfernen der intraabdominalen Organe

**E** Aufsicht auf den eröffneten Rumpf die Urnieren sind dunkelrot, die Nachnieren sind blaß

**F** Isolierte Ur- und Nachniere. Neben der rechten Urniere ist die blasse Nachniere erkennbar

### **3.3. Fixierung**

Die Proben wurden für die Lichtmikroskopie in Bouin-Lösung (Pikrinsäure-Formol-Eisessig-Gemisch) bzw. in gepuffertem Formol fixiert. (Zusammensetzung der Fixierungslösung siehe Anhang) Danach kamen die in Bouin-Lösung fixierten Proben direkt in 70%igem Alkohol, die formolfixierten Proben erst nach Spülen in PBS. Bouin fixierte Proben härteten im 70er Alkohol schnell. Bei Proben, bei denen ein weiteres Zuschneiden vor dem Einbetten nötig war erfolgte dies im 70% Alkohol, um gerade Schnittflächen zu erhalten.

### **3.4. Einbetten und Ausgießen in Paraffin**

Das Einbetten in flüssigem Paraffin erfolgte nach Entwässerung durch eine aufsteigende Alkoholreihe in einem Einbettungsautomaten (Duplex Processor Shandon).

Das Ausgießen geschieht mit dem Gerät Leica EG 1160:

1. Passenden Spannrahmen auf Ausgießform setzen
2. unter Paraffinauslauf platzieren
3. Probenkassette öffnen Paraffin in die Ausgießform laufen lassen
4. schnell Probe im Paraffin platzieren und das ganze mit einem Zettel versehen
5. auf der Kühlplatte aushärten lassen.

### **3.5. Schneiden**

Vor dem Schneiden werden die Blöcke in den Kühlschrank gelegt. Die Schnitte wurden mit dem Mikrotom 1516 von Leitz, in einer Schnittdicke von 5µm, gefertigt. Mit dem Pinsel werden die Schnitte vorsichtig von der Klinge abgehoben und zum Entfalten in ein warmes Wasserbad gelegt.

Anschließend wurden die Schnitte mit dem Objektträger aus dem Wasserbad gefischt und 30 min auf einer Heizplatte getrocknet. Vor dem Färben wurden die Schnitte 12h in den Wärmeschrank gestellt, um eine völlige Trocknung zu gewährleisten und durch Nachbehandlung entstehende, Ablösungen so gering wie möglich zu halten.

### **3.6. Lichtmikroskopie**

Eine große Auswahl von Schnitten ist mit lichtmikroskopischen Standardfärbungen behandelt worden. Es ist Hämatoxylin-Eosin, Haidenhains Eisenhämatoxylin, Versilberung nach Gomori, Alzianblau bei 2,5pH und 1,0pH, Trichromfärbung nach Goldner, und PAS Färbung mit und ohne Amylasevorbehandlung durchgeführt worden.

Die Versuchsprotokolle sind im Anhang aufgeführt.

### 3.7. Elektronenmikroskopie

Für die Elektronenmikroskopie wurden Urnieren und Nachnieren folgender SSL verwendet:

**Tab. 3** Proben für Elektronenmikroskopie

Nr.	SSL	♂ / ♀
13/06	2,8cm	id
12/06	5,7cm	m
3/06	8,2cm	m
2/06	11,0cm	w
4/06	28,0cm	w
5/06	42,0cm	m
7/06	51,5cm	w
8/06	86,0cm	m

Die Urnieren wurden direkt nach der Entnahme komplett in frisch angesetzter Karnovsky Fixierlösung verbracht (Karnovsky, 1975). Aus Nachnieren wurden ca. 4x4x4mm große Stückchen vorsichtig mit zwei scharfen Skalpellklingen heraus präpariert und ebenfalls in Karnovsky Lösung gegeben. Dabei wurde darauf geachtet, das Gewebe nicht zu quetschen und die Probe gleich von der Klinge in die Lösung gleiten zu lassen so dass auf den Gebrauch von Pinzetten verzichtet werden konnte.

Die Karnovsky vorfixierten Proben wurden auf Eis vom Schlachthof zum Institut transportiert wo dann ggf. die Proben noch weiter auf ca. 1 mm<sup>3</sup> zerkleinert wurden und in neuer Karnovsky Lösung durchfixiert wurden (im Kühlschrank).

Die Proben wurden anschließend 2 h bei 4°C im Dunkeln in einer Lösung mit 1% Osmiumtetroxid und 1,5% Kaliumferrocyanid kontrastiert und danach 3 mal in 0,1 M Natrium-Cacodylat-Puffer gewaschen.

Es folgte die Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe (Ethanol 50%, 70%, 90%, je 30min, abs. Ethanol 3mal 30min).

Danach wurde das Probenmaterial schrittweise in Epon eingebettet:

2x 15 min Propylenoxid,  
 1h Propylen- Epon- Gemisch 2:1,  
 über Nacht Propylen- Epon- Gemisch 1:1,  
 30min reines Epon.

Um die Blöcke in Gelatinekapseln (Plannet, Wetzlar) einzubetten wurden diese noch bei 60°C über 24 h polymerisiert.

Mit dem Ultramikrotom(Ultracut E von Reichert –Jung, Wien) wurden 1µm dicke Semidünnschnitte zur Übersicht angefertigt. Diese Schnitte wurden mit Methylenblau (Sigma- Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen) gefärbt. Mit Hilfe dieser Schnitte wurden interessante Bereiche lokalisiert. Diese Blöcke sind dann ultradünn mit 60 nm geschnitten worden.

Die Schnitte wurden auf Kupfer- Grits (SSI, Science Services, München) aufgezogen und in gesättigtem Uranylacetat (5min) und der Bleiacetatlösung nach Reynolds (1962) nachkontrastiert.

### 3.8. *Immunhistochemie*

Immunhistochemisch habe ich die Lokalisation von Progesteronrezeptor, Estrogen-Rezeptor alpha, Laminin, Pancytokeratin und Vimentin untersucht.

Zur Sichtbarmachung der Antikörper wurde die Biotin-Streptavidin-Methode verwendet:

Streptavidin (ein Protein aus *Streptomyces Avidinii*) besitzt eine hohe Bindungsaffinität zu dem Vitamin Biotin. Die hier angewandte Technik ist indirekt, das heißt, der Sekundärantikörper ist biotinyliert. Es wird ein Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex (ABC-Komplex) verwendet, was die Sensitivität erhöht, da mehrere ABC Komplexe an den Sekundärantikörper binden können.

Als Erstantikörper für den Progesteronrezeptornachweis kam der MS- Anti Human Progesteron-Rezeptor (Becton coulter 157) aus der Maus und als Zweitantikörper Anti maus IgG (F(ab')<sub>2</sub> biot.) von Dako zum Einsatz.

Die Antikörper für den Östrogenrezeptornachweis waren ERalpha aus dem Kaninchen (H-184 Biocarta) und Anti-Kaninchen IgG (F(ab')<sub>2</sub> biot.) aus dem Schwein von Dako.

Für Pancytokeratin wurde Pancytokeratin plus (132 Biocare Medical 800-799-9499) und polyklonalen Rabbit-Anti Mouse IgG biotinyliated (rabbit F(ab')<sub>2</sub> Dako E0413) genutzt.

Der Erstantikörper für Vimentin ist Dako 154 aus der Maus, der Zweitantikörper ist Anti Maus IgG biot. vom Kaninchen (Dako).

### 3.9. Lektine

Lektine sind Substanzen, welche in Pflanzen, Viren, Mikroorganismen und Tieren gefunden werden können. Ihre natürliche Funktion ist ungeklärt und sie binden an spezifische Zuckerstrukturen. Diese Bindungseigenschaften machte man sich zur Differenzierung von Blutgruppen beim Menschen zunutze.

Die hier untersuchten Lektine sind an Fluoreszeinisothiocyanat gebunden und ausschließlich pflanzlichen Ursprungs.

#### Concanavalin A (ConA)

Isoliert aus *Canavalia ensiformis*. Da Con A an Mannose bindet und viele Glykoproteine diese an ihrer Oberfläche tragen, bindet es an viele Substanzen, wie Hormonrezeptoren und viele mehr und wird daher häufig eingesetzt.

#### Dolichos biflorus Agglutinin (DBA)

Isoliert aus *Dolichos biflorus*.

#### Griffonia (bandeiraea) simplicifolia Lektin I (GSL-I; BSL-I)

Isoliert aus *Griffonia (Bandeiraea) simplicifolia*. Von diesem Lektin existieren 2 Untergruppen, welche als A und B bezeichnet werden, sie besitzen unterschiedliche Molekulargewichte.

#### Lens culinaris Agglutinin (LCA, LcH)

Isoliert aus *Lens culinaris*. Man verwendet LCA gerne um bestimmte Lymphozytenpopulationen abzugrenzen.

#### Peanut Agglutinin (PNA)

Isoliert aus *Arachis hypogea* (Erdnuss). Die Anwesenheit von Calciumionen kann die Bindung durch PNA behindern.

#### Phaseolus vulgaris Agglutinin (PHA-E/PHA-L)

Isoliert aus *Phaseolus vulgaris* (rote Kidneybohne). Es gibt von diesem Lektin ebenfalls 2 Untergruppen, die Gruppe E (für Erythroagglutinin) und die Gruppe L (für Leucoagglutinin). Diese Gruppen sind kombinierbar und stellen so eine Population von 5 Isolektinen.

#### Pisum sativum Agglutinin (PSA)

Isoliert aus *Pisum Sativum*. Dieses Lektin ist LCA sehr ähnlich, es wird verwendet um normale und durch Viren transformierte Zellen zu differenzieren.

Ricinus communis Agglutinin I (RCA I)

Isoliert aus Ricinus communis. RCA I besitzt eine moderate Toxizität, ein weiteres aus der Ricinus isoliertes Lektin, RCA II ist sehr giftig, es wird in die Zelle aufgenommen und entfaltet dort seine enzymatische Aktivität durch welche es die Proteinsynthese blockiert.

Sophora japonica Agglutinin (SJA)

Isoliert aus Saphora japonica. SJA bindet in alkalischem pH schlechter.

Soybean Agglutinin (SBA)

Isoliert aus Glycine max (Soyabohne); SBA wird besonders zur Differenzierung von pluripotenten Stammzellen aus dem menschlichen Knochenmark genutzt um Knochenmarkspender zu finden. Von SBA gibt es verschiedene Isolektine.

Ulex europaeus Agglutinin I (UEA I)

Ist isoliert aus Ulex europaeus. Es ist hervorragend als Marker für menschliche Endothelzellen geeignet. Es bindet an Erythrozyten der Blutgruppe 0.

Wheat germ Agglutinin (WGA)

Ist isoliert aus Triticum vulgare. WGA wurde zur Untersuchung von Insulinrezeptoren und Nervenzellen häufig herangezogen.

Succinylated wheat germ Agglutinin (WGA succ.)

Ist ebenfalls aus Triticum vulgare isoliert. Da das ursprüngliche WGA sehr viele Zellen recht unspezifisch bindet, nutzt man die Konjugation bestimmter Gruppen an Lektine um deren Spezifität zu erhöhen.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Lichtmikroskopie

#### 4.1.1 Histomorphologie

Die Morphologie der Urniere und Nachniere wurde anhand der HE gefärbten Schnitte erarbeitet.

##### 4.1.1.1 Die Urniere

Zur lateralen Seite liegen die Urnientubuli dem Gefäßendothel der Vena cardinalis posterior getrennt durch eine ganz flache, dem Gefäßendothel sehr nahe aufliegenden Zellschicht, direkt an. Die Kerne dieser Schicht sind eher hell und wölben sich Richtung Tubuli vor. Die Kerne des Gefäßendothels wölben sich in das Lumen des Gefäßes vor und sind ebenfalls hell.

Zwischen den Tubuli sind häufig kernhaltige Erythrozyten zu sehen, teilweise in Kapillaren, teilweise scheinen sie frei um die Außenseite der Tubuli zu strömen. Im Tubuluslumen sind keine Erythrozyten zu finden. Des Weiteren findet sich, um die Tubuli ein lockeres, ungeordnet wirkendes, Fibrozytennetz.

Nach Epithelunterschieden kann man 3 Tubulusabschnitte erkennen:

1. An der Lateralseite Richtung Vena cardinalis posterior gelegene Tubulusabschnitte mit geringem Durchmesser. Sie haben ein isoprismatisches Epithel und ein gleichmäßiges Lumen. Die Epithelzellkerne sind groß, rund und zeigen deutliche dunkle Bereiche, bei welchen es sich um Nucleoli oder Heterochromatin handeln kann. Die Zellgrenzen sind deutlich zu sehen.
2. Etwas weiter medial liegen häufig vorkommende Tubulusabschnitte, mit isoprismatischen Epithel mit nicht ganz so gut abgrenzbaren Zellgrenzen. Sie zeigen ein großes unregelmäßiges Lumen und lumenseitig eine unruhige Zelloberfläche. Im Lumen sind teilweise leer erscheinende Vakuolen mit einer eosinophilen Hülle zu sehen. Diese Abschnitte erinnern an den proximalen Tubulus der Nachniere, die Zellen zeigen auch Mikrovillibesatz in elektronenmikroskopischen Untersuchungen.
3. Im eher kranialen Teil dichter wirkende Tubuli mit hochprismatischen Epithel, eher undeutlichen Zellgrenzen und längsovalen Kernen, welche auch dunkle Bereiche zeigen. Auch sie haben eine unruhige Epitheloberfläche zur Lumenseite und teilweise Protrusionen im Lumen. Es könnte sich um kondensierte Tubuli wie die unter Punkt 2 beschrieben handeln, welche gerade zugrunde gehen.

In das riesige Malpighische Körperchen der Rinderurniere ziehen in regelmäßigen Abständen Kapillaren ein, welche sich in der geräumigen Bowmankapsel zu Kapillarkäulen ausdehnen. Der Spaltraum zwischen den zwei Blättern der Bowmankapsel ist außerordentlich groß. Das parietale Blatt hat größtenteils ein plattes Epithel welches an Kapillarwände erinnert. Die Kerne wölben sich in den



Spaltraum vor. Tubuluseitig wird das Epithel plötzlich stellenweise isoprismatisch, deutlich eosinophil mit großen runden Kernen und klaren Zellgrenzen. Diese Bereiche sehen flach halbmondförmig aus.

Die Podozytenkerne des viszeralen Blattes der Bowmankapsel sind etwas dunkler als die der Kapillarendothelzellen. Die Fortsätze dieser Zellen kann man in der HE Färbung nicht einer Zelle zuordnen.

Die kranialen Teile des Riesenglomerulums erscheinen kondensiert und eher undeutlich, sie sind im Untergang begriffen. Ab 5cm SSL kommt es in den meisten Tubulusabschnitten zu Vakuolenbildung im Zytoplasma des Tubulusepithels, es hat den Anschein, dass ganze Zytoplasmabestandteile der Epithelzellen in das Tubuluslumen abgeschnürt werden. Womöglich ist dies auch schon durch die Rückbildung des Organes bedingt.

Der kraniale und kaudale Übergang der Urniere verläuft, ohne deutliche Grenze, in Form eines Fibrozytennetzwerkes in den übrigen Körper. Ventral verdichtet sich zum Organrand das Bindegewebe, die Begrenzung bildet eine einschichtige flache Zellschicht mit dichtgedrängten dunkelvioletten Kernen. Von der Urniere ist bei größeren Embryonen als 7cm SSL nichts mehr zu finden.



**Bild 3:** 3,5 cm SSL, HE Färbung, bovine Urniere (A), Nachniere (B); das Riesenglomerulum (C) ist nur teilweise angeschnitten

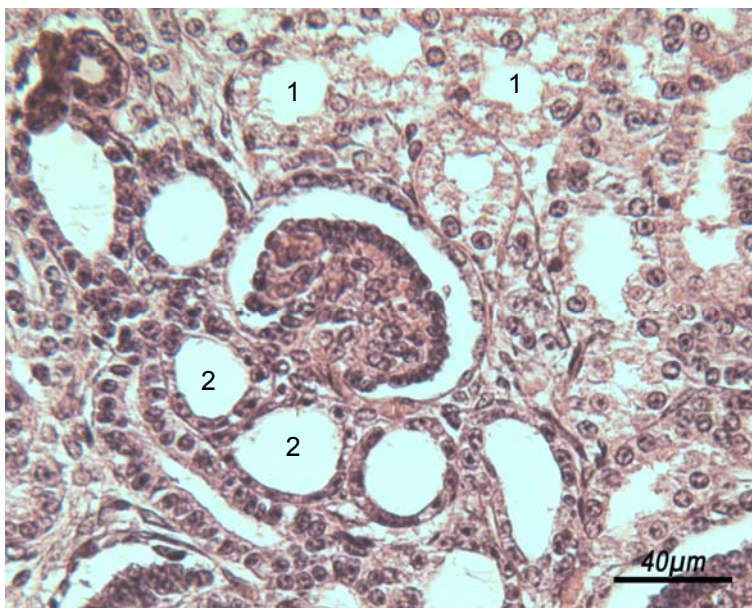
#### 4.1.1.2 Die Nachniere

Von den jüngsten Stadien in denen die Nachniere zu finden ist, bis zum geburtsreifen Fetus kann eine subkapsuläre Blastemzone, in der die Nephronentwicklung beginnt, erkannt werden.

Mit einer SSL von 3,5cm ist eine Unterscheidung von Rinde und Mark noch nicht möglich, bis auf ein Glomerulum im fingerförmigen Stadium sind die ältesten im S-förmigen Stadium. Die Bildung einer bindegewebigen Kapsel ist schon zu erkennen, jedoch noch kein Aufbau in Schichten, die Kapsel ist relativ dick und besteht aus einem Fibrozytennetzwerk. Mit 5,8 cm ist der Großteil des vorher vorhandenen embryonalen Bindegewebes von sich bildenden Nephronen verdrängt. Vom Kondensationsstadium bis zum komplett wirkenden Glomerulum sind alle Entwicklungsstadien vorhanden. An der Capsula fibrosa kann nun eine dichter wirkende Außenschicht und eine netzförmige Innenschicht erkannt werden. Mit 9 cm SSL wirkt der Randbereich der Niere durch die hohe Dichte an Kernen hämatoxyphil und der Innenbereich eosinophil. Im Randbereich befinden sich die jüngsten, im Innenbereich die ältesten Nephronen. Ab 10,5cm SSL kann man einen Rinden- und Markbereich unterscheiden, diese Trennung in Rinde und Mark ist dann ab 13cm SSL eindeutig. Ab 19,5cm SSL ist die Unterscheidung einer Pars convoluta und einer Pars radiata in der Nierenrinde möglich.

In den Sammelrohren lassen sich bis zum geburtsreifen Fetus keine Haupt- und Schaltzellen unterscheiden. Generell wirkt das embryonale und fetale Zytoplasma der Sammelrohrzellen optisch leer.

Die proximalen und distalen Tubulusabschnitte sind schon zu unterscheiden, wenn das dazugehörige Glomerulum im fingerförmigen Stadium ist.



**Bild 4:** Fetus, 86 cm SSL, HE Färbung, junges Glomerulum, einige Anschnitte von proximalen (1) und distalen (2) Tubuli

#### 4.1.2 Untersuchung der Glomerula-Durchmesser in den verschiedenen Entwicklungsstadien

Anhand der HE Schnitte wurden digitale Fotos erstellt und mit ImageJ 1.38x die Durchmesser der Glomerula gemessen. Von jedem Schnitt habe ich 10 Glomerula fotografiert, und jedes 10-mal vermessen. Bei symmetrisch runden Glomerula habe ich 5-mal den Längs- und 5-mal den Querdurchmesser gemessen. Einige Glomerula zeigen während der Entwicklung eine Herz- oder Eiform. In diesen Fällen wurde die jeweils breiteste und schmalste Stelle gemessen. Die Messungen erfolgten inklusive Bowman Kapsel.

Aus den jeweils 100 Einzelwerten eines Tieres wurde der Mittelwert errechnet und daraus eine Umrechnung der Pixelangabe zu  $\mu\text{m}$  (Vergrößerung 250fach, aus Testskalamessungen ergab sich: 5 Pixel entsprechen  $1\mu\text{m}$ ) vorgenommen. Anschließend wurde noch für jedes Tier die Standardabweichung bestimmt.

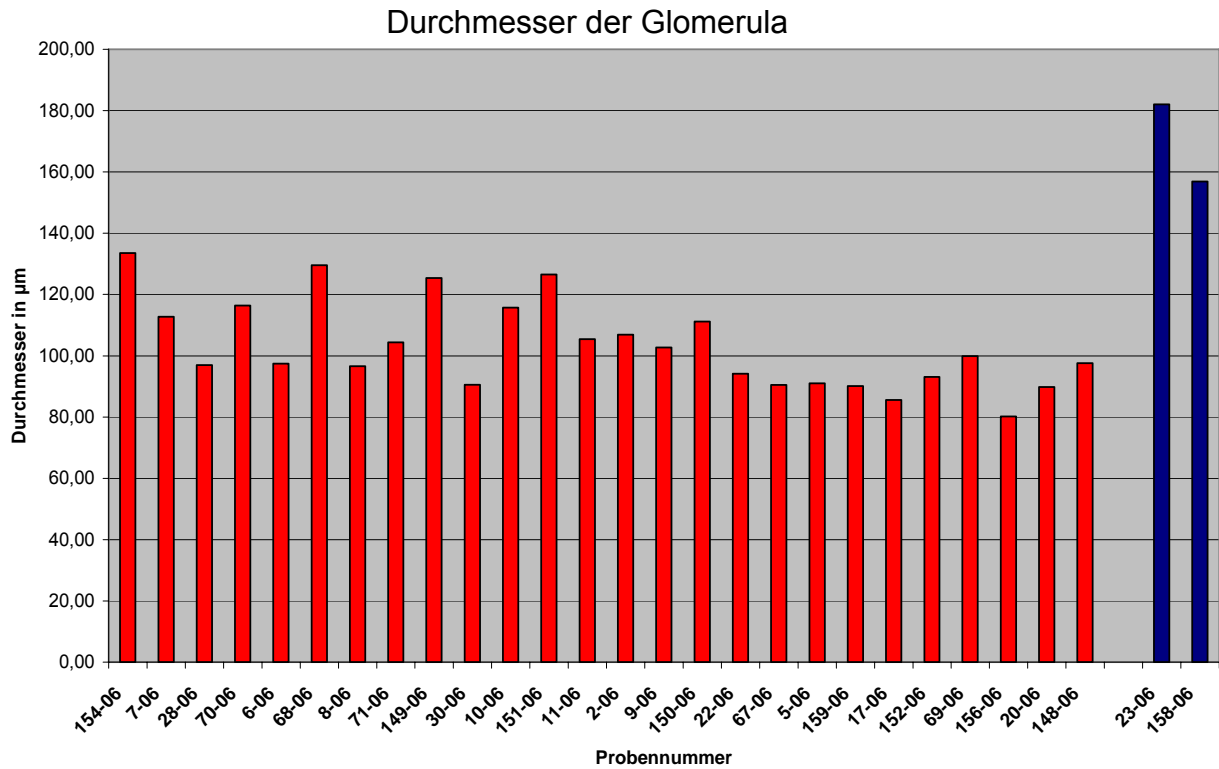
$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad ; \quad \frac{\bar{x}}{5} = \bar{x}\mu\text{m} \quad ; \quad s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad ; \quad \frac{s}{5} = s\mu\text{m}$$

$\bar{x}$  = Mittelwert, n= Anzahl der Messungen,  $x_i$ = Messwert,  $\bar{x} \mu\text{m}$ = Mittelwert in  $\mu\text{m}$ ,

s= Standardabweichung,  $s\mu\text{m}$ = Standardabweichung in  $\mu\text{m}$

**Tab. 4** Glomerula-Durchmesser

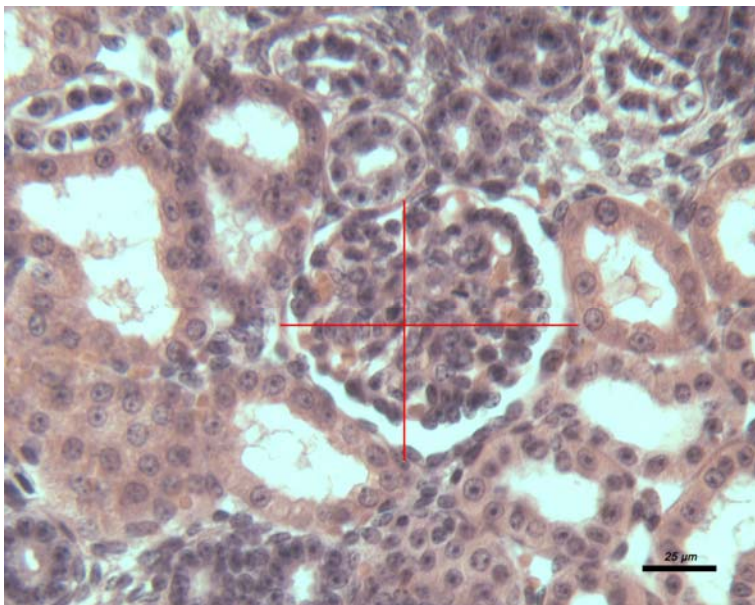
Probe	SSL (cm)	♀/♂	Ø (pix)	Ø ( $\mu\text{m}$ )	S(pix)	S( $\mu\text{m}$ )
154-06	5,8	m	667,70	133,54	87,04	17,41
7-06	8,2	m	563,75	112,75	102,82	20,56
28-06	9,0	m	484,75	96,95	50,63	10,13
70-06	10,5	w	581,90	116,38	89,52	17,90
6-06	11,0	w	487,20	97,44	49,78	9,96
68-06	13,0	m	647,85	129,57	73,34	14,67
8-06	15,0	w	483,00	96,60	53,01	10,60
71-06	18,0	w	521,65	104,33	109,76	21,95
149-06	18,3	m	627,10	125,42	105,41	21,08
30-06	19,5	w	452,90	90,58	70,23	14,05
10-06	20,0	m	578,55	115,71	96,78	19,36
151-06	22,3	m	632,55	126,51	75,06	15,01
11-06	23,0	m	527,05	105,41	78,85	15,77
2-06	28,0	w	534,40	106,88	71,64	14,33
9-06	28,0	m	513,55	102,71	89,5	17,90
150-06	30,2	m	555,75	111,15	70,37	14,07
22-06	32,0	m	470,85	94,17	65,03	13,01
67-06	41,5	w	452,40	90,48	53,26	10,65
5-06	42,0	m	455,15	91,03	68,88	13,78
159-06	46,3	w	450,50	90,10	52,59	10,52
17-06	51,5	w	427,90	85,58	48,95	9,79
152-06	61,7	m	465,55	93,11	38,53	7,71
69-06	68,5	m	499,60	99,92	50,35	10,07
156-06	69,3	w	401,00	80,20	56,95	11,39
20-06	86,0	m	449,25	89,85	58,98	11,80
148-06	89,7	m	487,80	97,56	54,13	10,83
23-06	Bulle 1	m♂	910,00	182,00	139,51	27,90
158-06	Kuh 3	w♀	784,25	156,85	79,43	15,89



x → Proben sortiert nach SSI li nach rechts größer werdend, Blau → zwei Adulte zum Vergleich

Aufgrund der geringen Anzahl von Proben für die einzelnen SSL und der hohen individuellen Varianzbreite, kann die durchgeführte Untersuchung nur eine Größentendenz aufzeigen.

Bis zu einer SSL von 30,2 cm liegen die Durchmesser eher über 100 µm, ab 32,0 cm liegen sie zwischen 80 und 100 µm. Geschlechtsspezifische Unterschiede lassen sich nicht feststellen. Bei adulten Tieren liegt der Durchmesser deutlich über 140 µm.



**Bild 5:** Beispiel für die Bestimmung der Glomerulagröße, HE, Messlinien verdickt und gefärbt, Balken 25 µm

Mikroskop: Aristoplan, Leitz, Wetzlar  
Kamera: Lumenera USB, Release 3.8

Tab. 5 Histologische Routinefärbungen

Pröp. Nr.	H+E	Goldner	PAS	PAS+Am.	Alzian1,0 Alzian2,5	Alzian2,5	Versilb.	Heidenh.
1/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
2/06 B	10	1	2	4	6	5	9/49/3	7
3/06 B	SERIE !	/	/	/	/	/	/	/
4/06 B	SERIE !	/	/	/	/	/	/	/
5/06 B	11	12	13	15	17	5	14/20	18
6/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
7/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
8/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
9/06 B	10	1	2	4	6	5	3//9	8
10/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
11/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
17/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
18/06 B	10	1	2	3	6	5	4//9	7
19/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
20/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
21/06 F	41/70	1/42/68	43/69	21/30/43/67	27	28	9/49/61	26//48
22/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
23/06 F	10	1	2	3	6	5	9//21	7
24/06 B	10	1	2	3	6	5	9//25	29
25/06 F	10	1	2	3	6	5	9//22	8
26/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
27/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
28/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
29/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
30/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
31/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
32/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
33/06 F	10	1	2	3	6	5	9//8	7
34/06 B	10	1	2	3	6	5	9	7
67/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
68/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
69/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
70/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
71/06 F	10	1	2	3	6	5	9	7
148/06	10	1	2	3	6	5	9//27	7
149/06	10	1	2	3	6	5	9	7
150/06	10	1	2	3	6	5	9	7
151/06	10	1	2	3	6	5	9	7
152/06	10	1	2	3	6	5	9	7
153/06	41/10	42/1	22	3 21	47/6	48/5	9//50	7//46
154/06	41/10	42/1	43	44/3	6	5	9//48	7
155/06	10	1	2	3	6	5	9	7
156/06	10	1	2	3	6	5	9//21	7
157/06	10	1	2	3	6	5	9//21	7
158/06	10	1	2	4	6	5	9//27	7
159/06	10	1	2	4	6	5	8	7

Links steht die Probennummer( das gleiche Tier erhielt für jede Fixierung eine eigene Nummer) und unter der jeweiligen Färbung die Nummer des Schnittes der gefärbt wurde



### 4.1.3 PAS Färbung: Perjodic-acid-Schiff-Reaction

Perjodsäure oxidiert Glycolgruppen zu Aldehydgruppen. Das anschließend zugesetzte Schiff-Reagenz bindet an Aldehydgruppen und erhält dadurch eine chromogene Eigenschaft. Eine magnetarote Farbe wird an den Reaktionsstellen sichtbar. Mit der PAS können Glykogen, Cellulose, neutrale Mucopolysaccharide und Muco- sowie Glycoproteine dargestellt werden. Durch eine Amylasevorbehandlung können Stärke und Glykogen von anderen Kohlhhydraten und Glykoproteinen differenziert werden.

#### 4.1.3.1 Urniere

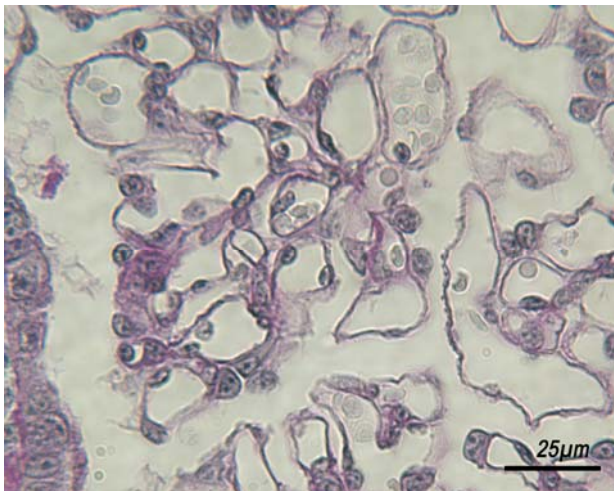
Mit 1,5cm SSL ist keine positive PAS-Reaktion in der Urniere zu beobachten. Mit 3,2cm SSL ist eine leichte positive Reaktion an Tubulusabschnitten unregelmäßigem Epithel zu erkennen, die resistent gegenüber Amylase ist. Ab 5cm SSL reagieren die Podozytenfortsätze und Teile der Bowman Kapsel positiv. Der Urnierengang ist PAS- positiv. Die Intensität der Reaktion wird durch Amylase stark vermindert. Dies spricht für das Vorkommen einer erheblichen Menge an Glykogen. Ab 5,8cm SSL sind PAS-positive Bereiche deutlicher ohne Amylaseverdauung zu erkennen als nach enzymatischer Vorbehandlung.

#### PAS Auswertung Urniere

Tab. 6 PAS Auswertung Urniere

Proben	SSL cm	Mit Amylase	Ohne Amylase
04/06	1,5	-	-
153/06	3,2	Tub ur Epithel + ;Rest -	Tub ur Epithel+- ;Rest -
03/06	3,5	Tub ur Epithel +- ;Rest -	Tub ur Epithel+- ;Rest -
21/06	5,0	Bow ++ ;Pod + ;Tub ur Epithel lum und tw. basal ++	Tub ur Epithel basal+ ;lum+++; Podo+-; UNG+
154/06	5,8	Tub. ur Epithel +	Tub ur Epithel lum+- ;basal++; Podo +-
01/06	7,0	Tub. ur Epithel lum +- ;basal+	Tub ur Epithel lum+- ;basal++

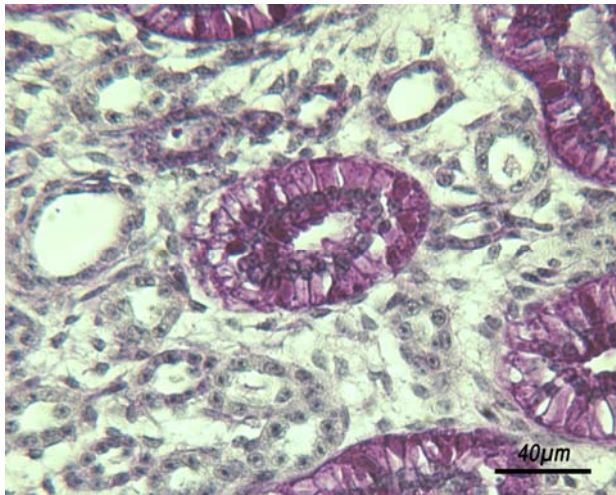
- negativ, +- zweifelhaft, + positiv, ++ deutlich positiv, +++ stark positiv; Bow- Bowman Kapsel, Tub gl Epit- Tubuli mit gleichmäßigem Epitel, Tub ur Epit- Tubuli mit unregelmäßigen Epithel, UNG Urnierengang, Podo- Podozytenfortsätze, lum -lumenwärts



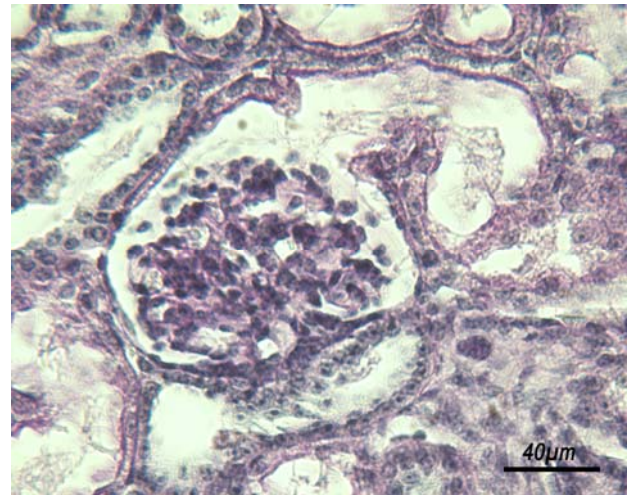
**Bild 6:** Embryo 7,0 cm SSL, PAS mit Amylasevorbehandlung, Urniere, Riesenglomerulum

#### 4.1.3.2 Nachniere

Bei kleinen Embryonen konnten keine PAS positiven Bereiche identifiziert werden. Ab 8,2 cm SSL reagiert die Kapsel sowohl mit als auch ohne Amylasevorbehandlung PAS-positiv. Bei Schnitten ohne Amylasevorbehandlung ist, ab 5,8 cm SSL, eine sehr starke PAS-Färbung der sich entwickelnden Sammelrohre zu beobachten. Es handelt sich hier um Glykogen. Bei formolfixierten Proben fällt die Reaktion bis 19,5 cm SSL ein wenig deutlicher aus als bei Bouin-fixierten. Von 11 cm SSL an, sind nach Amylasevorbehandlung eine leichte Reaktion an den Tubuli und teilweise eine starke Reaktion im gefüllten Lumen der Tubuli zu sehen. Ohne Amylasevorbehandlung fällt die Reaktion wie zu erwarten stärker aus, Sammelrohre und subkapsuläre Blastemzone reagieren zusätzlich deutlich positiv. Ab 18 cm SSL gibt es an Bowmankapsel und Glomerulum bei beiden Färbevarianten positive Bereiche. Ab 20 cm SSL reagiert nur noch der proximale Tubulus positiv. Bei adulten Tieren gibt es eine moderate positive Färbung in allen Nephronbereichen, wobei nach Amylasevorbehandlung das Zytoplasma der Tubuli nicht mehr reagiert, die Sammelrohre reagieren ohne Amylasevorbehandlung nicht mehr so hervorstechend wie in der Fetalentwicklung.



**Bild 8:** 18,3 cm SSL, PAS ohne Amylasevorbehandlung, starke Reaktion in den Sammelrohren



**Bild 7:** 22,3 cm SSL, PAS mit Amylasevorbehandlung Glomerulum mit Übergang zum Harnpol

## Auswertung PAS Nachniere

Tab. 7 Auswertung PAS Nachniere

Probe	SSL cm	Mit Amylase	Ohne Amylase
03/06	3,5	-	-
154/06	5,8	-	SR in Bildung+++
07/06	8,2	Kapsel+ ;rest-	Kapsel+- Rest-
27/06- 28/06	9,0	neg in Bouin tw Füllung dist. Tub. +++	subkapsulär ++, nur Formol+++SR, Bouin Füllung dist Tub++
70/06	10,5	-	tw SR Zellen++
06/06	11,0	Kapsel+ dist/prox Tub+- tw Tub gefüllt+++	Kapsel+ subkap Zone+ Tub Füllung++ Sr++luminal
68/06	13,0	prox Tub +- Glo+-	prox Tub und Glo+ ;subkap ++ ;SR+++
08/06	15,0	Kapsel und Bgw+	Kapsel und Bgw +; Nephronbildung tw+-
71/06	18,0	Glo, Bow, prox Tub+	Glo ,Bow ,Prox Tub + SR+++ subkap ++
149/06	18,3	subkap+-; prox Tub, Glo+	Glo ,Bow, Prox Tub + SR+++ subkap ++
29/06- 30/06	19,5	Prox/ dist Tub +;Glo+; Bgw+	pro dist Tub+ ;Glo+ ;subkap ++ ;SR+++ in Bouin SR nur++
10/06	20,0	Kap, subkapsuläre Glo, Tub++ Bgw+	subkap +-;Glo+ :Tub+ ;SR++
151/06	22,3	Glo, Bow, Tub ,Bgw+	Tub+- subkap SR+++
11/06	23,0	Glo, prox Tub ,Bgw+	Glo, Bow, Prox Tub++ SR+ subkap +
02/06	28,0	proxTub, Glo++	Glo, prox Tub, SR++
09/06	28,0	Glo, prox Tub, Bgw+	Glo, prox Tub, Bgw, SR++
150/06	30,2	Glo ++; prox Tub+	Prox Tub+ ,Glo ,subkap++ ,SR+++
22/06	32,0	Glo, prox Tub +	Glo, prox Tub, subkap + ;SR++
67/06	41,5	Glo, prox Tub+	Glo prox +-; SR +++; Subkap++
05/06	42,0	Glo, prox Tub, Bgw+	Bgw, prox Tub+; Glo+- ;SR+
159/06	46,3	Glo, prox Tub+-	Glo ,prox Tub+- ;SR+++; subkap++
17/06- 18/06	51,5	Glo, Bgw, prox Tub+	Glo +; SR+; prox++
152/06	61,7	proxTub, Glo++; Kapsel+	subkap++; Glo, prox Tub+; SR++
69/06	68,5	Glo ,prox Tub ,Bgw+	SR++; Glo, proxTub, Bgw+-
155/06- 156/06	69,3	Prox Tub+-; Glo, Bgw+	Glo, prox Tub+ ;SR+++
19/06- 20/06	86,0	Glo, prox Tub+- ; Bgw+	Bgw, proxTub+ ;Glo++ SR+
148/06	89,7	prox Glo+	prox Tub, Glo+-
23//24/06	Adult	alles +-; Zytoplasma, Tub. -	alles ++
25//26/06	Adult	alles +-; Zytoplasma, Tub. -	alles ++
31//32/06	Adult	alles +- ;Zytoplasma, Tub. -	alles ++
33//34/06	Adult	alles +-; Zytoplasma, Tub. -	alles ++
158/06	Adult	alles +-; Zytoplasma, Tub. -	alles ++

- keine Färbung, +- zweifelhaft, + positiv, ++ deutlich positiv, +++ stark positiv; Glo- Glomerulum, Bow- Bowman Kapsel, Nephbil- Nephronbildungsstufen, Prox Tub- proximaler Tubulus, Dist Tub- distaler Tubulus, Tub int- Tubulus intermedius, Sr- Sammelrohr, Bgw- Bindegewebe, tw- teilweise, Kap/Kapsel- Nierenkapsel, subkap Zone- subkapsuläre Zone, Tub- Tubuli generell



#### 4.1.4 Alcianblau-Färbung bei pH 1,0 und pH 2,5

Alcianblau wurde 1950 von Steedman zur Färbung von Mukosubstanzen eingeführt. Die Färbung wird bei 2,5pH für saure und bei 1,0 pH für sulfatierte Mukosubstanzen durchgeführt. Die Mukosubstanzen färben sich leuchtend blau, die Kerne durch Gegenfärbung mit Kernechtrot hellrot. In der von mir gewählten Färbevariante ist eine Unterscheidung von Sulfat- und Karboxylgruppen nicht sicher möglich.

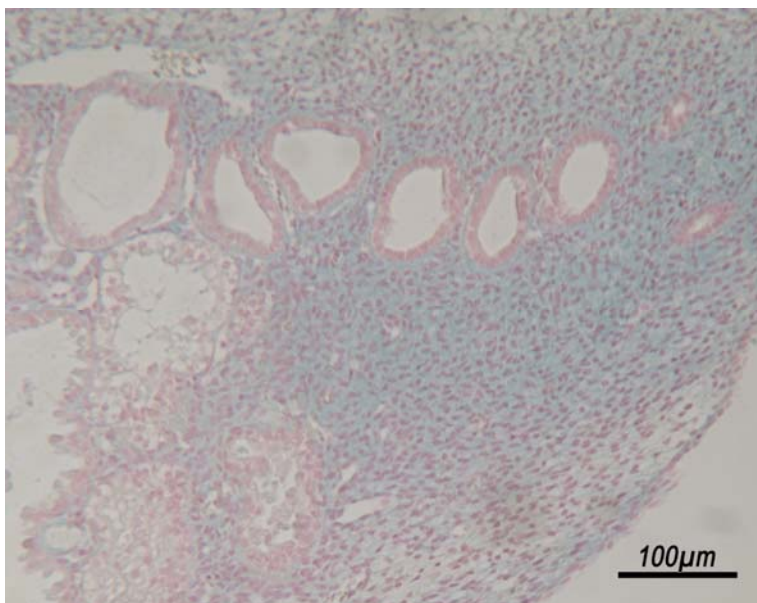
In der Urniere fanden sich nur wenige Bereiche mit sulfatierten bzw. karboxylierten Mukosubstanzen im mesenchymalen Bindegewebe.

In der Nachniere zeigte sich meist eine positive Reaktion der Nierenkapsel, wobei die sulfatierten häufiger als die sauren Mukosubstanzen vorkommen. Im Bindegewebe zeigten sich ebenfalls häufig saure und sulfatierte Mukosubstanzen. Besonderheiten in einem bestimmten Entwicklungsabschnitt kamen nicht vor.

**Tab. 8** Alcianblau-Färbung Urniere

Urniere	SSL cm	Glo	Bow	Tub. gl. Epit.	Tub. ur. Epit.	Organgrenze	UNG	sonstiges	pH
4-06	1,5	-	-	-	-	-	-	Bgw+	1,0
4-06	1,5	-	-	-	-	-	-	-	2,5
153-06	3,2	-	-	-	-	-	-	-	1,0
153-06	3,2	-	-	-	-	-	-	-	2,5
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-	Bgw+-	1,0
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-	-	2,5
21-06	5,0	-	-	-	-	-	-	Bgw+	1,0
21-06	5,0	-	-	-	-	-	-	Bgw+-	2,5
154-06	5,8	-	-	-	-	-	-	Bgw+-	1,0
154-06	5,8	-	-	-	-	-	-	-	2,5
1-06	7,0	-	-	-	-	-	-	Bgw+-	1,0
1-06	7,0	-	-	-	-	-	-	-	2,5

- negativ, +- zweifelhaft, + positiv, ++ deutlich positiv, +++ stark positiv; Glo- Glomerulum, Bow- Bowman Kapsel, Tub gl Epit- Tubuli mit gleichmäßigem Epitel, Tub ur Epit- Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, pH- pH Wert



**Bild 9:** Urniere, 5,0 cm SSL, Alcianblau pH 1,0

Tab. 9 Alcianblau-Färbung Nachniere

Nachniere	SSL cm	Kapsel	Glo	Bow	Neph bil	Prox. Tub.	Dist. Tub.	Tub int.	Sr	Bgw	sonstige es	pH
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
3-06	3,5	+	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
154-06	5,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
154-06	5,8	+-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
7-06	8,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
7-06	8,2	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
27-06	9,0	+	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	2,5
27-06	9,0	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
70-06	10,5	+-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
70-06	10,5	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
6-06	11,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
6-06	11,0	+	+	+	+	+	-	-	-	+	überfärbt	1,0
68-06	13,0	+-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	2,5
68-06	13,0	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
8-06	15,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
8-06	15,0	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	1,0
71-06	18,0	+-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
71-06	18,0	+-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	1,0
149-06	18,3	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	2,5
149-06	18,3	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	1,0
29-06	19,5	+-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
29-06	19,5	+	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
10-06	20,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
10-06	20,0	+	-	-	-	-	-	-	-	++	-	1,0
151-06	22,3	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	2,5
151-06	22,3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
11-06	23,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
11-06	23,0	++	-	-	-	-	-	-	-	++	Artefakt	1,0
9-06	28,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
9-06	28,0	++	-	-	-	-	-	-	-	++	-	1,0
2-06	28,0	-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	2,5
2-06	28,0	++	-	-	-	-	-	-	-	++	-	1,0
150-06	30,2	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	2,5
150-06	30,2	++	-	-	-	-	-	-	-	++	-	1,0
22-06	32,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
22-06	32,0	+-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	1,0
67-06	41,5	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	2,5
67-06	41,5	+-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
5-06	42,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
5-06	42,0	++	-	-	-	-	-	-	-	+	-	1,0
159-06	46,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
159-06	46,3	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
18-06	51,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
18-06	51,5	++	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
152-06	61,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
152-06	61,7	+	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
69-06	68,5	-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	2,5
69-06	68,5	fehlt	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
156-06	69,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
156-06	69,3	fehlt	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
20-06	86,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
20-06	86,0	++	-	-	-	-	-	-	-	++	-	1,0
148-06	89,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
148-06	89,7	fehlt	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0

Tab. 9 Alcianblau-Färbung Nachniere (Fortsetzung)

Nachniere	SSL cm	Kapsel	Glo	Bow	Neph bil	Prox. Tub.	Dist. Tub.	Tub int.	Sr	Bgw	sonstiges	pH
23-06a	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
23-06a	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
25-06a	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
25-06a	Adult	+-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
31-06a	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
31-06a	Adult	fehlt	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0
34-06a	Adult	+-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
34-06a	Adult	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	1,0
157-06a	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	2,5
157-06a	Adult	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	1,0

- negativ, +- zweifelhaft, + positiv, ++ deutlich positiv, +++ stark positiv; Glo- Glomerulum, Bow- Bowman Kapsel, Nephbil- Nephronbildungsstufen, Prox Tub- proximaler Tubulus, Dist Tub- distaler Tubulus, Tub int- Tubulus intermedius, Sr- Sammelrohr, Bgw- Bindegewebe

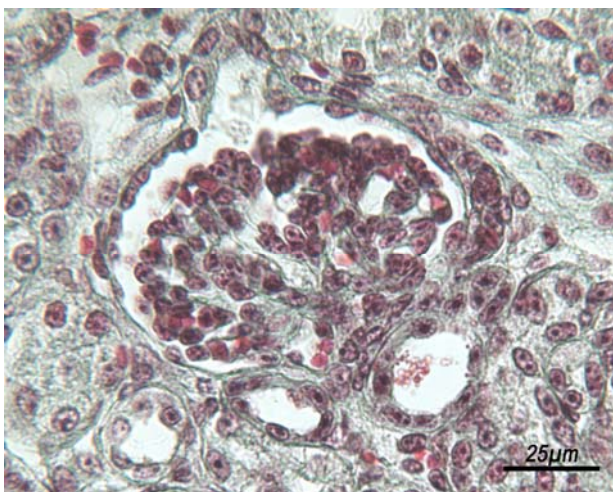
#### 4.1.5 Trichromfärbung nach Goldner

Durch Trichromfärbungen werden Bindegewebe, Epithel- und Muskelzellen unterschiedlich dargestellt. Der komplexe Färbemechanismus ist nicht ganz geklärt. Elektrostatische Farbstoffbindung sowie die Gewebetextur werden für die Geschwindigkeit des Anfärbens und Auswaschens verantwortlich gemacht. Sämtliche Farbstoffe dieser Färbung sind negativ geladen. Differenzieren, besonders vor dem Anfärben der Bindegewebsfasern ist hier besonders wichtig. Die Ursprungsvariante ist die Trichromfärbung nach Masson (1929).

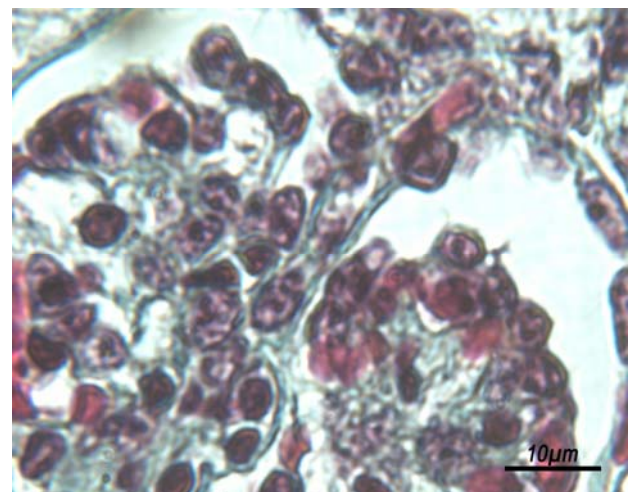
Zellkerne färben sich bräunlich- schwarz, Zytoplasma ziegelrot, Erythrozyten orangegelb, Bindegewebe und saure Mukosubstanzen grün.

In der Urniere ist das Mesenchym nicht anfärbbar. Wahrscheinlich enthält mesenchymales Bindegewebe kaum positiv geladene Gruppen an der Oberfläche. Die Auswertung wurde in der Regel bei 250 facher Vergrößerung erstellt, in einigen Fällen wurde auch 1000 fache Vergrößerung angewandt. Dabei wurden in den Tubuli mit unregelmäßiger Epithelhöhe schwach Lichtgrün-positive Bereiche festgestellt.

Ab einer SSL von 8,2 cm gibt es erste Anfärbungen mit Lichtgrün in der Nierenkapsel, welche ab sofort bis ins adulte Alter erhalten bleiben. Bei jüngeren Feten gibt es keine Reaktion mit Lichtgrün. Positive Bereiche an Glomerulum, Bowmankapsel und bindegewebigen Bereichen um Tubuli, Sammelrohre und Gefäße werden ab 18 cm SSL sichtbar.



**Bild 11:** Fetus, 69,3 cm SSL, Goldner, Glomerulum Gefäß- und Harmpol, distale Tubuli um den Gefäßpol



**Bild 10:** Fetus, 51,5 cm SSL, Goldner, Gefäßpol eines Glomerulums

## Goldner

Tab. 10 Goldner Urniere

Urniere	SSL cm	Glo Gef	Bow	Tub.gl.E pit.	Tub.ur.E pi.	Organgr enze	UNG	sonst.
4-06	1,5	-	-	-	-	-	-	-
153-06	3,2	-	-	-	-	-	-	-
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-	-
21-06	5,0	-	-	-	-	-	-	-
154-06	5,8	-	-	-	-	-	-	-
1-06	7,0	-	-	-	-	-	-	-

- keine Reaktion, +- zweifelhaft, + positiv, ++ deutlich positiv, +++ stark positiv; Glo- Glomerulum, Bow- Bowman Kapsel, Nephbil- Nephronbildungsstufen, Prox Tub- proximaler Tubulus, Dist Tub- distaler Tubulus, Tub int- Tubulus intermedius, Sr- Sammelrohr, Bgw- Bindegewebe

Tab. 11 Goldner Nachniere

Nachniere	SSL Cm	Kapsel	Glo	Bow	Nephb il	Prox.Tu b.	Dist. Tub.	Tub int.	Sr	Bgw
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
154-06	5,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7-06	8,2	+	-	-	-	-	-	-	-	-
27-06	9,0	+	-	-	-	-	-	-	-	-
70-06	10,5	+	-	-	-	+Inhalt	-	-	-	+-
6-06	11,0	++	-	-	-	-	-	-	-	-
68-06	13,0	+-	-	-	-	-	-	-	-	-
8-06	15,0	++	-	-	-	-	-	-	-	-
71-06	18,0	++	+-	+-	-	-	-	-	-	+
149-06	18,3	+	+-	+-	-	-	-	-	-	+
30-06	19,5	++	+-	+-	-	-	-	-	-	+
10-06	20,0	++	+-	+-	-	-	-	-	-	+
151-06	22,3	++	+-	+-	-	-	-	-	-	+
11-06	23,0	++	+-	-	-	-	-	-	-	+
9-06	28,0	++	-	-	-	-	-	-	-	+
2-06	28,0	++	+-	+-	-	+Inhalt	+	-	-	+
150-06	30,2	+-	+-	+-	-	+Inhalt	-	-	-	+
22-06	32,0	fehlt	+-	+-	-	+-Inhalt	-	-	-	+
67-06	41,5	+	+-	+-	-	+-Inhalt	-	-	-	+
5-06	42,0	++	-	-	-	-	-	-	-	++
159-06	46,3	+	+-	+-	-	+Inhalt	-	-	-	+
17-06	51,5	+	+-	+-	-	+-Inhalt	-	-	-	+
152-06	61,7	+	+-	+-	-	+-Inhalt	-	-	-	+
69-06	68,5	+	+-	+-	-	+-Inhalt	-	-	-	+
156-06	69,3	fehlt	+	+-	-	+Inhalt	-	-	-	+
20-06	86,0	++	+-	+-	-	+Inhalt	-	-	-	++
148-06	89,7	fehlt	-	+-	-	-	-	-	-	+++
23-06a	Adult	fehlt	++	++	-	+Inhalt	-	-	-	++
25-06a	Adult	++	++	++	-	+Inhalt	-	-	-	++
31-06a	Adult	++	+-	+	-	-	-	-	-	++
34-06a	Adult	++	++	+++	-	-	-	-	-	+++
157-06a	Adult	++	++	+++	-	-	-	-	-	+++

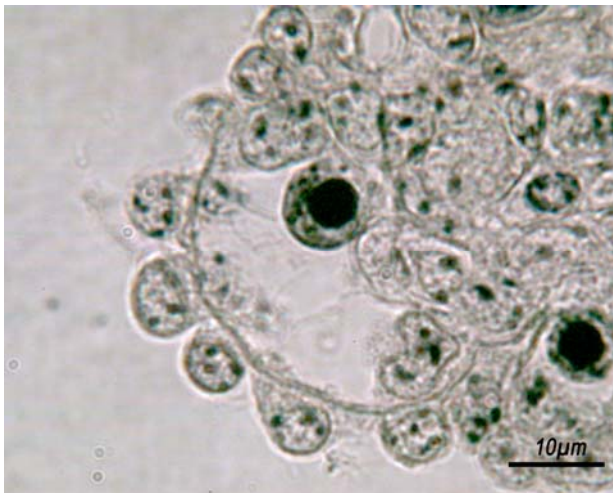
- keine Reaktion, +- zweifelhaft, + positiv, ++ deutlich positiv, +++ stark positiv; Glo- Glomerulum, Bow- Bowman Kapsel, Nephbil- Nephronbildungsstufen, Prox Tub- proximaler Tubulus, Dist Tub- distaler Tubulus, Tub int- Tubulus intermedius, Sr- Sammelrohr, Bgw- Bindegewebe

#### 4.1.6 Heidenhains Eisenhämatoxylin (1892)

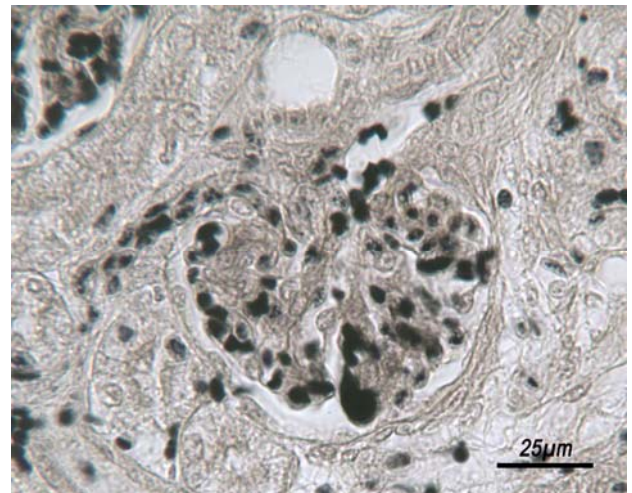
Eisenhämatoxylinfärbungen lassen nicht nur Chromatin, sondern auch andere zytologische Details kontrastreich erscheinen. Meistens nutzt man sie zur Markscheidenfärbung. Der Färbemechanismus ist nicht vollständig geklärt aber es ist sicher, dass Aminogruppen für die Reaktion sehr wichtig sind.

Die Eisenhämatoxylinfärbung wurde in meinen Untersuchungen verwendet, um die Podozytenfortsätze deutlich darzustellen. Besonders im Riesenglomerulum der Urniere lassen sich Details gut erkennen.

Je nach Differenzierung fällt das Zytoplasma hellgrau bis farblos aus. In den Kernen kann man unterschiedliche Chromatinverteilung beobachten. Erythrozyten färben sich sehr stark an, noch kernhaltige Erythrozyten zeigen einen pechschwarzen Kern, schon kernlose sind dunkelgraugrün gefärbt. In den Sammelrohren und teilweise auch in den verschiedenen Tubulusabschnitten fallen gelegentlich Zellen mit dunkelgrauem Zytoplasma neben ihren Nachbarzellen mit farblosem Zytoplasma auf. Durch die sehr unterschiedlich ausfallende Differenzierung ist die Färbung schlecht zu standardisieren.



**Bild 12:** Embryo 1,5 cm SSL, Heidenhain, Podozyten und kernhaltige Erythrozyten im Riesenglomerulum einer Urniere



**Bild 13:** Fetus, 69,3 cm SSL, Heidenhain, Gefäßpol eines Glomerulums, Erythrozyten pechschwarz



#### 4.1.7 Silberimprägnation nach Gomori (1937)

Metallimprägnationen dienen der Darstellung der Gitterfasern (agyrophile, retikuläre Fasern), die in tiefbrauner bis pechschwarzer Farbe erfolgt. Bielschowsky entwickelte 1904 eine Methode zur Färbung von Neurofibrillen im ZNS. Seither wurden zahlreiche Modifikationen, wie auch die hier verwendete, entwickelt. Bei der Methode nach Gomori wird Goldchlorid zum Tönen verwendet. Dadurch wird Silber zu Silberchlorid oxidiert und metallisches Gold schlägt sich im Gewebe nieder, wodurch das Gewebe einen rötlichen Farbton erhält.

In der Urniere findet sich ein ausgeprägtes Netz agyrophiler Fasern zwischen den Tubuli und besonders ausgeprägt im Bereich der Organgrenze zum restlichen Embryo.

Das Fasernetzwerk der Nachniere ist in der Nierenkapsel sehr ausgeprägt, und zieht regelmäßig bündelförmig von der Kapsel ausgehend durch die Nierenrinde in Richtung Mark.

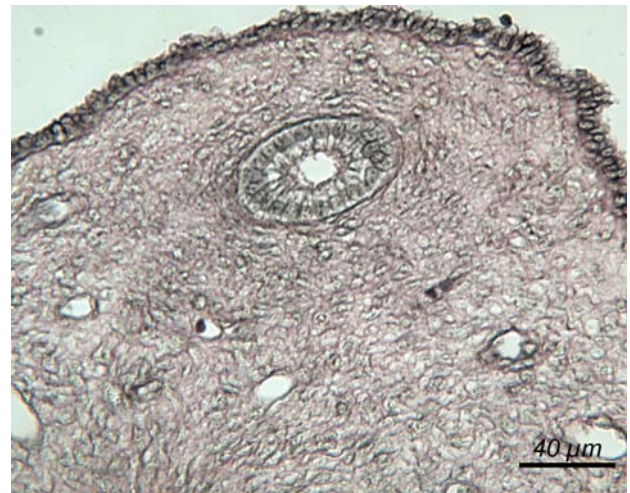
In der Blastemzone, um die sich entwickelnden Nephrone, sind die Fasern sehr filigran ausgeprägt.

Weiterhin ist zu beobachten, dass die Fasern mit zunehmendem Alter der Feten immer dicker werden. An den dickeren Fasern sieht man eine deutliche Rotfärbung, hier ist viel Goldchlorid am Gewebe gebunden.

Bei den adulten Tieren sind die Fasern ebenfalls oft rötlich im Farbton und, im Vergleich zu den Fasern der Feten, viel dicker in der Stärke. Die Fasern verlaufen mehr strang- als netzförmig.



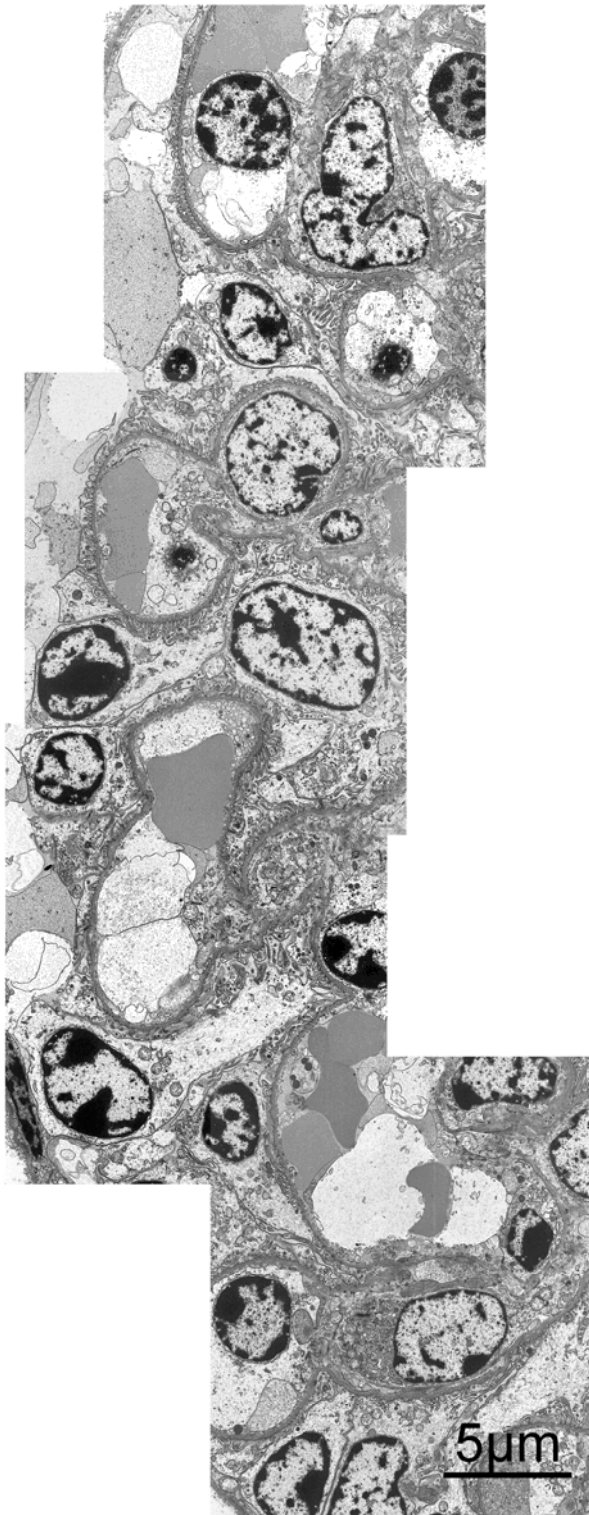
**Bild 14:** Urniere, 3,5 cm SSL, Versilberung, Serienschnitt, Urnierengang und Riesenglomerulum angeschnitten, Darmanschnitt



**Bild 15:** Urniere, 7,0 cm SSL, Versilberung, Wolff Gang

#### 4.2. Elektronenmikroskopie

Die Ultrastruktur des hier untersuchten Gewebes wurde mit einem Elektronenmikroskop Zeiss 902 ausgewertet und fotografiert.

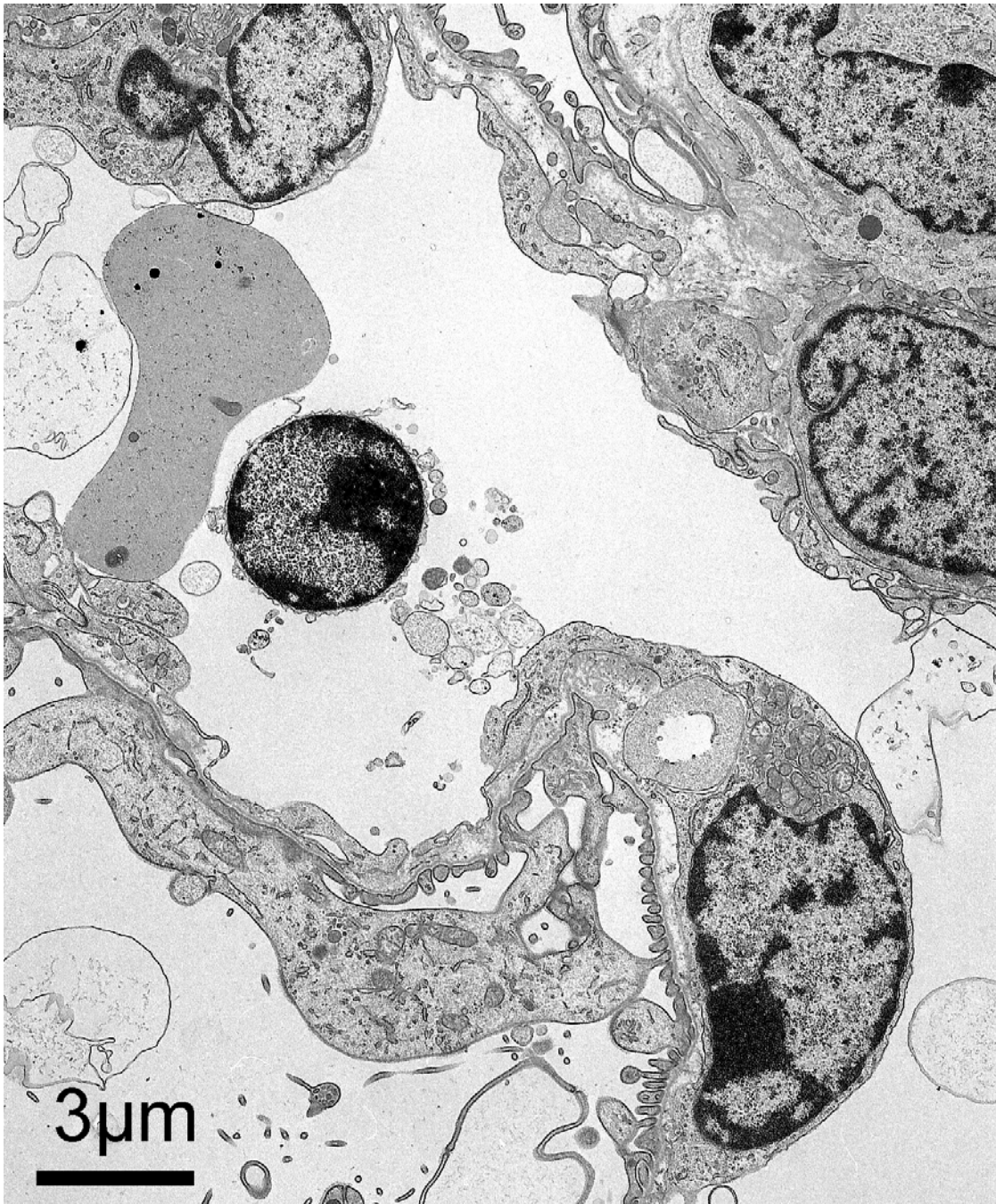


**Bild 16:** 86 cm SSL, Glomerulum, Kapillaranschnitte und Podozyten

#### 4.2.1 Urniere

In der Urniere erkennt man Tubulusabschnitte welche dem jungen proximalen Tubulus und dem distalen Tubulus ähneln, jedoch weisen diese ein vielfach größeres Tubuluslumen auf.

Im Riesenglomerulum ist schon eine Blut- Harn-Schranke ausgebildet, wobei die Gefäßschlingen und der Kapselraum auch bedeutend größer sind als in der jungen Nachniere.



**Bild 17:** 2,8 cm SSL, Urniere, Podozyten mit Fortsätzen, Erythrozyt in einer Gefäßschlinge des Riesenglomerulums



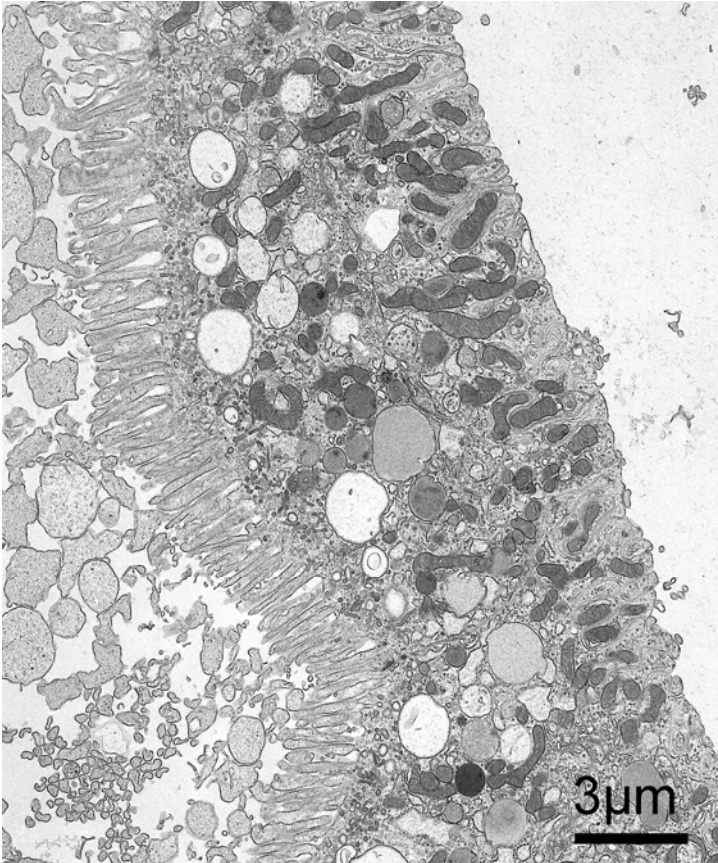


Bild 18: 2,8 cm SSL, Urniere, Tubulusabschnitt mit proximalem Tubulus der Nachniere vergleichbar



Bild 19: 2,8 cm SSL, Urniere, Tubulusabschnitt mit distalem Tubulus der Nachniere vergleichbar



**Bild 20:** 5,7 cm SSL, Blut- Harn- Schranke in einer Urniere

#### 4.2.2 Nachniere: Proximaler Tubulus

Bei einer SSL von 2,8 cm ist der Bürstensaum an der Lumenseite der Zellen noch ein wenig lückenhaft und die einzelnen Mikrovilli sind auch noch deutlich kürzer als bei einer adulten Niere. Mitochondrien kommen in großer Zahl in den Zellen des proximalen Tubulus vor. Die Mitochondrien sind vom Christae Typ. Sie sind um den Zellkern und vermehrt an der basalen Zellseite zu finden.

Mit 5,7 cm SSL liegen die Mitochondrien hauptsächlich an der Basalseite der Zelle. Jetzt treten auch vermehrt große Vakuolen in den Vordergrund, welche sich an der Lumenseite sammeln und in das Tubuluslumen ausgeschleust werden. Das Tubuluslumen ist gefüllt mit großen, vakuolenartigen Gebilden.

Mit 11 cm SSL wirkt die Zytoplasmamenge im Verhältnis zu den Zellorganellen erhöht. Bei den Zellen der jüngeren Stadien ist eher wenig Zytoplasma und viele Zellorganellen zu sehen.

Ab 28 cm SSL sind die Tubulusabschnitte mit jenem von adulten Tieren vergleichbar.

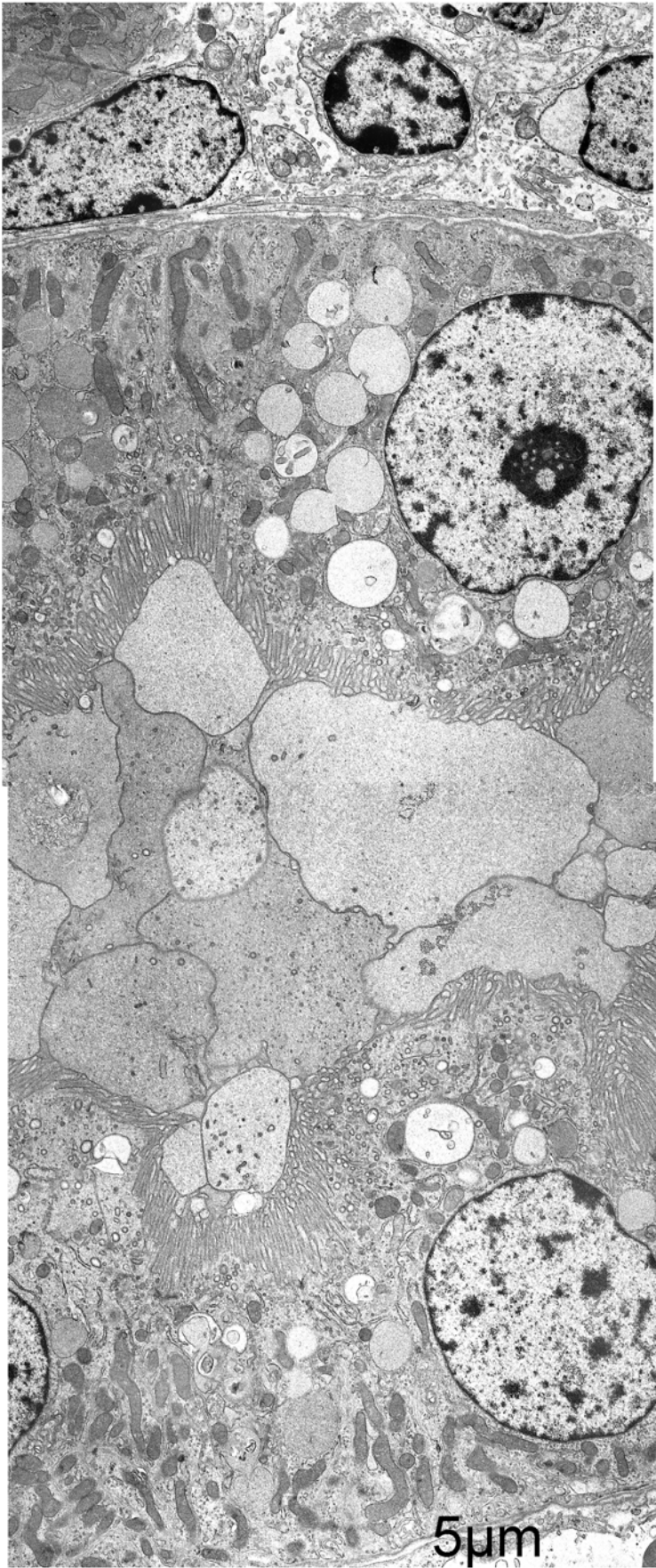


Bild 21: 28 cm SSL, Proximaler Tubulus

#### 4.2.3 Nachniere; Distaler Tubulus

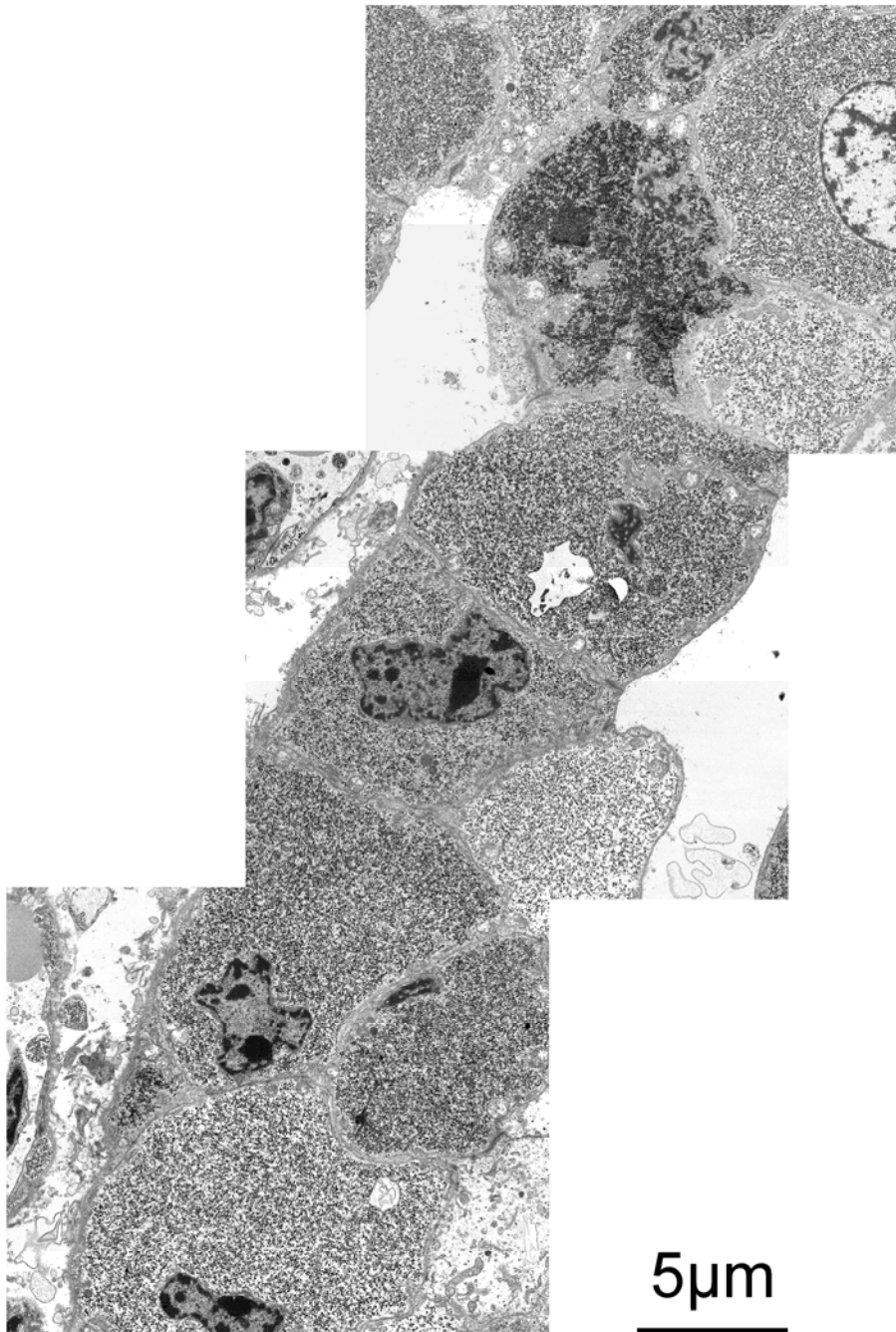
Mit 5,7 cm SSL sind die Zellverbindungen noch nicht sehr deutlich ausgeprägt. Lumenseitig sind die Zellgrenzen eher unregelmäßig. Im distalen Tubulus kommen deutlich weniger Mitochondrien vor, als im proximalen Tubulus dieser Altersstufe. Kleine verteilte Glykogenansammlungen kommen vor. Lumenseitig werden Protrusionen in das Tubuluslumen abgeschnürt.



**Bild 22:** 28.0 cm SSL, Distaler Tubulus

#### 4.2.4 Nachniere; Sammelrohr

Im Sammelrohr kommen schon in jungen Stadien gut ausgeprägte Zilien vor (siehe Bild 24). Glykogen wird in großer Menge im Zytoplasma gespeichert, wobei die größten Ansammlungen von Glykogen zwischen Basallamina und Kern liegen. Bei einer SSL von 86 cm sind die Glykogeneinlagerungen diffus im ganzen Zytoplasma verteilt. Es gibt Zellen, deren Zytoplasma eher hell und Zellen, deren Zytoplasma eher dunkel erscheint. Bei 28 cm SSL scheint es, dass Zilien hier recht häufig vorkommen.



**Bild 23:** 86 cm SSL, Große Ansammlungen von Glykogen im Zytoplasma der Sammelrohrzellen



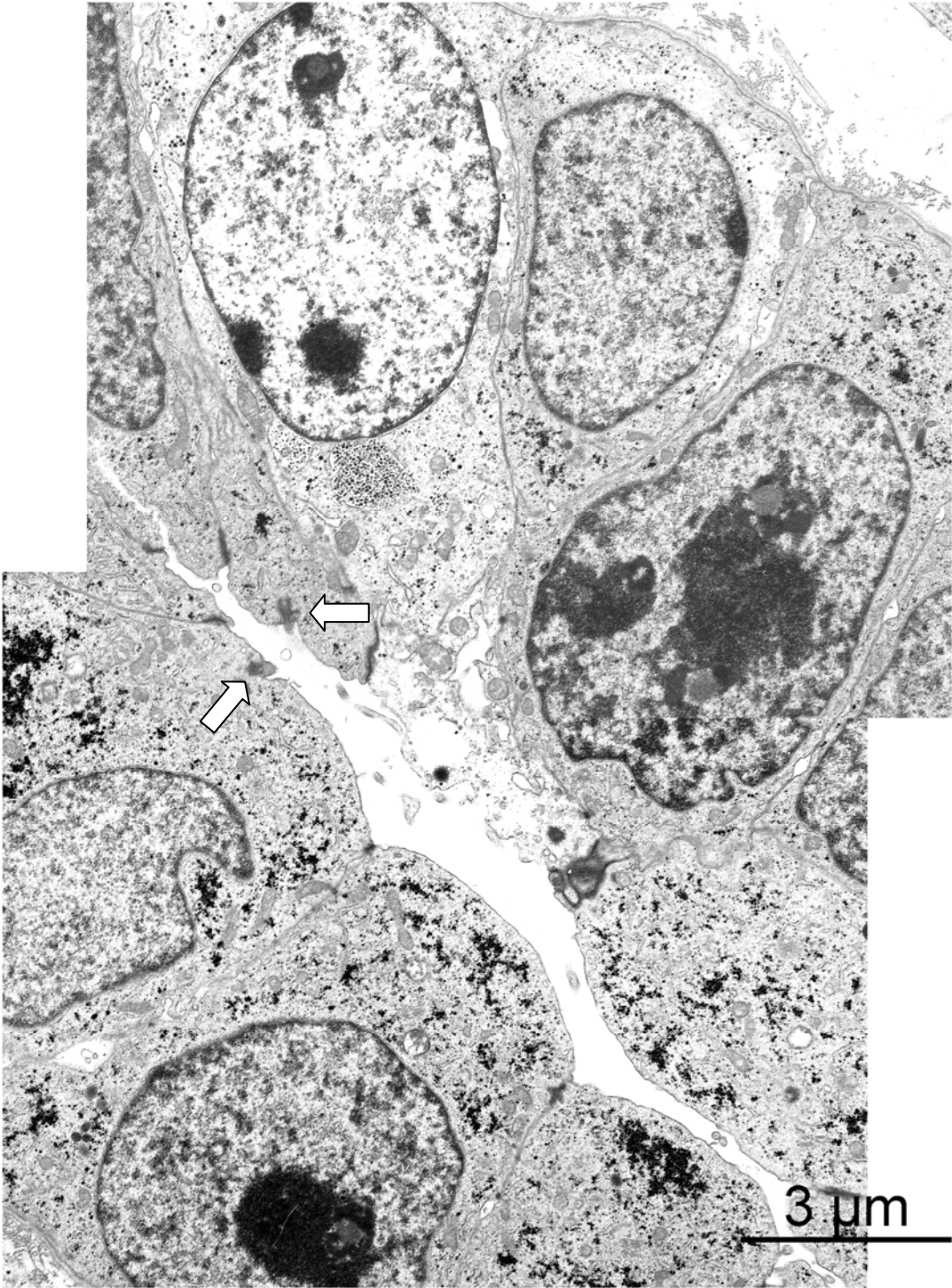


Bild 24: 28 cm SSL, Zilie im Sammelrohlumen (Pfeile)

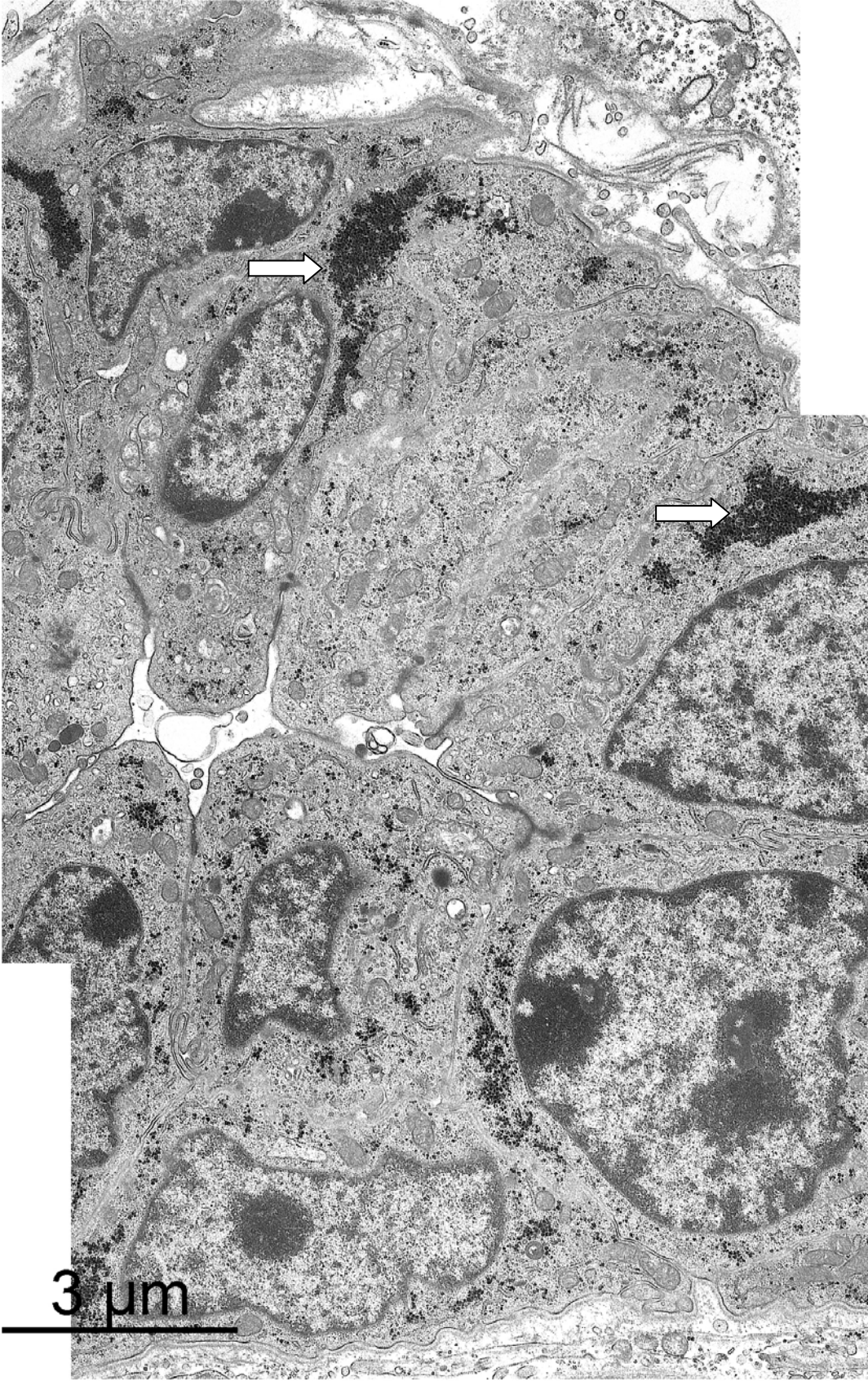


Bild 25: 28 cm SSL, Konzentrierte Glykogenansammlungen (siehe Pfeile) im Sammelrohr

#### 4.2.5 Nachniere Glomerulum

Schon bei sehr jungen Stadien ist eine Blut-Harn-Schranke ausgebildet.

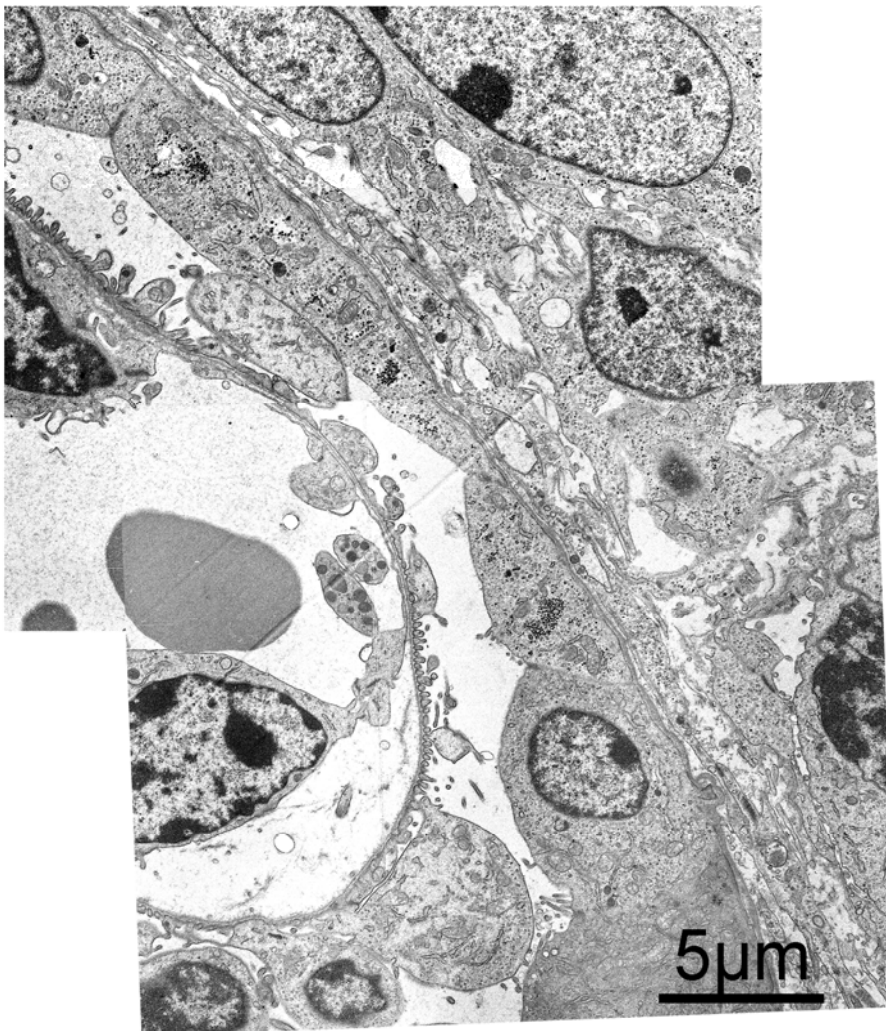
Die Pseudopodien der Podozyten sind bei allen Stadien gut entwickelt.

Bei den jungen Stadien findet man noch zahlreiche kernhaltige Erythrozyten, in einigen kann man einen Spaltraum zwischen Zytoplasma und Kernmembran erkennen.

In Harnpolnähe geht das Epithel der Bowmankapsel in das des proximalen Tubulus über, wobei die Mikrovilli eher kurz erscheinen.

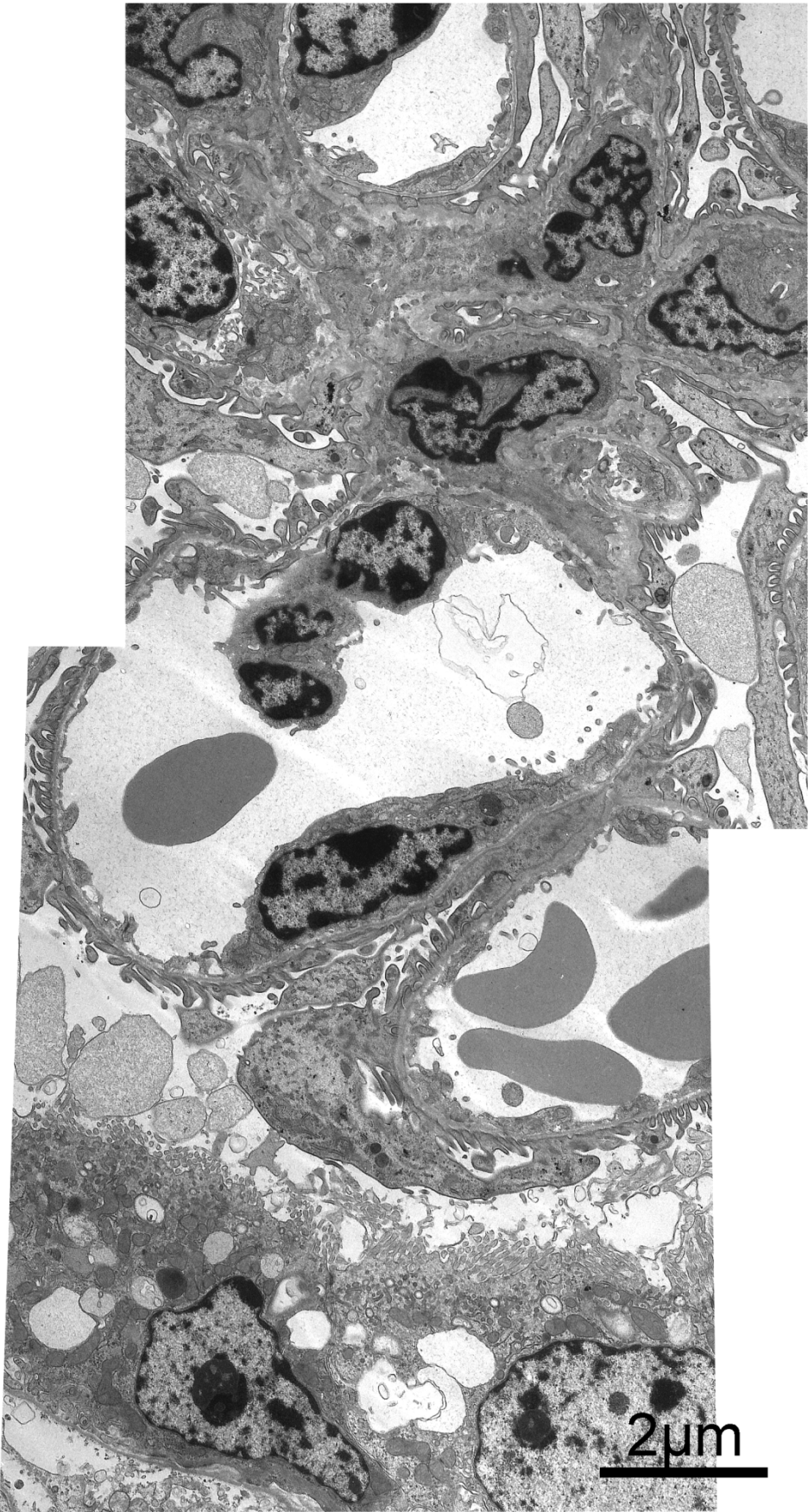
#### 4.2.6 Nachniere; Macula densa

Das Auffinden des juxtaglomerulären Apparates stellt sich als schwierig heraus. Es ist gelungen bei einer SSL von 5,7 cm die Macula densa zu finden.

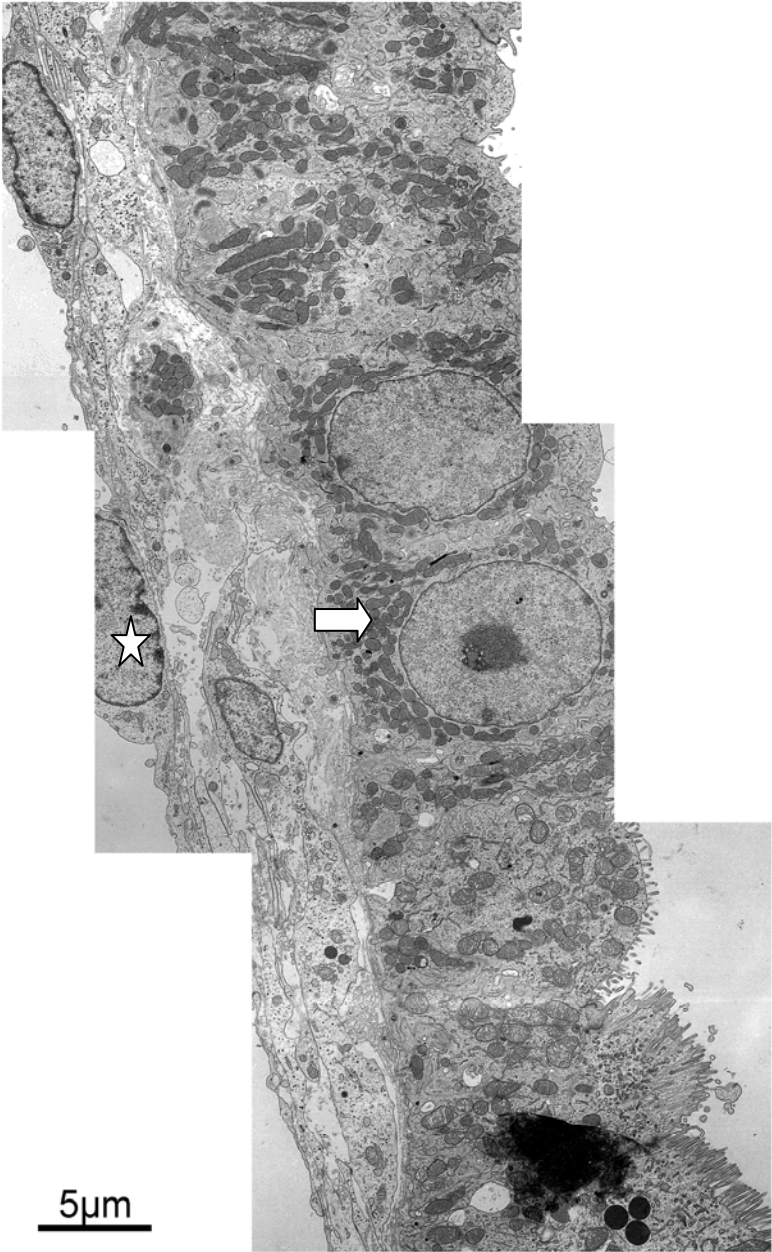


**Bild 26:** 11 cm SSL, Glomerulum mit Podozyten und Bowmankapsel





**Bild 27:** 28 cm SSL, Glomerulum: Epithel der Bowman- Kapsel, proximaler Tubulus



**Bild 28:** 5,7 cm SSL, Ausschnitt der Macula densa, hoher Anteil an Mitochondrien (Pfeil), angeschnittene Polkissenzelle (Stern)

### 4.3. Immunhistochemie

#### 4.3.1 Immunzytochemischer Nachweis von Östrogenrezeptor (OER)

Der Östrogenrezeptor kann in den Entwicklungsstadien der Niere nicht dargestellt werden. Das gleiche gilt für die Urniere. Bei adulten Tieren zeigt sich eine minimale Reaktion an den Zellen des proximalen Tubulus.

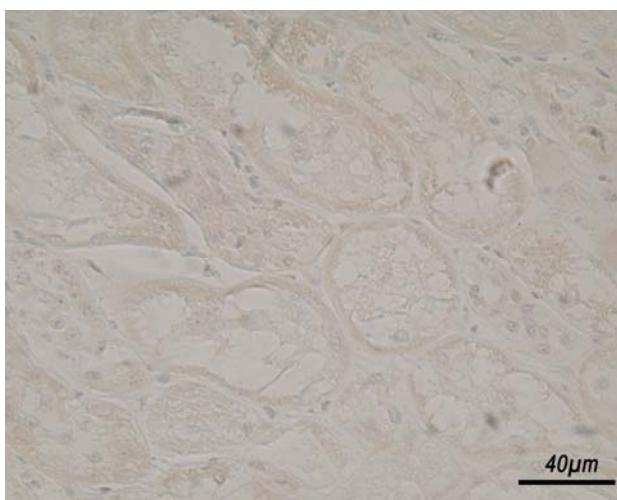
Tab. 12 Östrogenrezeptor Urniere

Urniere	Östrogenrezeptor							
	SSL cm	Rglo	Bow	Tub. gl	Tub. unt	Bgw	Obegr	Wolf
4-06	1,5	-	-	-	-	-	-	-
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-	-
1-06	5,8	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 13 Östrogenrezeptor Nachniere

Nachniere	Östrogenrezeptor									
	SSL cm	Glo	Bow	bil Neph	Prox	Dist	Int	Sr	Kapsel	Bgw
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27-06	9,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-06	11,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71-06	18,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-06	28,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5-06	42,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18-06	51,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20-06	86,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26-06	Adult	-	-	-	+--	-	-	-	-	-
34-06	Adult	-	-	-	+--	-	-	-	-	-
Neg 1-06	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**ZG** Zellgrenze; **HP** Harnpol; **Is** Lumenseitig; **Gef** Gefäße; **eZ** einzelne Zellen; **BI** Basallamina;  
**Rglo** Riesenglomerulum; **Bow** Bowmankapsel; **Tub gl** Tubuli mit gleichmäßigem Epithel;  
**Tub unt.** Tubuli mit unregelmäßigem Epithel; **Bgw** Bindegewebe; **Obegr** Organbegrenzung;  
**wolf** Urnierengang; **Glo** Glomerulum; **bil Neph** unreife Nephronbildungsstufen; **Prox** proximaler Tubulus;  
**Dist** distaler Tubulus; **Int** Tubulus intermedius; **Sr** Sammelrohr  
 - negativ; +- zweifelhaft; + positiv; ++ deutlich positiv; +++ stark positiv



**Bild 29:** Adulter Bulle, Östrogenrezeptornachweis in der Niere, minimale positive Reaktion am proximalen Tubulus

## 4.3.2 Immunzytochemischer Nachweis von Progesteronrezeptor

Immunzytochemisch lässt sich Progesteronrezeptor in der Urniere selten nachweisen. In der Nachniere findet man sie in den sich entwickelnden Nephronen, lumenseitig im distalen Tubulus und der Macula densa, sowie in Gefäßwänden. Bei adulten Tieren gibt es vereinzelt positive Zellkerne im proximalen Tubulus und im Sammelrohr.

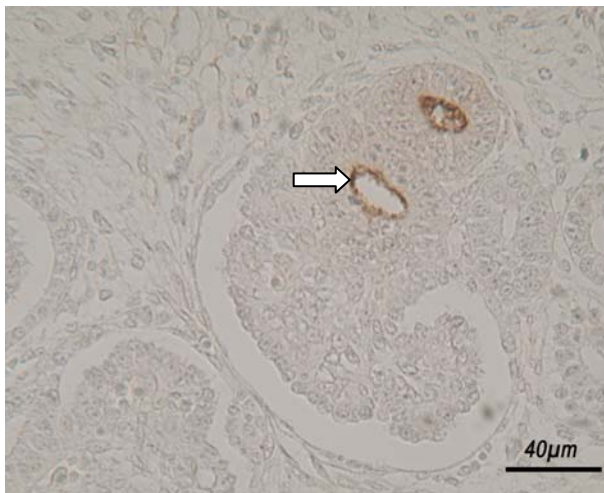
Tab. 14 Progesteronrezeptor in der Urniere

Urniere	Probe	SSL cm	Progesteronrezeptor								
			Rglo	Bow	Tub. gl	Tub. unt	Bgw	Obegr	wolf	sonstiges	
	4-06	1,5	-	-	+ls	-	-	-	-	-	
	3-06	3,5	-	-	-	-	+-	-	-	-	
	1-06	7,0	-	-	-	-	-	-	-	-	

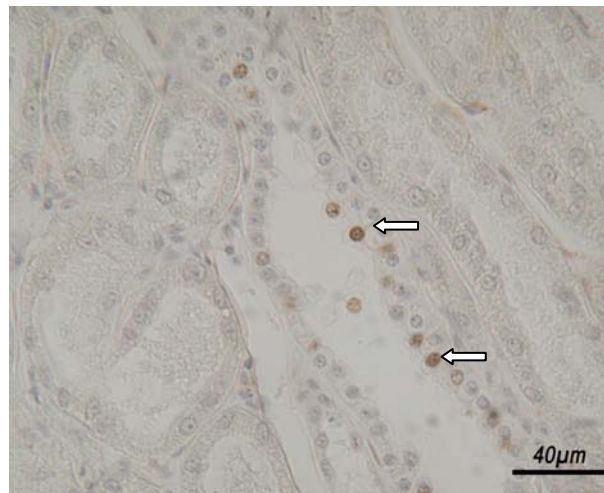
Tab. 15 Progesteronrezeptor in der Nachniere

Nachniere	Probe	SSL cm	Progesteronrezeptor									
			Glo	Bow	bil Neph	Prox	Dist	Int	Sr	Kapsel	Bg w s	sonstige s
	3-06	3,5	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
	27-06	9,0	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
	6-06	11,0	-	-	+	-	tw+ls	-	-	-	-	Gef+-
	71-06	18,0	-	-	+-	-	tw+ls	-	-	-	-	
	2-06	28,0	-	-	+	-	tw+++ls	+ls	-	+-	-	
	5-06	42,0	-	-	+Tub	-	tw+++ls	-	-	-	-	Md+ Gef+
	18-06	51,5	-	-	-	-	tw+ls	-	-	-	-	Gef+
	20-06	86,0	-	-	+-	-	tw+ls	-	-	-	-	Gef+
	26-06	Adult	-	-	-	vereinz +kern	-	-	vereinz +kern	-	-	Gef+-
	34-06	Adult	-	-	-	-	-	-	vereinz +kern	-	-	Gef+ Md+
	Neg 1-06	7,0	alles -									

**ZG** Zellgrenze; **HP** Harnpol; **ls** Lumenseitig; **Gef** Gefäße; **eZ** einzelne Zellen; **Bl** Basallamina;  
**Rglo** Riesenglomerulum; **Bow** Bowmankapsel; **Tub gl** Tubuli mit gleichmäßigem Epithel;  
**Tub unt.** Tubuli mit unregelmäßigem Epithel; **Bgw** Bindegewebe; **Obegr** Organbegrenzung;  
**wolf** Urmierengang; **Glo** Glomerulum; **bil Neph** unreife Nephronbildungsstufen; **Prox** proximaler Tubulus;  
**Dist** distaler Tubulus; **Int** Tubulus intermedius; **Sr** Sammelrohr  
 - negativ; +- zweifelhaft; + positiv; ++ deutlich positiv; +++ stark positiv



**Bild 30:** 3,5 cm SSL, Progesteronrezeptor, im distalen Tubulus im Bereich der Macula densa eines jungen Glomerulums (Pfeil)



**Bild 31:** Adulte Kuh, Progesteronrezeptor, in vereinzelt Zellkernen im Sammelrohr (Pfeile)

## 4.3.3 Immunzytochemischer Nachweis von Laminin

Laminin kommt in der Urniere häufig in der Basallamina der Tubuli und Gefäße vor, aber auch im Bindegewebe und den Glomeruli. In der Nachniere lässt sich in den Tubuli und unreifen Nephronen Laminin nachweisen. Bei größeren Feten wird auch die Basallamina der Sammelrohre gefärbt.

Tab. 16 Laminin Urniere

Urniere	Probe	SSL cm	Laminin						
			Rglo	Bow	Tub. gl	Tub. unt	Bgw	Obegr	Wolff
	4-06	1,5	+	+BI	++BI	++BI	+/-	+/-	-
	3-06	3,5	+	+	++BI	++BI	+/-	-	-
	1-06	7,0	-	-	-	-	+/-	+/-	-

Tab. 17 Laminin Nachniere

Nachniere	Probe	SSL cm	Laminin								
			Glo	Bow	bil Neph	Prox	Dist	Int	Sr	Kapsel	Bgw
	3-06	3,5	+/-	-	+/-	+BI	+BI	-	-	+/-	-
	27-06	9,0	-	-	+/-	+BI	+BI	-	-	+	-
	6-06	11,0	-	+/-	+/-	+BI	+BI	-	-	+/-	+/-
	71-06	18,0	+/-	+/-	+	+BI	+BI	-	+BI	+/-	+/-
	2-06	28,0	-	+/-	+	+BI	+BI	-	+BI	+/-	-
	5-06	42,0	-	+/-	+	+BI	+BI	-	-	fehlt	-
	18-06	51,5	-	-	-	+BI	+BI	+BI	+BI	fehlt	-
	20-06	86,0	-	-	+/-	+BI	+BI	-	-	+	-
	26-06	Adult	-	-	-	+BI	+BI	-	+BI	fehlt	-
	34-06	Adult	-	-	-	+BI	+BI	-	+BI	+/-	-
	Neg 1-06	7,0	--	-	-	-	-	-	-	-	-

**ZG** Zellgrenze; **HP** Harnpol; **Is** Lumenseitig; **Gef** Gefäße; **eZ** einzelne Zellen; **BI** Basallamina; **Rglo** Riesenglomerulum; **Bow** Bowmankapsel; **Tub gl** Tubuli mit gleichmäßigem Epithel; **Tub unt.** Tubuli mit unregelmäßigem Epithel; **Bgw** Bindegewebe; **Obegr** Organbegrenzung; **Wolff** Urnierengang; **Glo** Glomerulum; **bil Neph** unreife Nephronbildungsstufen; **Prox** proximaler Tubulus; **Dist** distaler Tubulus; **Int** Tubulus intermedius; **Sr** Sammelrohr  
 - negativ; +/- zweifelhaft; + positiv; ++ deutlich positiv; +++ stark positiv

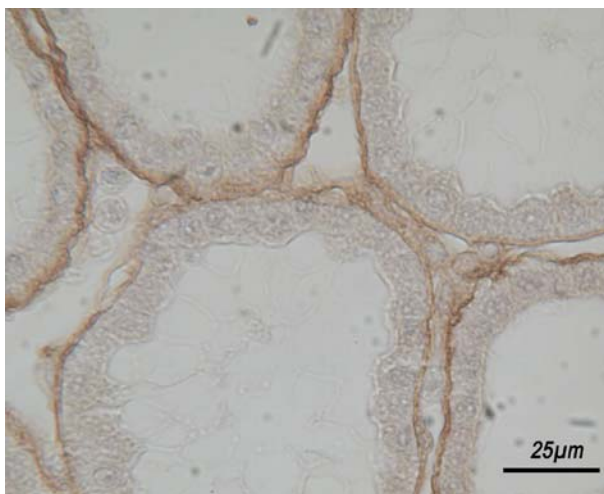


Bild 32: Urniere, 1,5 cm SSL, Laminin, Basallamina der Tubuli und Kapillarwände

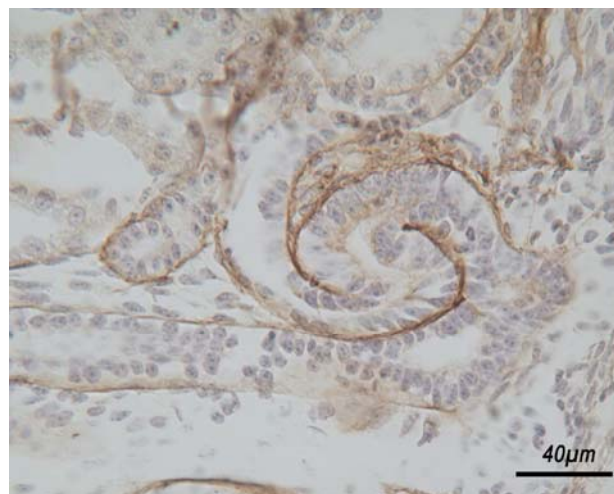


Bild 33: Niere, 18 cm SSL, Laminin, Nephronbildungsstadium mit jungem Sammelrohr



## 4.3.4 Immunzytochemischer Nachweis von Cytokeratin

In der Urniere findet sich Cytokeratin im Bereich einer zwei- bis mehrschichtigen Zellzone an der Grenze zu anderen embryonalen Organen, welche stellenweise nahtlos in das benachbarte Gewebe übergeht, andererseits vor allem an lateralen Bereichen des Embryos durch einen kleinen Spaltraum von anderen Organen abgegrenzt wird. Diese Zellzone wird in den Tabellen kurz als Organbegrenzung bezeichnet. Auch in den Tubuli mit gleichmäßigem Epithel findet sich viel Cytokeratin. In der Nachniere gibt es positive Reaktionen in den Nephronbildungsstufen, im distalen Tubulus und bei größeren Feten in den Sammelrohren.

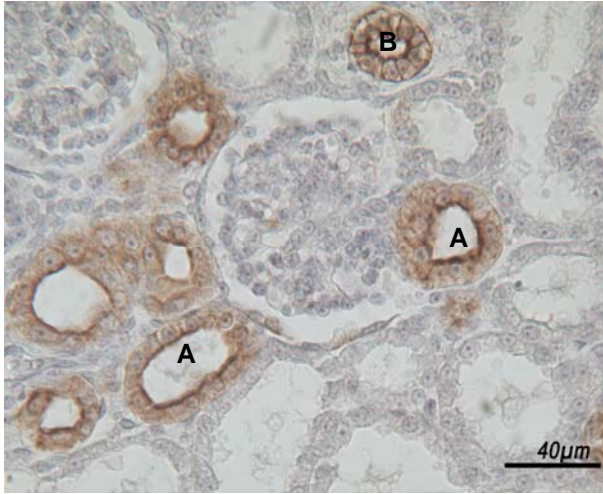
Tab. 18 Cytokeratin Urniere

Urniere	Probe	SSL cm	Cytokeratin						
			Rglo	Bow	Tub. gl	Tub. unt	Bgw	Obegr	wolf
	4-06	1,5	+eZ	+	++	-	-	++	-
	3-06	3,5	-	+-	++	-	-	++	+
	1-06	7,0	-	-	++	-	-	++	+

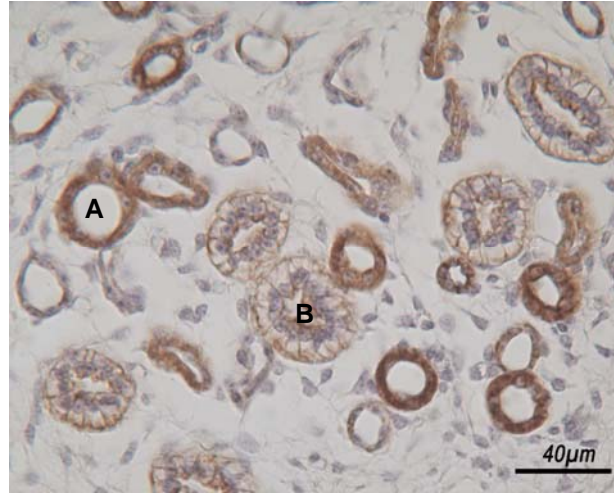
Tab. 19 Cytokeratin Nachniere

Nachniere	Probe	SSL cm	Cytokeratin								
			Glo	Bow	bil Neph	Prox	Dist	Int	Sr	Kapsel	Bgw
	3-06	3,5	+-	+-	+	-	-	-	-	-	-
	27-06	9,0	-	-	+-	-	++	-	-	-	-
	6-06	11,0	-	+-	+-	-	+++	-	+	+-	-
	71-06	18,0	-	+-	+-	-	++	+-	+	-	-
	2-06	28,0	-	-	+	-	++	+-	++	+	-
	5-06	42,0	-	-	+-	-	+++	-	++	-	-
	18-06	51,5	-	-	-	-	++	+	+-	-	-
	20-06	86,0	-	-	+-	-	++	+	+-	-	-
	26-06	Adult	-	-	-	-	++	++	-	fehlt	-
	34-06	Adult	-	-	-	-	++	-	-	fehlt	-
	Neg 1-06	7,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**ZG** Zellgrenze; **HP** Harnpol; **Is** Lumenseitig; **Gef** Gefäße; **eZ** einzelne Zellen; **BI** Basallamina;  
**Rglo** Riesenglomerulum; **Bow** Bowmankapsel; **Tub gl** Tubuli mit gleichmäßigem Epithel;  
**Tub unt.** Tubuli mit unregelmäßigem Epithel; **Bgw** Bindegewebe; **Obegr** Organbegrenzung;  
**wolf** Urmierengang; **Glo** Glomerulum; **bil Neph** unreife Nephronbildungsstufen; **Prox** proximaler Tubulus;  
**Dist** distaler Tubulus; **Int** Tubulus intermedius; **Sr** Sammelrohr  
 - negativ; +- zweifelhaft; + positiv; ++ deutlich positiv; +++ stark positiv



**Bild 34:** 11,0 cm SSL, Cytokeratin, distaler Tubulus (A) und kleines Sammelrohr (B) positiv



**Bild 35:** 18,0 cm SSL, Cytokeratin, deutlich positive distale Tubuli (A), Sammelrohre (B) im Bereich der Zellgrenzen positiv, Tubulus intermedius leicht positiv



## 4.3.5 Vimentin

Vimentin findet sich in Gefäßwänden der Ur- und Nachniere. Im Riesenglomerulum findet man in der viszeralen Lamelle der Bowman Kapsel Vimentin. Auch im Nachnierenglomerulum, sowie in Nephronbildungsstufen, hier deutlich an der Basalmembran der Zellen der viszeralen Lamelle der Bowman Kapsel zu erkennen, findet sich Vimentin.

Tab. 20 Vimentin Urniere

Urniere	Vimentin									
	Probe	SSL cm	Rglo	Bow	Tub. gl	Tub. unt	Bgw	Obegr	wolf	sonstiges
4-06	1,5	+	+-HP	-	+ZG	-	-	-	-	Gef +
3-06	3,5	+	-	-	-	+-	-	-	-	Gef +
1-06	7,0	+	-	-	-	+-	-	-	-	Gef +

Tab. 21 Vimentin Nachniere

Nachniere	Vimentin											
	Probe	SSL cm	Glo	Bow	bil Neph	Prox	Dist	Int	Sr	Kapsel	Bg w	sonstige s
3-06	3,5	+	-	+-	-	-	-	-	-	+	+-	Gef+
27-06	9,0	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	-
6-06	11,0	+-	+-	+-	-	-	-	-	-	+-	-	Gef+
71-06	18,0	+	-	+-	-	-	-	-	-	+-	+-	Gef+
2-06	28,0	+	-	+	-	-	-	-	-	+-	-	Gef+
5-06	42,0	+	-	+-	-	-	-	-	-	fehlt	+-	Gef+
18-06	51,5	-	-	-	-	-	-	-	-	fehlt	-	Gef++
20-06	86,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26-06	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	fehlt	-	Gef+-
34-06	Adult	+-	-	-	-	-	-	-	-	fehlt	-	Gef ++
Neg 2-06	28,0	alles-										

**ZG** Zellgrenze; **HP** Harmpol; **Is** Lumenseitig; **Gef** Gefäße; **eZ** einzelne Zellen; **BI** Basallamina; **Rglo** Riesenglomerulum; **Bow** Bowmankapsel; **Tub gl** Tubuli mit gleichmäßigem Epithel; **Tub unt.** Tubuli mit unregelmäßigem Epithel; **Bgw** Bindegewebe; **Obegr** Organbegrenzung; **wolf** Urnierengang; **Glo** Glomerulum; **bil Neph** unreife Nephronbildungsstufen; **Prox** proximaler Tubulus; **Dist** distaler Tubulus; **Int** Tubulus intermedius; **Sr** Sammelrohr  
 - negativ; +- zweifelhaft; + positiv; ++ deutlich positiv; +++ stark positiv

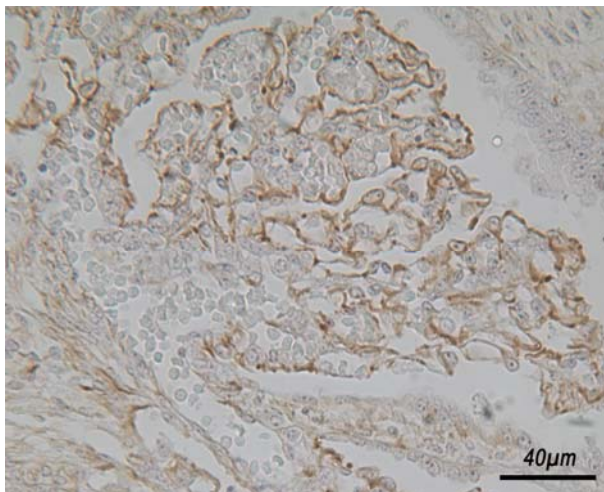


Bild 36: Urniere, 7,0 cm SSL, Vimentin, positiv im Riesenglomerulum viszerales Blatt der Bowman Kapsel

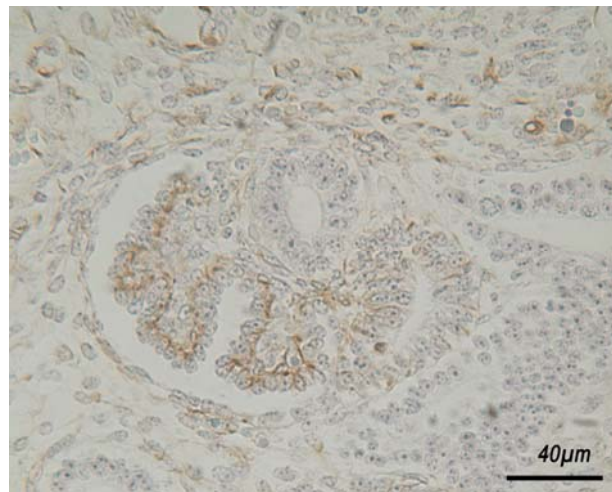


Bild 37: Nachniere, 3,5 cm SSL, Vimentin, positiv im Basalbereich der noch unreifen Podozyten des Glomerulums

#### 4.4. Lektine

Das glykohistochemische Profil der embryonalen und fetalen bovinen Niere wurde mit 14 FITC-gekoppelten Lektinen untersucht. Die Auswertung erfolgte an dem Mikroskop Leitz Dialux 20 und die Fotos wurden mit der Kamera ProgRes CF cool Jenoptik, Germany, Jena, und der zugehörigen Software ProgRes Capture Pro 2.5 erstellt.

##### 4.4.1 Concanavalin A (ConA)

ConA bindet in der Urniere am deutlichsten an Tubulusabschnitte mit unregelmäßigem Epithel. Diese Tubulusabschnitte ähneln morphologisch dem proximalen Tubulus der Nachniere. Auch der Urnierengang bindet ConA-FITC.

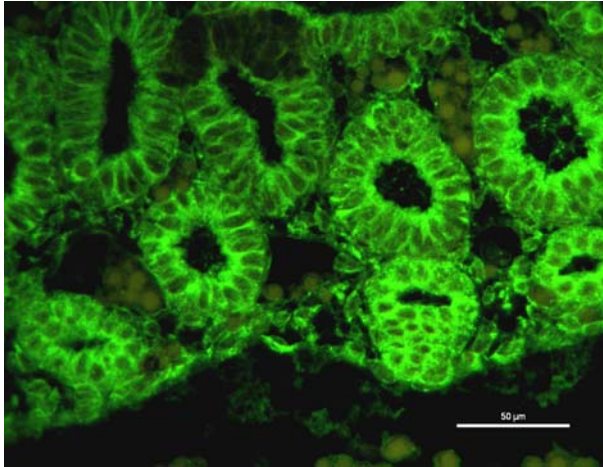
In der Nachniere wird ConA bei kleinen Embryos und Feten an die proximalen und auch die distalen Tubulusabschnitte gebunden. In der Blastemzone werden die sich entwickelnden Nephrone deutlich angefärbt.

Tab. 22 Auswertung ConA an Ur- und Nachniere

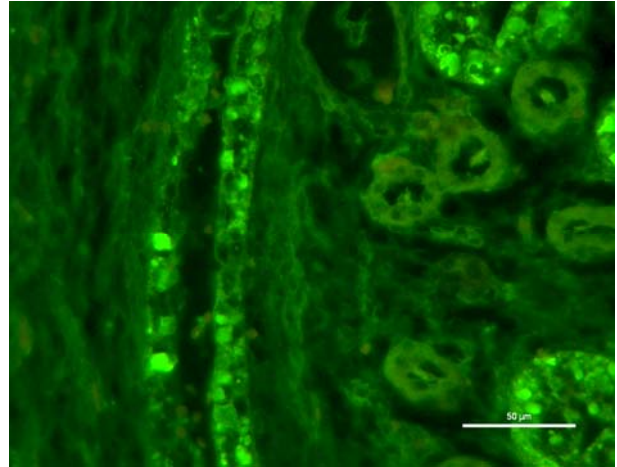
<b>ConA</b>										
<b>Urniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Tub.gl. Epi.</b>	<b>Tub.ur. Epi.</b>	<b>Organbegr Zellen</b>	<b>UNG</b>			
4-06	1,5	+ -	+	++	+++	-	+ ls			
3-06	3,5	-	-	-	++	+++	++			
21-06	5,0	-	+	+	++	+++	-			
1-06	7,0	+	-	++	+ls	-	+ls			
<b>Nachniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Prox.</b>	<b>Dist.</b>	<b>Sr</b>	<b>Bgw.</b>	<b>NB</b>	<b>Kapsel</b>	<b>Tub int.</b>
3-06	3,5	++	-	-	-	-	-	++	-	-
27-06	9,0	+	-	++	+++	-	++	+++	+++	-
6-06	11,0	-	-	+ls	++	-	-	++	-	-
71-06	18,0	+	+	++	++	+++	+++	+++ tw-	-	-
2-06	28,0	+ -	-	-	-	++	-	+ -	++	++
5-06	42,0	-	+	+ls	+	++	-	++	+++	+
18-06	51,5	+	-	+ls	++	++	-	-	-	++
20-06	86,0	+	-	+	++	++	-	++	-	++
26-06	Adult	+ -	-	+	++	++	-	/	-	-
34-06	Adult	+	+ -	++	+ -	+	-	/	-	-
Neg	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-keine Bindung, + - zweifelhaft, + positiv, ++ deutlich positiv, +++ stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. proximaler Tubulus, Dist. distaler Tubulus, Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius



**Bild 38:** Urniere, 1,5 cm SSL, ConA wird von Zellen der Tubuli mit gleichmäßigem Epithel gebunden. . Starke Eigenfluoreszenz der Erythrozyten , Balken = 50µm



**Bild 39:** Nachniere, 18,0 cm SSL, ConA teilweise stark positiv in Zellen des Sammelrohres, einige Zellen nur leicht positiv oder negativ Balken= 50µm

## 4.4.2 Dolichos biflorus Agglutinin (DBA)

Durch DBA werden die Tubuli der Urniere angefärbt. Die deutlichsten Reaktionen in der Urniere finden sich in den Tubuli mit gleichmäßigem Epithel. Diese ähneln morphologisch den distalen Tubuli der Nachniere. Bei kleineren Feten wurden Tubulusabschnitte, zumeist der distale Tubulus und die Kapsel angefärbt, bei größeren Feten und adulten Tieren zeigte sich eine starke Bindung von DBA im Bindegewebe.

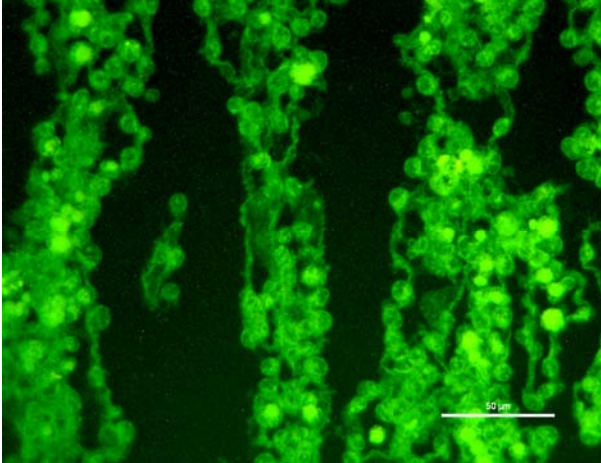
Tab. 23 Auswertung DBA an Ur- und Nachniere

<b>DBA</b>										
<b>Urniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Tub.gl. Epi.</b>	<b>Tub.ur. Epi.</b>	<b>Organbegr Zellen</b>	<b>UNG</b>	<b>Bgw</b>		
4-06	1,5	+	-	+++	+/-	+	-	-		
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-	-		
21-06	5,0	-	-	++	+/-	++	-	-		
1-06	7,0	-	-	++	-	++	++	++		
<b>Nachniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Prox. Tub.</b>	<b>Dist. Tub.</b>	<b>Sr</b>	<b>Bgw.</b>	<b>NB</b>	<b>Kapsel</b>	<b>Tub. int.</b>
3-06	3,5	-	-	-	-	+/-	+	-	-	-
27-06	9,0	-	-	++	-	-	+/-	+/-	++	-
6-06	11,0	-	-	-	+/-	-	-	-	+/-	-
71-06	18,0	-	-	-	++	-	-	-	++	-
2-06	28,0	-	-	-	+/-	-	++	-	+++	++
5-06	42,0	-	-	-	-	+	-	-	++	-
18-06	51,5	-	-	-	-	+	++	-	-	++
20-06	86,0	-	-	-	-	-	++	-	++	-
26-06 Bulle	Adult	-	-	-	-	-	+++	/	-	-
34-06 Kuh	Adult	-	+	-	-	-	+++	/	-	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

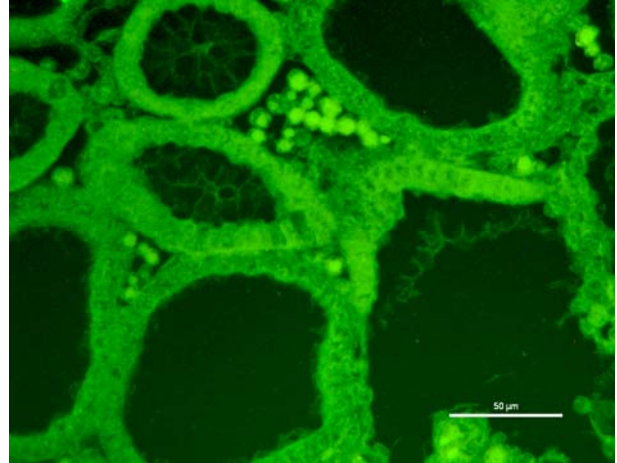
-keine Bindung, +/- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius



**Bild 40:** 1,5 cm SSL, DBA, leicht positive Reaktion im Riesenglomerulum, bei keinem älteren Stadium zeigte sich hier eine Reaktion, stark positive Zellen sind Erythrozyten, Balken= 50  $\mu\text{m}$



**Bild 41:** 1,5 cm SSL, DBA, leicht positive Reaktion der Tubuli der Urniere, luminal an einem schmalen Streifen stärker positiv, Balken= 50  $\mu\text{m}$



### 4.4.3 Griffonia/ bandeiraea simplicifolia Lektin I

GSL-I zeigt sehr hohe Affinität zu Gefäßendothelien, bei allen Entwicklungsstadien. In der Ur- und Nachniere reagieren die Glomerulumkapillaren und auch alle anderen Kapillaren sowie das Endothel größerer Arterien deutlich positiv nach Inkubation mit GSL-I.

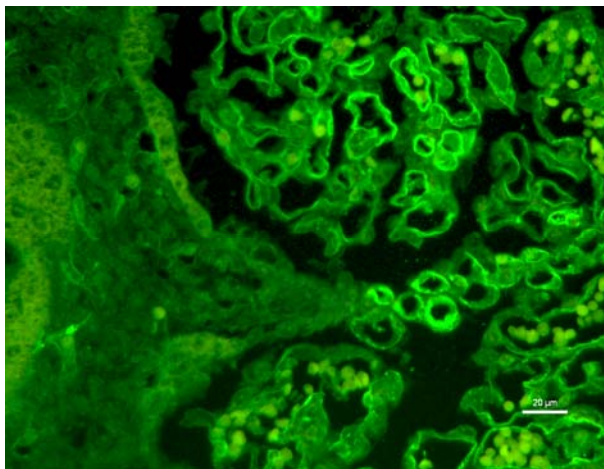
**Tab. 24** Auswertung GSL-I an Ur- und Nachniere

GSL-I										
Urniere	SSL cm	Glo	Bow	Tub.gl. Epi.	Tub.ur. Epi.	Organbegr Zellen	UNG			
4-06	1,5	+++	-	-	-	-	-			
3-06	3,5	+++	-	-	-	-	-			
21-06	5,0	+++	-	-	-	-	-			
1-06	7,0	+++	-	-	-	-	+-			
Nachniere	SSL cm	Glo	Bow	Prox. Tub.	Dist. Tub.	Sr	Bgw.	NB	Kapsel	Tub int.
3-06	3,5	+++	-	-	-	-	-	+	-	-
27-06	9,0	+++	-	-	-	-	-	-	++	-
6-06	11,0	++	-	-	-	-	-	-	-	-
71-06	18,0	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
2-06	28,0	+++	-	-	-	-	-	-	+-	-
5-06	42,0	+++	-	-	-	+-	-	-	+-	-
18-06	51,5	+++	-	+-	+++	-	-	-	-	-
20-06	86,0	+++	-	-	+-	-	-	-	-	-
26-06 Bulle	Adult	+++	-	-	-	-	-	/	-	-
34-06 Kuh	Adult	+++	-	+-	-	-	-	/	fehlt	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

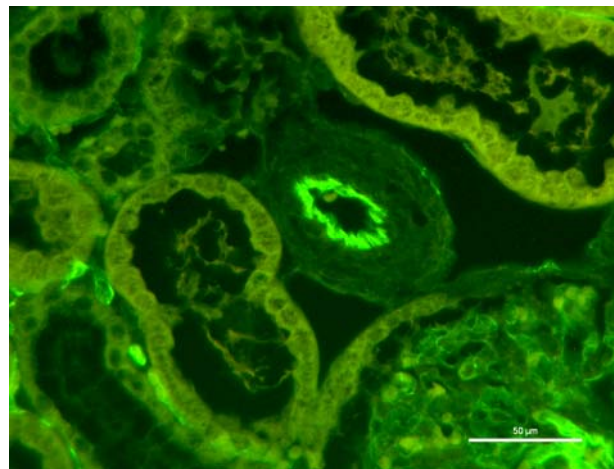
-keine Bindung, +- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius



**Bild 42:** Urniere, 7,0 cm SSL, GSL-I, stark positives Riesenglomerulum, Balken= 20 µm



**Bild 43:** Nachniere, 9,0 cm SSL, GSL-I, positives Glomerulum, stark positives Endothel einer Arterie, Balken= 50 µm

## 4.4.4 Lens culinaris Agglutinin (LCA= LcH)

Die Tubuli mit unregelmäßigem Epithel sind die in der Urniere am stärksten gefärbten Strukturen. Diese sind morphologisch mit dem proximalen Tubulus der Nachniere vergleichbar.

Bei LCA gibt es stark positive Reaktionen der Bowmankapsel von Ur- und Nachniere und zwar vornehmlich in der Umgebung des Harnpoles, wobei dort in den noch jungen Glomerula das Epithel des proximalen Tubulus relativ weit in die Bowmankapsel hineinreicht. Bei adulten Tieren ist die Bowman Kapsel negativ. Bindegewebe und Kapsel, sowie der proximale Tubulus sind bis ins Erwachsenenalter positiv.

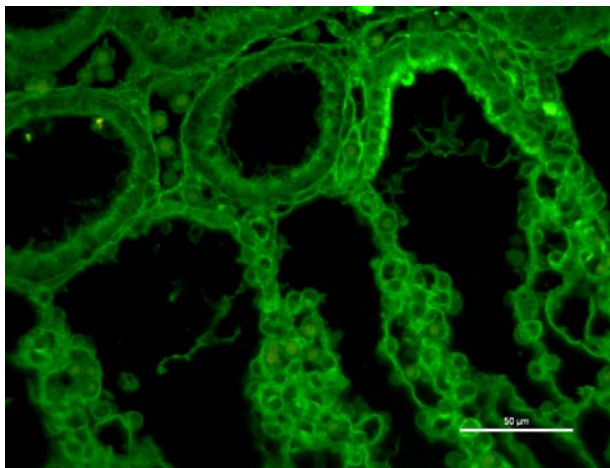
Tab. 25 Auswertung LCA an Ur- und Nachniere

<b>LCA</b>										
<b>Urniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Tub.gl. Epi.</b>	<b>Tub.ur. Epi.</b>	<b>Organbegr Zellen</b>	<b>UNG</b>			
4-06	1,5	++	+++	+	+++	+++	-			
3-06	3,5	+	+++	+/-	+++	-	-			
21-06	5,0	++	+++	+/-	+++	+++	-			
1-06	7,0	+	+++	+/-	+++	+++	++			
<b>Nachniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Prox. Tub.</b>	<b>Dist. Tub.</b>	<b>Sr</b>	<b>Bgw.</b>	<b>NB</b>	<b>Kapsel</b>	<b>Tub int.</b>
3-06	3,5	++	-	-	-	-	++	+	+++	-
27-06	9,0	+	++	++	-	+/-	+++	++	+++	-
6-06	11,0	+	+++	+++	+/-	-	+++	+	++	-
71-06	18,0	+	++	+++	+/-	-	+++	+	+++	-
2-06	28,0	+/-	+++	+++	+/-	+/-	+++	+/-	+++	-
5-06	42,0	+	+++	+++	+/-	+	+++	+	++	-
18-06	51,5	++	-	+++	+/-	+/-	+++	-	fehlt	-
20-06	86,0	+	+++	+++	+/-	+	-	+	+++	-
26-06 Bulle	Adult	+	-	+++	-	+/-	+++	/	-	-
34-06 Kuh	Adult	++	-	+++	+	+	+++	/	fehlt	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

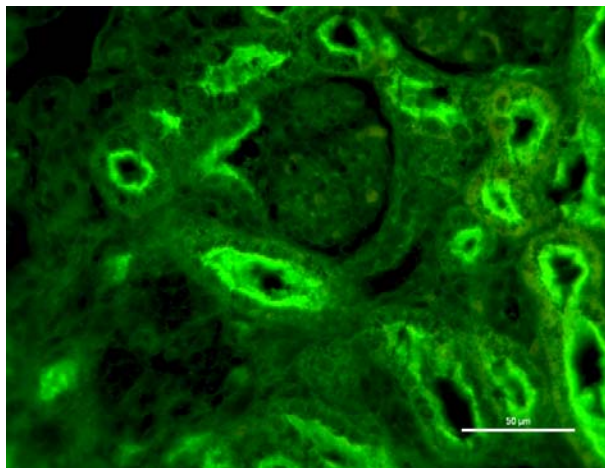
-keine Bindung, +/- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius



**Bild 44:** Urniere, 1,5 cm SSL, LCA, stark positive Reaktion an den Harnpolen des Riesenglomerulums, positive Glomerulenschlingen, Balken= 50 µm



**Bild 45:** Nachniere, 86 cm SSL, LCA, stark positiver Harnpol, stark positive proximale Tubuli, Balken= 50 µm



## 4.4.5 Peanut Agglutinin (PNA)

PNA bindet stark an die Tubuli mit gleichmäßigem Epithel in der Urniere. Auch das Riesenglomerulum zeigt eine deutliche Bindung von PNA.

In der Nachniere tritt die lumenseitige Färbung der distalen Tubulusabschnitte hervor. In der mittleren bis späten pränatalen Entwicklungsphase reagieren die sich entwickelnden Nephrone in der subkapsulären Blastemzone stark positiv.

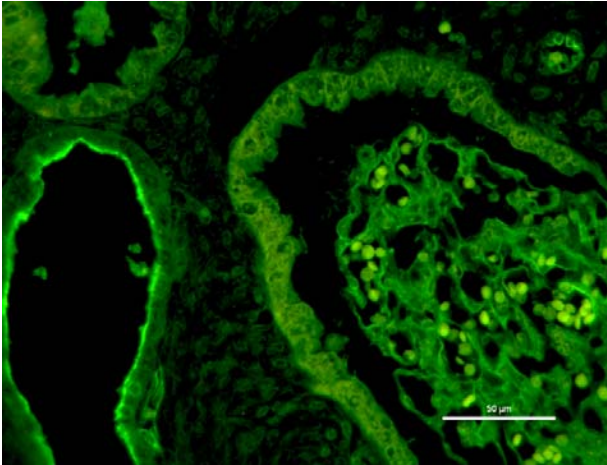
Tab. 26 Auswertung LCA an Ur- und Nachniere

<b>PNA</b>										
<b>Urniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Tub.gl.E pit.</b>	<b>Tub.ur.E pi.</b>	<b>Organbegr Zellen</b>	<b>UNG</b>			
4-06	1,5	+	-	+++	+	+++	-			
3-06	3,5	++	-	+++	-	-	-			
21-06	5,0	-	-	++	-	-	-			
1-06	7,0	+++	-	+++	-	-	-			
<b>Nachniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Prox. Tub.</b>	<b>Dist. Tub.</b>	<b>Sr</b>	<b>Bgw.</b>	<b>NB</b>	<b>Kapsel</b>	<b>Tub int.</b>
3-06	3,5	+++	+/-	-	-	-	++	+++	-	-
27-06	9,0	-	-	-	+++ ls	-	+	-	+/-	-
6-06	11,0	++	-	-	+++ ls	++	+	-	-	-
71-06	18,0	-	-	-	+++ ls	-	-	-	-	-
2-06	28,0	+++	-	-	+++ ls	+++ ls	++	++	+++	+++
5-06	42,0	+++	-	-	+++ ls	+++	+	+++	++	-
18-06	51,5	+++	-	-	+++ ls	++ ls	-	+++	-	+++
20-06	86,0	+++	-	-	+++ ls	-	-	+++	-	+++
26-06 Bulle	Adult	++	-	-	+++ ls	+++ ls	-	/	-	-
34-06 Kuh	Adult	+/-	-	-	+++ ls	+++ ls	-	/	-	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

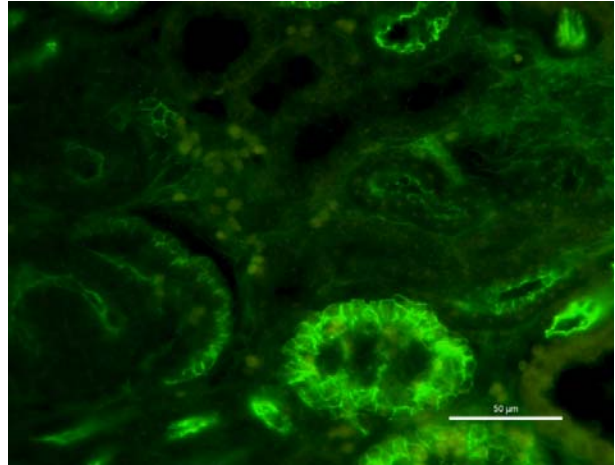
-keine Bindung, +/- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius, ls lumenseitig



**Bild 46:** Urniere, 7,0 cm SSL, PNA, positiv am Riesenglomerulum, leicht positiv an der Bowmankapsel, stark positiv lumenseitig an Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Balken= 50  $\mu\text{m}$



**Bild 47:** Nachniere, 28,0 cm SSL, PNA, stark positive Bereiche in der subkapsulären Blastemzone, Balken= 50  $\mu\text{m}$

## 4.4.6 Phaseolus vulgaris Agglutinin E (PHA-E)

Auch PHA-E zeigt in der Ur- und Nachniere Affinität zu Gefäßendothelien. In der Nachniere werden auch die Nierenkapsel und das Bindegewebe stark gefärbt. Bei adulten Tieren ist dies nicht mehr der Fall.

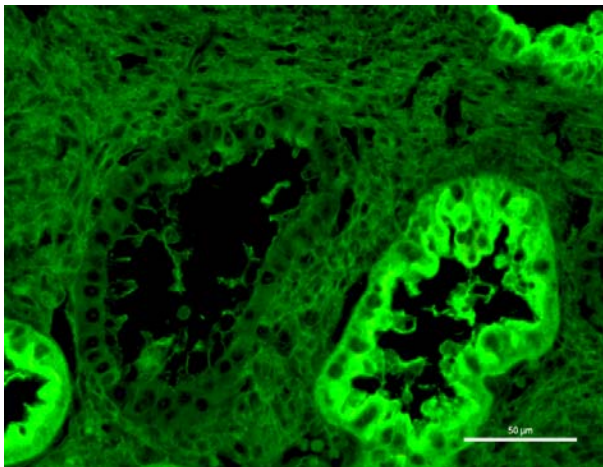
Tab. 27 Auswertung PHA-E an Ur- und Nachniere

PHA-E										
Urniere	SSL cm	Glo	Bow	Tub.gl. Epi.	Tub.ur. Epi.	Organbegr Zellen	UNG			
4-06	1,5	+++	++	++	++	+++	-			
3-06	3,5	+	-	-	+-	++	+			
21-06	5,0	+++	-	+	++	-	-			
1-06	7,0	++	+	+-	+	-	+			
Nachniere	SSL cm	Glo	Bow	Prox. Tub.	Dist. Tub.	Sr	Bgw.	NB	Kapsel	Tub int.
3-06	3,5	++	-	-	-	-	+	++	-	-
27-06	9,0	++	-	++	-	-	++	+	+++	-
6-06	11,0	+-	-	++	+-	-	+	+	++	-
71-06	18,0	++	-	++	-	-	-	+	++	-
2-06	28,0	+	-	-	-	-	++	+	++	-
5-06	42,0	+-	-	++	-	-	-	+	++	-
18-06	51,5	+-	-	+	-	++	+++	-	++	-
20-06	86,0	-	-	++	-	-	-	+	++	-
26-06 Bulle	Adult	+	-	++	-	-	++	/	-	-
34-06 Kuh	Adult	+-	-	++	-	-	-	/	-	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

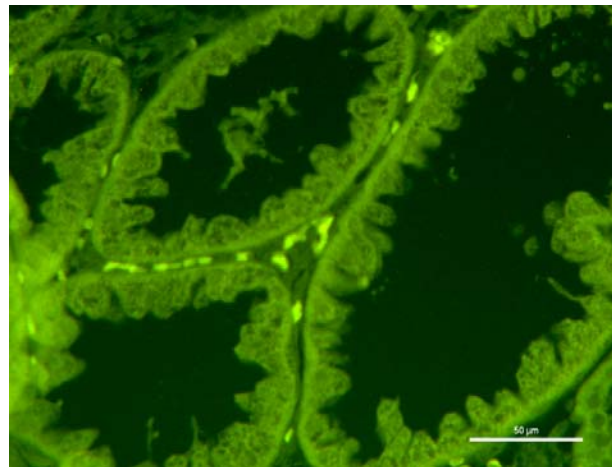
-keine Bindung, +- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius



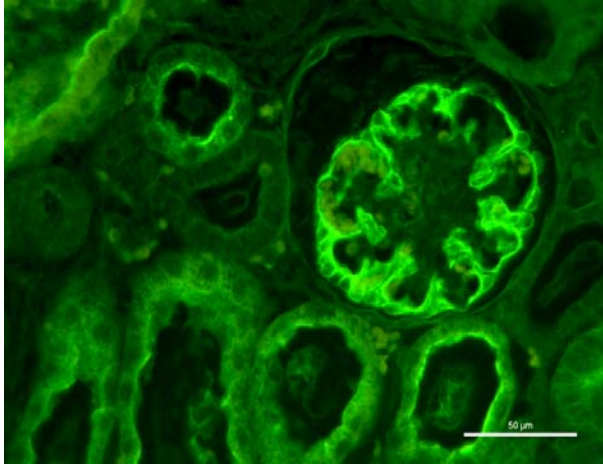
**Bild 48:** Urniere, 7,0 cm SSL, PHA-E, deutlich positive Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, Balken= 50 µm



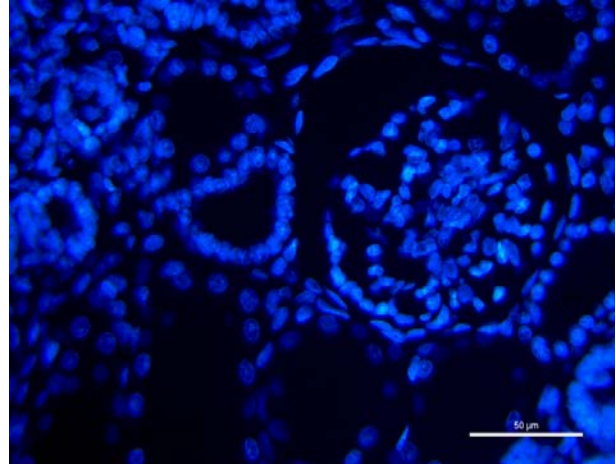
**Bild 49:** Urniere, 7,0 cm SSL, PHA-E, Negativkontrolle zum Vergleich, starke Eigenfluoreszenz der Erythrozyten, Balken= 50 µm

#### 4.4.7 Phaseolus vulgaris Agglutinin L (PHA-L)

PHA-L bindet an Glomerula und die Bowman Kapsel der Ur- und Nachniere. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel in der Urniere und die proximalen Tubuli in der Nachniere werden stark gefärbt. Unreife Nephronen binden gleichfalls deutlich PHA-L.



**Bild 50:** Nachniere, 9,0 cm SSL, PHA-L, mit stark positivem Glomerulum, positive proximale Tubuli, Balken= 50 µm



**Bild 51:** Der gleiche Schnitt in DAPI- Kernfärbung, wie links 9,0 cm SSL, Balken= 50 µm

Tab. 28 Auswertung PHA-L an Ur- und Niere

PHA-L										
Urniere	SSL cm	Glo	Bow	Tub.gl. Epi.	Tub.ur. Epi.	Organbegr Zellen	UNG			
4-06	1,5	++	++	+ -	++	+	-			
3-06	3,5	++	+++	-	+++	-	-			
21-06	5,0	+++	+	+ -	++	+++	-			
1-06	7,0	++	++	+	++	+	+ -			
Nachniere										
Nachniere	SSL cm	Glo	Bow	Prox. Tub.	Dist. Tub.	Sr	Bgw.	NB	Kapsel	Tub. int.
3-06	3,5	+	++	-	-	-	-	++	-	-
27-06	9,0	+++	++	+	+ -	-	-	++	++	++
6-06	11,0	++	+	+++	+ -	-	-	+ -	+	-
71-06	18,0	+++	+	++	-	-	-	+	+ -	-
2-06	28,0	++	++	++	-	-	-	++	+	-
5-06	42,0	++	++	++	+ -	-	+++	++	-	++
18-06	51,5	+	-	+++	-	-	-	-	+	-
20-06	86,0	+	++	+++	+ -	-	-	++	+ -	-
26-06 Bulle	Adult	+	++	+++	-	-	+++	/	-	++
34-06 Kuh	Adult	+ -	-	+++	-	-	-	/	-	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

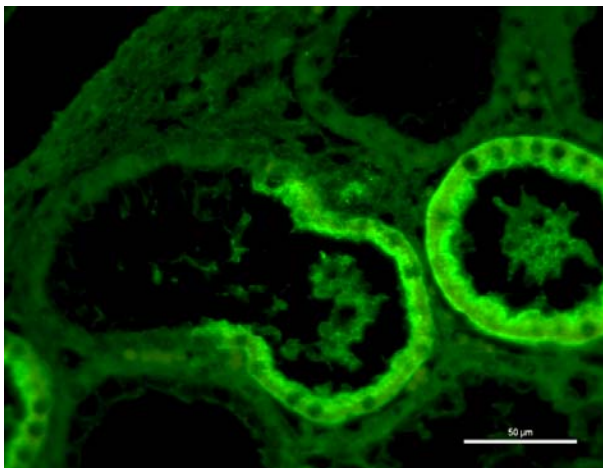
-keine Bindung, +- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi.

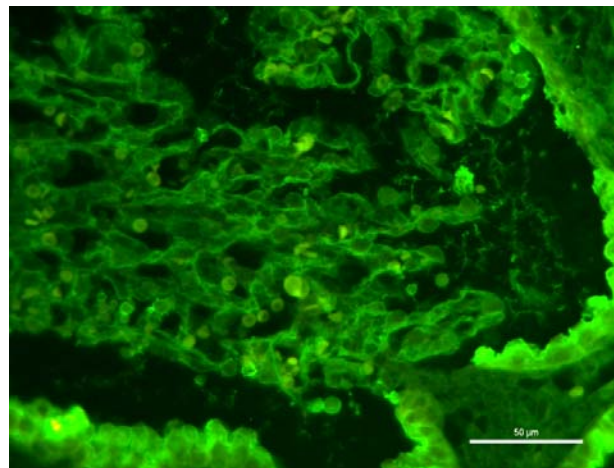
Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler

Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius



**Bild 52:** Urniere, 3,5 cm SSL, PHA-L, Tubulusübergang von unregelmäßigen (stark positiv) zu gleichmäßigem Epithel, Balken = 50 µm



**Bild 53:** Urniere, 5,0 cm SSL, PHA-L, positives Riesenglomerulum, stark positive Harnpole, Balken = 50 µm



## 4.4.8 Pisum sativum Agglutinin (PSA)

Sehr starke Affinität von PSA zu den Tubuli mit unregelmäßigem Epithel und der Organgrenze der Urniere. In der Nachniere treten beide Blätter der Bowman Kapsel und die proximalen Tubuli durch stärkste Fluoreszenz hervor. Aber auch die Nierenkapsel und Zellen im Bindegewebe sind deutlich positiv. Andere Bereiche der Ur- und Nachniere wie die Harnpole der Glomeruli zeigen eine geringer ausfallende Reaktion.

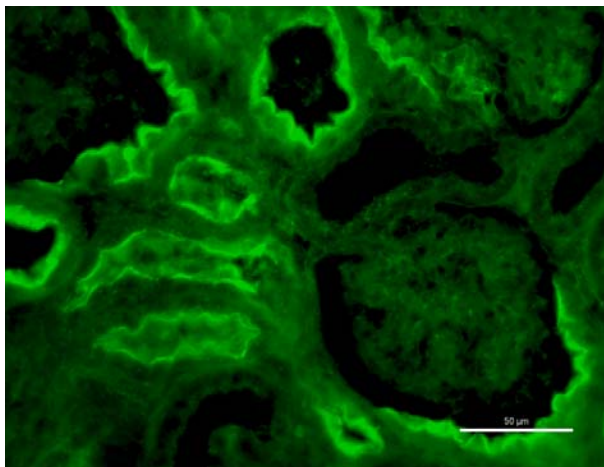
Tab. 29 Auswertung PSA an Ur- und Nachniere

PSA										
Urniere	SSL cm	Glo	Bow	Tub.gl. Epi.	Tub.ur. Epi.	Organbegr Zellen	UNG			
4-06	1,5	++	+	+	+++	++	-			
3-06	3,5	+	+	+	+++	+++	-			
21-06	5,0	++	-	+	+++	+++	-			
1-06	7,0	+	-	+/-	+++	+++	-			
Nachniere	SSL cm	Glo	Bow	Prox. Tub.	Dist. Tub.	Sr	Bgw.	NB	Kapsel	Tub int.
3-06	3,5	+	-	-	-	-	++	+/-	++	-
27-06	9,0	+	++	+	+/-	+	+++	++	+++	-
6-06	11,0	++	+++	+++ ls	+	+/-	++	++	+++	-
71-06	18,0	+	-	-	+/-	+	+++	+/-	+++	-
2-06	28,0	-	++	+++	+/-	+	++	++	++	-
5-06	42,0	+/-	+++	+++	+/-	-	+	+	+++	-
18-06	51,5	+/-	-	++	-	++	++	-	-	-
20-06	86,0	+/-	+++	+++	-	+/-	++	++	+++	-
26-06 Bulle	Adult	+	+++	+++	++	-	+++	/	fehlt	-
34-06 Kuh	Adult	+/-	-	+++	-	-	-	/	fehlt	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

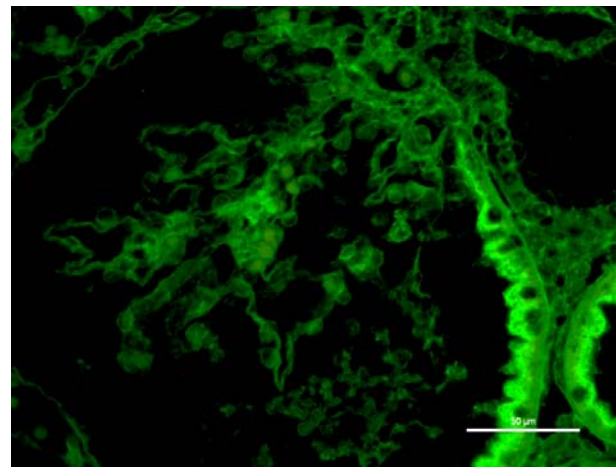
-keine Bindung, +- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius, ls lumenseitig

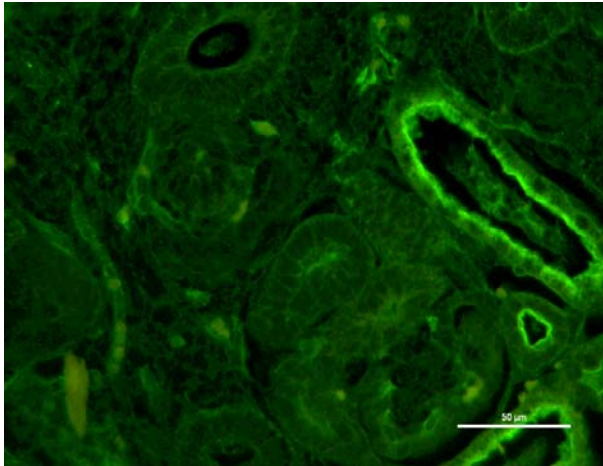


**Bild 54:** 28,0 cm SSL, PSA, stark positive proximale Tubuli und Harnpole der Nachniere, Balken= 50 µm

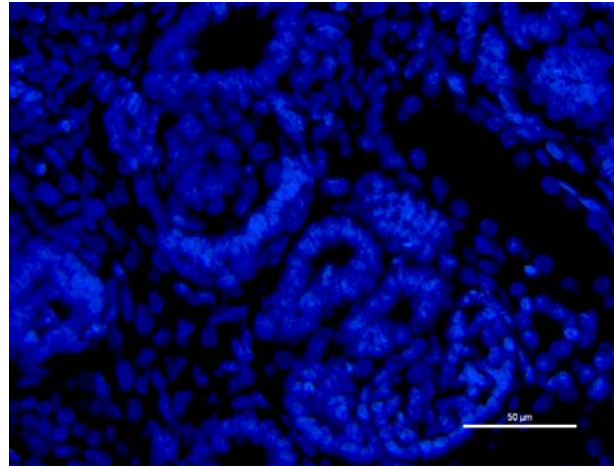


**Bild 55:** Urniere, 3,5 cm SSL, PSA, stark positive Harnpole, positives Riesenglomerulum, Balken= 50 µm

## 4.4.9 Ricinus communis Agglutinin (RCA I)



**Bild 56:** 9,0 cm SSL, RCA, positiv in Nephronbildungsstufen, stark positiv im proximalen Tubulus, Balken= 50 µm



**Bild 57:** 9,0 cm SSL, RCA, Kerne des Schnittes aus Bild 56 zum Vergleich, Balken= 50 µm

In der Urniere zeigen die meisten Strukturen eine Bindung von RCA. Sammelrohre werden nur selten gefärbt und der distale Tubulus zeigt erst bei größeren Feten ab 42 cm SSL ein Bindung von RCA. Tubuli und Gefäße reagieren in der Nachniere stark.

**Tab. 30** Auswertung RCA an Ur- und Nachniere

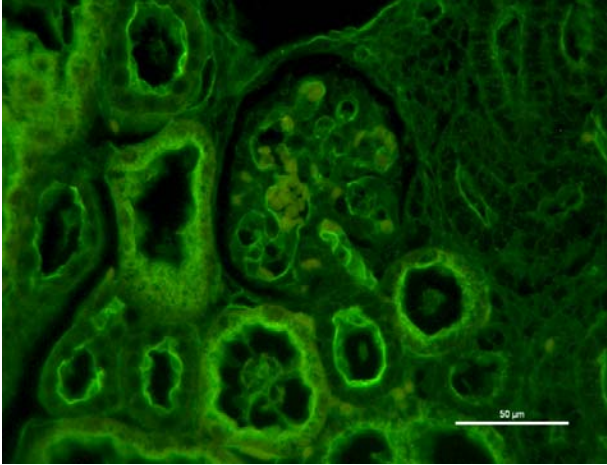
<b>RCA</b>										
<b>Urniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Tub.gl. Epi.</b>	<b>Tub.ur. Epi.</b>	<b>Organbegr Zellen</b>	<b>UNG</b>			
4-06	1,5	++	++	-	+++	+	-			
3-06	3,5	++	++	++	++	++	-			
21-06	5,0	++	-	++	+++	++	-			
1-06	7,0	++	+	++	++	++	+			
<b>Nachniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Prox. Tub.</b>	<b>Dist. Tub.</b>	<b>Sr</b>	<b>Bgw.</b>	<b>NB</b>	<b>Kapsel</b>	<b>Tub. int.</b>
3-06	3,5	++	+/-	+	+	-	-	++	++	-
27-06	9,0	++	+/-	++	+	+	++	+	-	-
6-06	11,0	+	+/-	++	-	-	-	+	+++	-
71-06	18,0	++	+	++	+	++	-	+/-	+++	-
2-06	28,0	-	-	-	-	-	+	+/-	-	-
5-06	42,0	+	-	++	++	-	++	+	+++	+
18-06	51,5	++	-	+	++	-	-	-	+++	-
20-06	86,0	+/-	-	+	+	-	-	+/-	++	+
26-06 Bulle	Adult	+++	-	+++	++	+	-	/	-	-
34-06 Kuh	Adult	++	+/-	++	++	++	-	/	-	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-keine Bindung, +/- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

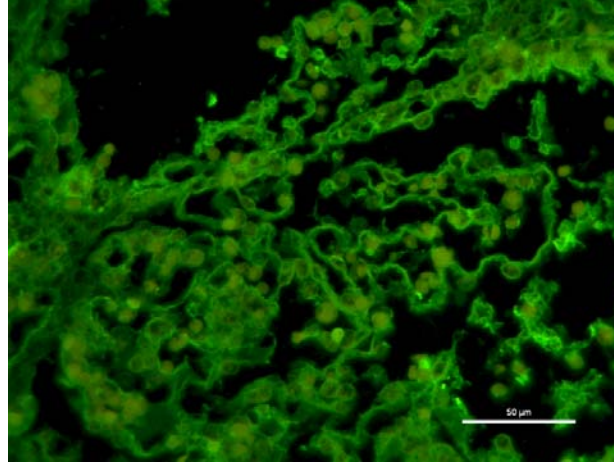
NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius





**Bild 58:** 9,0 cm SSL, RCA, positiv an Glomerulumschlingen und besonders an proximalen Tubuli, Balken= 50  $\mu\text{m}$



**Bild 59:** Urniere, 3,5 cm SSL, RCA Gefäßschlingen des Riesenglomerulums, Balken= 50  $\mu\text{m}$

## 4.4.10 Sophora japonica Agglutinin (SJA)

SJA bindet hauptsächlich Bereiche im Bindegewebe der Nachniere. In der Urniere hauptsächlich im Bereich der das Organ begrenzenden Zellschichten. In der Nachniere zeigte die Nierenkapsel und vereinzelte Zellen im Bindegewebe besonders bei adulten Tieren eine deutliche Fluoreszenz.

Tab. 31 Auswertung SJA an Ur- und Nachniere

<b>SJA</b>										
<b>Urniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Tub.gl. Epi.</b>	<b>Tub.ur. Epi.</b>	<b>Organbegr Zellen</b>	<b>UNG</b>			
4-06	1,5	-	-	-	-	-	+-			
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-			
21-06	5,0	-	-	-	-	+	-			
1-06	7,0	-	-	-	-	++	++			
<b>Nachniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Prox. Tub.</b>	<b>Dist. Tub.</b>	<b>Sr</b>	<b>Bgw.</b>	<b>NB</b>	<b>Kapsel</b>	<b>Tub int.</b>
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27-06	9,0	-	-	-	-	-	-	-	+	-
6-06	11,0	-	-	-	-	-	-	+-	+-	-
71-06	18,0	-	-	-	-	-	+-	-	+	-
2-06	28,0	-	-	-	-	-	-	-	++	-
5-06	42,0	-	-	-	-	-	-	-	++	-
18-06	51,5	/	/	/	/	/	/	/	/	/
20-06	86,0	-	-	-	-	-	+	+-	+	-
26-06 Bulle	Adult	-	-	-	-	-	+++	/	-	-
34-06 Kuh	Adult	-	-	-	-	-	++	/	-	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-keine Bindung, +- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi.

Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler

Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius

## 4.4.11 Soybean Agglutinin (SBA)

Durch SBA werden in der Urniere die Tubuli mit gleichmäßigem Epithel deutlich gefärbt, in der Nachniere heben sich besonders die distalen Tubuli in allen Entwicklungsstadien hervor.

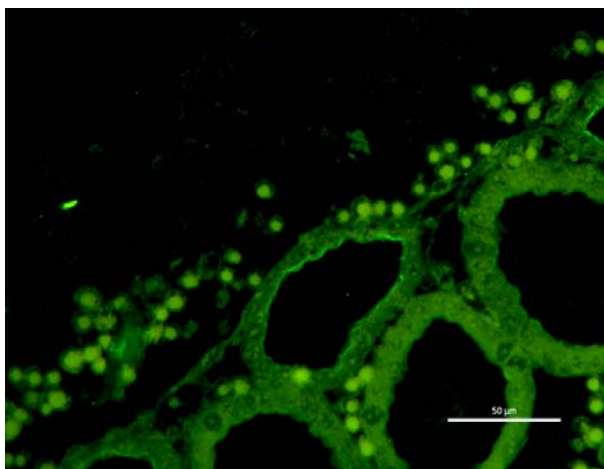
Tab. 32 Auswertung SBA an Ur- und Nachniere

SBA										
Urniere	SSL cm	Glo	Bow	Tub.gl. Epi.	Tub.ur. Epi.	Organbegr Zellen	UNG			
4-06	1,5	-	-	++	-	-	-			
3-06	3,5	-	-	+-	-	-	-			
21-06	5,0	-	-	++	-	-	-			
1-06	7,0	-	-	+	-	+	-			
Nachniere	SSL cm	Glo	Bow	Prox. Tub.	Dist. Tub.	Sr	Bgw.	NB	Kapsel	Tub int.
3-06	3,5	-	-	-	+	-	-	-	-	-
27-06	9,0	-	-	-	+++	-	-	-	++	-
6-06	11,0	-	-	-	+++	-	+-	-	-	-
71-06	18,0	-	-	-	++	-	+-	-	-	+-
2-06	28,0	-	-	-	++	-	-	-	+	-
5-06	42,0	-	-	-	+++	-	-	-	++	++
18-06	51,5	-	-	-	+++ ls	-	-	-	-	-
20-06	86,0	-	-	-	+++	-	-	-	-	-
26-06 Bulle	Adult	+	-	-	+++	-	++	/	-	+
34-06 Kuh	Adult	+-	-	-	+++	-	-	/	-	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

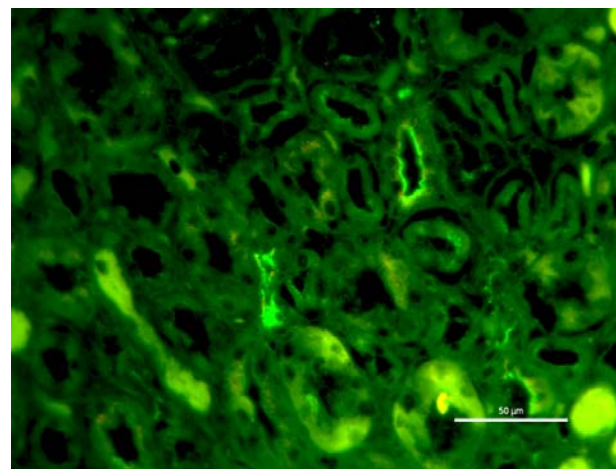
-keine Bindung, +- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius, ls lumenseitig



**Bild 60:** Urniere, 5 cm SSL, SBA, Positive Reaktion der Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, besonders lumenseitig, Balken= 50 µm



**Bild 61:** Adulter Bulle, SBA, distale Tubuli stark positiv, Balken= 50 µm

## 4.4.12 Ulex europaeus Agglutinin (UEA-I)

UEA-I zeigte nur schwache Reaktionen zumeist im Bindegewebe oder der Kapsel der Niere. In der Urniere gab es keine Reaktion.

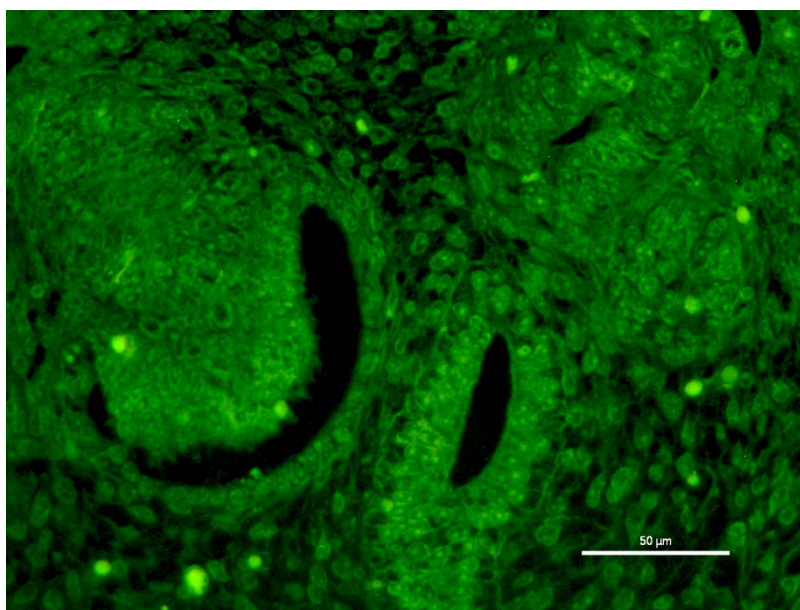
Tab. 33 Auswertung UEA-I an Ur- und Niere

UEA-I										
Urniere	SSL cm	Glo	Bow	Tub.gl. Epi.	Tub.ur. Epi.	Organbegr Zellen	UNG			
4-06	1,5	-	-	-	-	-	-			
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-			
21-06	5,0	-	-	-	-	-	-			
1-06	7,0	-	-	-	-	-	-			
Nachniere	SSL cm	Glo	Bow	Prox. Tub.	Dist. Tub.	Sr	Bgw.	NB	Kapsel	Tub. int.
3-06	3,5	-	-	-	-	-	-	+-	-	-
27-06	9,0	-	-	-	-	-	-	-	+-	-
6-06	11,0	-	-	-	+-	-	-	-	-	-
71-06	18,0	-	-	-	-	-	+-	-	+-	-
2-06	28,0	-	-	-	-	-	-	-	+-	-
5-06	42,0	-	-	-	-	-	-	-	+-	-
18-06	51,5	-	-	-	+-	-	+-	-	-	-
20-06	86,0	-	-	-	-	-	-	-	+-	-
26-06 Bulle	Adult	-	-	-	+-	-	-	/	-	-
34-06 Kuh	Adult	-	-	-	-	-	+-	/	-	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-keine Bindung, +- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius



**Bild 62:** Nachniere, 3,5cm SSL, UEA-I, leichte Reaktion der sich entwickelnden Nephrone, die leuchtend positiven Zellen sind Erythrozyten, welche jedoch generell eine ausgeprägte Eigenfluoreszenz zeigen, Balken= 50 μm

## 4.4.13 Wheat germ Agglutinin (WGA)

Die Bindung von WGA erfolgt sehr stark an die meisten Strukturen der Ur- und Niere. Bei Embryonen mit kleiner SSL wird es nicht an die Bowman Kapsel und nur in geringem Umfang an die Sammelrohre gebunden. An Feten mittlerer SSL erfolgt die deutlichste Reaktion an proximalen, intermediären und distalen Tubuli sowie auch an Bindegewebszellen und Nierenkapsel.

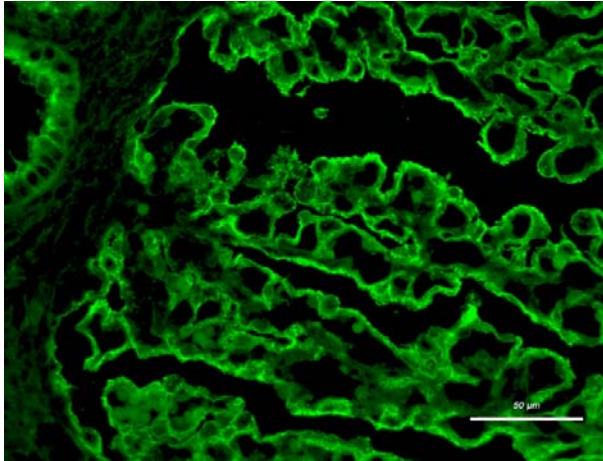
Tab. 34 Auswertung WGA an Ur- und Niere

<b>WGA</b>										
<b>Urniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Tub.gl. Epi.</b>	<b>Tub.ur. Epi.</b>	<b>Organbegr Zellen</b>	<b>UNG</b>	<b>Bgw.</b>		
4-06	1,5	+++	+++	+++	+++	++	-	++		
3-06	3,5	+++	++	+	+++	++	++	++		
21-06	5,0	-	-	+++	+++	-	-	++		
1-06	7,0	+++	++	++	++	+++	++	-		
<b>Nachniere</b>	<b>SSL cm</b>	<b>Glo</b>	<b>Bow</b>	<b>Prox. Tub.</b>	<b>Dist. Tub.</b>	<b>Sr</b>	<b>Bgw.</b>	<b>NB</b>	<b>Kapsel</b>	<b>Tub int.</b>
3-06	3,5	+++	-	-	-	+/-	++	++	-	-
27-06	9,0	+++	-	+++	+	+/-	-	+++	-	-
6-06	11,0	+++	-	+++	++	-	+++	-	+++	-
71-06	18,0	+++	+	+++	++	+	++	-	++	-
2-06	28,0	+++	+	++	+++	+	+++	-	-	++
5-06	42,0	++	++	+/-	+++	+	-	-	+++	+
18-06	51,5	+++	-	++	+++	+++	-	-	-	+++ Is
20-06	86,0	++	+	++	+++	+/-	++	+/-	+++	++
26-06 Bulle	Adult	+++	+/-	+++	++	+++	-	/	-	-
34-06 Kuh	Adult	+++	-	+++	++	++	++	/	-	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

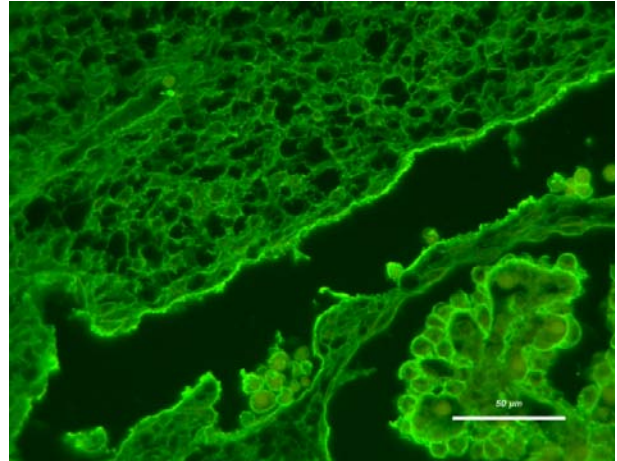
-keine Bindung, +/- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,  
Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius

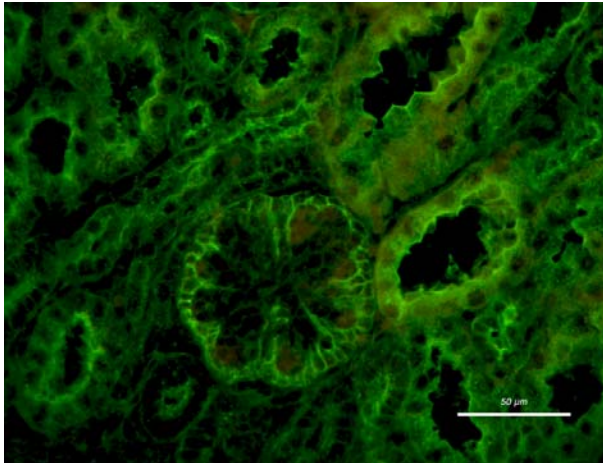




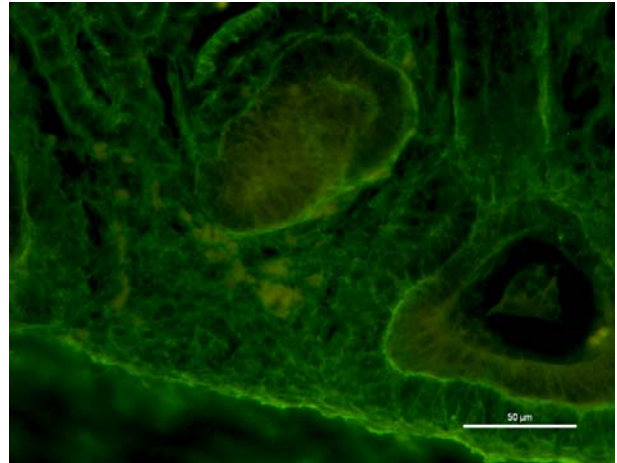
**Bild 63:** Urniere, 7 cm SSL, Inkubation mit WGA-FITC, Stark positiv gefärbte Gefäßschlingen im Riesenglomerulum, Balken= 50 µm



**Bild 64:** Urniere, 1,5 cm SSL, WGA, stark positive Gefäßwand der Vena kardinalis posterior und der Glomerulumschlingen und der Erythrozyten, Balken= 50 µm



**Bild 65:** Nachniere, 28 cm SSL, WGA, positiv in Tubuli und Glomerulum, Balken= 50 µm



**Bild 66:** Nachniere, 9,0 cm SSL, WGA, positiv in der subkapsulären Blastemzone an Nephronbildungsstufen, Balken= 50 µm

## 4.4.14 Succinylated wheat germ Agglutinin (WGA succ.)

Mit succinyliertem WGA färben sich Tubuli und Glomeruli der Ur- und Nachniere an. Die proximalen und distalen Tubuli zeigen eine fast gleich intensive Bindung des succinylierten WGA. Generell ist die Reaktion deutlich geringer als bei WGA.

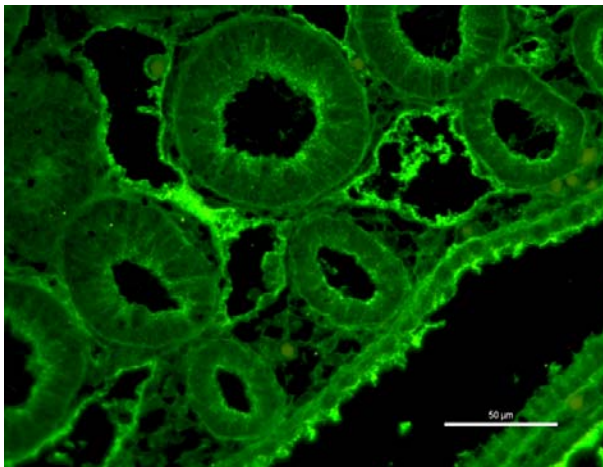
Tab. 35 Auswertung WGA succ. an Ur- und Nachniere

WGA	Succ.									
	Urniere	SSL cm	Glo	Bow	Tub.gl. Epi.	Tub.ur. Epi.	Organbegr Zellen	UNG		
4-06	1,5	+	+	+/-	+	-	-			
3-06	3,5	+/-	+	-	-	+	+/-			
21-06	5,0	-	-	+	++	-	-			
1-06	7,0	+++	++	++	++	-	++			
Nachniere	SSL cm	Glo	Bow	Prox. Tub.	Dist. Tub.	Sr	Bgw.	NB	Kapsel	Tub int.
3-06	3,5	++	+/-	+	+	-	-	+/-	-	-
27-06	9,0	+/-	+	+	++	-	-	+	+	-
6-06	11,0	+	-	++	-	-	-	+	+++	-
71-06	18,0	+	-	++	++	-	-	+	+/-	-
2-06	28,0	-	-	++ ls	+	-	-	+	+	-
5-06	42,0	-	-	+	++	+/-	-	+	+/-	-
18-06	51,5	+/-	-	-	++	+	-	-	-	-
20-06	86,0	+/-	-	++	++	-	-	+	-	-
26-06 Bulle	Adult	+	-	+	++	-	-	/	-	-
34-06 Kuh	Adult	+	-	+/-	+	-	-	/	-	-
Neg.	Adult	-	-	-	-	-	-	-	-	-

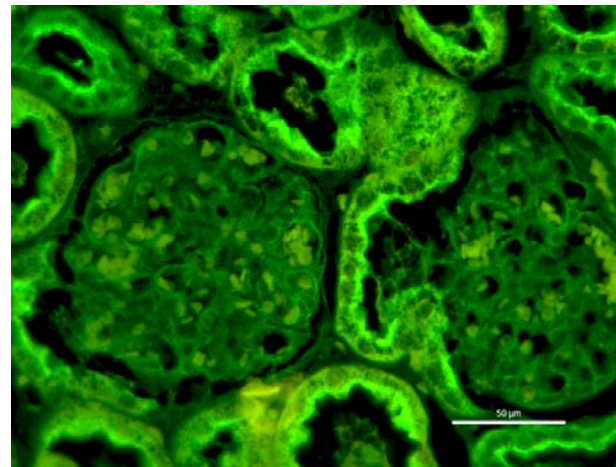
-keine Bindung, +/- zweifelhaft, +positiv, ++ deutlich positiv, +++stark positiv

NN Nachniere, Glo Glomerulum, Bow Bowman Kapsel, Tub.gl.Epi. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Tub.ur.Epi. Tubuli mit unregelmäßigem Epithel, UNG Urnierengang, Prox. Tub. proximaler Tubulus, Dist.Tub. distaler Tubulus,

Sr Sammelrohr, Bgw. Bindegewebe, NB Nephronbildungsstufen, Tub int. Tubulus intermedius, ls lumenseitig



**Bild 67:** Urniere, 1,5 cm SSL, WGA succ., leichte Reaktion der Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, positives Gefäßendothel kleiner Kapillaren, Balken= 50 μm



**Bild 68:** Nachniere, 18 cm SSL, WGA succ., deutlich positive Tubuli, positive Glomeruli, Balken= 50 μm



## 5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Entwicklung der Urniere und Nachniere bei Rinderembryonen und Feten mit einer SSL von 1,5 cm bis zu 89,7 cm mit Hilfe von klassischen Färbetechniken, Immunzytochemie, Lektinfärbungen und Elektronenmikroskopie untersucht.

### 5.1. Morphologie

Da der jüngste, hier untersuchte Embryo bereits eine SSL von 1,5 cm hatte, war die in anderen Arbeiten beschriebene Kondensation von mesenchymalen Zellen (Ekblom 1981) um den wachsenden Nierengang nicht mehr zu beobachten.

Vor allem in den frühen Entwicklungsstadien sind Zellverdichtungen nahe der Rinde der Nachniere zu sehen, welche zunächst kugelförmige Aggregate bilden. Dies wird auch von anderen Autoren (Flemming, Ekblom) bei anderen Tierarten (Maus: Ekblom, 1981) und dem Menschen (Flemming, 1986) beschrieben. Auch beim Rind sind die Aggregate von mesenchymalen Zellen und weitere Vorstufen der Nephronbildung in der subkapsulären Blastemzone der Nachniere deutlich erkennbar. Sie differenzieren sich zu kommaförmigen Körpern. Vergleichbare Entwicklungsstufen der Nephrone fand Ekblom 1981 bei der Entwicklung der Nachniere der Maus.

Durch eine Spaltbildung im oberen Drittel des kommaförmigen Körpers entsteht bald der S-förmige Körper. Diese sind in den fetalen Rindernieren während der verschiedenen Entwicklungszeiten häufig zu sehen und lassen sich gelegentlich sogar bei einer SSL von 86 cm noch beobachten. Aus dem proximalen (zur Nierenkapsel hin) Anteil der S-förmigen Nephronanlage entsteht der distale Tubulus, aus dem mittleren der proximale Tubulus. Der distale Anteil (Richtung Mark) zusammen mit der distalen Spalte entwickelt sich zum Glomerulum (Ekblom 1981). Dieser Entwicklungsprozess lässt sich an den untersuchten embryonalen und fetalen Rindernieren sehr gut nachvollziehen, insbesondere mit Hilfe der Serienschnitte von 1,5 cm SSL und 3,5 cm SSL kann man die Zellaggregate und die kommaförmigen Körper gut in verschiedenen Schichten untersuchen und Ekbloms Beobachtungen an anderen Spezies auch für das Rind voll bestätigen. Ekblom (1981) beschreibt weiterhin, dass man bald zwei Zelltypen im unreifen Glomerulum voneinander unterscheiden kann. Zum einen gibt es dort die flachen Epithelzellen, welche später die Glomerulumkapsel bilden. Sie liegen am unteren Rand des späteren Bowmankapselraumes. Die größeren unreifen Podozyten liegen am oberen Rand des Spaltraumes.

Bei Elefanten (Tragzeit 660 Tage) sind von Gaeth (1999) die Urnieren von Embryonen und Feten von 58 bis 166 Tagen untersucht worden. Sehr interessant war der Befund, dass in der Urniere von Elefanten Nephrostome vorkommen. Diese Strukturen werden sonst nur in Urnieren von aquatisch lebenden Vertebraten Rudimentäre Nephrostome konnten allerdings auch in der Vorniere von Schaf oder der Katze beobachtet werden. Beim Rind konnte ich zu keinem Entwicklungszeitpunkt Nephrostome nachweisen.

## 5.2. Histochemie

Beim Rind sind die Abschnitte des sich entwickelnden fetalen Nephrons welche später den proximalen Tubulusbereichen der Niere entsprechen, PAS positiv. Die positive PAS-Reaktion bleibt auch nach Amylasevorbehandlung bestehen. Eine positive PAS-Reaktion ist bei dem untersuchten Gewebe des Rindes erst ab 3,2 cm SSL erkennbar, unter dieser Scheitel- Steiß- Länge ist die PAS Reaktion negativ. Rinderembryonen zeigen jedoch ab 5,0 cm SSL positive Podozytenfortsätze und auch Teile der Bowmankapsel sind positiv. Anzumerken ist auch, dass die positive PAS Reaktion in den Tubuli der etwas älteren Embryonen nicht nur luminal, wie beim Kaninchen (Smith 1990), sondern auch basal zu sehen ist. Die Amylasevorbehandlung hat die Reaktion an der Basalseite der Tubuli stark abgeschwächt, was darauf hindeutet, dass hier beim Rind ein hohes Vorkommen von Glykogen vorliegt. Elektronenmikroskopisch ist das Vorhandensein von Glykogen in den Tubuli nachgewiesen worden.

Die PAS Reaktion fällt in der Niere des Rindes deutlich stärker als beim Kaninchen aus (Smith 1990). Ohne Amylasevorbehandlung ist ab 5,8 cm SSL eine sehr deutliche Reaktion der Sammelrohre zu erkennen. Hierbei handelt es sich um Glykogen, was auch in den elektronenmikroskopischen Untersuchungen dieser Arbeit deutlich wird. Interessant ist, dass hier die Fixierung einen Einfluss auf das Färbeverhalten hatte. Bei Gewebe desselben Fetus fällt die Reaktion formfixiert etwas stärker aus als nach Bouinfixierung. Sowohl der proximale als auch der distale Tubulus reagiert PAS positiv von 8,2 bis 20 cm SSL. Bei Feten über 20 cm SSL sind nur noch der proximale Tubulus sowie das Glomerulum positiv. Bei adulten Nieren färben sich alle Nephronbereiche mehr oder weniger deutlich an. Das durch die PAS Reaktion nachgewiesene entwicklungsabhängige Verschwinden von Glykogen im distalen Tubulus könnte darauf hinweisen, dass in der mittleren bis späten Fetalperiode wenig aktive Transportfunktion im distalen Tubulus statt finden. Eine andere Erklärung wäre, dass der Bedarf an Energie durch Stoffwechsellleistungen und aktive Transportmechanismen so groß ist, dass keine Glykogenreserven mehr aufgebaut werden können.

## 5.3. Immunhistologie

### Laminin:

Sämtliche Tubulusabschnitte in der Niere zeigen im Bereich der Basalmembran deutliche Expression von Laminin. Auch die Riesenglomeruli der Niere sind positiv. In der sich entwickelnden Niere des Rindes findet sich Laminin in der Basalmembran der sich entwickelnden Tubuli ab dem S-förmigen Stadium. Während des kommaförmigen Stadiums lässt sich Laminin bevorzugt nahe des Spaltraums nachweisen. Im Gegensatz zur Maus lässt sich Laminin bei allen Entwicklungsstadien im proximalen und distalen Tubulus lokalisieren. Die Glomerulumkapillaren und Mesangiumzellen im Glomerulum enthalten beim Rind kein Laminin. In mittleren Entwicklungsstadien findet sich Laminin beim Rind in der Bowmankapsel. Bei mittleren bis späten Entwicklungsstadien findet man Laminin auch in der Basalmembran von Sammelrohren.

Im Unterschied zum Rind kann beim Kaninchen bis zum Tag 9 elektronenmikroskopisch keine Basallamina in der Urniere beobachtet werden (Smith 1990), bzw. kein Laminin in den Basalmembranen der Urniere gefunden werden (Smith 1990). Auch andere Autoren konnten zeigen, dass beim Mausembryo vor dem 11. Tage p.c. kein Laminin im undifferenzierten Mesenchym vorkommt (Ekblom 1980, 1981). In den sich entwickelnden Gonaden des Kaninchens lässt sich dagegen Laminin zu diesem Entwicklungszeitpunkt histochemisch eindeutig nachweisen (Smith 1990).

#### Cytokeratin

Im undifferenzierten Nachnierenblastem können bei vielen Spezies keine Cytokeratine nachgewiesen werden (Fleming 1987). Im menschlichen Fetus können allerdings Cytokeratine in der Nierenknospe und in Sammelrohren gefunden werden (Howie 1993, Fleming 1987). Im S-förmigen Körper können beim Menschen keine Cytokeratine nachgewiesen werden. In weiter entwickelten Nephronen zeigt die Bowmankapsel und der proximale Tubulus eine positive Reaktion auf Cytokeratin (Howie 1993). Andere Autoren sind der Meinung, dass sich in den Bereichen des S-förmigen Körpers, welche zum Tubulus werden und im Bereich der Vorläuferzellen des viszeralen Epithels des Glomerulums eine Expression von Cytokeratinen auftritt. Das parietale Epithel der Bowman Membran enthält dagegen keine Cytokeratine. (Fleming 1987). Beim Rind lässt sich mit einem Antikörper gegen Pancytokeratin eine positive Reaktion im Urnierengang und in Tubulusabschnitten der Urniere, welche dem distalen Tubulus der Nachniere entsprechen nachweisen. In der sich entwickelnden Rindernachniere gibt der Antikörper gegen Panzytokeratin im distalen Tubulus bei allen Entwicklungsstadien und in der adulten Rinderniere eine positive Immunreaktion. In der mittleren Fetalperiode kommt eine positive Reaktion auch in den Sammelrohren, sowie gelegentlich in den Anlagen der Nephrone und in der Bowman-Kapsel vor. Die unterschiedlichen Ergebnisse beim immunhistochemischen Nachweis von Panzytokeratin bei Mensch und Rind können als speziesspezifisch betrachtet werden.

#### Vimentin:

Vimentin ist ein wichtiger Bestandteil des Zytoskeletts von mesenchymalen Zellen wie Fibroblasten, Chondrozyten, Osteozyten, Endothelien und weißen Blutkörperchen. Es wird in der Pathologie als Tumormarker für Nierenzellkarzinome und andere Weichteiltumoren verwendet. Beim Rind fällt die starke Expression von Vimentin in Gefäßendothelien aller untersuchter Entwicklungsstufen und zwar sowohl in der Urniere als auch in der Nachniere auf. Bei Anlagen der Nephrone kann Vimentin bis zur Mitte der Fetalperiode, bis zu 42 cm SSL, immunhistochemisch nachgewiesen werden. Gelegentlich reagieren auch einzelne Interstitialzellen Vimentin-positiv. Dies kann während der gesamten Entwicklung des Rindes festgestellt werden und könnte die Formstabilität der noch jungen Organe unterstützen oder auch die Platzhaltefunktion von mesenchymalen Zellen im sich entwickelnden Organismus fördern. Beim adulten Rind lässt sich Vimentin gleichfalls in allen Gefäßendothelien der Niere nachweisen.

In menschlichen Feten findet sich eine Expression von Vimentin im Epithel des sich differenzierenden Ureters. In den sich entwickelnden Sammelrohren ließ sich kein Vimentin nachweisen (Fleming, 1986)). Im Nierenblastem gibt es Vimentin positive Bereiche im Zytoplasma vieler mesenchymaler

Zellen. Auch im viszeralem Glomerulumepithel sowie im Zytoplasma von Interstitialzellen und Mesangiumzellen kommt Vimentin vor.

Die massive Vimentinexpression in den Gefäßendothelien, besonders der Glomerula, deutet darauf hin, dass Vimentin nicht nur die Feinarbeit von Muskelfilamenten wie von Wang und Kollegen beschrieben wurde beeinflusst, sondern möglicherweise auch einen Einfluss auf die Blut-Harn Barriere z. B. durch eine Feinsteuerung der Membrandurchlässigkeit oder Porengröße während der Embryonal- und Fetalentwicklung ausübt. Auch eine einfache Stabilisierungsfunktion wäre denkbar.

#### 5.4. Lektine

##### Wheat germ agglutinin:

WGA bindet an Sialinsäure und N-Acetylglucosamin-Reste von Kohlenhydraten. Die Urniere und die sich entwickelnde Nachniere weisen eine sehr hohe Zahl von WGA Bindungsstellen auf. Bereits in der Urniere zeigt sehr starke Fluoreszenz in den Kapillaren des Riesenglomerulums und seinem Kapselbereich nach Inkubation mit WGA-FITC. Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, welche dem distalen Tubulus der Nachniere entsprechen, und Tubuli mit eher unregelmäßigem Epithel, welche den proximalen Tubuli der Nachniere vergleichbar sind, zeigen ebenfalls sehr starke WGA-Bindung, vor allem an der luminalen Seite der Zellen. Das Gefäßendothel der Vena cardinalis posterior, sowie die Erythrozyten selbst zeigen auch eine deutliche WGA-Fluoreszenz. Auch in der Nachniere des Rindes finden sich sehr viele WGA Bindungsstellen, vor allem in den Kapillaren der Glomeruli und in proximalen, wie distalen Tubulusabschnitten.

Um unterscheiden zu können, ob das beobachtete Reaktionsmuster auf Sialinsäure- oder N-Acetylglucosaminresten beruht, wurde eine Inkubation der bovinen Urniere und Nachniere mit succinyliertem WGA durchgeführt. Dies bindet nur an N-Acetylglucosamin. Mit succinyliertem WGA zeigte sich eine bedeutend geringere Reaktion in der Urniere, vor allem in den Tubuli. Das Endothel der Riesenglomerulumkapillaren und der Glomerulumkapsel ist noch etwas positiv, aber nicht mehr annähernd so stark als durch Inkubation mit WGA. In der Nachniere sind die proximalen und distalen Tubuli noch deutlich positiv, die Glomeruli aber nur noch schwach. In den Nachnierenglomeruli kommen damit eine hohe Zahl von Sialinsäureresten vor, während sie in der Urniere in eher geringer Zahl vorhanden sind.

##### Ulex europaeus agglutinin-I

UEA-I ist ein Lektin, welches an das H-Antigen der Blutgruppe 0 beim Menschen bindet. Es erkennt spezifisch alpha-Fucose-Reste. Beim Menschen bindet es an die Epithelzellen des fetalen Ureters und an marknahe Anteile der Sammelrohre (Howie 1993).

In der vorliegenden Arbeit zeigt sich keine Bindung von UEA 1 in der Urniere des Rindes. In der Nachniere bindet es an die Nierenkapsel und selten im distalen Tubulus. Nur in einem Stadium färben sich Nephronbildungsstufen etwas an. Daraus lässt sich schließen, dass während der Entwicklung der Rinderniere Fucose-Reste keine größere Rolle spielen. Interessant ist, dass die Bindungsstellen für UEA bei Mensch und Rind zu mindest was die Niere betrifft, sehr unterschiedlich lokalisiert sind.

### 5.5. *Elektronenmikroskopie*

Zur Morphologie der Urniere des Rindes ist hier anzumerken, dass nicht mehrere große Urnierenglomeruli vorhanden sind, wie dies zum Beispiel beim Menschen oder dem Kaninchen der Fall ist, sondern nur ein Riesenglomerulum vorkommt, bei dem die Kapselräume nicht voneinander getrennt sind. Ein ähnlicher Befund wurde von Davies 1951 bei der Urniere des Schafes beschrieben.

In der hier vorliegenden Arbeit hatte der jüngste Embryo eine SSL von 1,5 cm. Das Riesenglomerulum der Urniere war vollständig ausgebildet, und die Podozyten gut ausdifferenziert mit ausgeprägten Fortsätzen. Mikrovilli in Tubulusabschnitten, die mit dem distalen Tubulus der Nachniere vergleichbar wären, wurden nicht gefunden. Die Abschnitte, welche morphologisch dem proximalen Tubulus der Nachniere entsprechen, wiesen dagegen einen ausgeprägten Mikrovillisaum auf.

Der Hauptunterschied der Tubuli in der Urniere im Vergleich zu Nachnierentubuli des jeweiligen Embryos liegt in der Größe der Lumina, welche in der Urniere viel größer sind. Die Tubuli der Urniere sind auch erheblich kürzer als die vergleichbaren Abschnitte in der Nachniere. Wie beim Kaninchen (Leeson, 1960) zeigen sich beim Rind die ersten Anzeichen der Rückbildung der Urniere zuerst in ihrem kranialen Anteil. Die Filtrationsbarriere der Blut-Harnschanke ist beim Rind sowohl in der Urniere, als auch in der Nachniere gut ausgebildet. Sie besteht aus der endothelialen Wand der Glomerulumkapillaren, der Basalmembran und den Deckzellen der Bowman Kapsel.

Die Blut-Harn-Barriere ist für wasserlösliche Stoffe bis zu 25 nm Größe frei passierbar (Dahme 1999).

Bei geburtsreifen Rinderfeteten ist die Nachnierenentwicklung noch nicht komplett abgeschlossen. Es finden sich noch Differenzierungsstadien von Nephronen, die gelegentlich dem kommaförmigen Stadium, meist aber erst dem S-förmigen Stadium zuzurechnen sind. Wie bei vielen anderen Spezies kommt es auch beim Rind daher noch postnatal zu einer Differenzierung von Nephronen. Gleichfalls wurde beim Rind ein Differenzierungsgradient bei der Nephronbildung beobachtet, wobei die marknahen Nephronen deutlich früher als die kortikalen ausdifferenziert werden. Dies wurde bisher auch schon für die Maus (Ekblom 1981) und den Menschen (Flemming 1986) beschrieben.

## 6. Zusammenfassung

Entwicklung von Mesonephros und Nachniere beim Rind

Durch histologische und immunhistochemische Untersuchungen sowie durch Lektin histochemie und Transmissionselektronenmikroskopie habe ich in der vorliegenden Arbeit die Entwicklung der Urniere und der Nachniere des Rindes untersucht. Untersuchungsgegenstand waren die Urnieren von 8 Embryonen/ Feten mit einer SSL von 1,5 cm bis 7,0 cm sowie die Nachnieren von 32 Embryonen/ Feten mit einer SSL von 1,5 cm bis zu 89,7 cm. Weiter wurden die Nieren von 5 Adulten untersucht. In meinen Untersuchungen konnte ich verschiedene, bisher noch nicht beschriebene Details der Nierenentwicklung beim Rind aufzeigen. Meine Untersuchungen ergaben, dass die subkapsulär gelegene Blastemzone, die Region, in welcher neue Nephrone entstehen, auch noch bei geburtsreifen Feten aufzufinden ist. Der Ablauf der Nephrontwicklung in der Nachniere beim Rind war dabei mit dem bei der Maus und dem Menschen vergleichbar. Die Durchmesser der Glomerula wurden zu verschiedenen Entwicklungszeiten ermittelt. Bis zu einer SSL von 30 cm lagen die Durchmesser über 100 µm, ab 32 cm SSL wiesen sie einen Durchmesser von 80 µm bis 100 µm auf. Auch geburtsreife Feten hatten noch einen Glomerulardurchmesser unter 100 µm. Dies lies auf ein starkes postnatales Wachstum der Glomerula schließen. Bei adulten Rindern lag der Durchmesser deutlich über 140 µm. Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Größe der Glomerula konnte ich nicht feststellen. Elektronenmikroskopisch war an den Glomerula der Urniere erkennbar, dass die Blut- Harn- Schranke deutlich entwickelt war. Interessant war auch das Verteilungsmuster von Glykogeneinlagerungen in Sammelrohrzellen der Urniere. Glykogen befand sich in mittlerem Fetalalter zwischen Kern und Basallamina der Zellen. Ab einer SSL von 86 cm war es dagegen diffus im Zytoplasma verteilt. Lichtmikroskopisch wies auch schon die deutliche PAS positive Reaktion der Sammelrohre auf große Glykogenreserven hin.

Östrogenrezeptor konnte in der Urniere und Nachniere der Embryonen und Feten nicht nachgewiesen werden, lediglich im proximalen Tubulus der Nieren adulter Tiere gab es eine geringe positive Reaktion, deren Spezifität aber fraglich war. Auch Progesteronrezeptoren fanden sich in der Urniere nur in geringer Zahl. In der Nachniere ließen sich Progesteronrezeptoren in etwas größerer Zahl darstellen. Bis zu einer SSL von 42 cm waren sie in den Nephrontstufen lokalisiert, von 11,0 cm bis 86,0 cm waren sie lumennah im distalen Tubulus nachweisbar. Bei Feten ab einer SSL von 42 cm und in Nieren adulter Tiere ließen sich Progesteronrezeptoren in den Gefäßwänden nachweisen. Laminin war histochemisch in den Basalmembranen der Glomerula der Urniere (besonders deutlich im Riesenglomerulum) und in verschiedenen Tubulusabschnitten darstellbar. In der Nachniere reagierten sowohl die Basalmembran der distalen wie auch der proximalen Tubulusabschnitte deutlich positiv. Der Pancytokeratinnachweis fiel in der Urniere vor allem in den Tubuli mit gleichmäßigem Epithel und in der Nachniere im distalen Tubulus deutlich positiv aus. Vimentin war in Gefäßen inklusive der Kapillarschlingen der Glomerula und Riesenglomerula zu finden.

Beim histochemischen Nachweis von Lektinbindungsstellen konnte ein charakteristisches Bindungsmuster in beiden Organen (Urniere, Nachniere) ermittelt werden. Concanavalin A in der Urniere band am stärksten im Epithel der Tubuli. In der Nachniere färbten sich bevorzugt die distalen Tubuli, Sammelrohre und die sich entwickelnden Nephrone an. Dolichos biflorus agglutinin besaß



---

Bindungsstellen in den Tubuli und im Stroma der Urniere sowie in der bindegewebigen Nierenkapsel der Nachniere. Griffonia simplifolia Lektin zeigte eine deutliche Affinität zu den Glomerula der Nachniere und Riesenglomerula der Urniere. Lens culinaris agglutinin wies zahlreiche Bindungsstellen auf, besonders an der Bowmankapsel der Glomerula. Peanut agglutinin band am stärksten an die Epithelzellen der distalen Tubuli. Phaseolus vulgaris agglutinin-E zeigte die größte Affinität zu den proximalen Tubuli und Glomerula. Phaseolus vulgaris agglutinin-L band an die Glomerula von Urniere und Nachniere sowie an die proximalen Tubuli. Pisum sativum agglutinin und Ricinus communis agglutinin zeigen eine deutliche Bindung an die proximalen Tubuli, Soybean agglutinin band an die distalen Tubuli der Nachniere. Wheat germ agglutinin wies zahlreiche Bindungsstellen in Urniere und Nachniere auf, die sich vor allem auf das Stroma konzentrieren. Succinyliertes wheat germ agglutinin dagegen band bevorzugt an das Epithel der distalen Tubuli der Nachniere. Bis zu einer SSL von 28 cm war auch eine starke Bindung im Bereich der proximalen Tubuli erkennbar, die im Lauf der weiteren Entwicklung allerdings deutlich abnahm.

Auffällig war, dass sehr häufig sich entsprechende Strukturen der Urniere und Nachniere ein vergleichbares Glykosylierungsprofil aufwiesen.

## 7. Summary

Development of the bovine meso- and metanephros

Using histology, immunohistochemistry, lectin histochemistry and electron microscopy the development of the bovine mesonephros and metanephros was studied. The mesonephroi of 8 embryos / fetuses with a crown- rump- length (CRL) of 1.5 cm to 7.0 cm and the metanephroi of 32 embryos/ fetuses with a CRL of 1.5 cm to 89.7 cm were investigated. Additionally, five kidneys of five adult animals have been evaluated.

The results of my study showed that the subcapsular blastem zone, the region where new nephrons originate, can still be found in fetuses at the end of pregnancy. The sequence of the development of nephrons in the bovine kidney is comparable with the nephron development in other species like mouse and humans. The diameter of the glomerula changed during development. Under a CRL of 30 cm, the diameter was usually bigger than 100  $\mu\text{m}$ . Later during development, the glomerular diameter transitionally decrease, usually ranging between 80  $\mu\text{m}$  and 100  $\mu\text{m}$ . At the end of pregnancy the glomerular diameter was still below 100  $\mu\text{m}$ . Postnatally a distinct increase of glomerular diameter could be observed and in adult animals the glomerular diameter was usually larger than 140  $\mu\text{m}$ . No gender differences in the size of glomerula were observed.

Using electron microscopy, a distinct blood-urine- barrier was already found in the mesonephros at a CRL of .1.5 cm. The distribution of glycogen in the epithelium of the tubular system changed during development. Whereas in fetuses with a CRL of 8.2 to 86 cm large amounts of glycogen were located between the nuclei and the basal cell membrane, in fetuses with a CRL greater than 86 cm glycogen was distributed throughout the cytoplasm of the cells. These observations could be confirmed by amylase sensitive PAS staining.

No estrogen receptors could be detected immunohistochemically in the bovine meso- and metanephros. A small amount of progester receptors (PR) were seen in the mesonephros and metanephros, usually expressed in the distal tubular system. A distinct immunostaining for PR was consistently found in the smooth muscle cells of vascular walls in fetuses larger than 42 cm and in the adult kidneys. Laminin could be detected by immunohistochemistry in the basal lamina of (large) glomerula of the mesonephros, and the various segments of the tubular system of embryos, fetuses and adult metanephroi. Cytokeratin was distinct in the epithelial cells of distal tubules of mesonephros and kidney. Vimentin showed an especially distinct immunostaining in smooth muscle cells of vascular walls.

A characteristic binding pattern of several lectins was found in bovine meso- and metanephroi. Concanavalin A showed a strong staining in epithelial cells of the tubules of the mesonephros. Dolichos biflorus agglutinin possesses binding sites in the tubules and the stroma of the mesonephros. Griffonia simplifolia lectin-I showed a distinct affinity to the glomerula in the metanephros and to and the giant glomerulum of the mesonephros. Lens culinaris agglutinin displayed many binding sites, especially to the Bowman capsule. Peanut agglutinin was mostly located to the distal tubules.

Phaseolus vulgaris agglutinin-E showed the greatest affinity to the proximal tubules and to glomerula. Phaseolus vulgaris agglutinin-L also bound to glomerula and proximal tubules. Pisum sativum agglutinin and Ricinus communis agglutinin showed the strongest binding to the proximal tubules. Soybean agglutinin strongly bound to distal tubules. Wheat germ agglutinin showed numerous binding sites in the developing and adult kidney. Succinylated wheat germ agglutinin had many binding sites in distal tubules of the kidney.

The corresponding structures of mesonephros and metanephros very often had an equal glycome profile.

## 8. Verzeichnisse

### 8.1. Literaturverzeichnis

- Abdel-Malek ET** (1950)  
Early development of the urogenital system in the chick  
*J. Morphol.* pp 599-626
- Alexander PD and Nixon DA** (1963)  
Reabsorption of glucose, fructose and mesoinositol by the foetal and post-natal sheep kidney.  
*J. Physiol.* , pp. 480-486
- Alexander PD, Nixon DA, Widdas WF and Wohlzogen FX** (1958)  
Renal funktion in the sheep foetus.  
*J. Physiol.* , pp. 14-22
- Andersoie C.n Shane S., Tsilibary EC and Charonis AS** (1993)  
Nonenzymatic glycosylation- induced modifications of intact bovine kidney tubular basement membrane  
*J. Clin. Invest.* , pp. 3045-3052
- Bard JBL, Gordon A, Sharp L and Sellers WI** (2001)  
Early nephron formation in the developing mouse kidney  
*J. Anat.* , pp. 385-392
- Barnville HL** (1914)  
The morphology and histology of a human embryo of 8,5mm  
*J. Anat. Physiol.*
- Baumgartner EA** (1910)  
Zur Entwicklungsgeschichte des Genitalkanals beim Rind  
*Universität Bern Dissertation*
- Baxter JS and Yoffey JM** (1948)  
The post-natal development of renal tubules in the rat  
*J. Anat.* , p. 189-197
- Beavan LA, Davies M and Mason RM** (1988)  
Renal glomerular proteoglycans (An investigation of their synthesis in vivo using a technique for fixation in situ)  
*Biochem. J.* , pp.411-418
- Birrell BG, Habliston DL, Nadakavukaren K and Griffith HO** (1985)  
Immunophotoelectron microscopy: The electron optical analog of immunofluorescence microscopy (photoelectron imaging/microtubules/colloidal gold/CV-1 epithelial cells)  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, pp. 109-113
- Bouchard M, Souabni A, Mandler M, Neubüser A and Buslinger M** (2002)  
Nephric lineage specification by pax 2 and pax 8  
*Genes Dev.*, 16 (22), pp. 2958- 2970
- Brown D C and Gatter KC** (2002)  
Ki 67 protein: the immaculate deception?  
*Histopathology* , pp.2-11
- Buchanan G and Fraser EA** (1918)  
The development of the urogenital system in the marsupialia, with special reference to trichosurus vulpecula part one  
*J. Anat.* , p. 35-96
- Buehr M, Gu Subin and McLaren A** (1993)  
Mesonephric contribution to testis differentiation in the fetal mouse.  
*Development*, pp. 273-281
- Bühler- Leuchte S** (2001)  
Untersuchungen zur prä-, peri- und postnatalen Nierenentwicklung beim Schwein  
*Univ. Vet. Med. Fak. Diss., München*
- Carleton A** (1937)  
Crossed ectopia of the kidney and its possible cause  
*J. Anat.* 1937/01; 71(Pt.2):p.292-298
- Carter AM and Enders AC** (2004)  
Comparative aspects of trophoblast development and placentation  
*Reprod Biol Endocrinol*, 2:46
- Clara M** (1965)  
Entwicklungsgeschichte des Menschen  
*Editio Leipzig Buch 6. Auflage*
- Clarke N and Dawson RMC** (1972)  
Localisation of d-myoinositol 1:2-cyclic phosphate 2-phosphohydrolase in rat kidney  
*Biochem. J.* (1972), 130, pp. 229-238
- Clothier RH, Worley RTS and Balls M** (1978)  
The structure and ultrastructure of the renal tubule of the urodele amphibian, *Amphiuma means*  
*J. Anat.* (1978), 127, 3, pp. 491-504
- Cook WF and Pickering GW** (1959)  
The location of renin in the rabbit kidney.  
*J. Physiol.* (1959), 149, pp. 526-536
- Cullen-McEwen LA, Caruana G and Bertram JF** (2005)  
The where, what and why of the developing renal stroma  
*Karger , Nephron Ex. Neph.*, Vol99, No1
- Davies J** (2001)  
Intracellular and extracellular regulation of ureteric bud morphogenesis.  
*J. Anat.* (2001), 198, pp. 257-267
- Davies J** (1951)  
Nephric development in the sheep with reference to the problem of the ruminant pronephros  
*J. Anat.* 1951/01; 85(1):p. 6-11 [janat.00475-0013.pdf](#)
- Dawson AG** (1972)  
Preparation and some properties of a suspension of fragmented tubules from rat kidney  
*Biochem. J.* (1972) 130,pp. 525-532
- De Haan RL and Ursprung H** (1965)  
Organogenesis  
*Holt, Rinehart and Winston, London, New York*
- Dousa TP and Barnes LD** (1974)  
Effects of colchicine and vinblastine on the cellular action of vasopressin in mammalian kidney  
A possible role of microtubules  
*J.Clin.Invest.*, 54, 08/1974- 252-262

- Dubach UC and Recant L** (1960)  
Enzymatic activity of the isolated glomerulus in normal and nephrotic rats  
*J. Clin. Invest.*, pp. 1364-1371
- Edwards MJ, Smith MSR and Freeman B** (2003)  
Measurement of the linear dynamics of the descent of the bovine fetal testis.  
*J. Anat.*, pp. 133-142
- Eklblom P, Sariola H, Karkinen-Jääskeläinen M and Saxen L** (1982)  
The origin of the glomerular endothelium  
*Cell Differ.*, 11(1), pp. 35-39
- Eklblom P, Alitalo K, Vaheri A, Timpl R and Saxen L** (1980)  
Induction of a basement membrane glycoprotein in embryonic kidney: Possible role of laminin in morphogenesis  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, pp. 485-489
- Eklblom P** (1981)  
Formation of basement membranes in the embryonic kidney: A immunohistological study  
*J. Cell. Biol.*, pp. 1-10
- Eklblom P, Thesleff, Irma, Saxen L, Miettinen A and Timpl R** (1983)  
Transferrin as a fetal growth factor: Acquisition of responsiveness related to embryonic induction  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; pp. 2651-2655
- Engelhardt Wv., Fromm M und Hierholzer K** (2000)  
Physiologie der Haustiere  
*Enke im Hippokratesverlag*
- Everett AD, Carey RM, Chevalier RL, Peach MJ., Gomez A and Geary Katalin M** (1990)  
Renin release and gene expression in intact rat kidney microvessels and single cells  
*J. Clin. Invest.* Vol.86, pp. 169-175
- Falk RJ, Dalmasso AP, Kim Y, Tsai Cheng H., Scheinman JI, Gewurz H and Michael AF** (1983)  
Neoantigen of the polymerized ninth component of complement  
*J. Clin. Invest.*, pp. 560-573
- Fernandez JG, Sanchez AJ, Melcon C, Chamorro CA, Garcia C and Paz P** (1994)  
Development of the chick thymus microenvironment: a study by lectin histochemistry  
*J. Anat.*, pp. 137-145
- Fischel A** (1929)  
Lehrbuch der Entwicklung des Menschen  
*Springer Verlag Buch*
- Fleming S and Jones DB** (1987)  
Immunocytochemical evidence for transferrin- dependent proliferation during renal tubulogenesis  
*J. Anat.*, pp. 191-201
- Fraser BA and Sato AG** (1989)  
Morphological sex differentiation in the human embryo: a light and scanning electron microscopic study  
*J. Anat.*, p. 61-74
- Fraser EA** (1919)  
The development of the urogenital system in the Marsupialia, with special reference to *Trichosurus vulpecula* part two  
*J. Anat.*, p. 97-129
- Fraser EA** (1920)  
The pronephros and early development of the mesonephros in the cat  
*J. Anat.*, pp. 287-304
- Gabius HJ and Gabius S** (1997)  
Glycosciences  
*Chapman & Hall*
- Gaeth AP, Short RV and Renfree MB** (1999)  
The developing renal, reproductive, and respiratory systems of the African elephant suggest an aquatic ancestry  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, pp. 5555-5558
- Gallo GR, Caulin-Glaser T and Lamm ME** (1981)  
Charge of circulating immune complexes as a factor in glomerular basement membrane localisation in mice  
*J. Clin. Invest.*, Vol. 67, pp. 1305-1313
- Garcia- Porrero JA, Ojeda JL and Hurle JM** (1978)  
Cell death during the postnatal morphogenesis of the normal rabbit kidney and in experimental renal polycystosis  
*J. Anat.*, 126, 2, pp. 303-318
- Gee NS and Kenny JA** (1985)  
Proteins of the kidney microvillar membrane  
*Biochem. J.*, Vol. 230, pp. 753-764
- Gerard P** (1936)  
Comparative histophysiology of the vertebrate nephron  
*J. Anat.*, p.354-379
- Gerfaux J, Chany-Fournier F, Bardos P, Muh JP and Chany C** (1979)  
Lectin- like activity of components extracted from human glomerular basement membrane  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 76, pp.5129-5133,
- Girgis A** (1926)  
Description of a human embryo of twenty- two paired somites  
*J. Anat.*, p.382-410
- Goldstone A, Koenig H, Nayyar R, Huges C and Lu Chung Y** (1973)  
Isolation and characterization of a rough microsomal fraction from rat kidney that is enriched in lysosomal enzymes  
*Biochem. J.*, pp. 259-266
- Grandel D** (2005)  
Isolierung und Charakterisierung der hämatopoetischen Stammzellen aus dem Nabelschnurblut beim Rind  
*Univ. Vet. Med. Fak. Dis., München*
- Graves FT** (1956)  
The aberrant renal artery  
*J. Anat.*, p.553-8
- Green MT, Heidger Jr. Paul M and Domingue G** (1974)  
Demonstration of the phenomena of microbial persistence and reversion with bacterial L-Forms in human embryonic kidney cells  
*Infect. Immun.*, pp. 889-914
- Hain AM and Robertson EM** (1937)  
Congenital urogenital anomalies in rats including unilateral renal agenesis  
*J. Anat.*, p.83-100
- Hart BD** (1901)  
A contribution to the morphology of the human urogenital tract  
*J. Anat. Physiol.*, pp.330-375
- Hees H und Sinowatz F** (2000)  
Histologie  
Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie  
*Deutscher Ärzte- Verlag*

- Herbst H** (2001)  
In situ Hybridisierung: Eine Sammlung von Labovorschriften  
*Gerhard- Domagk- Institut für Pathologie*
- Hiruma T and Nakaruma H** (2003)  
Origin and development of the pronephros in the chick embryo  
*J. Anat. , pp. 539-552*
- Houser MT, Scheinman JI, Basgen J, Steffes MW and Michael AF** (1982)  
Preservation of mesangium and immunohistochemically defined antigens in glomerular basement membrane isolated by detergent extraction  
*J. Clin. Invest., Vol.69, pp. 1169-1175*
- Howes GB** (1890)  
Variation in the kidney of the common thornback (Raia clavata): Its nature, range, and probable significance.  
*J. Anat. Physiol., pp 407- 422*
- Howie AJ, Smithson N and Rollason TP** (1993)  
Reconsideration of the development of the distal tubule of the human kidney  
*J. Anat. , pp. 141-147*
- Ivemark BI** (1958)  
Histochemical studies on the human foetal kidney (metanephros). Non specific phosphate-splitting enzymes  
*J.Anat., p. 98-109*
- Jacob M, Konrad K and Jacob HJ** (1999)  
Early development of the müllerian duct in avian embryos with reference to the human  
*Cell Tissues Organs, 164, pp. 63-81*
- Junqueira LC, Carneiro J and Gratzl M** (2005)  
Histologie  
*Springer Medizin Verlag Heidelberg 6. Auflage*
- Kanwar YS and Faquhar MG** (1979)  
Isolation of glycosaminoglycans (heparan sulfate) from glomerular basement membranes, Cell Biology  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, pp. 4493-4497*
- Kanwar YS, Jakubowski ML, Rosenzweig LJ and Gibbons JT** (1984)  
De novo cellular synthesis of sulfated proteoglycans of the developing renal glomerulus in vivo  
*Proc. Natl. Acad. Sci., 81, pp.7108-7111*
- Kazatchkine MD, Fearon DT, Appay MD, Mandet C and Bariety J** (1982)  
Immunohistochemical study of the human glomerular C3b receptor in normal kidney and in seventy- five cases of renal diseases  
*J. Clin. Invest., Vol. 69, pp. 900-912*
- Kenngott R** (2005)  
Licht- und Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur prä- und postnatalen Entwicklung des Eileiters beim Rind  
*Univ. Vet. Med. Fak. Diss., München*
- Khandekar M, Suzuki N, Lewton J, Yamamoto M and Engel James D** (2004)  
Multiple, distant Gata 2 enhancers specify temporally and tissue-specific patterning in the developing urogenital system  
*Mol. Cell. Biol. , pp. 10263- 10276*
- Kibel G, Heilhecker A and Bruchhausen Fv** (1976)  
Lipids associated with bovine kidney glomerular basement membranes  
*Biochem. J., 535-541*
- Kimmins S, Lim Hai C and MacLaren LA** (2004)  
Immunohistochemical localisation of integrin alpha V beta 3 and osteopontin suggests that they do not interact during embryo implantation in ruminants  
*Reprod. Biol. Endocrinol*
- König HE und Liebich HG** (1999)  
Anatomie der Haussäugetiere  
*Schattauer Verlag*
- Krothapalli RK and Suki WN** (1984)  
Functional characterization of the alpha adrenergic receptor modulating the hydroosmotic effect of vasopressin on the rabbit cortical collecting tubule  
*J. Clin. Invest, 73, pp. 740-749*
- Kumar A, Ota K, Wallner EI, Liu Zheng Z and Kanwar YS** (1997)  
Developmental regulation and the role of insulin and insulin receptor in metanephrogenesis  
*Proc. Natl. Acad.Sci.USA, pp.6758-6763*
- Kunz J** (1980)  
Histopathologie  
*VEB Verlag*
- Lakshmanan G, Lieuw KH, Lim KC, Gu Y, Grosveld F, Engel JD and Karis A** (1999)  
Localization of distant urogenital system-, central nervous system-, and endocardium-specific transcriptional regulatory elements in the GATA-3 Locus  
*Mol. Cell. Biol., pp. 1558-1568*
- Leeson TS** (1960)  
Electron microscopy of the developing kidney: An investigation into the fine structure of the mesonephros and metanephros of the rabbit  
*J.Anat., :94:pp. 100- 106*
- Leeson TS and Baxter J S** (1957)  
The correlation of structure and function in the mesonephros and metanephros of the rabbit  
*J.Anat., 91:p.383-90*
- Lewis OJ** (1958)  
The development of the blood vessels of the metanephros  
*J. Anat.,92: p. 84-97*
- Liebich HG** (2004)  
Funktionelle Histologie der Haussäugetiere  
*Schattauer GmbH Stuttgart Buch*
- Liu Zheng Z, Carone Frank A, Dalecki Tomasz M, Lelongt B, Wallner EI and Kanwar YS** (1912)  
Mannose- induced Dymorphogenesis of metanephric kidney.(Role of proteoglycans and adenosine triphosphate)  
*J. Clin.Invest., Vol.90, pp. 1205-1218*
- Lynch AM and McGivan JD** (1987)  
A rapid method for the reconstruction of Na-dependent neutral amino acid transport from bovine renal brush-border membranes  
*Biochem. J. Vol.244, pp. 503-508*
- Makino H, Gibbons JT, Reddy KM and Kanwar YS** (1986)  
Nephritogenicity of antibodies to proteoglycans of the glomerular basement membrane-I  
*J. Clin. Invest. , Vol.77, pp. 142-156*
- Mann PL and Waterman RE** (1998)  
Glycocoding as an information management system in embryonic development  
*Acta Anatomica, Vol. 161, No1-4, pp.153-161*
- Marples D, Christensen S, Christensen EI, Ottosen PD and Nielsen S** (1995)  
Lithium- induced downregulation of aquaporin-2 water channel expression in rat kidney medulla  
*J. Clin. Invest. , Vol. 95, pp. 1838-1845*

- McCance RA and Stanier MW** (1960)  
The function of the metanephros of foetal rabbits and pigs  
*J. Physiol.*, 151, pp. 479-483
- Michel G** (1995)  
Vergleichende Embryologie der Haustiere  
*Gustav Fischer Verlag Jena 3. Auflage*
- Mischke A** (1997)  
Makroskopisch- und mikroskopisch- anatomische Untersuchungen an Herz, Nieren und Nebennieren von normalgeschlachteten Bullen und Färsen der Rasse Holstein-Friesian  
*Univ. Vet. Med. Fak. Diss., Berlin*
- Moore KL** (1985)  
Lehrbuch und Atlas der Entwicklungsgeschichte des Menschen  
*Schattauer, Toronto/Ontario 2. Auflage*
- Moreira F, Paula-Lopez FF, Hansen PJ, Badinga L and Thatcher WW** (2002)  
Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I in the development of in vitro derived bovine embryos  
*Theriogenology*, 57, pp. 895- 907
- Morris SM, Tallquist MD, Rock CO and Cooper JA** (2002)  
Dual roles for the Dab 2 adaptor protein in embryonic development and kidney transport  
*The EMBO J. Vol. 21 No7, pp. 1555-1564*
- Müller W und Hassel M** (2003)  
Entwicklungsbiologie und Reproduktionsbiologie von Mensch und Tieren  
*Springer Verlag Berlin*
- Murti KG, Smith HT and Fried VA** (1988)  
Ubiquitin is a component of the microtubule network  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 85*
- Navarro M, De Ruiter MC, Carretero A and Ruberte J** (2003)  
Microvascular assembly and cell invasion in chick mesonephros grafted onto chorioallantoic membrane  
*J. Anat.*, pp. 213-225
- Neely JD, Amiry-Moghaddam M, Ottersen OP, Froehner SC, Agre P and Adams ME** (2001)  
Syntrophin-dependent expression and localization of aquaporin-4 water channel protein  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA, pp 14108-13*
- Nickel R, Schummer A und Seiferle E** (2004)  
Lehrbuch der Anatomie der Haussäugetiere Band 2 Eingeweide  
*Parey Verlag MVS, 9. Auflage*
- Nielsen S, Digiovanni SR, Christensen EI, Knepper MA and Harris WH** (1993)  
Cellular and subcellular immunolocalization of vasopressin regulated water channel in rat kidney  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, pp. 11663-11667*
- Nobuhisa I, Takizawa M, Takaki S, Inoue H, Okita K, Ueno M, Takatsu Kand Taga T** (2003)  
Regulation of hematopoietic development in the aorta-gonad-mesonephros region mediated by Lnk adaptor protein  
*Mol. and Cell. Biol.*, p. 8486-8494 Vol. 23
- Otto DME, Henderson CJ, Carrie D, Davey M, Gundersen TE, Blomhoff R, Adams RH, Tickle C and Wolf CR** (2003)  
Identification of novel roles of the cytochrome P450 system in early embryogenesis: Effects on vasculogenesis and retinoic acid homeostasis  
*Mol. and Cell. Biol.*, p. 6103-6116 Vol. 23
- Pettit FH, Yeaman SJ and Reed LJ** (1978)  
Purification and characterisation of branched chain alfa- keto acid dehydrogenase complex of bovine kidney  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 75, No. 10*
- Pickel VM, Nirenberg MJ, Chan J, Moscovitz R, Udenfriend S and Tate SS** (1993)  
Ultrastructural localization of a neutral and basic amino acid transporter in rat kidney and intestine  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 90, pp. 7779- 7783*
- Raimbach SJ and TAL** (1990)  
Renin and Angiotensin converting enzyme concentrations in the fetal and neonatal Guinea-Pig  
*J. of Physiology*, 423, pp. 441-451
- Reiser J, Polu KR, Möller CC, Kenlan P, Altintas MM, Wei C, Faul C, Herbert S, Villegas I, Avila-Casado C, McGee M, Sugimoto H, Brown D, Kalluri R, Mundel P, Smith PL, Clapham DE and Pollak MR** (2005)  
TRPC6 is a glomerular slit diaphragm- associated channel required for normal renal funktion  
*Nat. Genet.*, 37(7), pp. 739-744
- Rhodin JAG** (1963)  
An atlas of ultrastructure  
*WB Saunders Company*
- Romeis B, Böck PH, Denk H, Künzle H, Plenck H, Rüschoff J and Sellner W** (1989)  
Mikroskopische Technik/ Romeis  
*Urban und Schwarzenberg Mchn 17. Auflage*
- Roth J, Taatjes DJ, Bitter-Sauermann D and Finne J** (1987)  
Polysialic acid units are spatially and temporally expressed in developing postnatal rat kidney  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 84, pp. 1969-1973*
- Rüsse I und Sinowatz F** (1998)  
Lehrbuch der Embryologie der Haustiere  
*Parey Buchverlag Berlin 2. unveränderte Auflage*
- Rusu D, Loret S, Peulen O, Mainil J and Dandriofosse G** (2005)  
Immunochemical, biomolecular and biochemical characterisation of bovine epithelial intestinal primocultures  
*BMC Cell Biolog*, 6:42
- Satoh M** (1991)  
Histogenesis and organogenesis of the gonad in human embryos  
*J. Anat.*, 177, pp. 85-107
- Schedl A** (2007)  
Renal abnormalities and their developmental origin  
*Nat. Rev. Genet.*, Vol. 8, pp. 791-802
- Scoble JE, Mills S and Hruska KA** (1985)  
Calcium transport in canine renal basolateral membrane vesicles (Effects of parathyroid hormone)  
*J. Clin. Invest.*, Vol. 75, pp. 1096-1105
- Smith C and Mackay S** (1991)  
Morphological development and fate of the mouse mesonephros  
*J. Anat.*;174:p. 171-184
- Smith HW, Goldring W and Chasis H** (1938)  
The measurement of the tubular excretory mass, effective blood flow and filtration rate in the normal human kidney.  
*J. Clin. Invest.*;17 (3):p.263-78
- Smith PR, Saccomani G, Joe EH, Angelides KJ and Benos DJ** (1991)  
Amiloride-sensitive sodium channel is linked to the cytoskeleton in renal epithelial cells  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, pp. 6971-6975*



- Spitzer A and Brandis M** (1974)  
Functional and morphologic maturation of the superficial nephrons  
*J.Clin. Invest.*, Vol. 53 , pp. 279-287
- Starck D** (1982)  
Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere (auf evolutionsbiologischer Grundlage) Band 3  
*Springer- Verlag*
- Sutcliffe HS, Martin TJ, Eisman JA and Pilczyk R** (1973)  
Binding of parathyroid hormone to bovine kidney- cortex plasma membranes  
*Biochem. J.*, 134, pp. 913-921
- Takenaka K, Nakagawa H, Miyamoto S and Miki H** (2004)  
The pre-mRNA- splicing factor SF3a66 functions as a microtubule- binding and -bundling protein  
*Biochem. J.*, 382, pp. 223-230
- Töhönen V, Frygeliuss J, Mohammadieh M, Kvist U, Pelliniemi LJ, O'Brien K, Nordqvist K and Wedell A** (2005)  
Normal sexual development and fertility in testian knockout mice  
*Mol. Cell. Biol.*, p. 4892-4902
- Ullman SL** (1984)  
Early differentiation of the testis in the native cat, dasyurus viverrinus (marsupialia)  
*J. Anat.*, 138, 4, pp. 675-688
- Ullman SL** (1989)  
Ovary development in bandicoots: sexual differentiation to follicle formation  
*J.Anat. p.* 45-60
- Vazquez MD, Bouchet P, Mallet JL, Foliguet B, Gerard H and Le Heup B** (1998)  
3D reconstruction of the mouse's mesonephros  
*Anat. Histol. Embryol.*, 27, pp. 283-287
- Wang R, Li Q and Tang DD** (2006)  
Role of Vimentin in smooth muscle force development  
*Am .J. Physiol Cell Physiol* 291 (3) pp. 483-489
- Welsh C, Dubyak G and Douglas J** (1988)  
Relationship between phospholipase C activation and prostaglandin E2 and cyclic adenosine monophosphate production in rabbit tubular epithelial cells  
*J. Clin. Invest. Vol. 81*, pp. 710-719
- Williams PD, Bennett DB, Gleason CR and Hottendorf GH** (1987)  
Correlation between renal membrane binding and nephrotoxicity of aminoglycosides  
*Antimicrob. Agents Chemother.*
- Wilson LB** (1913)  
The embryogenetic relationships of tumors of the kidney, suprarenal, and testicle  
*Ann. Surg.*;57(4): p.522-535
- Wrobel KH** (2001)  
Morphogenesis of the bovine rete testis: extratesticular rete, mesonephros and establishment of the definitive urogenital junction.  
*Anat. Embryol* , 203, pp. 293-307
- Yaniz JL, Lopez-Gatius F, Santolaria P and Mullins JK** (2000)  
Study of the functional anatomy of bovine oviductal mucosa  
*The Anatomical Record*, 260, pp. 268-278
- Zaar K, Völkl A and, Fahimi DH** (1989)  
D- aspartate oxidase in rat, bovine and sheep kidney cortex is localized in peroxisomes  
*Biochem. J.*, 261, pp. 233-238

## 8.2. Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µm	Mikrometer
Aa	Arteriae
abs	absolut
BRN-1	Brain POU domain gene 1
bzw	Beziehungsweise
cm	Zentimeter
CON A	Concanavalin A
DBA	Dolichos biflorus Agglutinin
DLL 1	Delta like1, NOTCH Ligand
FGF 8	Fibroblast growth factor 8
GDNF	Glial derived neurotropic factor
ggf	Gegebenenfalls
GSL I	Griffonia simplicifolia Lektin I
HE	Hämatoxylin Eosin
IgG	Immunglobulin Gamma
Irx 3	Iroquois related homeobox 3
LCA	Lens culinaris Agglutinin
LIM-1	Transkriptionsfaktor, wichtig für Nieren- und Kopfentwicklung
nm	Nanometer
NOTCH 1	NOTCH gene homolog 1
p. c.	post coitum
p. p.	post partum
PAS	Periodic acid Schiff Reaction
PDGF	Platelet derived growth factor
pH	pondus Hydrogenii, Maß für Säurestärke
PHA E	Phaseolus vulgaris Agglutinin E
PHA L	Phaseolus vulgaris Agglutinin L
PNA	Peanut Agglutinin
PSA	Pisum sativum Agglutinin
RA	Retinoic acid, Retinsäure
RCA I	Ricinus communis Agglutinin I
RET Rezeptor	Ret proto- oncogene- receptor
SBA	Soybean Agglutinin
SJA	Sophora japonica Agglutinin

---

SLC Gene	solute carrier gene
SR	Sammelrohr
SSL	Scheitel- Steiß- Länge
UEA I	Ulex europaeus Agglutinin I
V	Vena
VEGF	Vascular endothelial growth factor
WGA	Wheat germ Agglutinin
WGA succ	succinyliertes Wheat germ Agglutinin
WNT 11	Ligand Nr 11 des gleichnamigen Signalweges
WNT- $\beta$ -Kateinin	Catherin associated protein beta
X laevis	Xenopus laevis, Glatter Krallenfrosch
ZNS	Zentrales Nervensystem

**8.3. Verzeichnis der Tabellen**

<b>Tab. 1</b>	Untersuchungsmaterial Embryonen und Feten	<b>17</b>
<b>Tab. 2</b>	Untersuchungsmaterial adulte Tiere	<b>18</b>
<b>Tab. 3</b>	Proben für Elektronenmikroskopie	<b>21</b>
<b>Tab. 4</b>	Glomerula-Durchmesser	<b>28</b>
<b>Tab. 5</b>	Histologische Routinefärbungen	<b>30</b>
<b>Tab. 6</b>	PAS Auswertung Urniere	<b>31</b>
<b>Tab. 7</b>	Auswertung PAS Nachniere	<b>33</b>
<b>Tab. 8</b>	Alcianblau-Färbung Urniere	<b>34</b>
<b>Tab. 9</b>	Alcianblau-Färbung Nachniere	<b>35</b>
<b>Tab. 10</b>	Goldner Urniere	<b>37</b>
<b>Tab. 11</b>	Goldner Nachniere	<b>37</b>
<b>Tab. 12</b>	Östrogenrezeptor Urniere	<b>52</b>
<b>Tab. 13</b>	Östrogenrezeptor Nachniere	<b>52</b>
<b>Tab. 14</b>	Progesteron Urniere	<b>53</b>
<b>Tab. 15</b>	Progesteronrezeptor Nachniere	<b>53</b>
<b>Tab. 16</b>	Laminin Urniere	<b>55</b>
<b>Tab. 17</b>	Laminin Nachniere	<b>55</b>
<b>Tab. 18</b>	Cytokeratin Urniere	<b>56</b>
<b>Tab. 19</b>	Cytokeratin Nachniere	<b>56</b>
<b>Tab. 20</b>	Vimentin Urniere	<b>58</b>
<b>Tab. 21</b>	Vimentin Nachniere	<b>58</b>
<b>Tab. 22</b>	Auswertung ConA an Ur- und Nachniere	<b>59</b>
<b>Tab. 23</b>	Auswertung DBA an Ur- und Nachniere	<b>61</b>
<b>Tab. 24</b>	Auswertung GSL-I an Ur- und Nachniere	<b>63</b>
<b>Tab. 25</b>	Auswertung LCA an Ur- und Nachniere	<b>64</b>
<b>Tab. 26</b>	Auswertung LCA an Ur- und Nachniere	<b>66</b>
<b>Tab. 27</b>	Auswertung PHA-E an Ur- und Nachniere	<b>68</b>
<b>Tab. 28</b>	Auswertung PHA-L an Ur- und Nachniere	<b>70</b>
<b>Tab. 29</b>	Auswertung PSA an Ur- und Nachniere	<b>71</b>
<b>Tab. 30</b>	Auswertung RCA an Ur- und Nachniere	<b>72</b>
<b>Tab. 31</b>	Auswertung SJA an Ur- und Nachniere	<b>74</b>
<b>Tab. 32</b>	Auswertung SBA an Ur- und Nachniere	<b>75</b>
<b>Tab. 33</b>	Auswertung UEA-I an Ur- und Nachniere	<b>76</b>
<b>Tab. 34</b>	Auswertung WGA an Ur- und Nachniere	<b>77</b>
<b>Tab. 35</b>	Auswertung WGA succ. an Ur- und Nachniere	<b>79</b>

#### 8.4. Verzeichnis der Abbildungen

Bild 1: HE Färbung, adultes Tier, Gefäßpol eines Glomerulums mit Macula densa und Polkissenzellen im Vas afferens, 250 fach.....	16
Bild 2: Präparation der Embryonen/ Feten mit einer SSL von 2-10 cm: .....	19
Bild 3: HE, 3,5 cm SSL, bovine Urniere (A), Nachniere (B); das Riesenglomerulum (C) ist nur teilweise angeschnitten, 1.6 Lupenvergrößerung .....	26
Bild 4: HE, 86 cm SSL, junges Glomerulum, einige Anschnitte von proximalen und distalen Tubuli, 250 fach .....	27
Bild 5: HE Beispiel für die Bestimmung der Glomerulagröße. Messlinien verdickt und gefärbt. Vergr. 250fach.....	29
Bild 6: PAS mit Amylasevorbehandlung, 7,0 cm SSL, Urniere, Riesenglomerulum, 400 fach .....	31
Bild 7: PAS ohne Amylasevorbehandlung, 18,3 cm SSL, starke Reaktion in den Sammelrohren, 250 fach .....	32
Bild 8: PAS mit Amylasevorbehandlung, 22,3 cm SSL, Glomerulum mit Übergang zum Harnpol, 250 fach .....	32
Bild 9: Alcianblau pH 1, 5,0 cm SSL, Urniere, 100 fach .....	34
Bild 11: Goldner, 69,3 cm SSL Glomerulum Gefäß- und Harnpol, distale Tubuli um den Gefäßpol, 400 fach, .....	36
Bild 10: Goldner, 51,5 cm SSL, Gefäßpol eines Glomerulums, 1000 fach.....	36
Bild 12: Heidenhain, 1,5 cm SSL, Podozyten und kernhaltige Erythrozyten im Riesenglomerulum einer Urniere, 1000fach .....	38
Bild 13: Heidenhain, 69,3 cm SSL, Gefäßpol eines Glomerulums, Erythrozyten pechschwarz, 400 fach, .....	38
Bild 14: Versilberung, 3,5 cm SSL, Urniere, Serienschnitt, Urnierengang und Riesenglomerulum angeschnitten, Darmanschnitt, 40 fach .....	39
Bild 15: Versilberung, 7,0 cm SSL, Urniere, Wolff Gang, 250 fach .....	39
Bild 16: 86 cm SSL, Glomerulum Kapillaranschnitte und Podozyten.....	40
Bild 17: 2,8 cm SSL, Urniere, Podozyten mit Fortsätzen, Erythrozyt in einer Gefäßschlinge des Riesenglomerulums.....	41
Bild 18: 2,8 cm SSL, Urniere, Tubulusabschnitt mit proximalem Tubulus der Nachniere vergleichbar	42
Bild 19: 2,8 cm SSL, Urniere, Tubulusabschnitt mit distalem Tubulus der Nachniere vergleichbar .....	42
Bild 20: 5,7 cm SSL, Blut- Harn- Schranke in einer Urniere .....	43
Bild 21: 28 cm SSL, Proximaler Tubulus .....	44
Bild 22: 28.0 cm SSL, Distaler Tubulus .....	45
Bild 23: 86 cm SSL, Große Ansammlungen von Glykogen im Zytoplasma der Sammelrohrzellen .....	46
Bild 24: 28 cm SSL, Zilie im Sammelrohrlumen .....	47
Bild 25: 28 cm SSL, Konzentrierte Glykogenansammlungen (siehe Pfeile) im Sammelrohr .....	48
Bild 26: 11 cm SSL, Glomerulum mit Podozyten und Bowmankapsel.....	49
Bild 27: 28 cm SSL, Glomerulum: Epithel der Bowman- Kapsel proximaler Tubulus.....	50
Bild 28: 5,7 cm SSL, Ausschnitt der Macula densa, .....	51
Bild 29: Östrogenrezeptornachweis in der Niere eines adulten Bullen, minimale positive Reaktion am proximalen Tubulus .....	52
Bild 30: Progesteronrezeptor, 3,5 cm SSL, im distalen Tubulus im Bereich der Macula densa eines jungen Glomerulums .....	54
Bild 31: Progesteronrezeptor, adulte Kuh, in vereinzelt Zellkernen im Sammelrohr .....	54
Bild 32: Laminin, 1,5 cm SSL, Urniere Basallamina der Tubuli und Kapillarwände .....	55
Bild 33: Laminin, 18 cm SSL, .....	55
Bild 34: Cytokeratin; 11,0 cm SSL, distaler Tubulus (A) und kleines Sammelrohr (B) positiv.....	57
Bild 35: Cytokeratin; 18,0 cm SSL, .....	57
Bild 36: Vimentin, 7,0 cm SSL, Urniere positiv im Riesenglomerulum viszerale Blatt der Bowman Kapsel.....	58
Bild 37: Vimentin, 3,5 cm SSL, Nachniere positiv im Basalbereich der noch unreifen Podozyten des Glomerulums .....	58
Bild 38: Urniere, 1,5 cm SSL, ConA wird von Zellen der Tubuli mit gleichmäßigem Epithel gebunden. . Starke Eigenfluoreszenz der Erythrozyten , Balken = 50µm .....	60

Bild 39: Nachniere, 18,0 cm SSL, ConA teilweise stark positiv in Zellen des Sammelrohres, einige Zellen nur leicht positiv oder negativ Balken= 50µm.....	60
Bild 40: DBA, 1,5 cm SSL, leicht positive Reaktion im Riesenglomerulum, bei keinem älteren Stadium zeigte sich hier eine Reaktion, stark positive Zellen sind Erythrozyten, Balken= 50 µm .....	62
Bild 41: DBA , 1,5 cm SSL, leicht positive Reaktion der Tubuli der Urniere, luminal an einem schmalen Streifen stärker positiv, Balken= 50 µm.....	62
Bild 42: GSL-I, 7,0 cm SSL Urniere stark positives Riesenglomerulum, Balken= 20 µm.....	63
Bild 43: GSL-I, 9,0 cm SSL Nachniere positives Glomerulum, stark positives Endothel einer Arterie, Balken= 50 µm .....	63
Bild 44: LCA, 1,5 cm SSL, Urniere stark positive Reaktion an den Harnpolen des Riesenglomerulums, positive Glomerulumschlingen, Balken= 50 µm .....	65
Bild 45: LCA, 86 cm SSL, Nachniere stark positiver Harnpol, stark positive proximale Tubuli, Balken= 50 µm.....	65
Bild 46: PNA, 7,0 cm SSL, positiv am Riesenglomerulum, leicht positiv an der Bowmankapsel, stark positiv lumenseitig an Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, Balken= 50 µm .....	67
Bild 47: PNA , 28,0 cm SSL, stark positive Bereiche in der subkapsulären Blastemzone, Balken= 50 µm .....	67
Bild 48: PHA-E, 7,0 cm SSL, Urniere deutlich positive Tubuli mit unregelmäßigem Epithel , Balken= 50 µm .....	68
Bild 49: PHA-E, 7,0 cm SSL, Urniere Negativkontrolle zum Vergleich, starke Eigenfluoreszenz der Erythrozyten, Balken= 50 µm.....	68
Bild 50: PHA-L , 9,0 cm SSL, Nachniere mit stark positivem Glomerulum, positive proximale Tubuli, Balken= 50 µm .....	69
Bild 51: Der gleiche Schnitt in Dapi- Kernfärbung, wie links 9,0 cm SSL, Balken= 50 µm .....	69
Bild 52: PHA-L, 3,5 cm SSL, Urniere Tubulusübergang von unregelmäßigen (stark positiv) zu gleichmäßigem Epithel, Balken = 50 µm.....	70
Bild 53: PHA-L, 5,0 cm SSL, Urniere positives Riesenglomerulum, stark positive Harnpole, Balken = 50 µm.....	70
Bild 54: PSA, 28,0 cm SSL, stark positive proximale Tubuli und Harnpole der Nachniere, Balken= 50 µm .....	71
Bild 55: PSA, 3,5 cm SSL, Urniere stark positive Harnpole, positives Riesenglomerulum, Balken= 50 µm .....	71
Bild 56: RCA , 9,0 cm SSL, positiv in Nephronbildungsstufen, stark positiv im proximalen Tubulus, Balken= 50 µm .....	72
Bild 57: RCA, 9,0 cm SSL, Kerne des Schnittes aus Bild 56 zum Vergleich, Balken= 50 µm .....	72
Bild 58: RCA, 9,0 cm SSL, positiv an Glomerulumschlingen und besonders an proximalen Tubuli, Balken= 50 µm .....	73
Bild 59: RCA, 3,5 cm SSL, Gefäßschlingen des Riesenglomerulums, Balken= 50 µm .....	73
Bild 60: SBA, 5 cm SSL, Positive Reaktion der Tubuli mit gleichmäßigem Epithel, besonders lumenseitig, Balken= 50 µm.....	75
Bild 61: SBA, adulter Bulle, distale Tubuli stark positiv, Balken= 50 µm .....	75
Bild 62: UEA-I, 3,5cm SSL, leichte Reaktion der sich entwickelnden Nephrene, die leuchtend positiven Zellen sind Erythrozyten, welche jedoch generell eine ausgeprägte Eigenfluoreszenz zeigen, Balken= 50 µm....	76
Bild 63: Inkubation mit WGA-FITC, 7 cm SSL, Urniere Stark positiv gefärbte Gefäßschlingen im Riesenglomerulum, Balken= 50 µm.....	78
Bild 64: WGA, 1,5 cm SSL,Urniere, stark positive Gefäßwand der Vena kardinalis posterior und der Glomerulumschlingen und der Erythrozyten, Balken= 50 µm.....	78
Bild 65: WGA, 28 cm SSL, Nachniere, positiv in Tubuli und Glomerulum, Balken= 50 µm .....	78
Bild 66: WGA, 9,0 cm SSL, Nachniere, positiv in der subkapsulären Blastemzone an Nephronbildungsstufen, Balken= 50 µm .....	78
Bild 67: WGA succ. ....	79
Bild 68: WGA succ., 18 cm SSL. deutlich positive Tubuli, positive Glomeruli, Balken= 50 µm.....	79

## 9. Anhang

### 9.1. *Lichtmikroskopie*

#### 9.1.1 H.E.- Färbung / Hämalau- Eosin

Proben zweimal 10 min ins Xylol, dann absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest. Anschließend 20 min Kernfärbung mit Hämalau und dann 20 min in fließendem Leitungswasser bläuen.

Nun 10min mit Eosin färben und in Aqua dest. spülen.

Zum Schluss aufsteigende Alkoholreihe, 2 mal 5 min Xylol.

Eindecken mit Eukitt.

Färbt Kerne violett, übriges Gewebe rosa bis rot.

#### 9.1.2 Trichromfärbung nach Masson und Goldner

Proben zweimal 10 min ins Xylol, dann absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.

60 sec. Eisenhämatoxylin nach Weigert.

3 mal spülen in Aqua dest.

10 min in fließendem Leitungswasser spülen.

5 min ins Azophloxin

Gut in 1% iger Essigsäure spülen

5 min gegenfärben mit Lichtgrün

Gut in 1% iger Essigsäure spülen

Zum Schluss aufsteigende Alkoholreihe, 2 mal 5 min Xylol.

Eindecken mit Eukitt.

Färbt Kerne braunschwarz, Cytoplasma ziegelrot, Erythrozyten rot, Bindegewebe und Schleim grün

#### 9.1.3 PAS- Reaktion nach McManus ohne Amylase

Proben zweimal 10 min ins Xylol, dann absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.

5 min in 0,5% ige Perjodsäurelösung

Spülen in Aqua dest.

15 min in Schiff'sches Reagenz (Fuchsin-schwefelige Säure)

3 mal 2 min in SO<sub>2</sub>-Wasser

5 min fließendes Leitungswasser

3-5 min Hämalau

15 min fließendes Leitungswasser

Zum Schluss aufsteigende Alkoholreihe, 2 mal 5 min Xylol.

Eindecken mit Eukitt.



#### 9.1.4 PAS mit Amylasevorbehandlung

0,5% Amylase in Aqua dest. Ansetzen

Proben zweimal 10 min ins Xylol, dann absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.

Objektträger in feuchte Kammern

pro Schnitt 100µl Amylase auftragen

10 min in Brutschrank

Spülen mit Aqua dest.

5 min in 0,5% ige Perjodsäurelösung

Spülen in Aqua dest.

15 min in Schiff'sches Reagenz (Fuchsin-schwefelige Säure)

3 mal 2 min in SO<sub>2</sub> –Wasser

5 min fließendes Leitungswasser

3-5 min Hämalun

15 min fließendes Leitungswasser

Zum Schluss aufsteigende Alkoholreihe, 2 mal 5 min Xylol.

Eindecken mit Eukitt.

Färbt PAS positive Substanzen rosa

#### 9.1.5 Alcianblau für saure Mukosubstanzen pH 2,5

Proben zweimal 10 min ins Xylol, dann absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.

3 min in 3%ige Essigsäure

30 min in 1%iges Alcianblau8GX (in 3% Essigsäure, pH 2,5)

Kurz in 3%iger Essigsäure spülen

Spülen in Aqua dest.

3- 5 min in Kernechtrot

Spülen in Aqua dest.

Zum Schluss aufsteigende Alkoholreihe, 2 mal 5 min Xylol.

Eindecken mit Eukitt.

#### 9.1.6 Alcianblau für sulfatierte Mucosunstanzen

Proben zweimal 10 min ins Xylol, dann absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.

3 min in 0,1N Salzsäure

30 min in 1%iges Alcianblau8GX (in 0,1N Salzsäure, pH 1,0)

Kurz in 0,1N Salzsäure spülen

Spülen in Aqua dest.

3- 5 min in Kernechtrot

Spülen in Aqua dest.

Zum Schluss aufsteigende Alkoholreihe, 2 mal 5 min Xylol.

---

Eindecken mit Eukitt.

Ergebnis: Saure Mukosubstanzen erscheinen leuchtend blau, Kerne hellrot, der Hintergrund zartrosa. Um zwischen Karboxyl- und Sulfatgruppen differenzieren zu können führt man die Färbung bei einem pH von 1,0 zusätzlich zu pH 2,5 aus, denn bei einem pH von 1,0 färben sich nur sulfatierte Mucosubstanzen leuchtend blau.

#### 9.1.7 Silberimprägnation nach Gomori

Proben zweimal 10 min ins Xylol, dann absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.

90sec in 0,5%ige Kaliumpermanganatlösung

5min in Leitungswasser

1min in 2%ige Kaliumdisulfidlösung

5min in Leitungswasser

1min in Eisenammoniumsulfatlösung

4min in Leitungswasser

2mal 2min in Aqua dest.

1min in ammoniakalische Silbernitratlösung

7sec Aqua dest.

5min Formol- Leitungswasser 1:9

5min Leitungswasser

10min Goldchloridlösung

Spülen in Aqua dest.

1min Kaliumdisulfit 2%ig

1min Natriumthiosulfat 1%ig

Auswaschen in Leitungswasser

Spülen in Aqua dest.

Zum Schluss aufsteigende Alkoholreihe, 2 mal 5 min Xylol.

Eindecken mit Eukitt.

!! Exakt die Zeiten einhalten!!

#### 9.1.8 Heidenhains Eisenhämatoxylin

Eisenalaunlösung: Ammonium-Eisen(III)-Sulfat 10%ig in Aqua dest. ohne Erwärmen ansetzen, vor Verwendung 1:4 verdünnen

Hämateinlösung: 0,5g Hämatoxylin in 10 ml 96%igem Ethanol, verdünnen mit 90ml Aqua dest. (Lsg. 4 Wochen an der Luft reifen lassen→ Oxidation), vor Gebrauch 1:1 mit Aqua dest. verdünnen.

Proben zweimal 10 min ins Xylol, dann absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.

12h beizen in Eisenalaun

2mal Spülen in Aqua dest.

4h färben mit Hämatoxylin

Differenzieren in oben schon verwendeter Eisenalaunlg. (Mikroskopische Kontrolle, je nach Gewebe und Schnittdicke sehr unterschiedliche Differenzierungszeiten)

10min in fließendem Wasser spülen

Zum Schluss aufsteigende Alkoholreihe, 2 mal 5 min Xylol.

## 9.2. Immunhistologie

### Progesteron und Estrogen (Mikrowellenvorbehandlung):

- A) Schnitte 24 h Wärmeschrank
- B) Alkoholreihe: 30 min Xylol 1, 30 min Xylol 2, kurz in Isopropanol 1, kurz in Isopropanol 2, 96%igen Ethanol, 70%igen Ethanol, 5 min Aqua dest1, 5 min Aqua dest.2
- C) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- D) Citratpuffer; 3 mal 10 min MW danach 20 min abkühlen lassen RT
- E) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- F) Endogene Peroxidase hemmen mit 50 ml Hydrogenperoxid plus 150 ml Aqua dest. 10 min RT
- G) Leitungswasser fließend 10 min
- H) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- I) Dako Protein Block Serum- Free 10 min RT
- J) Primärantikörper über Nacht im Kühlschrank (1:400 Estrogen, 1: 200 Progesteron)
- K) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- L) jeweiliger Zweitantikörper 1:300 30 min RT
- M) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- N) Streptavidin- Biotin Horseradish Peroxidase Complex (Dako) 30 min RT
- O) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- P) DAB-Hydrogenperoxidlsg. 8min RT
- Q) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- R) Kerne 60 sec mit Hämalaun gegenfärben
- S) 10 min Leitungswasser fließend
- T) Entwässern in Alkohol Xylol, mit Eukitt eindecken

---

Grundprotokoll:

- A) Schnitte 24 h Wärmeschrank
- B) Alkoholreihe: 30 min Xylol 1, 30 min Xylol 2, kurz in Isopropanol 1, kurz in Isopropanol 2, 96%igen Ethanol, 70%igen Ethanol, 5 min Aqua dest1, 5 min Aqua dest.2
- C) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- D) Vorbehandlung laut Hersteller mit Protease/ Trypsin oder ähnlichem
- E) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- F) Endogene Peroxidase hemmen mit 50 ml Hydrogenperoxid plus 150 ml Aqua dest. 10 min RT
- G) Leitungswasser fließend 10 min
- H) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- I) Dako Protein Block Serum- Free 10 min RT
- J) Primärantikörper über Nacht im Kühlschrank (1:400 Estrogen, 1: 200 Progesteron)
- K) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- L) jeweiliger Zweitantikörper 1:300 30 min RT
- M) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- N) Streptavidin- Biotin Horseradish Peroxidase Complex (Dako) 30 min RT
- O) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- P) DAB-Hydrogenperoxidlg. 8min RT
- Q) 3 mal 5 min Waschen in PBS
- R) Kerne 60 sec mit Hämalaun gegenfärben
- S) 10 min Leitungswasser fließend
- T) Entwässern in Alkohol Xylol, mit Eukitt eindecken

### 9.3. Lektine

Lektine von Sigma Aldrich an Floureszeinisothiozyanat gebunden

#### Grundprotokoll:

- A) Schnitte 24 h Wärmeschrank
- B) Alkoholreihe: 30 min Xylol 1, 30 min Xylol 2, kurz in Isopropanol 1, kurz in Isopropanol 2, 96%igen Ethanol, 70%igen Ethanol, 5 min Aqua dest1, 5 min Aqua dest.2
- C) 3 mal je 5min in TRIS Puffer spülen,  
entsprechende Lektinverdünnung in TRIS (bei Negativkontrolle nur Puffer) 60 min Dunkel!  
einwirken lassen,  
3mal je 5 min spülen in TRIS Puffer Dunkel!
- D) Dapi 1:500 in TRIS, 10 min im Dunkel!  
2 mal 5 min in TRIS spülen Dunkel!  
2 mal 5 min Aqua dest. Dunkel!  
Eindeckeln mit Gel- Mount / Vectorshield

#### Verdünnungsreihe

Ausgeführt für alle verwendeten Lektine bei 2,5 µl/ml, bei 5 µl/ml und 10 µl/ml.

Lektine die in einer Konzentration von 2,5 µl/ml verwendet wurden: WGA succ.

Lektine die in einer Konzentration von 5 µl/ml verwendet wurden: Con A, WGA, PNA, PHA-E

Lektine die in einer Konzentration von 10 µl/ml verwendet wurden: RCA, UEA-I, DBA, SBA, SJA, PSA, LCA, GSL-I, PHA-L

#### Hemmszucker

Um die Spezifität der Lektine zu überprüfen, wurde eine kompetitive Hemmung mit entsprechenden Hemmszuckern durchgeführt.

Dazu wurden Die Lektine mit den entsprechenden Hemmszuckern eine Stunde lang bei Raumtemperatur im DUNKELN inkubiert und dann wie im Grundprotokoll für Lektine verwendet.

Für CON A, LCA und PSA wurde 200 mM l-methyl- mannoside verwendet.

Bei GSL-I kam 500mM Galactose zum Einsatz.

200mM Galactose kam bei PNA und RCA zur Verwendung.

Zur Hemmung von SBA, SJA und DBA sind 200 mM N-acetylgalactosamine genutzt worden.

Um WGA und WGA succ. zu hemmen, wurde 500 mM N-acetylglucosamine gebraucht, wobei die Hemmung bei WGA zwangsläufig nur partiell war.

UEA-I wurde mit 50 mM L-Fucose gehemmt.

Die komplexen Zucker um PHA L/E zu hemmen waren für meine Zwecke nicht verfügbar.

#### **9.4. Puffer und Fixierungslösungen**

##### Bouin:

375 ml gesättigte wässrige Pikrinsäure

125 ml Formalin 35%

25 ml Eisessig

##### PBS Puffer:

42,5 g NaCl

6,35 g Di-Na-hydrogenphosphat

1,95 g Na-hydrogenphosphat-1- hydrat

5l Aqua dest.

pH 7,4- 7,6

##### Formalin:

35% Formalin 1:10 in PBS

##### DAB Herstellung

Stammlsg. verdünntes Wasserstoffperoxid;

50 ml Puffer + 0,15 ml 30%iges Wasserstoffperoxid

0,4 ml dieser Stammlsg. zu 60 ml Aqua dest und 6 DAB Tabletten geben, filtrieren

10 min Inkubationszeit

##### TRIS Puffer:

43,9 g NaCl

34,2 g TRIZMA-HCl

4,5 g TRIZMA-Base

5l Aqua dest.

##### Citrat Puffer:

9ml Stammlösung A+ 41 ml Stammlösung B, auf 500ml mit Aqua dest auffüllen, pH 6,0

STlsg A 0,1M Zitronensäure (Merk 244)

STlsg B 0,1M Natriumcitrat (Merk 6448)



## 10. Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. Sinowatz danke ich recht herzlich für die Überlassung des Themas, für seine jederzeit gewährleistete, engagierte Unterstützung bei der Durchführung meiner Untersuchungen sowie seinen fachlichen Rat und die stundenlange Korrekturarbeit.

Ferner gilt mein Dank auch Frau C. Neumüller für Ihre tatkräftige Hilfe und unerschöpfliche Geduld bei diversen Untersuchungen und Versuchen.

Herrn Dr. Habermann möchte ich für seinen fachlichen Rat danken.

Bei labortechnischen Aufgaben unterstützten mich zuverlässig Frau G. Russmeier und Frau Zahn

Allen anderen Mitarbeitern des Institutes, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, sei ebenfalls gedankt.

Herzlich danken möchte ich auch meinen Eltern und Wilhelm, die mir meine Ausbildung ermöglicht haben und meinem Mann Christian, der die nervenzerreißende Aufgabe hatte, bei der Formatierung dieser Arbeit behilflich zu sein.

## 11. Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Rebecca Melanie Sticklat

Geburtsdatum: 30.10.1979

Geburtsort: Solingen

Ehemann: Christian Dellinger

Mutter: Gabriela Thelen geb.Borowski

Vater: Helmut Sticklat

### Schulausbildung

1985- 1990 Gemeinschaftsgrundschule zur Verlach in Hilden

1990- 1996 Wilhelmine- Fliedner Realschule in Hilden

1996- 1999 Dietrich- Bonnhoeffer- Gymnasium in Hilden

### Studium

1999- 2005 Studium der Tiermedizin an der Ludwig- Maximilians  
Universität München

Oktober 2005 Beginn der Promotion

10/07- 03/08 Fortbildung Chiropraxis für Tiere

Seit 2008 Gruppenpraxis mit Dr A. Breitner Schöngeising