

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz

Glykohistochemische, immunhistochemische und ultrastrukturelle  
Untersuchungen der Glandula parotis des Rindes (*Bos taurus*)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Kathrin Adelheid Garreis

aus Zeil am Main

2014

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

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

**Berichterstatter:** Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. habil. Fred Sinowatz

**Korreferent:** Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. Hans-Joachim Gabius

Tag der Promotion: 08. Februar 2014

Für meine Familie

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	6
2.	Literaturübersicht.....	8
2.1.	Übersicht über die makroskopische Anatomie der Glandula parotis.....	8
2.2.	Übersicht über die embryologische Entwicklung der Glandula parotis.....	11
2.3.	Mikroskopische Anatomie der Glandula parotis.....	12
2.3.1.	Histologische Klassifizierung der Glandula parotis.....	12
2.3.2.	Endstücke.....	15
2.3.3.	Schaltstücke.....	19
2.3.4.	Streifenstücke.....	20
2.3.5.	Ausführungsgänge.....	22
2.3.6.	Umgebende Strukturen – Stroma.....	23
2.3.7.	Untersuchungen der Glandula parotis mit konventionellen Färbungstechniken.....	24
2.4.	Glykohistochemie.....	26
2.4.1.	Definition und Funktion von Lektinen.....	26
2.4.2.	Einsatz von Lektinen in der Forschung.....	28
2.4.3.	Einteilung der Pflanzenlektine.....	29
2.4.4.	Lektin histochemische Untersuchung der Glandula parotis des Menschen und verschiedener Säugetierspezies.....	32
2.5.	Immunhistochemie.....	36
2.5.1.	Basalmembran.....	36
2.5.2.	Zytoskelett.....	37
2.5.2.1.	Mikrofilamente.....	37

# Inhaltsverzeichnis

---

2.5.2.2.	Intermediärfilamente.....	38
2.5.2.3.	Mikrotubuli.....	41
3.	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>43</b>
3.1.	Probenmaterial.....	43
3.2.	Probenentnahme, Fixierung und Fertigung von Paraplastschnitten für lichtmikroskopische Untersuchungen.....	44
3.3.	Lichtmikroskopische Färbungen.....	46
3.3.1.	Hämalaun-Eosin-Färbung (H.E.-Färbung) nach Mayer.....	47
3.3.2.	Trichromfärbung nach Masson und Goldner.....	48
3.3.3.	Resorcinfuchsin-van Gieson-Färbung.....	49
3.3.4.	Perjodsäure-Schiff-Reaktion nach Mc Manus mit Kontrollen.....	50
3.3.5.	Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5 und pH 1,0.....	52
3.4.	Lektin histochemische Untersuchungsmethoden.....	54
3.5.	Immunhistochemische Untersuchungsmethoden.....	58
3.6.	Ultrastrukturelle Untersuchungen mittels Transmissions- elektronenmikroskopie.....	64
3.6.1.	Probenentnahme und Immersionsfixierung nach Karnovsky.....	64
3.6.2.	Fertigung von Semidünn- und Ultradünnschnitten für die Transmissionselektronenmikroskopie.....	65
4.	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>66</b>
4.1.	Lichtmikroskopische Darstellung der Glanula parotis des Rindes durch konventionelle Färbungsmethoden.....	66
4.1.1.	Morphologie der Glandula parotis des Rindes.....	66
4.1.2.	Ergebnisse der Perjodsäure-Schiff-Reaktion nach Mc Manus mit Kontrollen.....	70
4.1.3.	Ergebnisse der Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5 und pH 1,0.....	78
4.2.	Lektin histochemie.....	81

# Inhaltsverzeichnis

---

4.2.1.	Concanavalin A (Con A).....	81
4.2.2.	Dolicus biflorus Agglutinin (DBA).....	84
4.2.3.	Erythrina cristagalli Agglutinin (ECA).....	86
4.2.4.	Griffonia Simplicifolia Lektin I (GSL-I).....	88
4.2.5.	Lens culinaris Agglutinin (LCA).....	90
4.2.6.	Maackia amurensis Agglutinin I (MAA-I).....	93
4.2.7.	Phytohämagglutinin-erythrocyte Agglutinin (PHA-E).....	96
4.2.8.	Phytohämagglutinin-Leucoagglutinin (PHA-L).....	99
4.2.9.	Peanut-Agglutinin (PNA).....	100
4.2.10.	Pisum sativum Agglutinin (PSA).....	101
4.2.11.	Ricinus communis Agglutinin (RCA).....	104
4.2.12.	Soyabean-Agglutinin (SBA).....	105
4.2.13.	Saphora japonica Agglutinin (SJA).....	106
4.2.14.	Sambucus nigra Agglutinin (SNA).....	108
4.2.15.	Ulex europaeus Agglutinin Isolektin I (UEA-I).....	111
4.2.16.	Wheatgerm-Agglutinin (WGA).....	113
4.2.17.	Wheatgerm-Agglutinin succinylated (WGA succ.).....	116
4.3.	Immunhistochemie.....	118
4.3.1.	Immunhistochemischer Nachweis von Laminin.....	118
4.3.2.	Immunhistochemischer Nachweis von „Non muscular myosin“ (nicht-muskuläres Myosin).....	121
4.3.3.	Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“ (SMA).....	124
4.3.4.	Immunhistochemischer Nachweis von Synemin.....	127
4.3.5.	Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin.....	130
4.3.6.	Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin.....	133
4.3.7.	Immunhistochemischer Nachweis von Pancytokeratin.....	136
4.3.8.	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 5.....	138

# Inhaltsverzeichnis

---

4.3.9.	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 7 .....	141
4.3.10.	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 8 .....	143
4.3.11.	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14 .....	145
4.3.12.	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 18 .....	148
4.3.13.	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 19 .....	150
4.4.	Transmissionselektronenmikroskopie .....	152
4.4.1.	Ultrastruktur des Endstückepithels und der Myoepithelzellen .....	152
4.4.2.	Ultrastruktur der Schaltstücke .....	156
4.4.3.	Ultrastruktur der Streifenstücke .....	158
5.	Diskussion .....	164
5.1.	Endstücke und Myoepithelzellen .....	164
5.1.1.	Seröse Epithelzellen der Endstücke .....	164
5.1.2.	Myoepithelzellen .....	172
5.2.	Gangsystem und Stroma .....	175
5.2.1.	Schaltstücke .....	175
5.2.2.	Streifenstücke .....	177
5.2.3.	Ausführungsgänge .....	185
5.2.4.	Stroma .....	187
6.	Zusammenfassung .....	189
7.	Summary .....	193
8.	Verzeichnisse .....	196
8.1.	Literaturverzeichnis .....	196

# Inhaltsverzeichnis

---

8.2.	Abbildungsverzeichnis.....	208
8.3.	Tabellenverzeichnis.....	215
8.4.	Chemikalienverzeichnis.....	219
8.4.1.	Fixierungen.....	219
8.4.1.1.	Lichtmikroskopie.....	219
8.4.1.2.	Elektronenmikroskopie.....	219
8.4.2.	Lösungen und Pufferlösungen.....	220
8.4.2.1.	Lösungen für Lichtmikroskopie.....	220
8.4.2.2.	Lösungen für Immunhistochemie.....	225
8.4.2.3.	Pufferlösungen.....	225
8.4.2.4.	Lösungen und Puffer für die Elektronenmikroskopie.....	226
9.	Anhang.....	229
9.1.	Danksagung.....	229

## 1. Einleitung

Die wirtschaftliche Bedeutung des Rindes als Milchlieferant und Masttier ist weithin bekannt. Dabei steht die Leistungs- und Ertragssteigerung dem Wohlbefinden der Tiere gegenüber. Um hohe Erträge in der Milch- und Fleischproduktion erreichen zu können, ist eine ausgewogene Futter- und Nährstoffversorgung der Rinder unablässig. Zahlreiche wissenschaftliche Arbeiten befassen sich daher mit dem Thema der optimalen Energieversorgung der Tiere. Grundlage für die Weiterentwicklung von Futtermitteln bildet das Wissen um Aufbau und Funktion des ruminanten Verdauungssystems, das sich in einigen Punkten doch wesentlich von dem anderer Hausäugetiere unterscheidet.

Die erste Station der Verdauung bildet die Mundhöhle, in der das Futter zerkleinert und mit dem Speichel vermengt wird. Mit einer durchschnittlichen Speichelproduktion von 110-180 Liter/Tag liegt das Rind weit über dem Durchschnitt anderer Haussäugetiere (Schwein ca. 15 Liter/Tag, Pferd ca. 40 Liter/Tag) (König und Liebich, 2012).

Der Speichel des Rindes ist ein alkalisches Mischsekret. Er enthält beim Rind neben Wasser, Muzinen und Elektrolyten zusätzlich einen hohen Anteil an Phosphat und Bikarbonat. Diese Zusammensetzung ist für die Aufrechterhaltung des pH-Wertes im Pansen von großer Bedeutung (Engelhardt, 2005). Eine weitere nicht zu vernachlässigende Komponente des Wiederkäuerspeichels ist Harnstoff, der über den ruminohepatischen Kreislauf zurück in den Pansen geleitet wird und die Grundlage für die Proteinbiosynthese der dort ansässigen Mikroorganismen bildet (Engelhardt, 2005). Außerdem beinhaltet der Speichel Immunglobuline, wie das bakteriostatische Laktoferrin und Lysozym, die eine erste Barriere gegen Krankheitserreger darstellen (König und Liebich, 2012). Während der Speichel bei Schwein und Mensch bereits eine nicht geringe Menge des stärkespaltenden Enzyms Ptyalin (Speichel-Amylase) enthält, ist der Speichel der Wiederkäuer relativ frei von Verdauungsenzymen (Engelhardt, 2005; König und Liebich, 2012). Eine Ausnahme bildet die im Speichel von Kälbern nachgewiesene Lipase (Engelhardt, 2005).

Der Speichel wird von den Anhangsdrüsen des Kopfes gebildet, die in zwei Gruppen untergliedert werden: Die großen Speicheldrüsen (Glandulae salivariae majores), wie die Ohrspeicheldrüse (Glandula parotis), die Unterkieferdrüse (Glandula mandibularis) und die Unterzungendrüsen (Glandula sublingualis monostomatica und Glandula

## Einleitung

---

sublingualis polystomatica) bilden den Hauptanteil des gesamten Speichels (Salomon, 2005; König und Liebich, 2012).

Zusätzlich geben zahlreiche kleine Speicheldrüsen (Glandulae salivariae minores), die an vielen Lokalisationen in der Mundhöhle nachzuweisen sind (König und Liebich, 2012), ihr Sekret in den Hauptspeichel ab. Große Bedeutung bei der Speichelbildung kommt der Glandula parotis zu. Diese ist bei Wiederkäuern gut entwickelt und übernimmt einen großen Anteil der Speichelproduktion. Aufgrund ihrer herausragenden Bedeutung für den Verdauungsvorgang des Rindes, soll die Glandula parotis als Ziel dieser Arbeit umfassend histologisch untersucht und die einzelnen Strukturen eingehend erörtert werden.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Übersicht über die makroskopische Anatomie der Glandula parotis

Die Ohrspeicheldrüse, Glandula parotis, ist eine der vier großen Speicheldrüsen. Während sie bei Fleischfressern wie Hund und Katze eine eher herzförmige bis dreieckige Form besitzt und verhältnismäßig klein ist, nimmt sie bei den anderen Haussäugetieren eine relativ große Fläche kaudolateral des Unterkieferwinkels ein (Nickel et al., 2004). So zieht sich die große, dreieckige Glandula parotis des Schweines mit ihrem ventralen Halsanteil entlang der Pars mastoidea des Musculus cleidocephalicus nach kaudal bis zum Thorax (Nickel et al., 2004). Die Glandula parotis des Pferdes ist ebenfalls verhältnismäßig groß und reicht mit ihrer medialen Fläche bis zum Luftsack heran (Nickel et al., 2004).

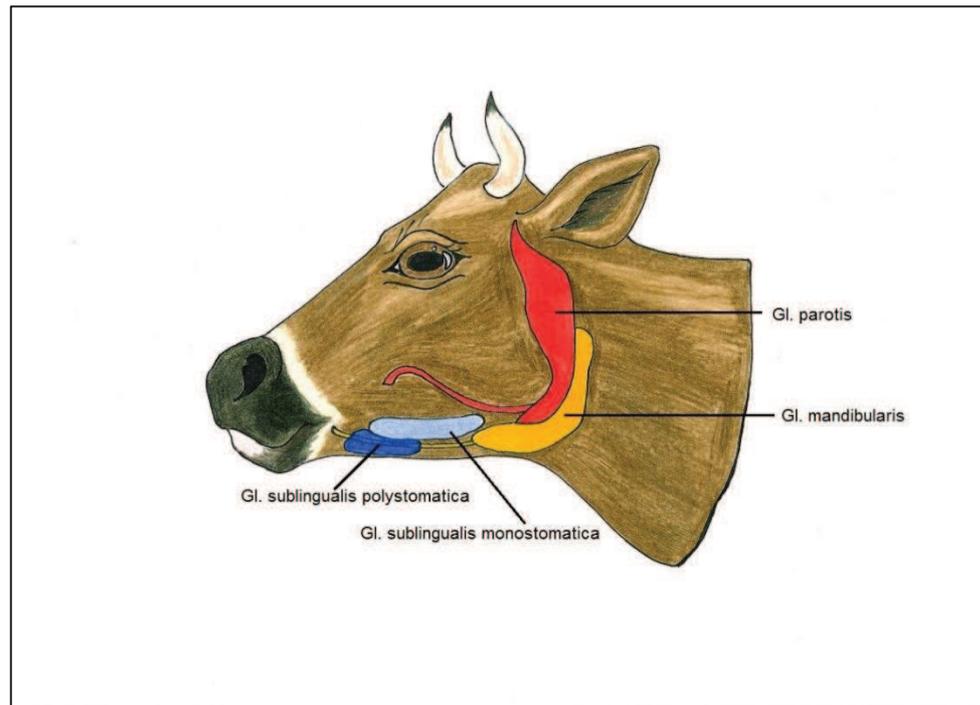
Bei den Wiederkäuerspezies ist die Glandula parotis gut entwickelt. Dennoch stellt sie sich im Volumenvergleich zum Schwein und Pferd kleiner dar. Auch bei Betrachtung der Wiederkäuerspezies untereinander lässt sich ein deutlicher Unterschied in der Ausprägung der großen Speicheldrüsen erkennen. So weisen grasfressende Spezies wie das Rind oder das Schaf vergleichsweise kleinere Parotivolumina auf als futterselektierende Spezies, wie zum Beispiel die Ziege (Nickel et al., 2004). Hofmann et al. (2008) wiesen einen Zusammenhang zwischen dem prozentualen Grasanteil des Futters und der Masse der Glandula parotis bei verschiedenen Wiederkäuerarten nach. Dabei stellten sie eine negative Korrelation zwischen Grasanteil der Nahrung und der Masse der großen Speicheldrüsen dar. So nimmt die Organmasse mit abnehmendem Grasanteil in der speziesspezifischen Futterzusammensetzung zu. Dabei ist jedoch zu beachten, dass die größeren Speicheldrüsen der Futterselektierer keineswegs eine höhere Speichelproduktion bedeuten müssen (Hofmann et al., 2008). Ihr Speichel weist lediglich eine höhere Viskosität auf, die auf einen höheren Proteingehalt des Speichels zurückgeführt werden kann (Hofmann et al., 2008).

Die Glandula parotis des Rindes ist beidseitig des Kopfes angelegt und stellt sich keulenförmig dar (Nickel et al., 2004). Sie erstreckt sich beim Rind über die gesamte Länge der Fossa retromandibularis, die sie fast vollständig einnimmt. Ihr dorsal gelegener präaurikulärer Anteil, der kranioventral des Ohrgrundes liegt und kaudal durch den Atlasflügel begrenzt wird, verjüngt sich ventral zu einem schmalen Kehlgangsanteil. Dieser verläuft parallel zum Unterkieferast und reicht in seiner Ausdehnung an den Unterkieferwinkel heran (Nickel et al., 2004).

Die Ohrspeicheldrüse ist von einer bindegewebigen Kapsel umhüllt, deren Septen das Drüsenparenchym durchziehen und zu einem für die Speicheldrüsen typischen Läppchenaufbau führen, der auch makroskopisch deutlich erkennbar ist (Salomon, 2005). Die Fascia parotidea und der Musculus parotidoauricularis begrenzen die Glandula parotis nach lateral. Medial kommt sie auf dem Musculus masseter, dem Zungenbein mit zugehöriger Muskulatur sowie der Unterkieferdrüse, Glandula mandibularis, zu liegen, die sie jedoch nicht völlig bedeckt. Nennenswert ist auch die Nähe ihrer medialen Seite zu Arteria carotis communis, Vena jugularis externa, Nervus facialis (VII) sowie zum Nervus trigeminus (V) (Nickel et al., 2004; König und Liebich, 2012).

Wie allen großen Speicheldrüsen gemeinsam, verlässt ein einziger großer Ausführungsgang das Drüsenparenchym, in welchen alle interlobulären Ausführungsgänge münden. Der Ductus parotideus tritt aus dem Parenchym der Ohrspeicheldrüse kranioventral auf Höhe des Unterkieferwinkels (König und Liebich, 2012) aus und zieht erst ein kurzes Stück auf der medialen Seite der Mandibula nach rostral, bevor er an der Incisura vasorum facialium auf die laterale Oberfläche des Musculus masseter tritt (Salomon, 2005). Von dort aus verläuft der Ductus parotideus schräg über die Masseteroberfläche bis zu seiner Mündung auf der Papilla parotidea im Vestibulum oris, die auf Höhe des zweiten molaren Backenzahns im Oberkiefer liegt (Nickel et al., 2004; Salomon, 2005; König und Liebich, 2012).

Die vaskuläre Versorgung der Glandula parotis wird durch die Arteria und Vena maxillaris gewährleistet. Nerval wird die Ohrspeicheldrüse durch Äste des Nervus trigeminus (V) und des Nervus glossopharyngeus (IX) versorgt. Letzterer ist auch durch seinen parasympathischen Anteil für die Sekretion der Ohrspeicheldrüse verantwortlich (König und Liebich, 2012).



**Abbildung 1:** Übersicht über die großen Speicheldrüsen des Rindes; modifiziert nach König und Liebich, 2012

### 2.2. Übersicht über die embryologische Entwicklung der Glandula parotis

Die Anlage der Glandula parotis ist beim Rind ca. ab dem 40.-45. Trächtigkeitstag als lockerer Verband undifferenzierter Drüsenzellen ektodermalen Ursprungs im Bindegewebe der lateralen embryonalen Mundhöhle erkennbar (Eisenbrückner, 2000; Hees und Sinowatz, 2000; Eisenbrückner et al., 2003). Bereits im ersten Drittel der Embryonalentwicklung lassen sich deutlich die Knospen der Endstücke von Gangsprossen abgrenzen, die bereits ein Lumen und ein bis zwei Zellschichten aufweisen. Die Endknospen zeigen erst später, ca. ab dem 75. Tag eine Lumenbildung (Eisenbrückner, 2000). Im zweiten Drittel der pränatalen Entwicklung lassen sich myoepitheliale Vorläuferzellen ausmachen, die sich durch eine hellere Anfärbung von den Epithelzellen unterscheiden. Etwa ab der Hälfte der Trächtigkeitsdauer ist bereits der typische Läppchenaufbau der Drüse erkennbar. Es ist nun möglich, einschichtige End- und Schaltstücke, größere Gangabschnitte, die später zu Streifenstücken reifen und kleinere interlobuläre Gänge voneinander abzugrenzen (Eisenbrückner, 2000).

In der zweiten Hälfte der Trächtigkeit reifen die Endstücke weiter und bilden bereits Sekretgranula. Die interlobulären Ausführungsgänge weisen in manchen Abschnitten eine Vielzahl von Becherzellen auf (Eisenbrückner, 2000). Eine endgültige Differenzierung der größeren Ganganteile in die typischen hochprismatischen Streifenstückzellen durch die typische Einfaltung der basalen Zellmembran, erfolgt erst post partum (Eisenbrückner, 2000).

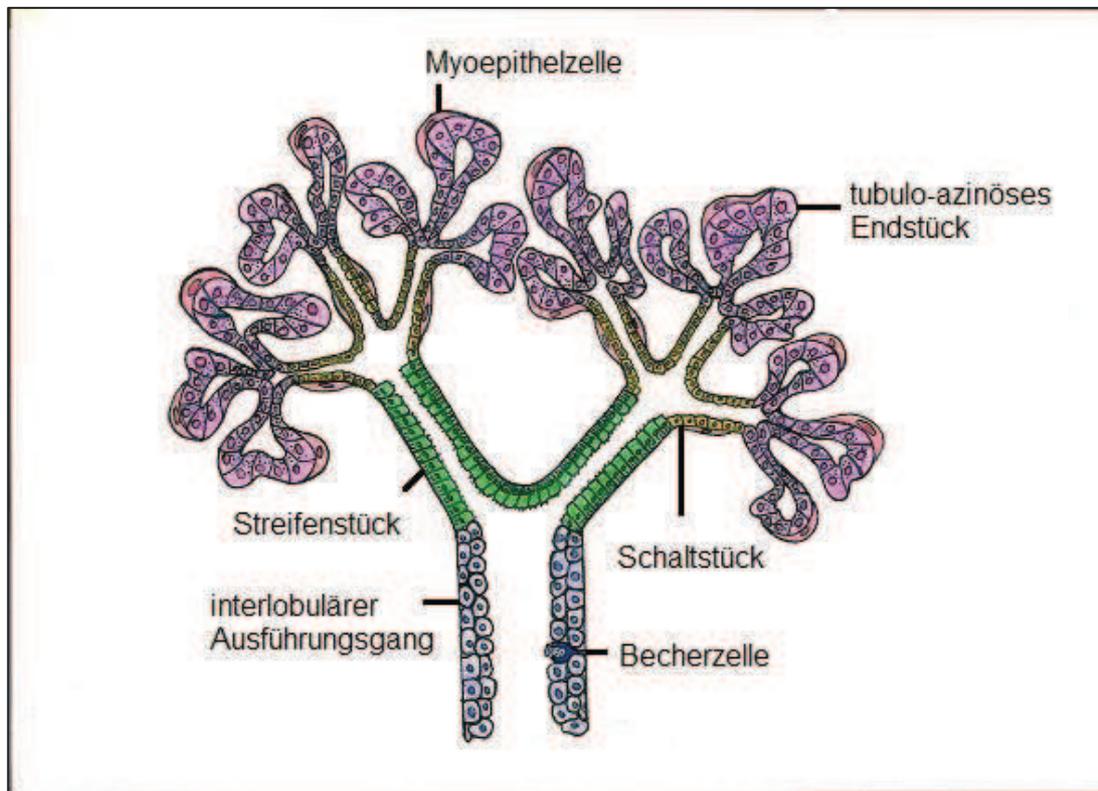
Je weiter die Entwicklung der Glandula parotis durch Einsprossung in das umgebende mesenchymale Gewebe voranschreitet, desto weiter entfernt sich die Drüse von ihrer ursprünglichen Anlage. Ein Streben der Mundwinkel nach rostral sowie eine Verengung der Mundspalte führen zusätzlich zu einer Verlängerung der Strecke vom sich entwickelnden Drüsenkörper zur letztendlichen Mündung des Ausführungsganges in die Mundhöhle (Rüsse und Sinowatz, 1998). Die räumliche Trennung von Ausgang und Drüsenkörper spiegelt sich in der Qualität der sekretproduzierenden Anteile des Drüsenparenchyms wieder. Je länger die Strecke von den sekretbildenden Strukturen der Speicheldrüse bis hin zur Öffnung in die Mundhöhle ist, desto mehr seröse Endstücke sind im Parenchym der Drüse anzutreffen. Dies stellt eine Erklärung für die hauptsächlich seröse Zusammensetzung der Parotisendstücke dar (Rüsse und Sinowatz, 1998).

### 2.3. Mikroskopische Anatomie der Glandula parotis

#### 2.3.1. Histologische Klassifizierung der Glandula parotis

Die Speicheldrüsen zählen zu den exokrinen Drüsen. Diese werden über ihre Eigenschaft definiert, ihr produziertes Sekret an eine innere oder äußere Epitheloberfläche abzugeben. Des Weiteren untergliedert man exokrine Drüsen in endoepitheliale und exoepitheliale Drüsen. Die endoepithelialen Drüsen sind direkt im Epithel verankert, wie beispielsweise Becherzellen, die auch im Epithel größerer Ausführungsgänge der Speicheldrüsen vorkommen. Exoepitheliale Drüsen liegen außerhalb des Epithels, auf dessen Oberfläche sie ihr produziertes Sekret entleeren. Das Sekret wird über einen einzigen Ausführungsgang (Einzeldrüse oder Glandula unicellularis), wie zum Beispiel bei den kleinen Speicheldrüsen, oder ein System von mehreren Ausführungsgängen (Glandula multicellularis) an die Oberfläche geleitet. Man spricht hier auch von einer „zusammengesetzten Drüse“ (Hees und Sinowatz, 2000; Liebich, 2010).

Dies trifft im Falle der großen Speicheldrüsen zu, deren Gangsystem sich ausgehend von einem einzigen großen Ausführungsgang (Ductus parotideus) in ein ausgeprägtes Netzwerk von mittleren und kleinen Ausführungsgängen, Streifenstücken und Schaltstücken verzweigt. Am proximalen Ende der Schaltstücke (Ductus intercalati) liegen die Endstücke der Speicheldrüsen (Hees und Sinowatz, 2000). Je nach ihrer Form findet eine weitere Unterteilung der exoepithelialen Drüsen statt. Man spricht von beerenförmigen „azinösen“, schlauch- oder röhrenförmigen „tubulösen“ oder bläschenförmigen „alveolären“ Endstücken. Auch diverse Mischformen der aufgeführten Endstück-varianten sind möglich. Im Falle der Glandula parotis handelt es sich meist um tubulöse, azinöse oder tubulo-azinöse Endstücke. Die starke Verzweigung ihrer sekretleitenden Wege und ebenso der sekretbildenden Endstücke verleihen ihr einen ausgeprägten Läppchenaufbau, der charakteristisch für alle großen Speicheldrüsen ist (Hees und Sinowatz, 2000).



**Abbildung 2:** Übersicht über den Aufbau einer zusammengesetzten tubulo-azinösen Drüse

Eine weitere Unterteilung der Speicheldrüsenendstücke wird über die Qualität ihres Sekretes und die Morphologie der Endstückeepithelien geführt. Man unterscheidet homokrine Drüsen, die nur aus einem einzigen sekretierenden Zelltyp bestehen und heterokrine Drüsen, bei denen das Sekret ein Gemisch der abgegebenen Produkte morphologisch unterschiedlicher Zellformen darstellt (Hees und Sinowatz, 2000). Die Speicheldrüsen entleeren ihr Sekret auf merokrine Weise. Dabei gibt die Zelle ihr produziertes Sekret kontinuierlich über die Epitheloberfläche in das Endstücklumen ab. Die Zelle wird bei diesem Sekretionsmechanismus durch die exozytotischen Prozesse während der Ausschüttung der Sekretgranula nicht geschädigt (Hees und Sinowatz, 2000).

Seit Rudolph Heidenhain 1868 die Speicheldrüsen aufgrund der Beschaffenheit ihres Sekretes als muköse oder albuminöse Drüsen klassifizierte, wurden in der Literatur viele verschiedene Begriffe zur Einordnung der Sekret produzierenden Zellen der

Speicheldrüsen vorgeschlagen (Heidenhain, 1868; Pinkstaff, 1993). Aufgrund ihrer Darstellung mit histologischen Standardmethoden wurden sie als „tropochrome“, „heterochrome“ (Bensley, 1908), „pseudomucous“ (Wimsatt, 1956), „atypical mucous“ (Leblond, 1950) und mit vielen anderen Begriffen bezeichnet. Obwohl Anton Heidenhain bereits im Jahr 1870 vorschlug, die als „albuminös“ bezeichneten Endstückzellen als „serös“ zu bezeichnen, setzte sich die heute allgemein verwendete Einteilung der Endstückzellen anhand ihrer Sekretqualität in seröse („albuminöse“) Endstücke, muköse Endstücke und gemischte Endstücke erst Jahrzehnte später durch (Heidenhain, 1870; Pinkstaff, 1993). Als „serös“ werden heute Sekret produzierende Zellen bezeichnet, die ein eher wässriges, eiweißreiches Sekret produzieren. „Mukös“ (schleimbildend) sind jene Endstücke, deren Sekret eine höhere Viskosität aufweist. Bei gemischten, „sero-mukösen“ Endstücken liegt eine Gruppe seröser Zellen einem mukösen Endstück auf, was sich im histologischen Schnittbild ähnlich einer halbmondförmigen Kappe seröser Zellen darstellt. Diese Formation wird auch als „Ebner-“ oder „Gianuzzi-Halbmond“ bezeichnet (Hees und Sinowatz, 2000).

Shackleford und Klapper (1962) empfahlen die Einteilung der Speicheldrüsen über den Nachweis von sauren und neutralen Kohlenhydratstrukturen. So ist in mukösen Endstücken eine deutliche Ansammlung saurer Mukopolysaccharide (Glykosaminoglykane) über die Anfärbung mit kolloidalem Eisen und Alzianblau nachweisbar (Shackleford und Klapper, 1962), während als serös beschriebene Endstücke eher neutrale Polysaccharide aufweisen, die sich mit der Perjodsäure-Schiff'-Reaktion (PAS-Reaktion) darstellen lassen. Sie schlugen vor, Zellen mit einem gewissen Gehalt an sauren Glykokonjugaten als seromukös und nur Zellen als rein serös zu bezeichnen, die ausschließlich neutrale Glykokonjugate beinhalten (Shackleford und Klapper, 1962).

Allerdings blieb das Klassifizierungsschema von Shackleford und Klapper (1962) in Bezug auf seröse und seromuköse Zellen nicht unbestritten. So schlugen bereits Young und van Lennep im Jahre 1978 vor, die Einteilung eines Zelltyps in „serös“ oder „seromukös“ vom Erscheinungsbild der jeweiligen Zellen auf ultrastruktureller Ebene abhängig zu machen. Gemäß ihrem Unterteilungsschema muss eine Zelle relativ große, elektronendichte Sekretgranula und eine Matrix mittlerer Elektronendichte um diese Granula besitzen, um als „seromukös“ bezeichnet werden zu können (Young und van Lennep, 1978). 1993 postulierte dagegen Carlin A. Pinkstaff, dass sowohl mit traditionellen Färbemethoden als auch mit Hilfe diverser lektinhistochemischer

Untersuchungen verschiedene Glykokonjugate in den Sekretgranula seröser Zellen nachzuweisen sind. Diese, so vermutete Pinkstaff, würden nicht nur auf eine Ansammlung von Glykoproteinen reduziert werden können, sondern beinhalteten auch Glykolipide und sogar Proteoglykane, die vor allem den mukösen Zellen als Charakteristikum zugeschrieben werden. Aus diesem Grunde favorisiert Pinkstaff eher den Terminus „seromukös“ für vorher als „serös“ bezeichnete Speicheldrüsen, wenn in diesen eine gewisse Menge an Glykokonjugaten histochemisch nachgewiesen werden können (Pinkstaff, 1993).

Tandler und Phillips (1993) schlagen mit ihrem Klassifizierungsschema für seröse Zellen einen Mittelweg zwischen den Extremen der vorher erwähnten Einteilungskriterien ein. Ihrer Ansicht nach zeigen die serösen Zellen der Speicheldrüsen alle strukturellen Merkmale einer Zelle, die Proteinstrukturen für den Export an eine Zelloberfläche synthetisiert. Den Archetypus solcher Protein sezernierenden Drüsenzellen findet man in den exokrinen Drüsenzellen des Pankreas. Sie teilen eine Zelle als „serös“ ein, wenn sich ihre Eigenschaften den Zellen des exokrinen Pankreas auf lichtmikroskopischer Basis und in der elektronenmikroskopischen Darstellung angleichen (Tandler und Phillips, 1993).

So sollten die Zellen bei Semidünnschnitten, die mit Toluidinblau gefärbt wurden, blauschwarze Granula aufweisen und unter dem Elektronenmikroskop eine elektronendichte Matrix zeigen. Im Gegensatz dazu teilen sie Zellen, die in Semidünnschnitten nur schwer mit Toluidinblau anzufärben sind und Sekretgranula mit nur geringer Elektronendichte aufweisen als „seromukös“ ein (Tandler und Phillips, 1993).

Unabhängig von allen Einteilungsschemata der Endstückzellen führten Tandler und Phillips (1993) folgende Grundaussage an: Wahr ist, dass alle Zellen, die als serös eingeordnet werden eine gemeinsame biologische Rolle einnehmen, ähnliche Produkte sezernieren oder eine gemeinsame Entwicklungs- und Evolutionsgeschichte besitzen (Tandler und Phillips, 1993).

### 2.3.2. Endstücke

Ihre Kapsel aus kollagenem Bindegewebe und deren Septen, die das gesamte Parenchym der Ohrspeicheldrüse netzartig durchziehen, führen im histologischen Schnittbild zu einer typischen Unterteilung des Parenchyms in Lobi und Lobuli

(Adnyane et al., 2010). Den größten Parenchymanteil bilden die sekretproduzierenden Endstücke der Parotis, die in der Literatur meist aufgrund ihres azinösen Aufbaus als Azini bezeichnet werden. Shackelford und Wilborn beschrieben 1969 die Endstücke der Glandula parotis von Kälbern als länglich und tubulös. Die Tubuli weisen dabei meist eine gewundene und verzweigte Form auf (Shackelford und Wilborn, 1969). Sie können daher auch als „secretory tubules“ (Young und van Lennep, 1978) bezeichnet werden (Eisenbrückner, 2000).

Beim Schwein stellten Boshell und Wilborn (1978) in ihrer Studie verlängerte und verzweigte Azini mit kleinen gewundenen Lumina dar (Boshell und Wilborn, 1978). Bei den meisten Säugetierspezies finden sich in den Endstücken der Glandula parotis ausschließlich seröse, Sekret produzierende Zellen. Das Epithel der Endkammern der Ohrspeicheldrüse ist einschichtig und besteht hauptsächlich aus den sekretionsaktiven serösen Zellen, die den Primärspeichel sezernieren. Ihnen liegen basal Myoepithelzellen an. Beide Zelltypen werden von derselben Basalmembran umschlossen (Hees und Sinowatz, 2000).

Bei den meisten Säugetierspezies und auch beim Menschen sind die serösen Zellen der Parotisazini von pyramidalen oder konischen Form und ordnen sich um ein enges Lumen an (Hees und Sinowatz, 2000; Liebich, 2010). Shackelford und Wilborn beschreiben beim Rind eine eher kubische Form der Azinuszellen (Shackelford und Wilborn, 1969) sowie stärker geöffnete Lumina der Endstücke (Shackelford und Wilborn, 1968) und zeigen damit einen weiteren morphologischen Unterschied der Wiederkäuserparotis zu den anderen Säugetierarten auf. Das Zytoplasma der serösen Zellen färbt sich azidophil an (Liebich, 2010). Tandler und Phillips (1993) beschreiben sie wie folgt: „Die serösen Zellen zeigen in Hämatoxylin-Eosin gefärbten Paraffinschnitten basal eher ein basophiles Zytoplasma und im apikalen und supranukleären Bereich der Zelle ein eher eosinophiles, teilweise granuliertes Zytoplasma“ (Tandler und Phillips, 1993).

Die Zellkerne der Parotiden des Menschen und verschiedener Säugetierarten zeigen sich je nach Spezies rund, oval, gelappt oder unregelmäßig geformt (Boshell und Wilborn, 1978; Pinkstaff, 1993; Tandler und Phillips, 1993; Eisenbrückner, 2000). Beim Rind beschrieben Shackelford und Wilborn einen ovalen bis unregelmäßig geformten Zellkern (Shackelford und Wilborn, 1969). Dieser liegt eher basal ausgerichtet im Zentrum der Zelle (Shackelford und Wilborn, 1969). Die DNS liegt meist euchromatisch

vor, bildet jedoch einen oder mehrere Nukleoli (Pinkstaff, 1993; Tandler und Phillips, 1993). Die Zellgrenzen lassen sich lichtmikroskopisch teilweise nur schwer abgrenzen (Hees und Sinowatz, 2000).

Die lumenseitige Oberfläche ist mit einem dichten Besatz verzweigter Mikrovilli ausgestattet (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c). Das Gerüst der Mikrovilli wird von Mikrofilamenten gebildet, die von einem direkt unter der Zelloberfläche gelegenen Netz aus zytoskelettalen Strukturen, dem sogenannten „terminal web“ (Leblond et al., 1960; Redman, 1994) ausgehen und bis in die Verzweigungen der Mikrovilli hineinziehen (Shackleford und Wilborn, 1969). Ähnliche Mikrovillistrukturen wie an der apikalen Zellmembran finden sich beim Menschen und einigen Säugetierspezies auch an der lateralen Zelloberfläche. Sie ragen in sogenannte „Interzelluläre Kanälchen“, die durch Einstülpungen der lateralen Zellmembranen zweier benachbarter Zellen entstehen. Diese 3 µm breiten Kanälchen werden als Erweiterungen der funktionalen Oberfläche von serösen Endstückzellen betrachtet und werden auch als „secretory capillaries“ bezeichnet (Shackleford und Wilborn, 1969; Boshell und Wilborn, 1978; Pinkstaff, 1993). Die weiteren Anteile der lateralen Zellmembranen bilden mit der Nachbarzelle je nach Spezies flache bis stark entwickelte Interdigitationen aus, die sich teilweise von der Basalmembran bis zum Lumen erstrecken. Sie sind von den Interzellulären Kanälchen durch Tight junctions abgegrenzt und formen kleine interzelluläre Spalträume (Shackleford und Wilborn, 1969; Boshell und Wilborn, 1978; Suzuki et al., 1981c; Pinkstaff, 1993). In der apikalen Zellregion liegen ein gut entwickelter Golgi-Apparat und zahlreiche Sekretgranula (Shackleford und Wilborn, 1969; Pinkstaff, 1993; Tandler und Phillips, 1993; Eisenbrückner et al., 2003). Die Sekretgranula varriieren in ihrer Morphologie nicht nur sehr stark zwischen den einzelnen Spezies, sondern zeigen auch Unterschiede innerhalb der Speicheldrüsen eines Individuums (Shackleford und Wilborn, 1969; Riva et al., 1974; Tandler und Phillips, 1993; Eisenbrückner, 2000). Neben den Sekretgranula konnte C. Oliver bei der Glandula parotis von Ratten auch verschiedene Arten von Lysosomen in den serösen Endstückzellen nachweisen. Oliver teilt sie in „apikale“ und „basale“ Lysosomen ein (Oliver, 1983b, a; Oliver et al., 1989; Tandler und Phillips, 1993). Seröse Endstückzellen weisen im Allgemeinen ein ausgeprägtes raues endoplasmatisches Retikulum (RER) im basalen Bereich der Zelle auf (Pinkstaff, 1993; Tandler und Phillips, 1993). Beim Rind beschreiben Shackleford und Wilborn (1969) das in der basalen Zellhälfte angesiedelte raue endoplasmatische Retikulum als wenig entwickelt. Jedoch befinden sich viele Mitochondrien in diesem Bereich (Shackleford

und Wilborn, 1969; Eisenbrückner, 2000).

Neben den serösen Zellen kommen in den Endstücken aller großen Speicheldrüsen sogenannte Myoepithelzellen vor. Aus embryologischer Sicht handelt es sich bei ihnen um modifizierte Epithelzellen, die sowohl strukturelle Charakteristika einer Epithelzelle aufweisen, als auch eine hohe Anzahl parallel angeordneter Myofilamentbündel enthalten, eine typische Eigenschaft glatter Muskelzellen (Hees und Sinowatz, 2000; Liebich, 2010). Diese lagern sich zu sogenannten „dense bodies“ zusammen und sind fest mit der Zellmembran verbunden (Redman, 1994). Im basalen Bereich bildet die Zellmembran viele Caveolae (Redman, 1994). Charakteristisch ist auch ihr spindelförmiger Zellkern, der im histologischen Anschnitt meist parallel zu den runden Zellkernen der angrenzenden serösen Endstückzellen oder Schaltstückzellen liegt (Redman, 1994). Das RER und der Golgi-Apparat sind nur schwach ausgebildet. Gelegentlich können Ansammlungen von Glykogen in den Myoepithelzellen nachgewiesen werden (Redman, 1994). Myoepithelzellen besitzen keine eigene Basalmembran, sondern sind zwischen den Epithelzellen der Endstücke und der diese umgebenden Basalmembran eingebettet (Hees und Sinowatz, 2000). Die Myoepithelzellen der Azini sind über ihre sternförmigen Fortsätze untereinander verbunden und überziehen die Epithelzellen an ihrer basalen Seite wie ein bogenartiges Netzwerk. Tamarin beschrieb sie 1966 aufgrund dieser Eigenheit als typische „Korbzellen“. Er verwendet auch die Metapher eines auf einem Felsen aufsitzenden Oktopus, was eine gute Beschreibung ihrer dreidimensionalen Struktur darstellt (Tamarin, 1966). Auch im Bereich der Schaltstücke lassen sich an der basalen Seite des Epithels longitudinal angeordnete Myoepithelzellen finden (Riva et al., 1992). Diese zeigen jedoch eine langgezogene, spindelförmige Gestalt und weisen keine sternförmigen Fortsätze wie im Bereich der Endstücke auf (Riva et al., 1993). Aus diesem Grund werden sie im Bereich der Schaltstücke auch als „Stabzellen“ bezeichnet (Liebich, 2010). Dardick et al. (1988) konnten beim Menschen Myoepithelzellen immunhistochemisch auch im Bereich der Streifenstücke nachweisen (Dardick et al., 1988). Bei Wiederkäuern wurden Myoepithelzellen im Bereich der Endstücke und Schaltstücke nachgewiesen (Shackleford und Wilborn, 1969; Elewa et al., 2010a). Man geht davon aus, dass sie funktionell zur Kontraktion der Drüse und zur Stabilisierung der Epithelzellen dienen (Redman, 1994). Redman vermutet weiter, dass sie auch an der Weiterleitung von sekretorischen Stimuli beteiligt sind (Redman, 1994).

### 2.3.3. Schaltstücke

Den Endstücken der Ohrspeicheldrüse schließen sich kurze Sekretgänge an, die als Schaltstücke (Ductus intercalati) bezeichnet werden. Sie werden von einem einschichtigen isoprismatischen Epithel gebildet (Hees und Sinowatz, 2000). Die Zellen erscheinen je nach Ausdehnung des Ganges kubisch bis flach, so dass sie im histologischen Schnitt leicht mit Kapillarendothelzellen verwechselt werden können (Tandler et al., 1998). Ihre apikale Oberfläche weist kurze Mikrovilli auf (Shackleford und Wilborn, 1969; Riva et al., 1976; Suzuki et al., 1981c; Tandler et al., 1998). In ihrem Zentrum liegt ein runder bis ovaler Zellkern (Shackleford und Wilborn, 1969), der von zahlreichen Mikrofilamenten umspannt wird (Suzuki et al., 1981c), die über Desmosomen mit der lateralen Zellmembran verankert sind (Shackleford und Wilborn, 1969). Im apikalen Bereich der Zelle befinden sich zahlreiche Vakuolen (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c) und bei einigen Spezies wurden auch Sekretgranula beschrieben (Tandler, 1993). Beim Rind wurden bisher jedoch keine Sekretgranula nachgewiesen (Suzuki et al., 1981c). Die Schaltstückzellen enthalten nur geringe Mengen an RER, einen kleinen Golgi-Apparat oberhalb des Nukleus und einige im Zytoplasma verteilte Mitochondrien (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c; Tandler et al., 1998).

Schaltstücke bilden oftmals Verzweigungen. Viele Autoren berichten meist von einer Unterteilung der Schaltstücke vor dem Übergang zum Streifenstück. Man spricht von sogenannten Schaltstücken erster und zweiter Ordnung, wobei die Benennung der Schaltstücke von distal nach proximal erfolgt. So wird der proximale, dem Endstück angrenzende Teil, als Schaltstück zweiter Ordnung und der distale Abzweig, der das proximale Schaltstück mit dem Streifenstück verbindet, als Schaltstück erster Ordnung gekennzeichnet (Tamarin und Sreebny, 1965; Tandler et al., 1998). Dardick et al. (1990) wiesen darauf hin, dass die Unterteilung der Schaltstücke komplexer ist als vermutet. Während bei den Parotis- und Submandibulardrüsen des Menschen einige Endstücke nur über durchgehende oder einfach verzweigte Schaltstücke mit dem Streifenstück verbunden sind, konnten in der Submandibulardrüse bei Caniden sogar Schaltstücke dritter Ordnung festgestellt werden (Dardick et al., 1990). Boshell und Wilborn teilen die Schaltstücke der Glandula parotis des Schweines bereits 1978 in zwei Abschnitte. Der dem Azinus nachfolgende proximale Anteil wird von vier bis neun aneinandergereihten Zellen gebildet. Die Zellen erscheinen sehr flach und langgezogen. Diesem folgt ein zweites distales Segment, dessen Zellen eher kubisch

erscheinen (Boshell und Wilborn, 1978). Tandler et al. (1998) zeigen in ihrem Artikel „Comparative Ultrastructure of Intercalated Ducts in Major Salivary Glands: A Review“ von 1998, dass zwischen den Schaltstücken einiger Säugerspezies deutliche strukturelle Unterschiede bestehen, die sich auch auf ihre Funktion auswirken. So weisen Tandler et al. den Schaltstücken nicht nur eine reine Transportfunktion zu, sondern vermuten, dass sie den Primärspeichel aktiv durch Sekretions- und Absorbtiionsprozesse beeinflussen (Tandler et al., 1998).

### 2.3.4. Streifenstücke

Streifenstücke (Ductus striati) stellen die nächst größere Einheit des Sekret ableitenden Systems großer Speicheldrüsen dar. Die auch als „Sekretrohre“ bezeichneten Gänge weisen ebenfalls Verzweigungen auf und jedes einzelne Streifenstück geht seinerseits in eine Vielzahl von Schaltstücken über (Hees und Sinowatz, 2000). An ihrem distalen Ende setzen sie sich in kleine interlobuläre Ausführungsgänge fort. Die Mündung der Schaltstücke in das Streifenstück verläuft speziesbezogen sehr unterschiedlich (Tandler et al., 1998). Shackelford und Wilborn (1969) beschreiben beim Rind einen graduellen Anstieg der Zellhöhe (Shackelford und Wilborn, 1969).

Ihren Namen erhielten die Streifenstücke durch die im Lichtmikroskop zu erkennenden Längsstreifen im basalen Bereich der hochprismatischen Zellen des Streifenstückepithels. Bei diesen handelt es sich um lange, faltenartige Einstülpungen der basalen Zellmembran, zwischen denen eine Vielzahl von Mitochondrien longitudinal angeordnet sind (Hees und Sinowatz, 2000; Liebich, 2010). Die Streifen ergeben sich aus dem Wechselbild der membranösen Falten und der dazwischen liegenden Reihen von Mitochondrien (Tandler et al., 2001). Diese bilden auch die vorherrschenden Zellorganellen der Streifenstücke (Riva et al., 1976). Riva et al. stellten diese 1993 durch Untersuchungen humaner Speicheldrüsen mittels Rasterelektronenmikroskopie dar (Riva et al., 1993). Diese topographische Eigenheit stellt eine wichtige Grundlage für den Transport von Salzen durch das Epithel dar, die im Bereich der Streifenstücke dem Primärspeichel hinzugefügt werden (Hees und Sinowatz, 2000). Die lateralen Plasmamembranen erscheinen dagegen glatt (Riva et al., 1976) und bei einigen Tierarten konnten an der Zelloberfläche kurze Mikrovilli nachgewiesen werden (Tandler et al., 2001). Das apikale Zytoplasma enthält zahlreiche Vesikel (Shackelford und

Wilborn, 1969; Riva et al., 1976; Suzuki et al., 1981c) und viele Mikrofilamente (Suzuki et al., 1981c). Im Zentrum der Zellen befindet sich ein runder Nukleus, ein wenig entwickeltes RER und ein kleiner Golgi-Apparat (Riva et al., 1976; Suzuki et al., 1981c). Riva et al. (1976) wiesen außerdem viele Peroxisomen, einige Lysosomen und Glykogenpartikel in den Streifenstückzellen nach (Riva et al., 1976).

Das einschichtige Epithel der Streifenstücke weist vor allem die bereits erwähnten hochprismatischen Zellen mit der charakteristischen basalen Streifung auf. Dieser vorherrschende Zelltyp wird von vielen Autoren als sogenannte „helle“ Streifenstückzellen bezeichnet. Auf ultrastruktureller Ebene werden noch als „dunkle“ Zellen bezeichnete hochprismatische Zellen beschrieben, die den hellen Streifenstückzellen sehr ähnlich sind, jedoch in der Elektronenmikroskopie dunkler erscheinen, dicht gelagerte Mikrofilamente enthalten und eine größere Anzahl von Mitochondrien und apikalen Vesikeln aufweisen (Shackleford und Wilborn, 1969; Riva et al., 1976; Suzuki et al., 1981c; Tandler, 1993; Tandler et al., 2001). Suzuki et al. (1981c) beschreiben beim Rind noch einen dritten hochprismatischen Zelltypus. Die von ihnen als „specific light cells“ („spezifische helle Zellen“) bezeichneten Zellen treten nur sehr selten auf und zeigen nur wenige Zellorganellen. Suzuki et al. vermuten, dass es sich um degenerative helle Streifenstückzellen handelt (Suzuki et al., 1981c).

Neben den hochprismatischen Zellen finden sich in den Streifenstücken kleinere, basal gelegene Zellen, die jedoch keine Myoepithelzellen darstellen. Zwar enthalten sie oft eine nicht geringe Anzahl an Filamentbündeln, allerdings handelt es sich eher um Intermediär- und nicht um Aktinfilamentbündel (Eisenbrückner, 2000). Die Basalzellen der Streifenstücke weisen im Allgemeinen eine glatte Oberfläche auf, obwohl bei einigen Spezies Interdigitationen mit benachbarten Zellen beschrieben wurden (Suzuki et al., 1981c; Tandler, 1993). Der prominente Zellkern erscheint bei einigen Basalzellen teilweise verformt und zeigt teilweise Einkerbungen (Tandler, 1993). Eine Unterteilung der Basalzellen des Streifenstücks nehmen Boshell und Wilborn (1978) in ihrer histologischen Untersuchung der Ohrspeicheldrüse des Schweines vor. Sie erwähnten in der H.E.-Färbung hell und dunkel erscheinende Zellen. Die sogenannten „hellen“ Zellen zeichnen sich nach ihrer Darstellung durch einen blassen, eiförmigen Zellkern und blau angefärbte Granula im basalen Bereich der Zelle aus. Die Zellkerne der „dunklen“ Zellen erscheinen dagegen fast pyknotisch. Außerdem bilden verschiedenartige Fortsätze, die zur Basalmembran ziehen (Boshell und Wilborn, 1978). Shackleford und Klapper (1962) beschreiben zudem in Streifenstücken vorkommende

Zellen, die sich nach Alcianblau und PAS-Färbung metachromatisch (untypisch für den angewandten Farbstoff) anfärben und mastzellartige Strukturen aufweisen (Shackleford und Klapper, 1962). In ihrer Studie über die Glandula parotis von Rindern beschrieben Shackleford und Wilborn, dass die Streifenstücke beim Kalb im Gegensatz zu anderen Spezies schwächer ausgebildete basale Einfaltungen aufweisen (Shackleford und Wilborn, 1969). Eine weitere tierartliche Ausnahme bildet die Katze, deren Streifenstücke der Ohrspeicheldrüse im morphologischen Vergleich zu anderen Säugerspezies schlecht entwickelt sind (Shackleford und Klapper, 1962).

### 2.3.5. Ausführungsgänge

Die Streifenstücke der großen Speicheldrüsen setzen sich in sogenannte Ausführungsgänge (Ductus excretorii) fort. Die Ausführungsgänge lassen sich in histologischen Schnittpräparaten leicht durch ihre Lage im interlobulären Bindegewebe erkennen, welches sie zirkulär umhüllt. Sie sind verzweigt und münden letztendlich in einen einzelnen großen Hauptausführungsgang, der das Drüsenparenchym mit der Mundhöhle verbindet (Hees und Sinowatz, 2000). Bei der Glandula parotis wird er auch nach seinem dänischen Entdecker, Niels Steensen als „Stenon'scher Gang“ bezeichnet (Eisenbrückner, 2000). Die kurzen Ausführungsgänge setzen sich an ihrem proximalen Ende aus einem ein- bis zweischichtigen Epithel mit meist isoprismatischen Zellen zusammen. Mit steigendem Lumendurchmesser erhöht sich auch die Zahl der epithelialen Zellschichten. Bei Kälbern erreichen sie beispielsweise im interlobulären Bindegewebe sechs bis acht Zellschichten (Eisenbrückner, 2000). Tandler et al. (2006) verglichen in ihrer Literaturzusammenfassung von 2006 die Speicheldrüsen von über 250 Säugetierspezies. Sie stellten auch im Bereich der Ausführungsgänge einige tierartliche Besonderheiten heraus. Ausführungsgänge können verschiedenste Epithelformen aufweisen, diese varrieren von einschichtig iso- bis hochprismatischen Epithelien bis hin zu mehrschichtig hochprismatischen Epithelien, obwohl meist ein Epitheltyp vorherrschend ist (Tandler et al., 2006). Des Weiteren beschrieben Tandler et al. (2006), dass der Übergang vom Streifenstück zum Ausführungsgang teilweise über einen intermediären Zelltyp, der noch eine geringe basale Streifung aufweist, erfolgen kann (Tandler et al., 2006). In den größeren Ausführungsgängen aller Säugetierarten lassen sich zum Teil große Mengen von Becherzellen nachweisen. Diese Muzin produzierenden Zellen zeigen eine PAS-Reaktion und färben sich deutlich mit Alcianblau und kolloidalem Eisen an (Shackleford und Klapper, 1962). In der H.E.-

Färbung sind die Lumina der Ausführungsgänge oftmals mit einem rotgefärbten Material ausgefüllt, das vermutlich Speichelreste darstellt (Mau et al., 2010).

### 2.3.6. Umgebende Strukturen - Stroma

Das Drüsenparenchym der großen Speicheldrüsen wird von einer Kapsel aus faserreichem Bindegewebe umhüllt. Von dieser ausgehend durchziehen Bindegewebs-trabekel das Parenchym und teilen es in Lobi und kleinere Lobuli ein (Adnyane et al., 2010). Eine bemerkenswerte Ausnahme findet sich bei einigen Fledermausspezies. Hier ist das gesamte Drüsenparenchym in einem einzigen Läppchen vereint (Tandler et al., 2006). Im Bindegewebe sind die Ausführungsgänge deutlich abzugrenzen. Sie sind meist von einem Kranz aus Blutgefäßen und Nervenanschnitten umgeben. Zudem sind je nach Alter und Ernährungszustand des Tieres große Gruppen von Adipozyten im interlobulären Bindegewebe anzutreffen (Hees und Sinowatz, 2000).

Die von Ohtani et al. (1983) durchgeführten rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen zur Vaskularisation der Speicheldrüsen von Ratten ergaben erstaunliche Ergebnisse: Es besteht ein getrenntes vaskuläres System für intralobulär und extralobulär gelegene Strukturen. So wird das dichte Kapillarnetz, das die Ausführungsgänge umgibt, direkt aus den interlobulär gelegenen Arterien gespeist und über die zugehörigen Venen drainiert. Parallel dazu umspannt ein getrennt verlaufender Kapillarplexus die Endstücke. Dieser entspringt aus den terminalen, intralobulären Arteriolen, die entlang des parenchymalen Gangsystems verlaufen. Dieses, die Endstücke umgebende Kapillarnetz, setzt sich in ein weiteres Netz großer Sinusoide (weitleumige, gefensterte Kapillaren) fort, welches die Streifenstücke umhüllt (Ohtani et al., 1983).

Die Innervation der Speicheldrüsen erfolgt durch efferente Nerven des sympathischen und parasympathischen Nervensystems. Im interlobulären Bindegewebe verlaufen diese in gemischten myelinisierten Nervenfaserbündeln. Im Bereich der Endstücke innervieren sie die Effektorzellen, also die Sekret produzierenden Azinuszellen und Myoepithelzellen, durch nicht myelinisierte Endäste. Der nervale Stimulationstypus variiert jedoch oft, sowohl speziesbezogen als auch innerartlich zwischen den einzelnen Drüsenkomplexen (Garrett und Kidd, 1993). Zum einen findet man den „epilemmalen“ Innervationsmechanismus, bei dem ein unmyelinisierter Nervenast zwar sehr nahe an die Azinuszellen und angrenzenden Myoepithelzellen heranreicht, aber

von diesen durch die Basalmembran getrennt bleibt. Die ebenfalls vorkommende „hypolemmale“ Innervation zeichnet sich im Gegensatz dadurch aus, dass der unmyelinisierte Nerv die Basalmembran durchstößt und sich aktiv an die Effektorzellen annähert (Redman, 1994). Bei den meisten humanen Speicheldrüsen herrscht nach Redman (1994) der epilemmale Innervationsmechanismus vor (Redman, 1994).

Die Blutgefäße der Speicheldrüsen werden ebenfalls epilemmal durch sympathische und parasymphatische Nervenfasern innerviert (Garrett und Kidd, 1993). John Garrett und Audrey Kidd teilen die nervalen Stimuli in mindestens vier funktionelle Kategorien ein: „hydrokinetic“, den Flüssigkeitstransport betreffend, „proteokinetic“ für Sekretionsprozesse von Protein-Strukturen, „synthetic“ in Bezug auf Syntheseleistungen der Zellen und „trophic“ für Prozesse, die den grundlegenden Zellhaushalt aufrechterhalten (Garrett und Kidd, 1993).

### 2.3.7. Untersuchung der Glandula parotis durch konventionelle Färbungstechniken

Verschiedene Autoren untersuchten die Speicheldrüsen mehrerer Spezies mit konventionellen histologischen Färbemethoden. Die größte Bedeutung kommt den konventionellen Färbungen mit Alcianblau und Perjodsäure-Schiff-Färbungen zu. Die Reaktion der Endstückzellen auf diese Methoden bildet die Grundlage des bereits oben erwähnten Klassifizierungsschemas für Speicheldrüsen von Shackleford und Klapper (Shackleford und Klapper, 1962).

Diese dokumentierten in ihrer Studie 1962 beispielsweise, dass sich die Glandula parotis von Nagetieren, Affen und Schweinen sowohl in Morphologie, als auch in ihren histochemischen Eigenschaften sehr ähneln. Da diese Drüsen kaum auf die Behandlung mit Alcianblau und kolloidalem Eisen reagierten, wurden sie als rein seröse Drüsen eingestuft. Auch die serösen Endstücke der untersuchten Rinder und Schafe ließen sich nur schwach anfärben und wurden ebenfalls als rein serös klassifiziert, obwohl sich die strukturellen Eigenschaften ihrer Ohrspeicheldrüse von den anderen untersuchten Spezies unterscheiden. Eine Ausnahme bilden die von Shackleford und Klapper (1962) als eher „seromukös“ eingeteilten Parotisendstücke bei Hund und Katze, da diese eine erhöhte Affinität für die Anfärbung mit Alcianblau und kolloidalem Eisen aufwiesen (Shackleford und Klapper, 1962).

Boshell und Wilborn (1978) untersuchten verschieden fixierte Parotisproben von Schweinen mit der PAS-Färbung nach McManus, Alcianblaufärbung (bei einem pH-Wert von 2,6 sowie einem pH-Wert von 0.5), Hämalaun-Eosin-Färbung und der Trichromfärbung nach Mallory/Cason. Sie zeigten, dass in den Endstückzellen des Schweines nur wenige kohlenhydrathaltige Strukturen nachzuweisen sind und konnten blasse Granula im Zytoplasma ausmachen, die den Azinuszellen des Schweines, ihr typisches vakuolisiertes Aussehen verleihen (Boshell und Wilborn, 1978).

Adnyane et al. verwendeten im Jahr 2010 Alcianblau (pH 2,5) zum Nachweis saurer Kohlenhydratstrukturen und die PAS-Färbung zum Nachweis neutraler Kohlenhydratverbindungen bei der Ohrspeicheldrüse des Muntjaks, einer in Asien verbreiteten Gattung von Hirschen. Die Zellen der in Bouin'scher Lösung fixierten Endstücke zeigten negative Ergebnisse für beide Färbungen (Adnyane et al., 2010), was einen beachtenswerten Unterschied zu den Azinuszellen anderer Wiederkäuerspezies darstellt. So zeigten beispielsweise die Azinuszellen der Glandula parotis des Rindes bei den Untersuchungen von Suzuki et al. (1981) unter Verwendung der selben Fixationstechnik und histologischen Färbungen zwar ebenfalls ein negatives Ergebnis bei der Alcianblaufärbung (pH 2,5), aber ein positives Ergebnis für die PAS-Färbung (Suzuki et al., 1981c).

## 2.4. Glykohistochemie

### 2.4.1. Definition und Funktion von Lektinen

Lektine sind Proteine oder Glykoproteine, die nicht-kovalent an Kohlenhydrate binden. Charakteristisch ist ihre hohe Spezifität für einzelne Mono- oder Oligosaccharidstrukturen. Sie bestehen meist aus mehreren Untereinheiten und weisen im Allgemeinen mindestens zwei Bindungsstellen für ihre spezifischen Liganden auf. Neue Untersuchungen von Gabius et al. (2011) zeigten, dass die Bindungsstellen für Kohlenhydratstrukturen sehr komplexe Struktur motive aufweisen, die von fast ebenen Oberflächen bis hin zu taschenartigen Ausbuchtungen reichen, die tief in die unterschiedlichen Faltungsmuster der Proteinstruktur des Lektins eingebettet sind. Die Fähigkeit Kohlenhydratstrukturen in dieser Weise zu binden, bildet die Basis für ihre Eigenschaft in Lösung zur Agglutination von Zellen zu führen (Gabius et al., 2011). Aufgrund dieser Tatsache wurden sie seit ihrer Entdeckung mit einer Vielzahl von Begriffen wie „Agglutinine“, „Phytohämagglutinine“, „Phytoagglutinine“, „Protectine“ und vieles mehr umschrieben (Goldstein et al., 1980). W.C. Boyd schlug 1954 vor agglutinierende Proteine von Pflanzen als „Lektine“ zu bezeichnen, falls diese zwar ähnliche Eigenschaften wie Antikörper aufweisen, indem sie spezifisch mit einem Antigen reagieren, aber nicht aufgrund eines Antigenstimulus von Pflanzen synthetisiert würden. Der Terminus „Lektin“ leitet sich vom lateinischen Wort „legere“ ab, was im Deutschen „auswählen, auslesen“ bedeutet und spielt zum einen auf die hohe Spezifität dieser Kohlenhydrat bindenden Proteine an, grenzt sie jedoch gleichzeitig von Antikörpern ab (Boyd und Shapleigh, 1954a; Boyd und Shapleigh, 1954b).

Diese klassische Definition von W.C. Boyd wurde 1980 von Goldstein et al. wie folgt erweitert: „Lektine sind Zucker bindende Proteine oder Glykoproteine nicht immunogenen Ursprungs, die mindestens zwei Zuckerbindungsstellen aufweisen und die Eigenschaft besitzen, Tier- und Pflanzenzellen zu agglutinieren und/ oder einen Niederschlag mit Polysacchariden, Glykoproteinen und Glykolipiden zu bilden. Ihre Spezifität wird über das Mono- oder Oligosaccharid definiert, welches zu einer Hemmung der durch das Lektin ausgelösten Agglutination führt.“

Aufgrund der Tatsache, dass in der Natur verschiedene Gruppen von Proteinen mit Zuckerstrukturen in Verbindung treten, wie zum Beispiel zuckermodifizierende Enzyme, Transportproteine, Hormone oder Toxine, die wie Lektine die Fähigkeit besitzen unter gewissen Bedingungen zur Agglutination von Zellen zu führen, ist es wichtig Lektine von diesen zu unterscheiden. Klassischerweise wurden vorwiegend agglutinierende Proteinstrukturen pflanzlichen Ursprungs als „Lektine“ bezeichnet.“ (Goldstein et al., 1980)

Allerdings konnten Lektine im Zuge verschiedener Forschungsarbeiten auch in vielen anderen Organismen wie Pilzen, Bakterien, Avertebraten, Wirbeltieren und auch beim Menschen nachgewiesen werden. Goldstein et al. (1980) schließen diese in ihre Definition mit ein (Goldstein et al., 1980).

Gabius et al. (2011) liefern eine aktuelle Definition für Lektine, die sich nicht nur auf ihre agglutinierende Wirkung stützt, sondern vor allem ihre spezifische Bindungsaktivität für Kohlenhydratstrukturen in den Vordergrund stellt: „Lektine sind Kohlenhydrat bindende Proteine, die keine enzymatische Aktivität gegenüber ihrem Liganden aufweisen und sich von Antikörpern sowie Sensor- und Transportproteinen, die freie Mono- oder Oligo-saccharide binden, unterscheiden“ (Gabius et al., 2011).

Wie bereits erwähnt, konnten Lektine in vielen Organismen nachgewiesen und isoliert werden. Ihre Funktion ist daher ebenfalls von verschiedenen Faktoren abhängig. Pflanzliche Lektine finden sich vor allem in den Speicherorganen der Pflanze (Samen) und zeigen häufig eine Spezifität gegen Saccharidstrukturen, weshalb sie mitunter hochgiftig für Tiere oder den Menschen sind. Früh wurde ihnen daher eine Schutzfunktion gegen Fressfeinde von Pflanzen zugeschrieben (Gabius, 2009). Heute weiß man, dass sie außerdem einen Schutzmechanismus gegen Pilzbefall darstellen. Indem sie an die Zellwand der Pilzhyphen binden, hemmen sie deren Wachstum. Des Weiteren sind sie an der Ausbildung von symbionischen Beziehungen zwischen Pflanzen und Bakterien beteiligt. Neben diesen externen Funktionen spielen Pflanzenlektine auch bei zellinternen Prozessen eine wichtige Rolle. Auf zellulärer Ebene liegen Lektine meist frei in den Proteinspeicherorganellen der Pflanze den sogenannten „Protein bodies“ oder „Protein-Körperchen“ vor, oder stellen Bestandteile ihrer Membran dar. Hier sind sie an Verteilungsprozessen von Speicherproteinen und Enzymen sowie an der Vermittlung von Kontakten zwischen Speicherproteinen und der Protein-Körperchenmembran beteiligt (Gabius, 2009).

Zudem wird ihnen neben einer Beteiligung am Zellwachstum und bei Anpassungsvorgängen der Pflanze an wechselnde Umweltbedingungen sogar eine Rolle bei der Modulation von enzymatischen Aktivitäten zugesprochen (Rüdiger und Gabius, 2001; Gabius et al., 2004).

Im Gegensatz zu Pflanzenlektinen weisen tierische Lektine (zum Beispiel Galektine) einige Unterschiede auf. Extrazelluläre Lektine sind nicht nur an der Organisation der extrazellulären Matrix beteiligt, sondern auch am Wachstum und Entwicklung der Zellen. Zudem fungieren sie als Signalmoleküle für Immunzellen. Membranständige Lektine spielen eine Rolle als Rezeptoren für Transportprozesse, Zelladhäsionsvorgänge und Zell-Zell-Interaktionen (Cell signaling). Intrazelluläre Lektine übernehmen verschiedene Funktionen bei der Qualitätskontrolle und Aussortierungsprozessen von Glykoproteinen im „secretory pathway“ (Van Damme et al., 2004).

### 2.4.2. Einsatz von Lektinen in der Forschung

Neben Nukleotiden und Proteinen enthalten auch Kohlenhydrate ein großes Potential zur Informationsübermittlung in Organismen. Durch die Vielzahl möglicher Anordnungs- und Verknüpfungsmuster von Monosacchariden zu größeren Oligosaccharidketten, die zusätzlich durch Verzweigungen und Glykosylierungsprozesse modifiziert werden können, ergibt sich eine enorme Varianz an Informationsträgern. Als Bestandteil von Glykokonjugaten, wie Glykoproteinen oder Glykolipiden, die integraler Bestandteil zellulärer Membranen sind, formen sie die Glykokalix der Zelle. Diese zellspezifische Anordnung von Zuckerstrukturen an der Zelloberfläche bildet eine Voraussetzung für viele Regulations- und Erkennungsprozesse zwischen Zellen und der extrazellulären Matrix ebenso wie für Zell-Zell-Interaktionen (Zelladhäsionsvorgänge, Signaltransduktion etc.) und bildet so für jede Zellart einen spezifischen Glykophänotyp (Gabius, 2009; Gabius et al., 2011).

Da Lektine selektiv an bestimmte Mono- oder Oligosaccharidstrukturen binden, stellen sie ein ideales Werkzeug für die Entschlüsselung des Verteilungsmusters von Glykokonjugaten im Inneren und auf der Oberfläche verschiedener Zellarten oder Gewebe dar.

Auch Veränderungen des Glykophänotyps in Bezug auf den Entwicklungsstatus der Zelle, das Zellverhalten oder auch krankheitsbedingte Veränderungen, können mit lektinhistochemischen Untersuchungen erkannt werden. Daher werden sie gerne in der naturwissenschaftlichen Forschung eingesetzt, wie beispielsweise in der Biochemie (zur Analyse von Kohlenhydratstrukturen), in der Histologie (zur Charakterisierung und Eingrenzung von Zellpopulationen und Geweben), in der Medizin (zur Erkennung von krankheitsbedingten Veränderung des Glykophänotyps von Zellpopulationen und Geweben, als Marker für die Erkennung von Viren, Bakterien, Parasiten etc. sowie in der Krebsforschung etc.) (Rüdiger und Gabius, 2001; Gabius, 2009).

### 2.4.3. Einteilung der Pflanzenlektine

Pflanzenlektine werden häufig für lektinhistochemische Untersuchungen eingesetzt, da sie eine hohe Stabilität aufweisen und gut mit verschiedenen Markern (z.B. Fluoreszenzmarker, wie FITC) versehen werden können (Gabius, 2009). Wie bereits erwähnt reichern sich Pflanzenlektine vor allem in den Speicherorganen wie Samen, Wurzeln, Knollen oder Zwiebeln an. Man kann sie aber auch in der Rinde oder in den Blättern finden. Benannt werden pflanzliche Lektine am häufigsten anhand der lateinischen Bezeichnung ihrer Ursprungspflanze. Meist wird an die beiden Anfangsbuchstaben von Gattung und Art der Pflanze ein „A“ als Abkürzung für den Terminus „Agglutinin“ beigefügt, was auf die früh entdeckte zellagglutinierende Eigenschaft der Lektine anspielt (Gabius, 2009). Goldstein und Poretz teilten Lektine aufgrund ihrer Bindungsspezifität ein (Goldstein und Poretz, 1986). Die Ermittlung der Bindungsspezifität erfolgte durch die agglutinationshemmende Wirkung spezifischer Monosaccharide (Hemmsucker) (Gabius et al., 2004; Gabius, 2009) und wird nach heutigen Maßstäben als stark vereinfacht angesehen (Roth, 2011). Tabelle 1 zeigt eine Aufstellung ausgewählter Pflanzenlektine anhand ihrer nominalen Zuckerspezifität, basierend auf der Einteilung von Goldstein und Poretz (1986) und modifiziert nach diversen Autoren (Goldstein und Poretz, 1986; Brooks et al., 1997; Rüdiger und Gabius, 2001; Gabius et al., 2004; Gabius, 2009; Gabius et al., 2011).

**Tabelle 1:** Übersicht über die Einteilung ausgewählter Pflanzenlektine nach ihrer Zuckerspezifität modifiziert nach Gabius, 2009

Lektingruppe	Abk.	Pflanzliche Ursprungsquelle	Zuckerspezifität
I. D-Mannose/ D-Glukose bindende Lektine	Con A	<i>Concanavalia ensiformis</i> (Schwertbohne)	$\alpha$ -D-Man > $\alpha$ -D-Glc
	LCA	<i>Lens culinaris</i> (Linse)	$\alpha$ -D-Man, $\alpha$ -D-Glc
	PSA	<i>Pisum sativum</i> (Gartenerbse)	$\alpha$ -D-Man, $\alpha$ -D-Glc
II. D-Galaktose bindende Lektine	ECA	<i>Erythrina cristagalli</i> (Korallenbaum)	$\beta$ -D-Gal(1-4)-D-GlcNAc
	PNA	<i>Arachis hypogaea</i> (Erdnuss)	$\beta$ -D-Gal(1-3)-D-GalNAc
	RCA	<i>Ricinus communis</i> (Wunderbaum/ Rizinusbohne)	$\beta$ -D-Gal
III. N-Acetyl-D-Galactosamin bindende Lektine	DBA	<i>Dolichos biflorus</i> (Pferdebohne)	$\alpha$ -D-GalNAc(1-3)GalNAc
	GSL-I	<i>Griffonia simplicifolia</i> (Afr. Schwarzbohne)	$\alpha$ -D-GalNAc(3)Gal
	SBA	<i>Glycine max</i> (Sojabohne)	$\alpha$ -D-GalNAc, $\alpha$ -D-Gal
	SJA	<i>Saphora japonica</i> (Japanischer Schnurbaum)	$\beta$ -D-GalNAc, $\beta$ -D-Gal
IV. Galaktose und N-Acetyl-Galaktosamin bindende Lektine	SNA	<i>Sambucus nigra</i> (Schwarzer Holunder)	Gal/GalNAc > NeuNAc
V. N-Acetyl-D-Glucosamin bindende Lektine	WGA	<i>Triticum vulgare</i> (Weizenkeim)	$\beta$ -D-GlcNAc, NeuNAc
VI. L-Fukose bindende Lektine	LTA	<i>Lotus tetragonolobus</i> (Rote Spargelerbse)	$\alpha$ -L-Fuc
	UEA-I	<i>Ulex europaeus</i> (Stechginster)	$\alpha$ -L-Fuc
VII. Oligosaccharid bindende Lektine	MAA I	<i>Maackia amurensis</i> (Asiatisches Gelbholz)	NeuNAc
	PHA-E/L	<i>Phaseolus vulgaris</i> (Gartenbohne)	Komplexe N-Glykane
	VAA	<i>Viscum album</i> (Mistel)	NeuNAc, Gal

Die Mehrzahl aller Pflanzenlektine wird aus der Familie der Leguminosen (Hülsenfrüchtler) gewonnen, wie zum Beispiel PHA-E / -L, SBA, oder Con A. Interessant ist, dass sich bei Lektinen dieser Gruppe, obwohl sie starke Homologien in ihren Aminosäuresequenzen aufweisen, eine Vielzahl verschiedener nominaler Zuckerspezifitäten findet (Rüdiger and Gabius, 2001). Weitere lektinhaltige Pflanzenfamilien sind *Araceae* (Aronstabgewächse), *Cucurbitaceae* (Kürbisgewächse), *Liliaceae* (Liliengewächse), *Moraceae* (Maulbeergewächse), *Euphorbiaceae* (Wolfsmilchgewächse), *Amaryllidaceae* (Amaryllisgewächse), *Lamiaceae* (Lippenblütler), *Gramineae* (Süßgräser) und *Amaranthaceae* (Fuchsschwanzgewächse) (Gabius, 2009).

Eine besondere Gruppe der Pflanzenlektine sind die Oligosaccharid bindenden Lektine. Für einige Lektine dieser Gruppe ist kein spezifisches Monosaccharid als nominaler Bindungspartner bekannt, wie zum Beispiel für MAA-I (frühere Nomenklatur MAL-I). Sie binden an komplexe Zuckerstrukturen, wie beispielsweise die Phaseolus-Lektine PHA-E und PHA-L an komplexe N-Glykanstrukturen, oder weisen verschiedene Bindungsaffinitäten auf, wie VAA oder SNA. Diese beiden letztgenannten Lektine sowie MAA-I weisen auch eine Affinität für Sialinsäure auf. Sialinsäuren sind negativ geladene Aminozyucker, die aus neun Kohlenstoffatomen bestehen und N- oder O-Acetylderivate der Neuraminsäure darstellen. Sie finden sich vor allem an nicht reduzierten Enden der Oligosaccharidketten von Glykoproteinen oder Glykolipiden, können aber auch frei vorkommen. Sie sind meist über O- oder N-glykosidische Bindungen mit Galaktose-, N-Acetylgalaktosamin- oder N-Acetylglukosamin-Resten verknüpft (Lehmann et al., 2006; Gabius, 2009).

Obwohl über 50 verschiedene Vertreter dieser Aminozyucker natürlich vorkommen, wird der Begriff „Sialinsäure“ häufig als Bezeichnung für die am häufigsten auftretende Sialinsäure, die N-Acetylneuraminsäure (NeuNAc, NANA) verwendet (Lehmann et al., 2006; Gabius, 2009). Aufgrund ihrer meist terminalen Lage an den Oligosaccharidketten von Glykoproteinen und Glykolipiden der Zelloberfläche bieten sie ideale Voraussetzungen als Bindungspartner für Zell-Zell-Interaktionen oder Adhäsionsvorgänge. Diese Eigenschaft nutzen neben endogenen Zellen allerdings auch Krankheitserreger wie Viren, Bakterien oder Protozoen (Gabius, 2009). Durch ihre vielfältigen Funktionen sowie durch die große Varianz ihrer vorkommenden Derivate liefern Sialinsäuren ein interessantes Studiengebiet. Zur Entschlüsselung ihres Verteilungsmusters in verschiedenen Geweben stellen Sialinsäure bindende

Lektine wie MAA-I, VAA oder SNA wertvolle Marker dar.

### 2.4.4. Lektinhistochemische Untersuchungen der Glandula parotis des Menschen und verschiedener Säugetierspezies

Alle großen Speicheldrüsen, auch die Glandula parotis wurden beim Menschen und bei mehreren Säugetierspezies mittels lektinhistochemischer Untersuchungen untersucht. Im Folgenden werden einige ausgewählte Studien beispielhaft aufgelistet, um einen kurzen Überblick über die Anwendung von Pflanzenlektinen bei histochemischen Untersuchungen der großen Speicheldrüsen – mit besonderem Fokus auf die Glandula parotis – zu geben. Laden et al. (1984) untersuchten in ihrer Studie Autopsiematerial aller großen Speicheldrüsen mittels der Lektin-Horseradish-Peroxidase-Technik unter Anwendung von neun verschiedenen Pflanzenlektinen (BSA-I /II, DBA, LTA, PNA, PSA, RCA-I, SBA, UEA-I). In ihrer Studie stellte sich ein heterogenes Verteilungsmuster der Lektinreaktivität in mukösen Drüsenzellen unterschiedlicher Individuen dar, welches sie teilweise mit dem ABO-Blutgruppenstatus der untersuchten Personen sowie dem aktuellen Sekretionsstatus der Drüse in Verbindung brachten. Bei serösen Drüsen, wie der Glandula parotis, konnte diese Korrelation zwischen Blutgruppenstatus und Lektinverteilungsmuster der untersuchten Individuen allerdings nicht beobachtet werden. Die serösen Zellen der Glandula parotis und der Glandula submandibularis wiesen im Vergleich zu anderen Speicheldrüsen jedoch ein erhöhtes Vorkommen von Fukose-Resten auf (Laden et al., 1984). McMahon et al. führten 1989 eine ähnliche Studie über die Glykokonjugate der menschlichen Speicheldrüsen durch und setzten als erste biotinylierte Lektine (AHA, BSA-I, Con A, DBA, LCA, LTA, MPA, PHA-E, PHA-L, PSA, SBA, UEA-I und WGA) ein. Im Gegensatz zu der Studie von Laden et al. (1984) konnten sie keine Variationen der Glykokonjugatzusammensetzung abhängig vom Blutgruppenstatus der Probanden feststellen (McMahon et al., 1989a).

Eine weitere Studie von Jezernik and Pipan (1986) gründete auf die Anwendung der sog. „fracture-labelling-technique“ an den Endstückzellen der Glandula parotis beim Menschen. Bei dieser Methode wurden die in flüssigem Stickstoff gefrorenen Gewebeproben zerstoßen, bevor sie mit Lektin-Ferritin-Konjugaten (LPA-, PHA-, RCA-II- und WGA-Ferritin) behandelt wurden. Der Vorteil dieser Technik ist, dass sowohl die äußere Membran aufgebrochener Vesikel des Golgi-Apparates oder Sekretgranula im Inneren der Zellen, als auch deren Inhalt untersucht werden konnte (Jezernik und

Pipan, 1986). Ein Beispiel für die Anwendung lektinhistochemischer Methoden, um krankheitsbedingte Veränderungen des Verteilungsmusters zelleigener Kohlenhydratstrukturen anzuzeigen, ist die Studie von Sobral et al. (2010). Hier verwendete man die Pflanzenlektine Con A und UEA-I als histochemische Marker und verglichen gesundes Parotisgewebe und Parotiden mit mucoepidermoidem Karzinom (Sobral et al., 2010).

Lektinhistochemische Untersuchungen der großen Speicheldrüsen und insbesondere der Glandula parotis sind vor allem bei kleinen Säugetierspezies, wie Maus, Ratte oder Kaninchen gut dokumentiert. Jezernik und Pipan setzten die „fracture-labelling-technique“ in Kombination mit der Markierung von Zuckerstrukturen durch Lektin-Ferritin-Konjugate (Con A-, PHA-, PNA-, RCA I- und WGA-Ferritin) 1989 bei der Maus ein, um die Zusammensetzung der Kohlenhydratstrukturen von Schaltstücken und Endstücken der Glandula parotis zu vergleichen (Jezernik und Pipan, 1989). Zoia und Virgil Mureşsan nutzten für ihre Untersuchungen 1987 das sialinsäure-spezifische Lektin LPA zur vergleichenden Darstellung des Sialinsäureverteilungsmusters von Zellen des exokrinen Pankreas und der Glandula parotis von Kaninchen und Ratten. Sie konnten einen deutlichen Färbungsunterschied sowohl bei Endstücken, als auch bei Schaltstückzellen beider Organe darstellen (Mureşsan und Mureşsan, 1987). 1992 beschrieben Accili et al. die Kohlenhydratzusammensetzung von terminalen Dimerstrukturen der Parotiden von Maus, Ratte, Hase und Kaninchen und stellten deren speziesspezifische Unterschiede dar. Sie verwendeten insgesamt 12 Lektine (Con A, DBA, GSAIB4 (GSL-I-B4), GSA II (GSL-II), LCA, LPA, LTA, PNA, SBA, RCA I, UEA-I und WGA) in Kombination mit und ohne Vorverdauung der Gewebeproben durch verschiedene Glykosidasen (Accili et al., 1992).

Menghi et al. (1996) setzten einen besonderen Fokus auf die Kohlenhydratzusammensetzung der Sekretgranula. Durch vorherige Behandlung der Gewebeproben, wie beispielsweise eine Vorverdauung mit Sialidase oder eine Deacetylierung mit Kaliumhydroxid (KOH) konnten sie spezifische Sialinsäureverteilungsmuster in den Sekretgranula der Glandula parotis der Maus darstellen. Zur Markierung der Zuckerreste wurden die Lektine PNA und DBA verwendet, die mit Horseradish-Peroxidase (HRP) konjugiert vorlagen. Die Färbung wurde durch anti-HRP-Antikörper und durch Protein A-Gold-Konjugate angezeigt (Menghi et al., 1996). Wie auch Menghi et al. (1996) verwendeten D'Amico et al. (1999) in ihrer Studie „Lectin binding sites in parotid acinar secretory granules of normal and isoproterenol treated rat“ Lektin-Gold-Komplexe (HPA, SBA, UEA-I und WGA) zur Anfärbung der Endstückzellen in der

Glandula parotis der Ratte mit einer besonderen Betrachtung der Sekretgranula (D'Amico et al., 1999).

Detaillierte Erkenntnisse über die Glykokonjugatverteilung der Glandula parotis liegen auch für den Hund vor. Hier sind besonders zwei Studien zu erwähnen. Die 1994 von Pedini et al. durchgeführte lektinhistochemische Untersuchung der Glandula parotis des Hundes umfasste sieben HRP-konjugierte Lektine (Con A, DBA, LTA, PNA, SBA, UEA und WGA), denen teilweise eine Behandlung des Gewebes mit Neuraminidase vorausging. Sie zeigten, dass die Azinuszellen der Glandula parotis des Hundes eine Vielzahl von Glykokonjugaten enthalten und für alle Drüsenabschnitte ein heterogenes Verteilungsmuster vorliegt (Pedini et al., 1994). Sozmen et al. (1999) untersuchten neben der Glandula parotis auch andere große und kleine Speicheldrüsen des Hundes unter Verwendung biotinylierter Lektine (Con A, DBA, PNA, SBA, TGP und WGA) (Sozmen et al., 1999).

Auch bei den großen Speicheldrüsen des Pferdes wurden lektinhistochemische Untersuchungen durchgeführt. Die Autoren Gargiulo et al. (1993b) konnten unter anderem qualitative Unterschiede an terminalen Zuckerresten von sekretorischen Glykoproteinen und anderen Glykokonjugaten an der apikalen Oberfläche des Ausführungsgangepithels der großen Speicheldrüsen beim Pferd zeigen. Sie verwendeten für ihre Untersuchungen die HRP-konjugierten Pflanzenlektine DBA, PNA, SBA, UEA-I und WGA (Gargiulo et al., 1993b).

Wenig ist dagegen über die Glykokonjugatzusammensetzung der Glandula parotis bei Wiederkäuerspezies bekannt. Es gibt einige lektinhistochemische Studien, die die Speicheldrüsen der Wiederkäuer betreffen, wie die Studie von Schulte et al. (1985) über die Glykokonjugate der Glandula mandibularis des Schafes (Schulte et al., 1985) oder die lektinhistochemischen Untersuchungen von Gargiulo et al. (1993a) zur Beschreibung der Glykokonjugatverteilung der Zungendrüsen des Rindes mit einer Auswahl HRP-konjugierter Lektine (DBA, PNA, SBA, UEA-I und WGA) (Gargiulo et al., 1993a) sowie die von Accili et al. durchgeführte Untersuchung „Variety of sialic acids occurring in the bovine sublingual gland“ mit Sialinsäure-spezifischen Lektinen, wie LPA und SNA (Accili et al., 1994). Pedini et al. beschrieben 1997 unter Anwendung von acht verschiedenen Lektin-HRP-Komplexen die Verteilung von Kohlenhydratstrukturen in den großen Speicheldrüsen beim erwachsenen Dammhirsch. Hier liegen auch Beschreibungen der Glandula parotis vor (Pedini et al., 1997). Über

## Literaturübersicht

---

lektin histochemische Untersuchungen der Glandula parotis des Rindes mit Pflanzenlektinen konnten in der Literatur bisher keine Nachweise gefunden werden. In dieser Arbeit werden insgesamt siebzehn Lektine zur Untersuchung aller Organstrukturen dieser Speicheldrüse verwendet.

## 2.5. Immunhistochemie

### 2.5.1. Basalmembran

Die extrazelluläre Matrix ist ein wichtiger Bestandteil aller Organsysteme und sollte daher in die Untersuchung einzelner Gewebearten einbezogen werden. Sie wird von der interstitiellen Matrix des mesenchymalen Stromas und von Basalmembranen gebildet. Neben ihrer stützenden und formgebenden Funktion ist sie essentiell für alle Interaktionen zwischen mesenchymalen und epithelialen Zellstrukturen. Ihre Komponenten Laminin und Kollagen IV scheinen sowohl an der embryonalen Entwicklung als auch an der Regulation der Genexpression vieler Gewebe beteiligt zu sein (Hardman und Spooner, 1992; Lazowski et al., 1994). Basalmembranen umhüllen Epithelien, Nerven und Gefäßstrukturen, Muskeln sowie Fettgewebe und bilden eine dünne Grenzschicht zwischen funktionellen Zellverbänden und der interstitiellen Matrix (Kadoya und Yamashina, 2005). Elektronenmikroskopisch zeigen Basalmembranen zwei unterschiedlich dichte Zonen; Man teilt sie deshalb in eine elektronendurchlässige „Lamina lucida“ und eine elektronendichte „Lamina densa“ ein (Martinez-Hernandez und Amenta, 1983; Timpl, 1989). Ihre Hauptbestandteile sind Laminin, Kollagen IV, Fibronectin, Heparansulfatproteoglykane, Entacin / Nidogen sowie das Calciumbindende Protein Osteonectin (BM-40) (Timpl, 1989; Gustafsson et al., 1998). Für die lichtmikroskopische Darstellung von Basalmembranen eignen sich die Perjodsäure-Schiff'-Reaktion, Silberimprägnationen (Kadoya und Yamashina, 2005) oder die immunhistochemische Darstellung ihrer Proteinstrukturen.

Eine besondere Bedeutung kommt dabei dem Glykoprotein Laminin zu, das spezifisch in Basalmembranen lokalisiert ist. Strukturell setzt sich Laminin aus drei Ketten zusammen, einer längeren  $\alpha$ - (5 Isoformen) und einer kleineren  $\beta$ - (3 Isoformen) und  $\gamma$ -Kette (2 Isoformen), die sich über Disulfidbrücken zu einem kreuzförmigen Makromolekül verbinden. Dieses weist einen längeren und drei kürzere funktionelle Arme auf, die an ihren Enden globuläre Domänen aufweisen (Martin und Timpl, 1987; Sasaki et al., 1988; Timpl, 1989; Durbeej und Ekblom, 1997; Strassburger et al., 1998). Als integraler Bestandteil von Basalmembranen übernimmt Laminin eine wichtige Rolle bei der Morphogenese verschiedener Organsysteme, mitunter auch bei der embryonalen Verzweigung der Speicheldrüsen (Durbeej und Ekblom, 1997; Hosokawa et al., 1999). Des Weiteren übernimmt es biologische Funktionen im Bereich von Zelladhäsionsvorgängen, Migration von Zellen, Zellwachstum und Differenzierung von

Gewebe und Tumorzellen (Martin und Timpl, 1987).

### 2.5.2. Zytoskelett

Eukaryotische Zellen besitzen im Gegensatz zu pflanzlichen Zellen keine Zellwände. Sie erhalten ihre Form und Stabilität daher durch die netzartige Anordnung von Filamentstrukturen, die das Zellinnere durchziehen. Diese bilden das sogenannte Zytoskelett jeder Zelle. Die Komponenten des Zytoskeletts lassen sich in drei Hauptgruppen unterteilen: Mikrofilamente, Intermediärfilamente und Mikrotubuli (Hees und Sinowatz, 2000).

#### 2.5.2.1. Mikrofilamente

Mikrofilamente oder Aktinfilamente sind ein fester Bestandteil des Zytoskeletts und nehmen mit ca. 10% einen großen Anteil des Gesamtproteins einer Zelle ein (Hees und Sinowatz, 2000). Ihr Grundbaustein bildet das Monomer Aktin G, ein globuläres Protein mit einem Molekulargewicht von ca. 42.000 Dalton. Die Aktin G-Monomere organisieren sich im Zellinneren zu langen Filamentbündeln in Form einer doppelsträngigen, rechtsdrehenden Helix mit einem Durchmesser von ca. 5 nm (Korn, 1982; Hees und Sinowatz, 2000). Neben stärkeren Myosinfilamenten bilden Aktinfilamente einen Hauptbestandteil muskulärer Myofibrillen. Durch die Interaktion von Aktin- und Myosinfilamenten unter ATPase Aktivität kommt es zu einer Kontraktion der Muskelfasern (Korn, 1982). Der Nachweis von Aktinfilamenten in nicht-muskulären Zellen zeigte, dass Aktinfilamente komplexe mechanische Funktionen im Bereich von Zellstabilität, Zellarchitektur (Stossel, 1984) und der Beweglichkeit von Zellen übernehmen (Hepler und Palevitz, 1974). Eine Vielzahl an Aktin-bindenden Proteinen interagiert mit den Mikrofilamenten. Einige dienen der Maskierung von Aktin G-Monomeren (Profilin), der Wachstumsregulation der Filamente durch Blockierung der Filamentenden ( $\beta$ -Actinin, Gelsolin), der Verbindung zwischen Aktinfilamenten (Villin,  $\alpha$ -Actinin) oder der Verknüpfung von Aktinfilamenten mit anderen Zellstrukturen (Vinculin) (Stossel, 1984).

Aktinfilamente können gut immunhistochemisch nachgewiesen werden. Antikörper gegen Smooth muscle actin werden auch bei Untersuchungen der Speicheldrüsen häufig eingesetzt. Besonders Myoepithelzellen, die neben den Eigenschaften normaler

Epithelzellen auch Charakteristika glatter Muskelzellen aufweisen, konnten durch den immunhistochemischen Nachweis von Aktin dargestellt werden (Dardick et al., 1988; Draeger et al., 1991; Redman, 1994; Eisenbrückner et al., 2003; Ogawa, 2003; Elewa et al., 2010a; Nicolescu et al., 2012). Smooth muscle actin konnte ebenfalls in den Basalzellen von Streifenstücken gefunden werden (Dardick et al., 1988; Draeger et al., 1991). Auch die von Nicolescu et al. (2012) untersuchten Telozyten der Glandula parotis wiesen Aktinfilamente in ihren langen Zellausläufern auf (Nicolescu et al., 2012). Bei ihrer Untersuchung von Tight junctions in der Glandula parotis von Ratten stellten Hashimoto et al. (2000) mittels Fluoreszenz-mikroskopie Aktinfilamente im Bereich der luminalen Oberfläche und der interzellulären Canaliculi von Azinuszellen fest (Hashimoto et al., 2000). Auch die Tunica muscularis mesenchymaler Blutgefäße ist reich an „Smooth muscle actin“ (Ogawa, 2003)

### 2.5.2.2. Intermediärfilamente

Die Gruppe der Intermediärfilamente umfasst faserige Strukturen des Zytoskeletts, die einen Durchmesser von ca. 10 nm aufweisen und damit im Größenvergleich zwischen den kleineren Mikrofilamenten und den wesentlich größeren Mikrotubuli anzusiedeln sind (Lazarides, 1980). Intermediärfilamente bestehen aus Polypeptidketten, die eine dreigliedrige Primärstruktur formen. Im Zentrum liegt eine längliche Domäne in Form einer  $\alpha$ -Helix, die von jeweils einem nicht- $\alpha$ -helikalen, amino-terminalen Kopfende und einem carboxy-terminalen Schwanzende flankiert wird (Steinert und Roop, 1988; Fuchs und Weber, 1994; Chang und Goldman, 2004). Allerdings zeigen die Proteinketten der Intermediärfilamente Unterschiede in ihrer Aminosäuresequenz und ihrer Molekülgröße (Steinert und Roop, 1988). Homologien in der Aminosäuresequenz verwandter Intermediärfilamente führten zur Änderung der in den 1980er Jahren etablierten Einteilung in die fünf Untergruppen: Keratine, Desmin, Vimentin, Neurofilamentproteine und Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) (Lazarides, 1982). Die heute verwendete Einteilung der Intermediärfilamente in sogenannte „Sequence Homology Groups“ wird in Tabelle 2 dargestellt.

**Tabelle 2:** Einteilung der Intermediärfilamente modifiziert nach Fuchs und Weber, 1994; Chang und Goldman, 2004

Gruppe	Intermediärfilament	Lokalisation
I	Saure Keratine	Epithelien
II	Basische bis neutrale Keratine	Epithelien
III	Vimentin Desmin Synemin	Mesenchymale Zellen Muskelzellen Muskelzellen
IV	Neurofilamentäre Tripletproteine (NF-L, -M und -H) $\alpha$ -Internexin Syncolin	Nervenzellen  Nervenzellen Muskelzellen
V	Nukleäre Laminine Filensin	Zellkern Linse

### Cytokeratine

Die Cytokeratine (auch Keratine) bilden die größte Gruppe der Intermediärfilamente und zeigen auch die meisten Variationen. In den 1980er Jahren wurden sie aufgrund unterschiedlicher isoelektrischer Fokussierung in Typ I „saure Keratine“ und Typ II „basische-neutrale Keratine“ aufgeteilt (Lazarides, 1980; Fuchs und Weber, 1994) und aufgrund ihrer spezifischen Expression in verschiedenen Gewebearten von Moll et al. (1982) katalogisiert (Moll et al., 1982). Mit zunehmender Entdeckung neuer Cytokeratine, insbesondere der Haar- und Nagelkeratine und der Entschlüsselung der 54 Cytokeratin-Gene des Menschen wurde die ursprüngliche Einteilung erweitert. Schweizer et al. (2006) behielten zwar die ursprüngliche Unterteilung der Cytokeratine in Typ I und Typ II Keratine bei, legten aber bei ihrer Einteilung den Hauptfokus auf die Zuordnung der Cytokeratine zu ihrem jeweiligen Gen und ließen Spielraum für die Klassifizierung nicht humaner Keratin-Unterarten (Schweizer et al., 2006) (Tabelle 3).

**Tabelle 3:** Einteilung der Keratine modifiziert nach Schweizer et al., 2006

Gruppe	Bezeichnung	Zuordnung der Keratine
I	Human Typ I epitheliale Keratine	K 9 - K 28
	Human Typ I Haar-Keratine	K 31 - K 40
	Nicht-Human Typ I epitheliale und Haar-Keratine	K 41 - K 70
II	Human Typ II epitheliale Keratine	K 1 - 8 und K 71 - 80
	Human Typ II Haar-Keratine	K 81 - K 86
	Nicht-Human Typ II epitheliale und Haar-Keratine	K 87 - K 120
III	Typ II Keratin-Pseudogene	K121 - K 220
	Typ I Keratin-Pseudogene	ab K 221

Neue Erkenntnisse zeigen, dass Cytokeratine nicht rein statische Zellstabilisatoren sind, sondern dynamischen Prozessen unterliegen und sowohl für die mechanische Funktionalität der einzelnen Zelle als auch über Zell-Zell-Kontakte für die Stabilität von Epithelverbänden wichtig sind (Steinert et al., 1993; Moll et al., 2008). Zudem übernehmen Cytokeratine Funktionen im Bereich von Wundheilung (Kim et al., 2006), Signaltransduktion (Moll et al., 2008), Wachstum und Differenzierung. Da sie auch ein spezifisches Verteilungsmuster für verschiedene Tumorarten aufweisen (Moll et al., 1982), werden sie heute auch in der Tumordiagnostik eingesetzt (Moll et al., 2008).

Einige Cytokeratine wurden bereits in der humanen Glandula parotis nachgewiesen. In den Azinuszellen der humanen Glandula parotis konnten bisher nur Cytokeratin 18 dargestellt werden (Gustafsson et al., 1988) . Auch die Gangabschnitte zeigten in vielen Untersuchungen positive Reaktionen auf den immunhistochemischen Nachweis von Cytokeratinen. Neben Cytokeratin 18 ließen sich die Cytokeratine 5, 7, 8, 14, 17 und 19 im Gangsystem der Glandula parotis nachweisen (Burns et al., 1988; Gustafsson et al., 1988; Draeger et al., 1991; Tandler et al., 1998; Ogawa, 2003). In den Basalzellen der Streifenstücke und Ausführungsgänge wurden die Cytokeratine 13 und 16 lokalisiert. Myoepithelzellen zeigten positive Ergebnisse für die Cytokeratine 4, 5, 6, 7, 14, 17, 18 und 19 (Geiger et al., 1987; Burns et al., 1988; Dardick et al., 1988; Gustafsson et al., 1988; Ogawa, 2003). Die Studien von Sozmen et al. (1998) und Cardona et al. (1989) beischreiben die Expression einiger Cytokeratine für die Glandula parotis des Hundes (Cardona et al., 1989; Sozmen et al., 1998). Über die Cytokeratinexpression der Glandula parotis bei Wiederkäuern ist bisher nur wenig

bekannt.

### **Vimentin und Synemin**

Vimentin wird von verschiedenen Zellarten mesenchymalen Ursprungs exprimiert und wurde neben Desmin auch an der Z-Scheibe von Muskelfaserbündeln nachgewiesen (Granger und Lazarides, 1979; Lazarides, 1982; Fuchs und Weber, 1994). Nicolescu et al. (2012) konnten Vimentin in Telozyten der Glandula parotis des Menschen lokalisieren (Nicolescu et al., 2012). In der Tumordiagnostik findet Vimentin Anwendung als Indikator von Speicheldrüsentumoren mit Beteiligung entarteter Myoepithelzellen (Araujo und Araujo, 1990). Bei der Ziege ließ sich Vimentin in Myoepithelzellen der großen Speicheldrüsen nachweisen (Elewa et al., 2010a).

Ein weiterer häufig mit Desmin interagierendes Intermediärfilament ist Synemin, das 1980 in Muskelzellen von Geflügel nachgewiesen wurde (Granger und Lazarides, 1980). Wie Desmin ist es mit der Z-Scheibe in Muskelzellen verbunden und dient vermutlich der Verknüpfung von Desmin und Vimentin mit anderen zytoskelettalen Strukturen (Bellin et al., 1999). Mit einem Molekulargewicht von 230.000 Dalton gehört es zu den bislang größten Vertretern der Intermediärfilamente (Granger und Lazarides, 1980).

### 2.5.2.3. Mikrotubuli

Mikrotubuli sind polare, röhrenartige Filamente des Zytoskeletts und übernehmen Funktionen in den Bereichen Zellstabilität, Zellteilung und bei Transportvorgängen von Vesikeln innerhalb der Zelle (Downing und Nogales, 1998). Ihr Grundbaustein sind Tubulin-Dimere, die sich aus einer  $\alpha$ - und einer  $\beta$ -Untereinheit zusammensetzen. Beide Proteine weisen große Homologien ihrer Primärstruktur auf (Downing und Nogales, 1998). Die Tubulin-Dimere ordnen sich linear zu 13 Protofilamenten zusammen, die sich lateral gelagert zu einem Hohlzylinder mit einem Durchmesser von ca. 25 nm verbinden (Desai und Mitchison, 1997; Hees und Sinowatz, 2000). Die äußere Oberfläche der Mikrotubuli weist eine Vielzahl von Bindungsstellen für Mikrotubuli-assoziierte-Proteine (MAPs) sowie für Motorproteine wie Kinesin und Dynein auf, die einen wesentlichen Beitrag zur Stabilität der Mikrotubuli sowie für deren Transportfunktion leisten (Desai und Mitchison, 1997; Hees und Sinowatz, 2000; Nogales, 2000). Meist bilden Mikrotubuli solitäre Röhren, die das Zytoplasma durchziehen; Dabei

handelt es sich jedoch nicht um statische Zylinder, sondern um sehr bewegliche Strukturen, die ihre Lage im Zytoplasma innerhalb eines sehr kurzen Zeitfensters variieren können (Desai und Mitchison, 1997). In einigen Fällen kommt es jedoch zu einer Verschmelzung von einem vollständigen Mikrotubulus (A-Tubulus) mit unvollständig entwickelten Mikrotubuli-Anteilen (B- und C-Tubuli), woraus Strukturen wie zum Beispiel Zentriolen und Basalkörperchen entstehen (Hammond et al., 2008).

## 3. Material und Methoden

### 3.1. Probenmaterial

Das in dieser Arbeit verwendete Probenmaterial wurde unmittelbar nach Schlachtung der Rinder (Deutsches Fleckvieh) am Schlachthof München gewonnen. Für die lichtmikroskopischen, lektinhistochemischen und immunhistochemischen Untersuchungen wurden Gewebeanteile der Glandula parotis von zehn adulten Rindern (*Bos taurus*) entnommen. Angaben zu Geschlecht und Alter der Tiere sind der Tabelle 4 zu entnehmen.

**Tabelle 4:** Übersicht über das Probenmaterial für lichtmikroskopische, lektinhistochemische und immunhistochemische Untersuchungen

Tiernummer	Geschlecht des Tieres	Alter des Tieres	Probenanzahl
1	männlich (m)	20 Monate	20
2	weiblich (w)	22 Monate	20
3	weiblich (m)	22 Monate	6
4	weiblich (w)	22 Monate	6
5	männlich (m)	18 Monate	6
6	weiblich (w)	35 Monate	6
7	weiblich (w)	39 Monate	6
8	männlich (m)	18 Monate	6
9	männlich (m)	17 Monate	6
10	männlich (m)	19 Monate	6

Gesondert wurden zusätzlich Gewebeproben von vier weiteren Tieren zur Aufbereitung für die ultrastrukturellen Untersuchungen mittels Transmissionselektronenmikroskopie gewonnen. Daten hierzu sind in Tabelle 5 aufgelistet.

**Tabelle 5:** Übersicht über das Probenmaterial für die ultrastrukturellen Untersuchungen

Tiernummer	Geschlecht des Tieres	Alter des Tieres	Probenanzahl
11	männlich (m)	18 Monate	6
12	männlich (m)	18 Monate	6
13	weiblich (w)	24 Monate	6
14	weiblich (w)	10 Jahre	6

### 3.2. Probenentnahme, Fixierung und Fertigung von Paraplastschnitten für lichtmikroskopische Untersuchungen

Die Zusammensetzung aller verwendeten Lösungen sind dem Chemikalienverzeichnis oder den angegebenen Herstellerdaten zu entnehmen.

Die Probenentnahme erfolgte kurze Zeit (innerhalb von 10 Minuten nach der Tötung der Tiere), um einer Beeinträchtigung der Proben durch postmortale Autolyseprozesse des Drüsengewebes vorzubeugen. Beidseits des Kopfes wurden großflächige Gewebeanteile der Glandula parotis zwischen Ohrgrund und Unterkieferwinkel mit einem Skalpell entfernt. Anschließend wurde das umgebende Fett- und Bindegewebe und die Fascia parotidea mit einer Skalpellklinge abpräpariert, um das Drüsengewebe der Glandula parotis freizulegen.

Die drei bis fünf lokalen Entnahmestellen der Proben verteilten sich gleichmäßig über den gesamten Drüsenkörper der Glandula parotis. Unter besonderer Vorsicht, das Drüsengewebe nicht durch Quetschungen zu schädigen, wurden mit einem Skalpell pro Lokalisation jeweils zwei Gewebelöcke mit einer durchschnittlichen Seitenlänge von ca. 0,5 cm entnommen.

Von diesen beiden Gewebeprobe wurde jeweils eine Probe in Bouin'scher Lösung und die zweite Probe in mit „Phosphate Buffered Saline Solution“ (PBS) gepufferte 4%ige Formalin-Lösung fixiert.

Nach 24 Stunden wurden die in Bouin'scher Lösung immersionsfixierten Proben für weitere fünf Tage in 70%igem Alkohol (Äthanol) zur Entfernung der Pikrinsäure verbracht. Der 70%ige Alkohol wurde dabei täglich erneuert. Vor der Einbringung der

Proben in einen Einbettautomaten der Firma Shandon Citadel 2000® (Fa. Shandon, Frankfurt/Deutschland) wurden die Proben abermals mittels einer Skalpellklinge zugeschnitten, um eine geeignete Schnittfläche für die Anfertigung von späteren Paraplastschnitten zu erhalten. Im Einbettautomaten erfolgten innerhalb von weiteren 24 Stunden eine Entwässerung des Gewebes mittels aufsteigender Alkoholreihe (2x 80%iges Äthanol, 2x 96%iges Äthanol, 2x Isopropanol, 2x Xylol) sowie eine Durchtränkung der Proben mit flüssigem Paraplast® (Fa Monoject Scientific Inc., Kildare/Irland).

Die mittels einer 4%igen (PBS) - gepufferten Formalin-Lösung fixierten Proben wurden bereits nach 24 Stunden für die spätere Einbettung zugeschnitten, abermals in 4%ige (PBS) - gepufferte Formalin-Lösung eingebracht und weitere 24 Stunden immersionsfixiert. Anschließend wurden die Proben erst zwei Stunden in autoklaviertem DEPC-Wasser (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland) gewässert, bevor auch sie mittels 70%igem Alkohol entwässert und in den Einbettautomaten verbracht wurden.

Die in Paraplast® eingebetteten Proben wurden mit Hilfe des Ausgießautomaten Leica EG 1140 H (Fa. Leica Biosystems, Wetzlar/Deutschland) in quadratische Blockformen ausgegossen, auf einer Kühlplatte ausgehärtet und bis zur weiteren Verarbeitung im Kühlschrank bei ca. 4°C gelagert.

Von jedem Paraplastblock wurden mit einem Rotationsmikrotom Typ Microm HM 340 E (Fa. MICROM International GmbH, Walldorf/Deutschland) 5 µm dicke Serienschnitte angefertigt. Diese wurden sowohl auf unbeschichtete (SuperFrost®, Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland), als auch auf beschichtete Objektträger (SuperFrost Ultra Plus adhäsiv®, Fa. Menzel-Gläser, Braunschweig/Deutschland) aufgezogen und auf einer Wärmeplatte getrocknet. Die vollständige Trocknung der Schnitte erfolgte für weitere 24 Stunden in einem Wärmeschrank (Fa. Bender & Hobein, Karlsruhe/Deutschland).

### 3.3. Lichtmikroskopische Färbungen

Alle Paraplastschnitte für die konventionellen Übersichtsfärbungen wurden auf folgende Art und Weise vorbehandelt: Die Schnitte wurden insgesamt 20 Minuten in einem Xylol-Bad entparaffiniert, wobei das Xylol nach dem Ablauf der ersten zehn Minuten ausgewechselt wurde. Anschließend erfolgte eine Rehydrierung des Gewebes, über eine absteigende Alkoholreihe (2x Isopropanol, 1x 96%iges Äthanol, 1x 70%iges Äthanol). Nach einer abschließenden Spülung in destilliertem Wasser (Aqua dest.) erfolgten die in den nächsten Abschnitten beschriebenen Färbungsmethoden. Dem Färbungsvorgang schlossen sich eine aufsteigende Alkoholreihe zur Dehydrierung der Schnitte und ein abschließendes Xylol-Bad für weitere zehn Minuten an. Auch hier wurde das Xylol nach fünf Minuten gewechselt. Zur Konservierung der gefärbten Schnitte wurden xylolverdünntes Eukitt® (Fa. Riedel de Haen AG, Seelze/Deutschland) und Deckgläser (Fa. Menzel, Braun-schweig/Deutschland) verwendet.

Die Auswertung der konventionell gefärbten Proben erfolgte mit einem Lichtmikroskop Aristoplan® (Fa. Leitz, Wetzlar/Deutschland), welches mit einer Lumenera USB Camera® Release 3.8 (Fa. Lumenera Corporations, Ontario/Kanada) zur Fotodokumentation ausgestattet war.

### 3.3.1. Hämalaun-Eosin-Färbung (H.E.-Färbung) nach Mayer

Die Hämalaun-Eosin-Färbung (H.E.-Färbung) nach Mayer ist eine klassische Übersichtsfärbung für eine Vielzahl von Geweben. Der saure (azidophile) Farbstoff Hämalaun eignet sich gut zur Darstellung der basophilen Zellkernstrukturen. Im Ergebnis der Färbung nimmt dieser eine blaue Farbe an. Eosin ist ein typischer Farbstoff zur Anfärbung von Zytoplasma und färbt dieses und umgebende Strukturen rosarot an (Romeis, 2010).

**Tabelle 6:** Durchführung der H.E.-Färbung nach Mayer

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1	Xylol	20 min.
Schritt 2	Absteigende Alkoholreihe (2x Isopropanol, 1x 96%iges Äthanol, 1x 70%iges Äthanol)	40 sec.
Schritt 3	Aqua dest.	10 sec.
Schritt 4	Hämalaun nach Mayer (Kernfärbung)	20 min.
Schritt 5	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 6	Leitungswasser, fließend (Bläuen)	20 min.
Schritt 7	Eosin	10 min.
Schritt 8	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 9	Aufsteigende Alkoholreihe (1x 70%iges Äthanol, 1x 96%iges Äthanol, 2x Isopropanol)	40 sec.
Schritt 10	Xylol	10 min.

### 3.3.2. Trichromfärbung nach Masson und Goldner

Für die Trichromfärbung nach Masson und Goldner werden, wie bereits aus ihrer Bezeichnung abzuleiten, drei unterschiedliche Farbstoffe eingesetzt. Sie eignet sich besonders zur getrennten Darstellung von kollagenen Bindegewebsfasern, Epithelgewebe und Muskelzellen. Die Zellkerne stellen sich in dieser Färbung braunschwarz dar. Das Zytoplasma und Muskelzellen erscheinen ziegelrot, Erythrozyten orange-gelb und Bindegewebe sowie saure Muzine nehmen eine helle grüne Färbung an (Romeis, 2010).

**Tabelle 7:** Durchführung der Trichromfärbung nach Masson und Goldner

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1	Xylol	20 min.
Schritt 2	Absteigende Alkoholreihe (2x Isopropanol, 1x 96%iges Äthanol, 1x 70%iges Äthanol)	40 sec.
Schritt 3	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 4	Eisenhämatoxylin nach Weigert (Kernfärbung)	1 min.
Schritt 5	Aqua dest.	3x 5 sec.
Schritt 6	Leitungswasser, fließend	10 min.
Schritt 7	Azophloxin	5 min.
Schritt 8	1% Essigsäure	10 sec.
Schritt 9	Phosphormolybdänsäure-Orange	15 sec. – 30 min. *
Schritt 10	1% Essigsäure	10 sec.
Schritt 11	Lichtgrün	5 min.
Schritt 12	1% Essigsäure	10 sec.
Schritt 13	Aufsteigende Alkoholreihe (2x 96%iges Äthanol, 3x Isopropanol)	50 sec.
Schritt 14	Xylol	10 min.

\* Zeitraum variabel, da sich das Bindegewebe unterschiedlich schnell entfärbt; Kontrollen notwendig;

### 3.3.3. Resorcinfuchsin-van Gieson-Färbung

Auch bei der van Gieson-Färbung handelt es sich um eine Trichromfärbung (Romeis, 2010). In dieser Arbeit wurde sie modifiziert durch eine Kombination mit Resorcinfuchsin-Färbung angewandt, die zur zusätzlichen Darstellung elastischer Fasern dient. Diese erscheinen im lichtmikroskopischen Bild blau-violett. Die Zellkerne färben sich dunkelbraun, kollagenes Bindegewebe leuchtend rot und Muskelzellen stellen sich gelb dar.

**Tabelle 8:** Durchführung der Resorcinfuchsin-van Gieson-Färbung

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1	Xylol	20 min.
Schritt 2	Absteigende Alkoholreihe (2x Isopropanol, 1x 96%iges Äthanol, 1x 70%iges Äthanol)	40 sec.
Schritt 3	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 4	Resorcinfuchsinlösung	15-30 min.
Schritt 5	Leitungswasser, fließend	1 min.
Schritt 6	Eisenhämatoxylin nach Weigert (Kernfärbung)	3 min.
Schritt 7	Aqua dest.	3x 5 sec.
Schritt 8	Leitungswasser, fließend	10 min.
Schritt 9	Pikrinsäure-Thiazinrot	5 min.
Schritt 10	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 11	96%iges Äthanol	2x 10 sec. *
Schritt 12	Isopropanol	2x 10 sec.
Schritt 13	Xylol	10 min.

\* Überschüssige Pikrinsäure muss ausreichend entfernt werden, so dass elastische Fasern gut sichtbar sind; Kontrollen notwendig;

### 3.3.4. Perjodsäure-Schiff-Reaktion nach Mc Manus mit Kontrollen

Die Perjodsäure-Schiff-Reaktion (periodic acid Schiff reaction = PAS-Färbung) ist eine histologische Standardfärbung, um selektiv unsubstituierte 1,2 Glykole nachzuweisen. Die Reaktion verläuft nach folgendem Grundprinzip: Über eine Oxidation der 1,2 Glykole durch die Perjodsäure, entstehen aus deren Hydroxylgruppen neue Aldehydgruppen, die mit der Schiff'schen Reagens (fuchsin-schwefelige Säure) reagieren. Dabei löst sich der rote Farbstoff Fuchsin, der bei PAS positiven Substanzen zu der typischen magentafarbenen Anfärbung führt. Die PAS-Reaktion fällt auch bei 1,2 Glykolen, deren Hydroxylgruppen durch Amino- oder Alkylaminogruppen ausgetauscht sind, positiv aus (Romeis, 2010).

**Tabelle 9:** Durchführung der Perjodsäure-Schiff-Reaktion nach Mc Manus

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1	Xylol	20 min.
Schritt 2	Absteigende Alkoholreihe (2x Isopropanol, 1x 96%iges Äthanol, 1x 70%iges Äthanol)	40 sec.
Schritt 3	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 4	0,5 %ige wässrige Lösung von Perjodsäure	5 min.
Schritt 5	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 6	Schiff'sches Reagens (fuchsin-schwefelige Säure) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)	15 min.
Schritt 7	SO <sub>2</sub> -Wasser	3x 2 min.
Schritt 8	Leitungswasser, fließend	5 min.
Schritt 9	Hämalaun nach Mayer (Kernfärbung)	3-5 min.
Schritt 10	Leitungswasser, fließend	15 min.
Schritt 11	Aufsteigende Alkoholreihe (1x 70% iges Äthanol, 1x 96%iges Äthanol, 2x Isopropanol)	40 sec.
Schritt 12	Xylol	10 min.

Zusätzlich zur konventionellen PAS-Reaktion nach McManus wurden in dieser Arbeit drei modifizierte Kontrollfärbungen der PAS-Reaktion angewandt.

Bei der PAS-Reaktion mit vorausgehender Acetylierung wurden die Schnitte nach Schritt 3 des konventionellen Protokolls zusätzlich für 24 Stunden bei Raumtemperatur in eine Essigsäureanhydrid-Pyridin-Lösung eingebracht. Nach zweimaliger Spülung in destilliertem Wasser, wurden die Schritte 4 bis 12 wie in Tabelle 9 beschrieben durchgeführt. Durch eine Acetylierung der Hydroxylgruppen der 1,2 Glykole können diese nicht mehr mit der Perjodsäure reagieren. Es liegt somit ein negatives Ergebnis für 1,2 Glykolstrukturen vor.

Eine weitere Kontrollmethode der PAS-Reaktion stellt eine vorherige Methylierung der Schnitte dar. Hier wurden die entparaffinierten und rehydrierten Gewebeschnitte nach Schritt 3 in einer 0,1 N-Salzsäure-Methanol (absolut)-Lösung für die Einwirkzeit von 96 Stunden bei 37°C im Wärmeschrank inkubiert. Wiederum erfolgte eine zweimalige Spülung der Proben in destilliertem Wasser, bevor die PAS-Reaktion nach McManus wie in Tabelle 9 ab Schritt 4 beschrieben weiter durchgeführt wurde. Durch die Methylierung färben sich auch saure, nicht-sulfatierte Mucosubstanzen an. Sulfatierte Muzine zeigen weiterhin eine negative Reaktion für die PAS-Reaktion (Spicer, 1960).

Ziel der dritten Kontrollfärbung ist der Nachweis von Stärke- oder Glykogenstrukturen im zu untersuchenden Gewebe. Hier wurden die Schnitte durch enzymatische Vorverdauung des Gewebes mit dem stärke-spaltenden Enzym  $\alpha$ -Amylase Type VI-B (from porcine pancreas) (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim/Deutschland) zwei Stunden bei 37°C im Wärmeschrank vorbehandelt und nach zweimaligem Spülen in destilliertem Wasser nach den in Tabelle 9 aufgeführten Schritten 4 bis 12 gefärbt. Die enzymatische Aktivität der  $\alpha$ -Amylase bewirkt eine Spaltung von gespeicherter Stärke oder Glykogen im Inneren der Zelle und führt somit zu einem negativen Ergebnis der PAS-Reaktion für diese Strukturen. Alle anderen PAS-positiven Kohlenhydratstrukturen zeigen weiterhin eine positive Reaktion (Romeis, 2010).

### 3.3.5. Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5 und pH 1,0

Alcianblau 8GX ist ein positiv geladener Farbstoff, der selektiv an negativ geladene Gruppen von sauren Muzinen bindet. Um differenzieren zu können, ob es sich dabei um Carboxyl- oder Sulfatgruppen handelt, kann die Alcianblau-Färbung bei zwei unterschiedlichen pH-Werten durchgeführt werden. In dieser Arbeit wurde sowohl die Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5 durchgeführt, als auch bei pH 1,0. Alle Durchführungsschritte der Färbungen werden in Tabelle 10 und Tabelle 10.1 angezeigt. Die Alcianblau-Färbung bei pH 2,5 dient dem Nachweis aller sauren Glykokonjugate (Steedman, 1950).

**Tabelle 10:** Durchführung der Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1	Xylol	20 min.
Schritt 2	Absteigende Alkoholreihe (2x Isopropanol, 1x 96%iges Äthanol, 1x 70%iges Äthanol)	40 sec.
Schritt 3	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 4	3% Essigsäure	3 min.
Schritt 5	1% Alcianblau 8GX (in 3% Essigsäure pH 2,5)	30 min.
Schritt 6	3% Essigsäure	5 sec..
Schritt 7	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 8	Kernechtrot (Kernfärbung) (Apothekenherstellung)	3-5 min.
Schritt 9	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 10	Aufsteigende Alkoholreihe (1x 70%iges Äthanol, 1x 96%iges Äthanol, 2x Isopropanol)	40 sec.
Schritt 11	Xylol	10 min.

Durch die Senkung des pH-Wertes auf 1,0 wird eine Dissoziation der Carboxylgruppen verhindert, so dass nur noch sulfatierte Mukosubstanzen angefärbt werden (Lev und Spicer, 1964).

**Tabelle 10.1:** Durchführung der Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 1,0

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1 - 3	Gemäß Tabelle 8	Gemäß Tabelle 8
Schritt 4	0,1 N Salzsäure	3 min.
Schritt 5	1% Alcianblau 8GX (in 0,1 N Salzsäure pH 1,0)	30 min.
Schritt 6	0,1 N Salzsäure	5 sec.
Schritt 7	Aqua dest.	5 sec.
Schritt 8-11	Gemäß Tabelle 8	Gemäß Tabelle 8

### 3.4. Lektin histochemische Untersuchungsmethoden

Für die lektin histochemischen Untersuchungen wurden insgesamt 17 verschiedene Lektine für den Nachweis von Kohlenhydratstrukturen eingesetzt, die in Tabelle 11 aufgelistet sind. Es wurden sowohl in 4%igem (PBS) gepuffertem Formalin fixierte Schnitte eingesetzt als auch Schnitte die in Bouin'scher Lösung fixiert wurden.

**Tabelle 11:** Verwendete Lektine

Lektin	Zuckerspezifität	Methode	Angewandte Konzentration	Hersteller
Con A	Man/Glc	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
DBA	GalNAc	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
ECA	Gal	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
GSL-I	GalNAc	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
LCA	Man/Glc	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
MAA I	Oligosaccharide	Biotin-konjugiert	10 µg/ml PBS	BIOZOL Diagnostica Vertrieb GmbH, Eching/Deutschland
PHA-E	Komplexe N-Glykane	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
PHA-L	Komplexe N-Glykane	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
PNA	Gal	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
PSA	Man/Glc	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
RCA	Gal	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
SBA	GalNAc, Gal	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
SJA	GalNAc	Biotin-konjugiert	10 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
SNA	Gal/GalNAc	Biotin-konjugiert	10 µg/ml PBS	BIOZOL Diagnostica Vertrieb GmbH, Eching/Deutschland

## Material und Methoden

UEA-I	Fuc	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
WGA	GlcNAc/NeuNAc	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA
WGA succ.	GlcNAc/NeuNAc	FITC-konjugiert	5 µg/ml PBS	Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA

In dieser Arbeit wurden Fluoresceinisothiocyanat (FITC)-konjugierte Lektine eingesetzt, bei denen der Fluoreszenzmarker FITC direkt mit dem Lektin verknüpft ist. In der folgenden Tabelle 12 wird das Durchführungsprotokoll für die lektinhistochemischen Untersuchungen mit direkt FITC-markierten Lektinen beschrieben:

**Tabelle 12:** Durchführung der Lektin-Untersuchungen mit FITC-konjugierten Lektinen

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1	Xylol	2x 10 min.
Schritt 2	Absteigende Alkoholreihe (2x Isopropanol, 1x 96% Äthanol, 1x 70% Äthanol)	40 sec.
Schritt 3	Aqua dest.	2x 5 min.
Schritt 4	PBS Puffer (pH 7,4 - 7,6)	3x 5 min.
Schritt 5	100 µl/Schnitt FITC-konjugiertes Lektin (abgedunkelte Feuchtkammer)	1 h bei Raumtemperatur
Schritt 6	PBS Puffer (pH 7,4 - 7,6)	3x 5 min.
Schritt 7	Vectashield® Mounting Medium for Fluorescence with DAPI *	ca. 1 min./ Schnitt

\* Auf jeden Schnitt wurde Vectashield® Mounting Medium for Fluorescence with DAPI (4,6 Diamidin-2-phenylindol) der Fa. Vector Laboratories, Inc., Burlingame/USA aufpipetiert, bevor die Probe sofort mit einem Deckglas bedeckt wurde.

## Material und Methoden

---

Ebenso kamen biotinylierte Lektine zum Einsatz. Hier ist das Lektin mit dem Stoff Biotin gekoppelt. In einem sekundären Schritt bindet das FITC-konjugierte Streptavidin an das biotinylierte Lektin und führt so zu einer Anfärbung der lektinmarkierten Kohlenhydratstrukturen. Die Schritte zur Durchführung der lektin histochemischen Untersuchungen mit biotinylierten Lektinen werden in Tabelle 13 erläutert.

**Tabelle 13:** Durchführung der Lektin-Untersuchungen mit biotinylierten Lektinen

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1	Xylol	2x 10min.
Schritt 2	Absteigende Alkoholreihe (2x Isopropanol, 1x 96% Äthanol, 1x 70% Äthanol)	40 sec.
Schritt 3	Aqua dest.	2x 5 min.
Schritt 4	PBS Puffer (pH 7,4 - 7,6)	3x 5 min.
Schritt 5	DAKO Protein Block Serum-Free® (Fa. DAKO, Hamburg/Deutschland) (Feuchtkammer)	10 min.
Schritt 6	100 µl/Schnitt Biotinyliertes Lektin (Feuchtkammer)	1 h bei Raumtemperatur
Schritt 7	PBS Puffer (pH 7,4 - 7,6)	3x 5 min.
Schritt 8	100µl/Schnitt Streptavidin-FITC 1:500 PBS Puffer (abgedunkelte Feuchtkammer) (Fa. Vector Laboratories, Inc. Burlingame/USA)	30 min.
Schritt 9	PBS Puffer (pH 7,4 - 7,6)	3x 5 min.
Schritt 10	Vectashield® Mounting Medium for Fluorescence with DAPI *	ca. 1 min./ Schnitt

\* Auf jeden Schnitt wurde Vectashield® Mounting Medium for Fluorescence with DAPI (4,6 Diamidin-2-phenylindol) der Fa. Vector Laboratories, Inc., Burlingame/USA aufpipetiert, bevor die Probe sofort mit einem Deckglas bedeckt wurde.

Die behandelten und fixierten Schnitte wurden lichtundurchlässig im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. Um die Eigenfluoreszenz des Gewebes in die Untersuchung mit einbeziehen zu können, wurde für jedes Lektin ein Kontrollschnitt angefertigt, der nur mit PBS Puffer inkubiert wurde, statt des markierten Lektinkomplexes. Die mikroskopische Auswertung der mit Lektinen behandelten Proben erfolgte mit einem Auflichtfluoreszenzmikroskop Dialux 20® (Fa. Leitz GmbH, Wetzlar/Deutschland) mit angeschlossener ProgRes® Kamera (Fa. Jenoptik, Jena/Deutschland).

## Material und Methoden

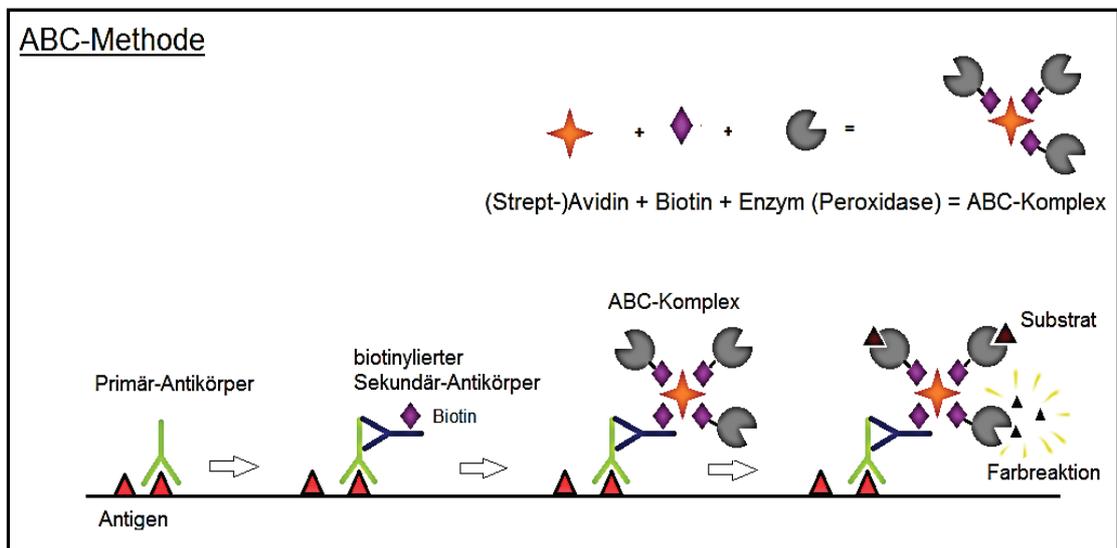
---

Die Fluoreszenzstärke der Proben wurde semiquantitativ folgendermaßen bewertet:

-	+/-	+	++	+++
negativ	schwach positiv	deutlich positiv	stark positiv	sehr stark positiv

## 3.5. Immunhistochemische Untersuchungsmethoden

Durch immunhistochemische Untersuchungen ist es möglich, verschiedene Zellstrukturen gezielt durch die Bindung von spezifisch gegen sie gerichteten Antikörpern darzustellen. Man unterscheidet im Wesentlichen zwei Grundprinzipien: Bei einem direkten Antigen-Nachweis bindet ein bereits markierter Primär-Antikörper an sein spezifisches Antigen. Im Falle des indirekten Antigen-Nachweises wird die Farbreaktion über einen markierten Sekundär-Antikörper ausgelöst, der spezifisch an einen Primär-Antikörper bindet, der zuvor das entsprechende Antigen markiert hat. In dieser Arbeit wurde ausschließlich die ABC-Methode, eine Form des indirekten Antigen-Nachweises, eingesetzt.



**Abbildung 3:** Schematische Darstellung der ABC-Methode modifiziert nach Romeis, 2010

Wie in Abbildung 3 dargestellt, bindet auch bei der ABC-Methode zuerst ein entsprechender Primär-Antikörper spezifisch an das nachzuweisende Antigen. Anschließend markiert ein Biotin-gekoppelter Sekundär-Antikörper den Primär-Antikörper, gegen den er gerichtet ist. Die eigentliche Farbreaktion wird über einen enzymatisch aktiven Molekülkomplex (ABC-Komplex), bestehend aus dem Glykoprotein Avidin oder Streptavidin, Biotin und einem Enzym (meist Peroxidase oder Alkalische Phosphatase) vermittelt. Die Glykoproteine Avidin und Streptavidin des ABC-Komplexes binden mit einer hohen Affinität an die Biotin-Moleküle des Sekundärantikörpers. Die mit dem Komplex verknüpften Enzyme (Peroxidase oder

## Material und Methoden

alkalische Phosphatase) führen bei Zugabe eines geeigneten Substrates zu einer Farbreaktion. Ein Vorteil von Streptavidin gegenüber Avidin ist zum einen seine höhere Sensitivität und zum anderen, dass eine geringere Hintergrundmarkierung auftritt (Romeis, 2010).

In dieser Arbeit wurden 13 verschiedene Primär-Antikörper zur Untersuchung der Glandula parotis des Rindes verwendet; Entsprechende Angaben zu diesen sind der Tabelle 14 zu entnehmen.

**Tabelle 14:** Übersicht über eingesetzte Primär-Antikörper mit Herstellerangabe

Antigen	Primär-Antikörper	Verdü- n- nung*	Hersteller
Smooth muscle actin	SMA DAKO 162 aus der Maus	1:40	DAKO, Hamburg/Deutschland
Non muscular myosin	Rab.-anti Myosin ab 24762 (257) aus dem Kaninchen	1:250	Abcam, Cambridge/ UK
Synemin	Anti Synemin Sigma S9075 aus dem Kaninchen	1:250	Sigma-Aldrich, Steinheim/Deutschland
Laminin	Rabbit Anti Laminin Serotec AHP420T (177) aus dem Kaninchen	1:500	Serotec, Düsseldorf/Deutschland
Tubulin	Tubulin ab3194 178 aus der Maus	1:200	Abcam, Cambridge/ UK
Vimentin	Vimentin DAKO 154 aus der Maus	1:500	DAKO, Hamburg/Deutschland
Pancytokeratin	Pancytokeratin plus (Biocarta) 132 aus der Maus	1:100	BioCarta, Hamburg/Deutschland
Cytokeratin 7	Ms-anti Cytokeratin 7 (Progen, Ks 7.18) aus der Maus	1:100	Progen, Heidelberg/Deutschland
Cytokeratin 8	Ms-anti Cytokeratin 8 (Novus Biologicals) NB500-349 248	1:500	Novus Biologicals, Littleton/USA
Cytokeratin 5	Pab to Keratin K5 (Progen, 220) aus dem Meerschweinchen	1:50	Progen, Heidelberg/Deutschland
Cytokeratin 14	Pab to Keratin K14 (Progen, 236) aus dem Meerschweinchen	1:100	Progen, Heidelberg/Deutschland
Cytokeratin 18	Pab to Keratin 18 (GP CK 18.2) (Progen, 237) aus dem Meerschweinchen	1:200	Progen, Heidelberg/Deutschland
Cytokeratin 19	Pab to Keratin 19 (Progen, 207) aus dem Meerschweinchen	1:200	Progen, Heidelberg/Deutschland

\* Alle verwendeten Primär-Antikörper liegen mit DAKO Antibody Diluent® with background reducing components (Fa. DAKO, Hamburg/Deutschland) verdünnt vor.

## Material und Methoden

---

Für die immunhistochemischen Untersuchungen wurden sowohl in Bouin'scher Lösung fixierte Schnitte, als auch in 4%igem (PBS) gepuffertem Formalin fixierte Proben verwendet. Die genaue Abfolge aller Arbeitsschritte wird in den Tabellen 15 und 15.1 dargestellt. Zusätzlich wurde für jeden Antikörper sowohl eine Negativkontrolle hergestellt, die ausschließlich mit DAKO Antibody Diluent® (Fa. DAKO, Hamburg/Deutschland) inkubiert wurde, als auch eine Positivkontrolle des Primär-Antikörpers von einem bereits als positiv getesteten Gewebes.

**Tabelle 15:** Übersicht über die Abfolge möglicher Arbeitsschritte bei der ABC-Methode

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1	Xylol	2x 30 min.
Schritt 2	Absteigende Alkoholreihe (2x Isopropanol, 1x 96%iges Äthanol, 1x 70%iges Äthanol)	40 sec.
Schritt 3	Aqua dest.	2x 5 min.
Schritt 4	PBS Puffer (pH 7,4)	3x 5 min.
Schritt 5	A) 100µl/Schnitt 0,1 % Protease (121) (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim/Deutschland)	10 min.
	B) 100µl/Schnitt Trypsin (158) (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim/Deutschland)	20 min.
Schritt 6	PBS Puffer (pH 7,4)	3x 5 min.
Schritt 7	50 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 150 ml Aqua dest. (Hemmung der endogenen Peroxidase) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)	10 min.
Schritt 8	Leitungswasser, fließend	10 min.
Schritt 9	PBS Puffer (pH 7,4)	3x 5 min.
Schritt 10	Primär-AK 1:100 in DAKO Antibody Diluent®*	über Nacht bei 4°C
Schritt 11	PBS Puffer (pH 7,4)	3x 5 min.
Schritt 12	Sekundär-Antikörper 1:300 in DAKO Antibody Diluent®	30 min.
Schritt 13	PBS Puffer (pH 7,4)	3x 5 min.
Schritt 14	Streptavidin-Horse Radish-Peroxidase (HRP) (Fa. Novocastra, Newcastle/UK)	30 min.
Schritt 15	PBS Puffer (pH 7,4)	3x 5 min.
Schritt 16	DAB (3,3'-Diaminobenzidin)-Hydrogenperoxidlösung	8 min.
Schritt 17	Leitungswasser, fließend	1 min.
Schritt 18	Hämalaun nach Mayer (Kernfärbung)	20 sec.
Schritt 19	Leitungswasser, fließend (bläuen)	10 min.
Schritt 20	Aufsteigende Alkoholreihe (1x 70%iges Äthanol, 1x 96%iges Äthanol, 2x Isopropanol)	40 sec.
Schritt 21	Xylol	2x 5 min.

\* Alle verwendeten Primär-Antikörper liegen mit „DAKO Antibody Diluent® with background reducing components“ (Fa. DAKO, Hamburg/Deutschland) verdünnt vor.

**Tabelle 15.1:** Anwendungsabfolge der in Tabelle 15 geschilderten Arbeitsschritte für alle verwendeten Antikörper

Antikörper Schritte	Smooth Muscle Aktin	non muscular - Myosin	Syennin	Laminin	Tubulin	Vimentin	Panocytkeratin	Cytkeratin 7	Cytkeratin 8	Cytkeratin 5	Cytkeratin 14	Cytkeratin 18	Cytkeratin 19
Schritt 1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 2	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 3	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 5 A)				x		x		x	x				
Schritt 5 B)							x						
Schritt 6				x		x	x	x	x				
Schritt 7	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 8	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 9	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 10	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 11	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 12	x <sup>1)</sup>	x <sup>2)</sup>	x <sup>2)</sup>	x <sup>2)</sup>	x <sup>1)</sup>	x <sup>3)</sup>	x <sup>3)</sup>	x <sup>3)</sup>	x <sup>3)</sup>				
Schritt 13	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 14	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 16	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 17	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 18	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 19	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 20	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Schritt 21	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

- 1) Sekundär-Antikörper: „Anti-Maus IgG (F(ab')<sub>2</sub>) biotinyliert vom Kaninchen“ (DAKO Denmark A/S, Glostrup/ Dänemark) 1:300 verdünnt in DAKO Antibody Diluent® (Fa. DAKO, Hamburg/ Deutschland)
- 2) Sekundär-Antikörper: Anti-Kaninchen IgG (F(ab')<sub>2</sub>) biotinyliert vom Schwein (DAKO Denmark A/S, Glostrup/ Dänemark) 1:300 verdünnt in DAKO Antibody Diluent® (Fa. DAKO, Hamburg/ Deutschland)

## Material und Methoden

---

- 3) Sekundär-Antikörper: Anti-Meerschweinchen IgG biotinyliert aus der Ziege (Fa. Vektor Laboratories Inc., Burlingame/USA) 1:300 verdünnt in DAKO Antibody Diluent® (Fa. DAKO, Hamburg/ Deutschland)

Die immunhistochemisch gefärbten Schnitte wurden nach Durchführung der oben bezeichneten Arbeitsschritte mit xyloolverdünntem Eukitt® (Fa. Riedel de Haen AG, Seelze/Deutschland) und Deckgläsern (Fa. Menzel, Braunschweig/Deutschland) versehen.

Die Auswertung des immunhistochemisch untersuchten Materials erfolgte mit einem Lichtmikroskop Aristoplan® (Fa. Leitz, Wetzlar/Deutschland), welches mit einer Lumenera USB Camera® Release 3.8 (Fa. Lumenera Corporations, Ontario/Kanada) zur Fotodokumentation ausgestattet war.

### 3.6. Ultrastrukturelle Untersuchungen mittels Transmissions- elektronenmikroskopie

#### 3.6.1. Probenentnahme und Immersionsfixierung nach Karnovsky

Die Entnahme des Probenmaterials für die ultrastrukturellen Untersuchungen mittels Transmissionselektronenmikroskopie erfolgte unmittelbar nach Tötung der Tiere am Schlachthof München. Die Proben der Glandula parotis wurden auf jeder Kopfseite an drei Lokalisationen gewonnen. Jeweils eine Probe wurde aus dem dorsalen Bereich der Drüse, eine weitere aus dem zentralen Drüsenkörper und eine dritte Probe aus dem ventralen Kehlgangsanteil der Glandula parotis entnommen. Mit einer Skalpellklinge wurden kleine Gewebswürfel entfernt, die unter besonderer Vorsicht, Quetschungen des Gewebes zu vermeiden, auf die Größe von 1 mm Seitenlänge zugeschnitten wurden. Diese zugeschnittenen Proben wurden sofort nach der Entnahme in eine Fixationslösung nach Karnovsky verbracht. Die weiteren Schritte der Immersionsfixierung nach Karnovsky sowie die Kontrastierung der Proben durch Osmierung sind im Detail in Tabelle 16 aufgelistet.

**Tabelle 16:** Durchführung der Arbeitsschritte zur Fixierung und Aufbereitung der Proben für die ultrastrukturellen Untersuchungen bis zur Einbettung in Kunstharz

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1	Karnovsky-Lösung (pH 7,2)	24 h bei 4°C
Schritt 2	0,1 M Natriumcacodylat-Puffer (pH 7,4)	3x 60 min.
Schritt 3	Osmiumtetroxid-Kaliumferrocyanid-Lösung (Osmieren/ Kontrastierung)	2 h bei 4° C
Schritt 4	0,1 M Natriumcacodylat-Puffer (pH 7,4)	3x 20 min.
Schritt 5	Aufsteigende Alkoholreihe (30%iges, 50%iges, 70%iges, 90%iges Äthanol, 3x absolutes Äthanol)	3 h

### 3.6.2. Fertigung von Semidünn- und Ultradünnschnitten für die Transmissions- elektronenmikroskopie

Nach Fixierung und Aufbereitung des Probenmaterials erfolgte eine Einbettung der Proben in das Kunststoffmedium Polyembed gemäß den in Tabelle 17 aufgelisteten Arbeitsschritten.

**Tabelle 17:** Durchführung der Kunststoffeinhaltung mit Kunstharz

Anwendungsabfolge	Reagenz	Anwendungsdauer
Schritt 1	Propylenoxid (Propylene Oxid EM-Grade) (Fa. Polysciences, Warrington/USA)	2x15 min.
Schritt 2	2:1 Propylenoxid : Polyembed	1 h
Schritt 3	1:1 Propylenoxid: Polyembed	über Nacht
Schritt 4	Polyembed	1 h
Schritt 5	Einbettung in Flachbettformen und Polymerisation bei 60° C	24 h

Nach vorsichtiger Lösung der ausgehärteten Probenblöcke aus den Flachbettformen wurden an einem Ultramikrotom Ultracut E (Fa. Reichert-Jung, Wien/Österreich) 1µm dicke Semidünnschnitte angefertigt und mit Methylenblau nach Richardson (Romeis, 2010) gefärbt. Nach lichtmikroskopische Untersuchung wurden gezielte Gewebeareale für die elektronenmikroskopische Darstellung ausgewählt und dann mit einem Diamantmesser ca. 60 nm dicke Ultradünnschnitte hergestellt. Nachdem die so erzeugten Ultradünnschnitte auf Kupfergrids (Maschenweite 200) aufgezogen wurden, erfolgte eine Nachkontrastierung mit Uranylacetat (Fa. Agar Scientific Ltd., Stansted/UK) für 20 Minuten und Bleicitrat für 3-5 Minuten.

Die Auswertung und fotografische Darstellung der ultrastrukturellen Daten wurde an einem Transelektronenmikroskop EM 902 (Fa. Zeis, Oberkochen/Deutschland) bei einer Beschleunigungsspannung von 80 kV am Lehrstuhl für Anatomie, Histologie und Embryologie der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Lichtmikroskopische Darstellung der Glandula parotis des Rindes durch konventionelle Färbungsmethoden

#### 4.1.1. Morphologie der Glandula parotis des Rindes

Die Glandula parotis des Rindes zeigt den für die großen Speicheldrüsen typischen Läppchenaufbau. Die von der Kapsel aus in das Innere des Drüsenkörpers ziehenden Trabekel aus kollagenem Bindegewebe vereinigen sich zu größeren interlobulären Bindegewebszentren, in denen große Ausführungsgänge verlaufen. Diese werden vom Bindegewebe zirkulär umschlossen. Dieser bindegewebige Kranz enthält eine Vielzahl kleiner Blutgefäße und Nerven, die zur Versorgung der Ausführungsgänge dienen. Die großen Ausführungsgänge weisen in diesem Bereich ein mehrschichtiges Epithel mit meist vier bis fünf Lagen von kubischen Zellen auf und enthalten größere Ansammlungen von Becherzellen. In ihrer direkten Umgebung liegen große Arterien, Venen und auch größere periphere Nerven zwischen den einzelnen Drüsenläppchen. Je nach Ernährungszustand des Tieres sind mehr oder weniger stark ausgebildete Depots von Adipozyten zwischen den einzelnen Gangstrukturen und Gefäßen eingebettet. Teilweise erstrecken sich diese Adipozytenansammlungen auch in das Parenchym der Drüsenlobi. Die einzelnen vom Bindegewebe umschlossenen Drüsenläppchen werden wiederum von schmalen Trabekeln in kleinere Lobuli unterteilt, sodass sich im Zentrum jedes einzelnen Drüsenläppchens wiederum ein bindegewebiges Zentrum befindet. Hier befinden sich kleinere interlobuläre Ausführungsgänge, die jedoch keine Becherzellen enthalten und nur ein bis zwei Zellschichten aufweisen. Auch diese Ausführungsgänge werden jeweils von einem arteriellen und einem venösen Gefäß begleitet. Alle Parenchymstrukturen der Lobuli werden einzeln von einem schmalen Saum von kollagenem Bindegewebe umschlossen, was den Drüsenlobuli im histologischen Schnittbild eine netzartige Unterteilung verleiht. In der Resorcinfuchsin-van Gieson-Färbung sind deutlich feine, elastische Fasern erkennbar, die das kollagene Bindegewebe verzweigt durchspannen und auch zwischen den Endstücken und Gangsegmenten des Drüsenparenchyms nachgewiesen werden können. Die Lobuli zeigen eine dichte Ansammlung von Drüsengewebe, wobei die rein serösen Endstücke vorherrschend sind. Bereits bei

## Ergebnisse

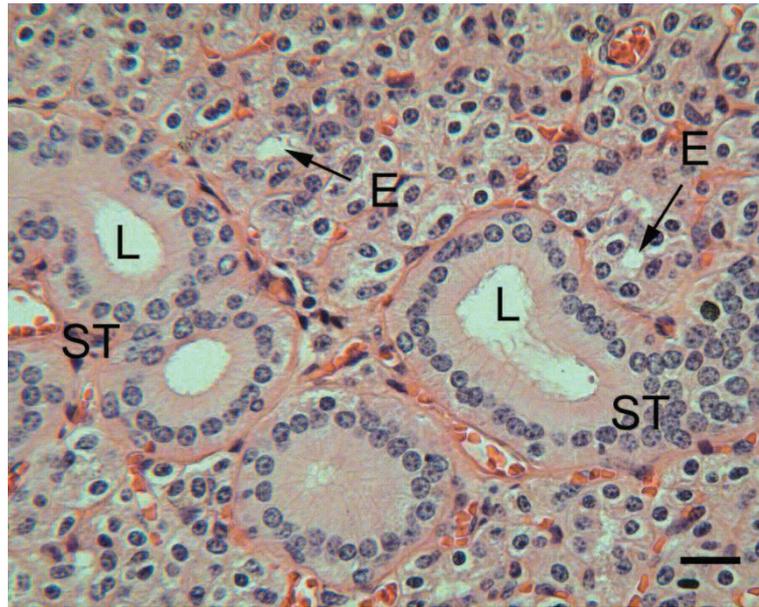
---

geringer Vergrößerung lassen sich deutliche Lumina der tubuloazinösen Endstücke erkennen. Die serösen Zellen der Endstücke bilden ein einschichtiges Epithel, dessen Zellformen zwischen kubisch und konisch variieren. Im basalen Drittel der Zellen liegt ein kugeligler Zellkern, der ein bis zwei deutliche Nukleoli aufweist. In der H.E.-Färbung zeigen die serösen Zellen ein leicht granuliertes, blassrosa gefärbtes Zytoplasma. An der apikalen Zellmembran ist bei ausreichender Vergrößerung ein ausgeprägter Mikrovillibesatz der serösen Endstückzellen erkennbar.

Myoepithelzellen liegen den serösen Zellen der Endstücke sowie Schaltstückzellen basal an und werden von der gleichen Basalmembran umschlossen, wie die Ergebnisse des immunhistochemischen Nachweises mit Laminin verdeutlichen. Im lichtmikroskopischen Schnittbild sind sie aufgrund ihrer randständigen Lage im Epithel, sowie ihrer spindelartigen Form und ihrem zentralständigen, oval geformten Zellkern leicht mit Kapillarendothelzellen zu verwechseln.

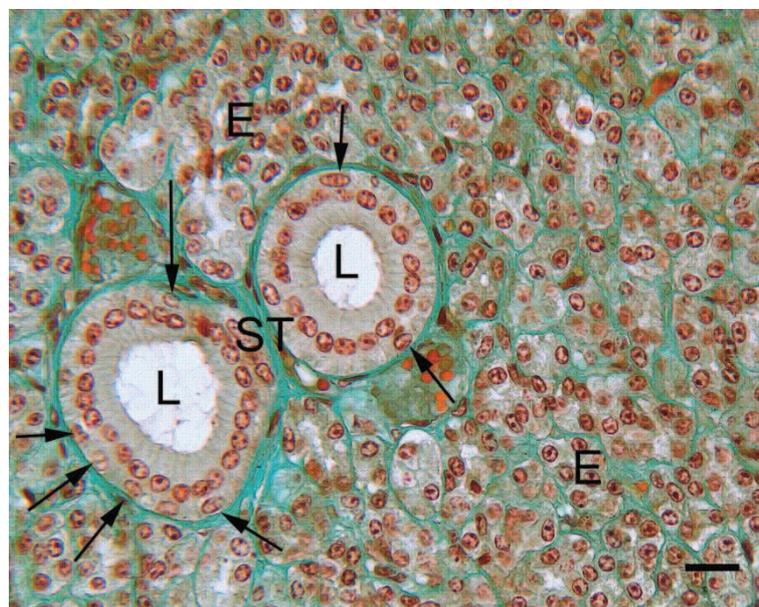
Schaltstücke weisen ein einschichtig isoprismatisches Epithel auf, dessen Zellen je nach Ausdehnung des Schaltstücklumens auch eine sehr flache Form annehmen können. Auch der im Normalfall kugelige zentralständige Zellkern, der meist mehrere deutliche Nukleoli aufweist, kann bei sehr flachen Schaltstückzellen eine eher ovale bis spindelförmige Form annehmen. Schaltstückzellen zeigen in der H.E.-Färbung ein homogenes, eosinophiles Zytoplasma.

Die bereits bei geringer Vergrößerung deutlich zu erkennenden Streifenstücke weisen ein einschichtig hochprismatisches Epithel auf. Die hochprismatischen Hauptzellen zeigen in der H.E.-Färbung ein homogenes, eosinophiles Zytoplasma und einen basophilen kugeligen Zellkern in der basalen Hälfte der Zelle. Unterhalb des Zellkerns ist bereits lichtmikroskopisch die basale Längsstreifung der Zellen zu erkennen. Von ihrer apikalen Oberfläche ragen längliche, fadenförmige Zytoplasma-Ausstülpungen in das kreisförmige Lumen der Streifenstücke. Neben den hochprismatischen Hauptzellen der Streifenstücke lassen sich lichtmikroskopisch zwei Arten von Basalzellen unterscheiden: Zum einen findet man größere sogenannte „helle“ Basalzellen, die ein schaumiges, schwachgefärbtes Zytoplasma und einen relativ großen, oval geformten und zentralständigen Zellkern aufweisen. Daneben zeigen sich kleinere, sogenannte „dunkle“ Basalzellen, die einen kleinen, eher basal gelegenen Zellkern besitzen, der rund und teilweise fast pyknotisch verformt erscheint. Ihr Zytoplasma erscheint homogen eosinophil in der H.E.-Färbung.



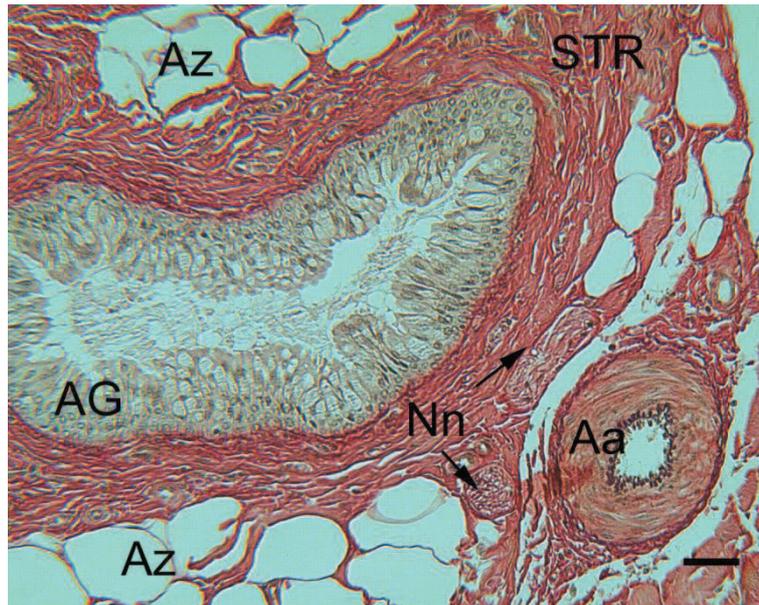
**Abbildung 4:** Glandula parotis; H.E.-Färbung nach Mayer; SB = 16,5  $\mu$ m

Die Epithelzellen der Endstücke (E) und Streifenstücke (ST) zeigen ein blasrosa farbenes Zytoplasma und blauviolett gefärbte Zellkerne. Die Lumina (L) der Streifenstücke (ST) sind weit geöffnet. Auch die Lumina der Endstücke (E) sind lichtmikroskopisch deutlich erkennbar (→).



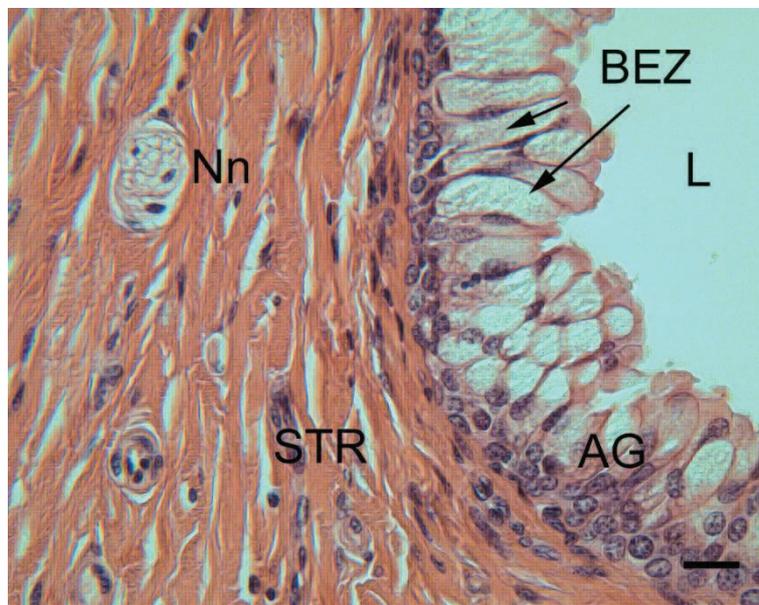
**Abbildung 5:** Glandula parotis; Trichromfärbung nach Masson und Goldner; SB = 16,5  $\mu$ m

Die Abschnitte des Drüsenepithels sind von einer dünnen Schicht bindegewebigen Stromas (blaugrün) umhüllt. Die Epithelzellen der Endstücke (E) und der Streifenstücke (ST) weisen ein blasrosanes Zytoplasma und einen ziegelrot gefärbten Zellkern auf. Das Streifenstückepithel setzt sich aus hochprismatischen Hauptzellen, welche das Lumen (L) begrenzen und aus einer Lage von Basalzellen (→) zusammen.



**Abbildung 6:** Glandula parotis; Resorcin-fuchsin-van Gieson-Färbung; SB = 16,5  $\mu$ m

Die extralobulär gelegenen Ausführungsgänge (AG) sind in das bindegewebige Stroma (STR) eingebettet. In ihrer nahen Umgebung verlaufen Arterien (Aa), Venen und periphere Nerven (Nn). Zahlreiche Adipozyten-Ansammlungen (Az) liegen im hier ziegelrot gefärbten Stroma (STR) verteilt.



**Abbildung 7:** Glandula parotis, Ausführungsgang; H.E.-Färbung nach Mayer; SB = 16,5  $\mu$ m

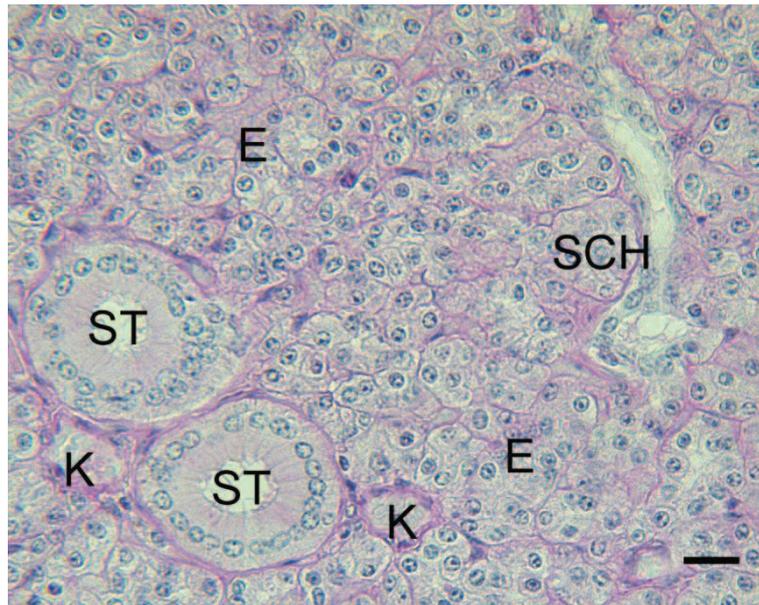
Die Ausführungsgänge (AG) sind von einer bindegewebigen Hülle umgeben, in der zahlreiche Blutgefäße und Nerven (Nn) verlaufen. Das Epithel großer Ausführungsgänge weist zahlreiche Becherzellen (BEZ) auf.

## 4.1.2. Ergebnisse der Perjodsäure-Schiff-Reaktion nach Mc Manus mit Kontrollen

Die serösen Zellen der Endstücke wie auch ihnen angrenzende Myoepithelzellen zeigen eine schwache Reaktion der Perjodsäure-Schiff-Reaktion nach McManus mit einem diffusen Verteilungsmuster der Farbreaktion. Die Epithelzellen der Schaltstücke stellen sich durchwegs negativ dar, während Streifenstücke eine variierende Reaktion auf die PAS-Färbung aufweisen. Bei Formalin-fixierten Proben zeigen die hochprismatischen Hauptzellen der Streifenstücke teilweise eine positive Perjodsäure-Schiff-Reaktion. Dabei färben sich die Granula der oberen Zelhälfte bei einigen Zellen deutlich positiv an. Proben, die mit Bouin'scher Lösung fixiert wurden, weisen lediglich eine schwache Reaktion im Bereich der Hauptzellen auf. Basal angeordnete Zellen des Streifenstückepithels reagieren bei beiden Fixierungen negativ. Die Epithelzellen interlobulärer Ausführungsgänge stellen sich durchwegs negativ dar, während die in großen Ausführungsgängen eingebetteten Becherzellen eine starke Reaktion zeigen. Auch das im Lumen der Ausführungsgänge verbliebene Sekret zeigt die typische magentafarbene PAS-Reaktion. Das periphere Bindegewebe, Blutgefäße und Nerven stellen sich ebenfalls deutlich positiv dar.

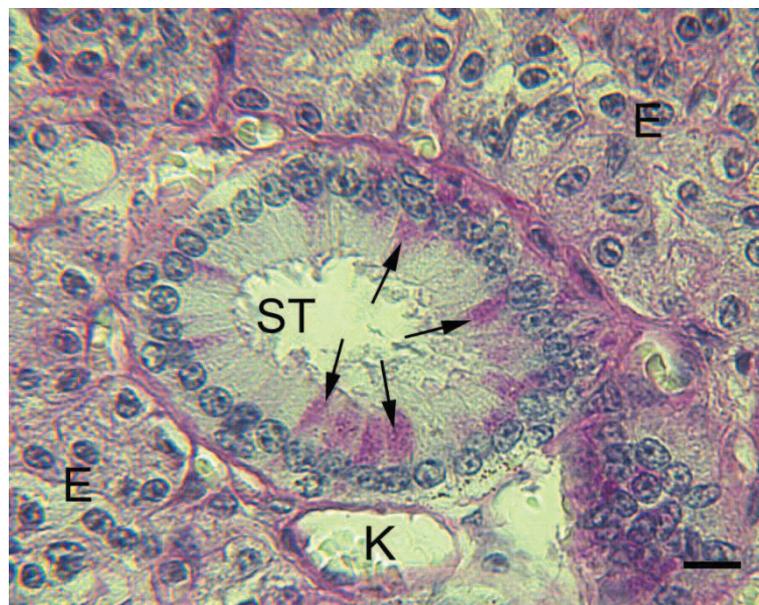
**Tabelle 18:** Auswertung der Perjodsäure-Schiff-Reaktion nach McManus

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+
	Myoepithelzellen	+
Schaltstücke	Schaltstückzellen	-
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	-
	Becherzellen	++
Stroma	Bindegewebe	+
	Blutgefäße	+
	Nerven	+/-



**Abbildung 8:** Glandula parotis; PAS-Färbung nach Mc Manus; Fixierung Bouin'sche Lösung; SB = 16,5  $\mu$ m

Die Epithelien der Endstücke (E), Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) sind von einer dünnen Lage des in der PAS-Färbung nach Mc Manus rosa gefärbten Stromas umgeben. In der Nähe der Streifenstücke (ST) liegen weitlumige Kapillaren (K).



**Abbildung 9:** Glandula parotis, Streifenstück; PAS-Färbung nach Mc Manus; Fixierung Formalin; SB = 10  $\mu$ m

Einige Hauptzellen der Streifenstücke (ST) zeigen eine deutlich positive Reaktion ( $\rightarrow$ ) der PAS-Färbung nach Mc Manus. Auch das Zytoplasma der serösen Zellen der Endstücke (E) erscheint deutlich magenta farben. In der Umgebung der Streifenstücke (ST) befinden sich zahlreiche Kapillaren (K).

## Ergebnisse

---

Die PAS-Reaktion mit vorausgehender Acetylierung führt wie bei der konventionellen Durchführung nach McManus zu einer schwachen, diffus verteilten Anfärbung der serösen Zellen der Endstücke sowie der ihnen anliegenden Myoepithelzellen. Die Epithelzellen aller Abschnitte des Gangsystems zeigen keine Reaktion. Becherzellen der interlobulären Ausführungsgänge stellen sich positiv dar, allerdings weisen sie eine schwächere Reaktion auf als bei der konventionellen Perjodsäure-Schiff-Färbung. Auch das umgebende Bindegewebe, Nerven und Gefäßstrukturen zeigen eine schwächere Ausprägung der Farbreaktion.

**Tabelle 18.1:** Auswertung der Perjodsäure-Schiff-Reaktion mit vorausgehender Acetylierung

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+/-
	Myoepithelzellen	+/-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	-
Streifenstücke	Hauptzellen	-
	Basalzellen	-
Ausführungsgang	Epithelzellen	-
	Becherzellen	+
Stroma	Bindegewebe	+/-
	Blutgefäße	+/-
	Nerven	+/-



**Abbildung 10:** Glandula parotis; PAS-Färbung nach Mc Manus mit vorausgehender Acetylierung; SB = 16,5  $\mu$ m

Die magenta farbene Färbung des Endstückepithels (E) ist deutlich schwächer ausgeprägt als bei der konventionellen PAS-Reaktion nach Mc Manus. Die Streifenstücke (ST) zeigen keine Färbung. In der Umgebung der Streifenstücke (ST) liegen weitlumige Kapillaren (K).



**Abbildung 11:** Glandula parotis, Ausführungsgang; PAS-Färbung nach Mc Manus mit vorausgehender Acetylierung; SB = 16,5  $\mu$ m

Die Epithelzellen des Ausführungsgangs (AG) zeigen keine PAS-Reaktion, während die Becherzellen (BEZ) eine deutliche Reaktion zeigen. Das Stroma (STR) mit Arterien (Aa), Venen und peripheren Nerven ist nur noch sehr schwach gefärbt. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);

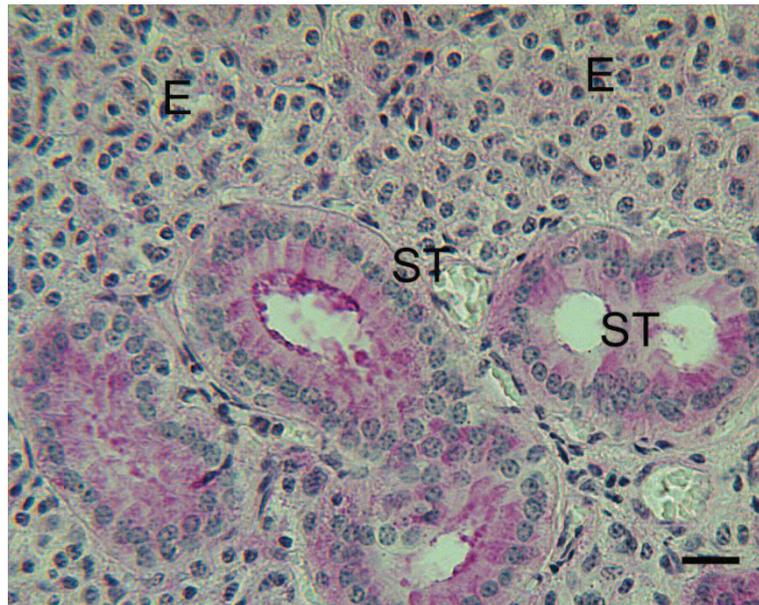
## Ergebnisse

---

Die Durchführung der PAS-Reaktion nach McManus mit vorausgehender Methylierung ergibt im Bereich der Endstücke eine schwache Färbung der in serösen Zellen auftretenden Granula, während bei Myoepithelzellen keine Reaktion nachzuweisen ist. Auch die Epithelzellen der Streifenstücke stellen sich durchwegs negativ dar. Die Hauptzellen der Streifenstücke zeigen wie bei der konventionellen Durchführung der PAS-Reaktion fixationsbedingte Unterschiede. Wiederum färben sich Granula einiger Hauptzellen bei Formalin fixierten Schnitten deutlich an, während diese Reaktion bei Proben, die in Bouin'scher Lösung fixiert wurden, wesentlich schwächer ausfällt. Die basal liegenden Zellen der Streifenstücke zeigen keine Reaktion. Im Bereich der interlobulären Ausführungsgänge reagieren lediglich Becherzellen positiv, während die Epithelzellen keine Farbreaktion aufweisen. Die Farbintensität der Reaktion der Becherzellen fällt schwächer aus als bei der konventionellen PAS-Reaktion beobachtet werden konnte. Bindegewebe, Nerven und Gefäßstrukturen zeigen nach vorausgehender Methylierung keine Farbreaktion.

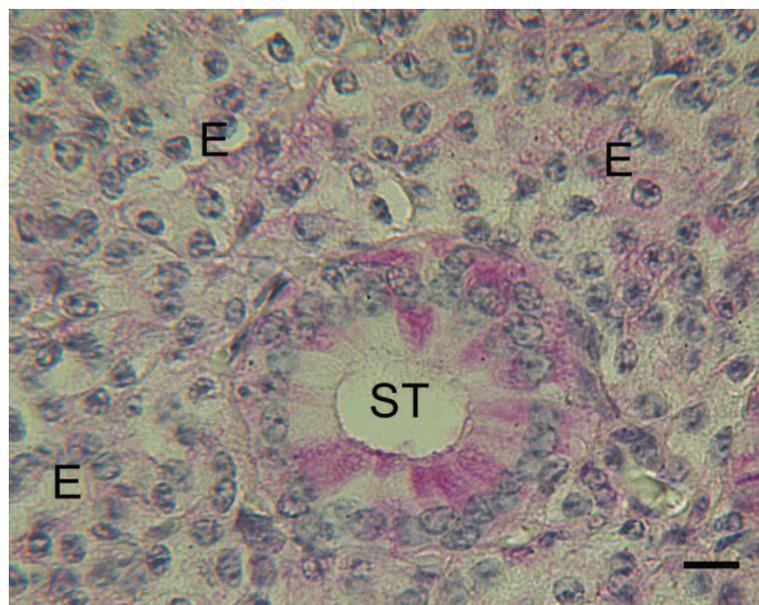
**Tabelle 18.2:** Auswertung der Perjodsäure-Schiff-Reaktion mit vorausgehender Methylierung

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+/-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	-
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	-
	Becherzellen	+
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-



**Abbildung 12:** Glandula parotis; PAS-Färbung mit vorausgehender Methylierung;  
SB = 16,5  $\mu\text{m}$

Die Hauptzellen der Streifenstücke (ST) zeigen eine deutlich positive PAS-Reaktion, während die serösen Zellen der Endstücke (E) lediglich schwach gefärbt erscheinen. Das die Drüsenabschnitte umhüllende Stroma weist keine Färbung auf.



**Abbildung 13:** Glandula parotis; PAS-Färbung nach Mc Manus mit vorausgehender  
Methylierung; Fixierung Formalin; SB = 10  $\mu\text{m}$

Das Zytoplasma einiger Hauptzellen und Basalzellen der Streifenstücke (ST) zeigt eine deutlich positive PAS-Reaktion. Die serösen Zellen der Endstücke (E) sind nur schwach angefärbt.

## Ergebnisse

---

Die Auswertung der mit Amylase vorbehandelten Proben zeigt nach Durchführung der konventionellen PAS-Färbung nach McManus ein durchgängig negatives Ergebnis für die Epithelzellen von Schaltstücken, Streifenstücken und Ausführungsgängen. Becherzellen färben sich wie bei der konventionellen PAS-Reaktion stark magentafarben an. Die serösen Zellen der Endstücke ebenso wie Myoepithelzellen stellen sich in Bouin'scher Lösung fixierten Proben negativ dar. Bei Formalin fixierten Schnitten zeigen die serösen Endstückzellen eine schwache Färbung. Die umgebenden Strukturen wie Bindegewebe, Nerven und Gefäße zeigen eine positive Reaktion.

**Tabelle 18.3:** Auswertung der Perjodsäure-Schiff-Reaktion mit vorausgehender Amylase-Behandlung

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	-
Streifenstücke	Hauptzellen	-
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	-
	Becherzellen	++
Stroma	Bindegewebe	+
	Blutgefäße	+
	Nerven	+/-



**Abbildung 14:** Glandula parotis; PAS-Färbung nach Mc Manus mit vorausgehender Amylase-Behandlung; SB = 16,5  $\mu\text{m}$

Die Epithelzellen der Endstücke (E), Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) zeigen keine PAS-Reaktion. Das die Drüsenabschnitte umhüllende Stroma weist die typische magenta farbene PAS-Reaktion auf.

# Ergebnisse

---

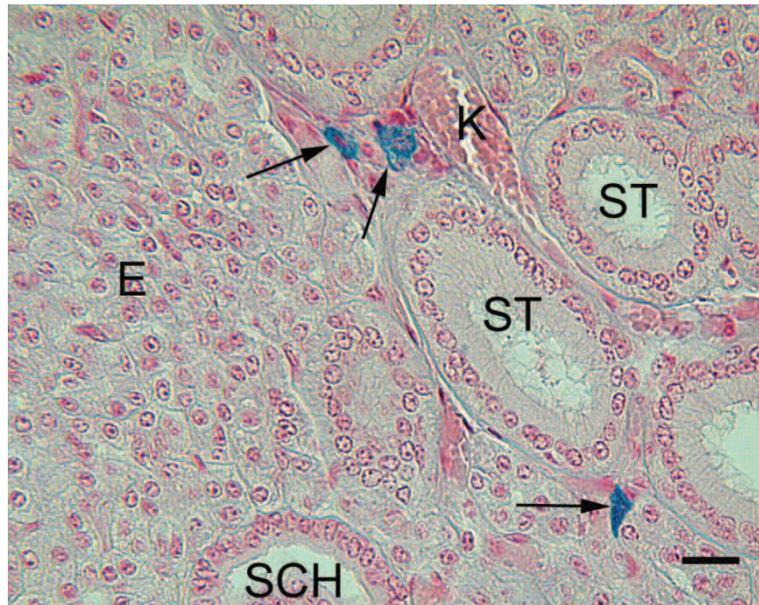
## 4.1.3. Ergebnisse der Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5 und pH 1,0

Die Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5 zeigt durchgängig negative Ergebnisse für die serösen Zellen der Endstücke und für die ihnen anliegenden Myoepithelzellen. Die Schaltstücke stellen sich ebenfalls negativ dar. Im Bereich der Streifenstücke weisen Hauptzellen, sowie die bereits im Kapitel 4.1.1. beschriebenen „hellen“ und „dunklen“ Basalzellen keine Farbreaktion auf. Neben diesen Basalzellen treten in allen untersuchten Streifenstücken blau gefärbte Zellen im basalen Bereich der Streifenstücke auf. Des Weiteren können Mastzellen im Bereich der Endstücke, Ausführungsgänge und im peripheren Bindegewebe in unterschiedlicher Häufigkeit bei den untersuchten Tieren lokalisiert werden. Die Epithelzellen der Ausführungsgänge zeigen keine Reaktion, während die in großen Ausführungsgängen eingebetteten Becherzellen eine starke Farbreaktion aufweisen. Das periphere Bindegewebe, Blutgefäße und Nerven stellen sich durchwegs negativ dar.

Die Ergebnisse der bei pH 1,0 durchgeführten Alcianblau 8GX-Färbung weisen keine Unterschiede im Bereich der Zellreaktion und Farbintensität zu der Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5 auf.

**Tabelle 19:** Auswertung der Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5 und pH 1,0

<b>Drüsenabschnitt</b>	<b>Zelltyp / Struktur</b>	<b>Reaktionsstärke</b>
<b>Endstücke</b>	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
<b>Schaltstücke</b>	Schaltstückzellen	-
<b>Streifenstücke</b>	Hauptzellen	-
	Basalzellen	-
<b>Ausführungsgang</b>	Epithelzellen	-
	Becherzellen	++
<b>Stroma</b>	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-
	Mastzellen	+



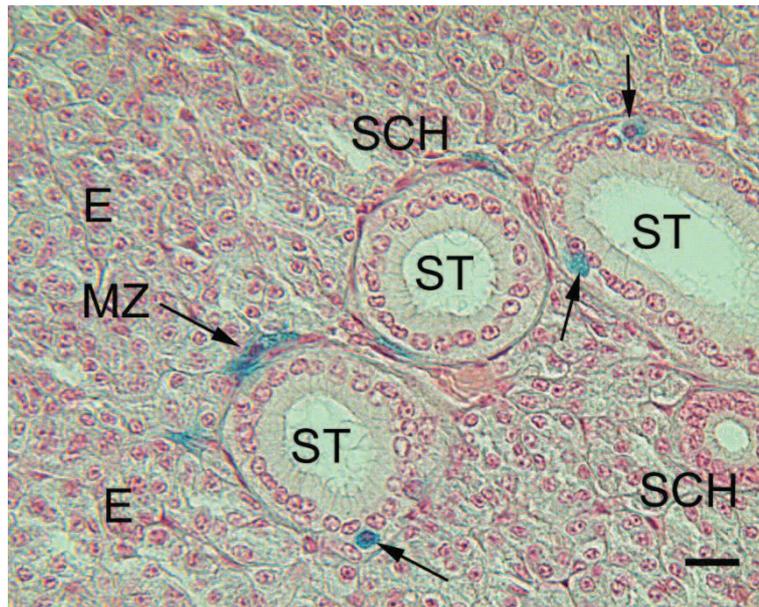
**Abbildung 15:** Glandula parotis; Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 1,0; SB = 16,5  $\mu\text{m}$

Die Epithelzellen der Endstücke (E), Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) zeigen ein blasses Zytoplasma und einen rosafarbenen Zellkern. Im Bereich der Streifenstücke liegen zahlreiche Kapillaren (K) und stark blau gefärbte Mastzellen ( $\rightarrow$ ).



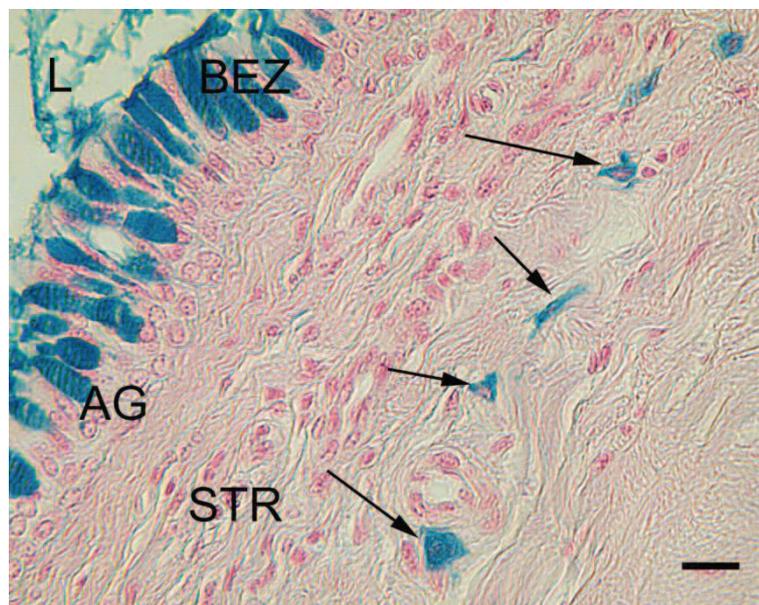
**Abbildung 16:** Glandula parotis; Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5; SB = 5  $\mu\text{m}$

Auch im Stroma um die Endstücke (E) sind Mastzellen (MZ) zu finden. Diese zeigen in der Alcianblau 8GX-Färbung stark blau gefärbte, zytoplasmatische Granula.



**Abbildung 17:** Glandula parotis; Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 1,0; SB = 16,5  $\mu$ m

Im Bereich der Streifenstücke (ST) zeigen sich intraepithelial gelegene Mastzellen ähnliche Basalzellen ( $\rightarrow$ ). Diese zeigen wie die im Stroma liegenden Mastzellen (MZ) deutlich blau gefärbte zytoplasmatische Granula. Die Epithelien der Endstücke (E), Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) zeigen dagegen keine positive Reaktion.



**Abbildung 18:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5; SB = 16,5  $\mu$ m

Die in großen Ausführungsgängen (AG) eingebetteten Becherzellen (BEZ) zeigen wie die im Stroma (STR) auftretenden Mastzellen ( $\rightarrow$ ) eine deutlich positive, blaue Färbung. Im Lumen (L) färben sich Muzine der Becherzellen blau an.

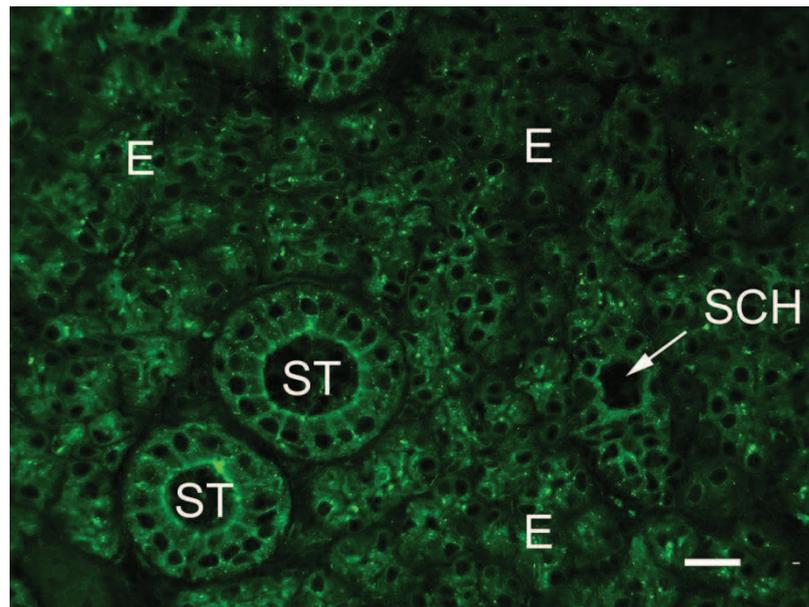
## 4.2. Lektin histochemie

### 4.2.1. Concanavalin A (Con A)

Der Nachweis von Mannose- und Glukose-Endzuckern ergibt ein positives Ergebnis für die serösen Zellen der Endstücke sowie für die Epithelzellen von Schaltstücken, Streifenstücken und Ausführungsgängen. Myoepithelzellen stellen sich lediglich schwach positiv dar. Die in großen Ausführungsgängen auftretenden Becherzellen zeigen in ihrer basalen Zellregion ein starkes Vorkommen von Mannose oder Glukosemolekülen, während ihr sekretorisch aktiver Bereich negativ erscheint. Das periphere Bindegewebe stellt sich bei den meisten untersuchten Proben negativ dar. Allerdings zeigen sechs der untersuchten Paraffinschnitte eine schwache Fluoreszenz. Die Endothelzellen der peripher gelegenen Blutgefäße sowie die im Parenchym verteilten Kapillarendothelzellen weisen eine deutliche bis starke positive Reaktion nach Inkubation mit Con A auf, während Tunica muscularis und Tunica serosa negativ reagieren. Nerven zeigen keine Bindung von Con A.

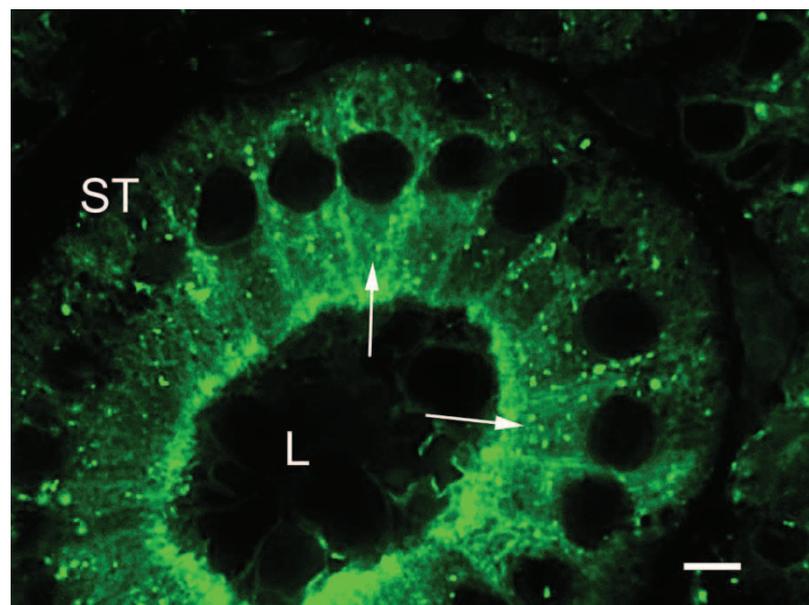
**Tabelle 20:** Lektin histochemischer Nachweis mit Con A

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+
	Myoepithelzellen	+/-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	+
Ausführgang	Epithelzellen	+
	Becherzellen	++
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	+
	Nerven	-



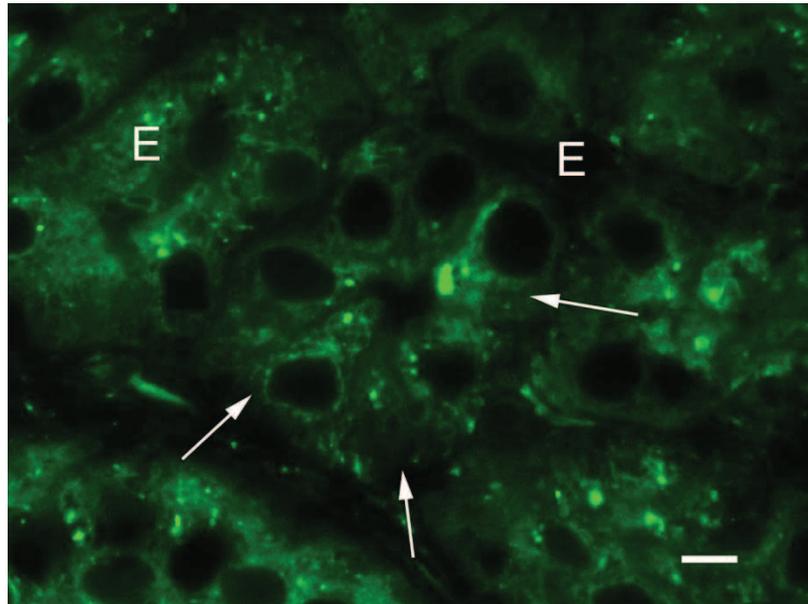
**Abbildung 19:** Glandula parotis; Lektinbindung mit Con A; SB = 20  $\mu\text{m}$

Das Zytoplasma der serösen Endstückzellen (E), Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) zeigt eine deutlich positive Reaktion auf das Lektin Con A.



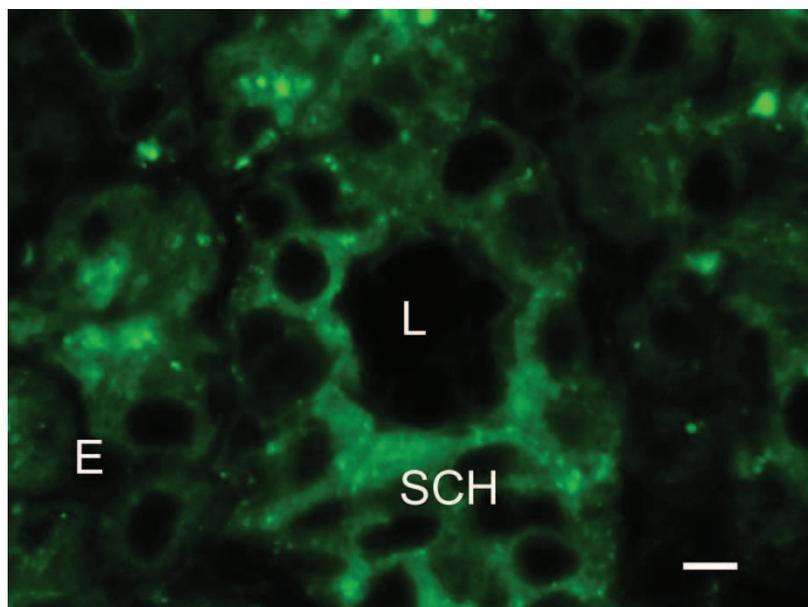
**Abbildung 20:** Glandula parotis, Streifenstück; Lektinbindung mit Con A; SB = 3,75  $\mu\text{m}$

Hauptzellen (→) und Basalzellen der Streifenstücke (ST) zeigen eine deutliche Reaktion des Zytoplasmas. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);



**Abbildung 21:** Glandula parotis, Endstück; Lektinbindung mit Con A; SB = 3,75  $\mu\text{m}$

Die serösen Zellen der Endstücke (E) zeigen eine homogene Lektinbindung im gesamten Zytoplasma ( $\rightarrow$ ). Die Zellkerne sowie das umgebende Stroma erscheinen negativ.



**Abbildung 22:** Glandula parotis, Schaltstück; Lektinbindung mit Con A; SB = 3,75  $\mu\text{m}$

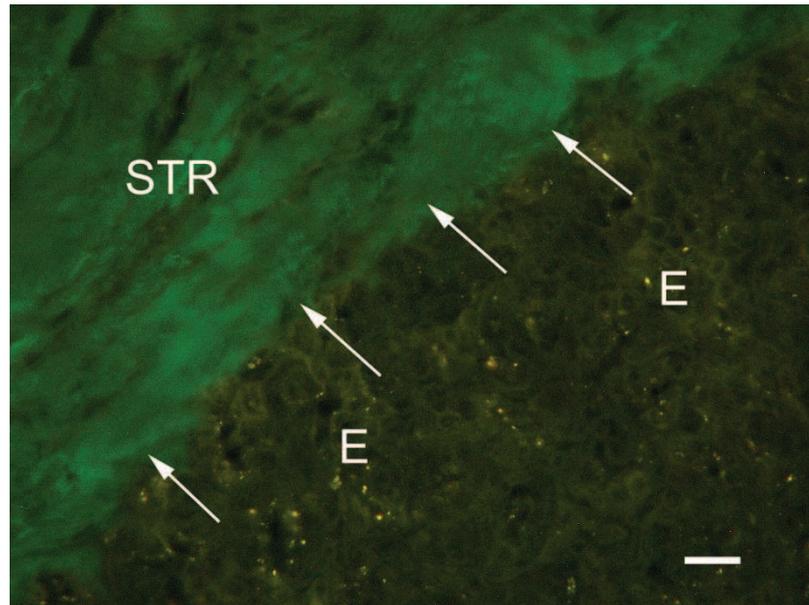
Die Epithelzellen der Endstücke (E) und Schaltstücke (SCH) zeigen eine positive Lektinbindung im gesamten Zytoplasma. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);

## 4.2.2. Dolicus biflorus Agglutinin (DBA)

Der lektinhistochemische Nachweis von N-Acetyl-Galaktosamin durch das FITC-markierte Lektin DBA ergibt ausschließlich ein positives Ergebnis für das periphere Bindegewebe. Das Bindegewebe zeigt im Vergleich zum negativen Parenchym eine schwache Fluoreszenz. Alle weiteren Strukturen der Endstücke und des Gangsystems weisen keine Reaktion auf. Auch Blutgefäße und Nerven reagieren negativ.

**Tabelle 21:** Lektinhistochemischer Nachweis mit DBA

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	-
Streifenstücke	Hauptzellen	-
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	-
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	+/-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-



**Abbildung 23:** Glandula parotis; Lektinbindung mit DBA; SB = 20  $\mu\text{m}$

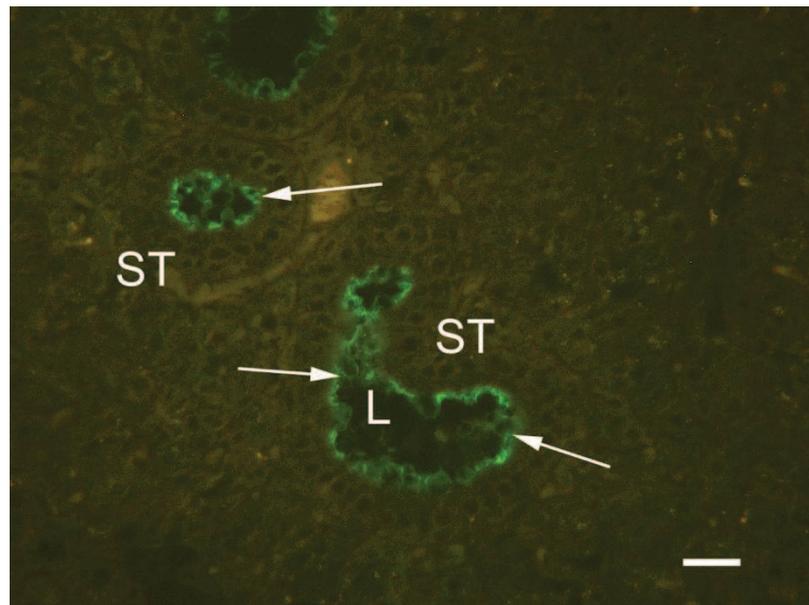
Das Stroma (STR) zeigt eine schwache Fluoreszenz, während sich Endstücke (E), Schaltstücke und Streifenstücke negativ darstellen. Weitere Kennzeichnung: Übergang zwischen Drüsenparenchym und Stroma ( $\rightarrow$ );

## 4.2.3. Erythrina cristagalli Agglutinin (ECA)

Die serösen Zellen der Endstücke sowie Myoepithelzellen und Schaltstücke zeigen ein negatives Ergebnis für das FITC-markierte Lektin ECA. Im Bereich der Hauptzellen der Streifenstücke weist die luminale Zellmembran eine schwache Fluoreszenz auf. Die Epithelzellen der Ausführungsgänge reagieren negativ, während Becherzellen der großen Ausführungsgänge deutliche bis starke Floreszenzen zeigen. Auch das im Lumen der Ausführungsgänge befindliche Sekret weist Ansammlungen von Galaktose-Resten auf. Das periphere Bindegewebe, Gefäßstrukturen und Nerven stellen sich ebenfalls negativ dar.

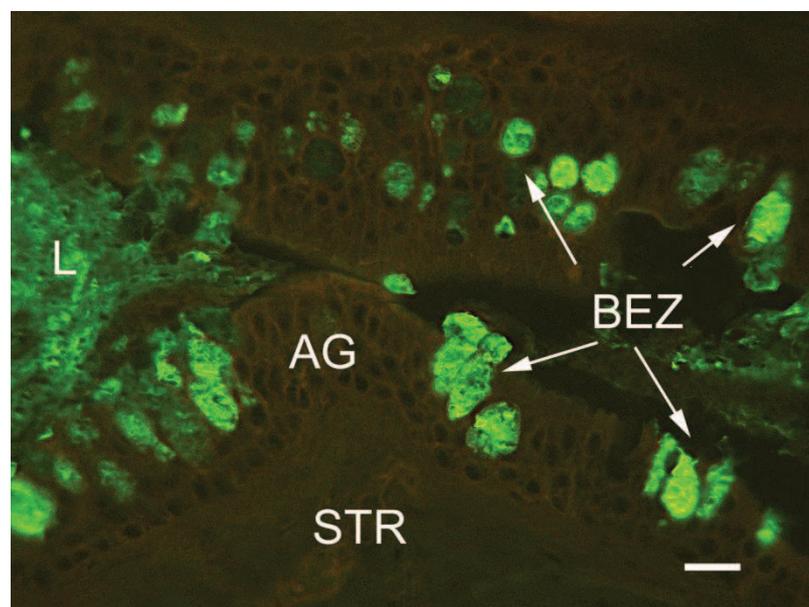
**Tabelle 22:** Lektin histochemischer Nachweis mit ECA

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	-
Streifenstücke	Hauptzellen	+/-
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	-
	Becherzellen	++
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-



**Abbildung 24:** Glandula parotis; Lektinbindung mit ECA; SB = 20  $\mu\text{m}$

Die zum Lumen (L) gerichtete Oberfläche der Streifenstückzellen (ST) weist eine deutliche Lektinbindung mit ECA ( $\rightarrow$ ) auf. Das Zytoplasma der Endstückzellen, Schaltstückzellen und Streifenstückzellen (ST) zeigen keine Reaktion auf die Behandlung mit dem Lektin ECA.



**Abbildung 25:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit ECA; SB = 20  $\mu\text{m}$

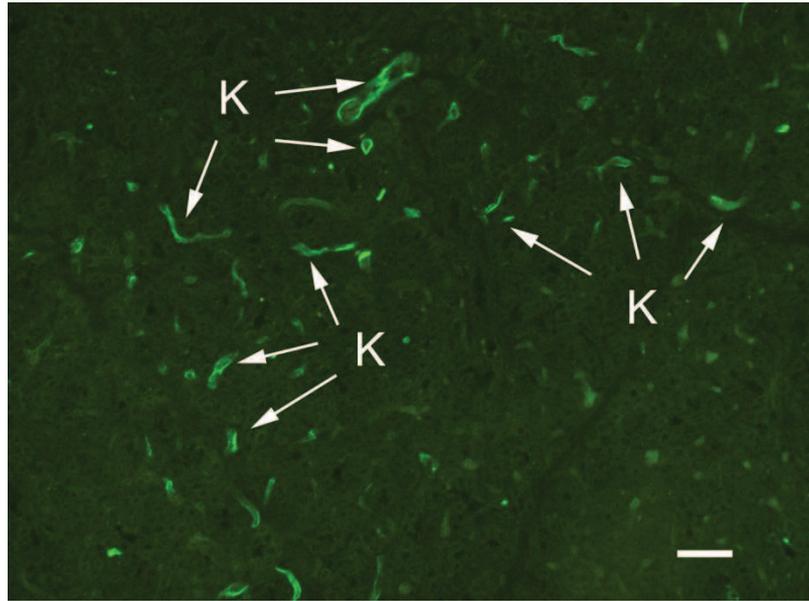
Während die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) keine Reaktion auf die Behandlung mit dem Lektin ECA aufweisen, zeigen die Becherzellen der großen Ausführungsgänge eine starke Fluoreszenz ( $\rightarrow$ ). Das umgebende Stroma (STR) stellt sich negativ dar.

## 4.2.4. Griffonia simplicifolia Lektin I (GSL-I)

Mit dem lektin histochemischen Nachweis durch GSL-I können N-Acetyl-Galaktosamin-Reste an der apikalen Zellmembran der Epithelzellen von Schaltstücken, Streifenstücken und Ausführungsgängen nachwiesen werden. Während die lumenseitige Oberfläche der Streifenstücke und Ausführungsgänge jeweils eine deutliche bis starke Fluoreszenz aufweist, zeigt die apikale Zelloberfläche der Schaltstückzellen lediglich eine schwache Reaktion. Die in großen Ausführungsgängen vorkommenden Becherzellen zeigen ebenfalls eine deutliche, teilweise starke Fluoreszenz. Die serösen Zellen der Endstücke sowie Myoepithelzellen reagieren nicht auf das Lektin. Das periphere Bindegewebe zeigt sich meist negativ. Allerdings weisen vier untersuchte Paraffinschnitte eine schwache Fluoreszenz in diesem Bereich auf. Auch Nerven stellen sich negativ dar. Die das Drüsenparenchym durchziehenden Kapillarendothelzellen zeigen eine deutliche Bindung des Lektins, ebenso wie die Tunica intima großer Arterien und Arteriolen, während die Tunica intima großlumiger Venen negativ erscheint.

**Tabelle 23:** Lektin histochemischer Nachweis mit GSL-I

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+/-
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	+
	Becherzellen	+
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	+
	Nerven	-



**Abbildung 26:** Glandula parotis; Lektinbindung mit GSL-I; SB = 33,5  $\mu\text{m}$

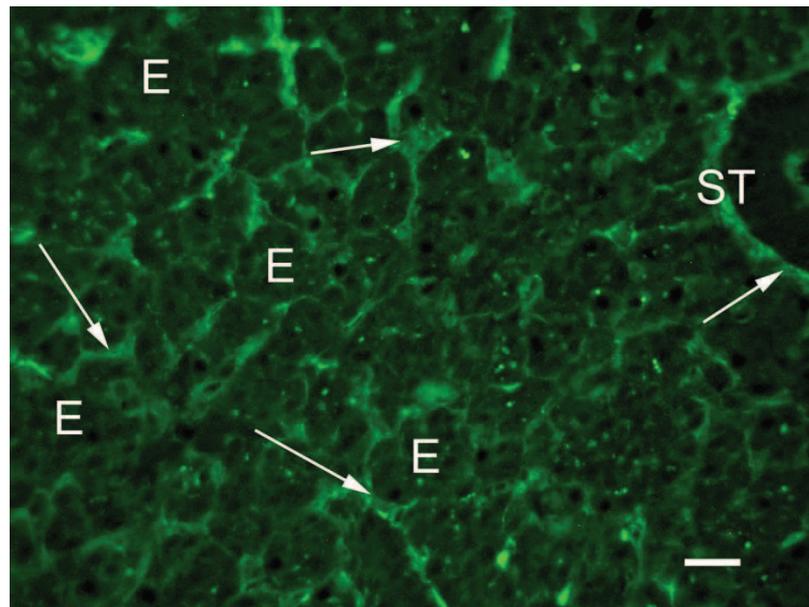
Zahlreiche Kapillaren (K) durchziehen das Drüsenparenchym. Während Kapillarendothelien (K) sowie arterielle Blutgefäße eine positive Reaktion auf das Lektin GSL-I aufweisen, zeigen venöse Blutgefäße keine Lektinbindung.

## 4.2.5. Lens culinaris Agglutinin (LCA)

Die Auswertung der lektinhistochemischen Untersuchungen mit LCA ergibt vor allem eine starke Reaktion des kollagenen Bindegewebes. Die serösen Zellen der Endstücke und Myoepithelzellen zeigen keine Reaktion auf das Lektin LCA. Auch Schaltstücke weisen keine positive Reaktion auf. Bei den Hauptzellen der Streifenstücke stellt sich die apikale Zelloberfläche zum Lumen hin jedoch deutlich positiv dar, während andere Bereiche der Zellen keine Reaktion aufweisen. Die Basalzellen der Streifenstücke zeigen häufig eine deutliche, teilweise sogar starke Fluoreszenz. Epithelien der Ausführungsgänge stellen sich meist negativ dar, nur in seltenen Fällen zeigt sich eine schwache Fluoreszenz des Zytoplasmas. Becherzellen, die in großen interlobulären Ausführungsgängen eingebettet sind, stellen sich durchwegs stark fluoreszierend dar. Ebenfalls stark reagiert das Epi- und Perineurium der im peripheren Bindegewebe verlaufenden Nerven. Blutgefäße weisen eine positive Reaktion im Bereich der Tunica intima und Tunica externa auf, während die Tunica muscularis im Allgemeinen keine Reaktion zeigt.

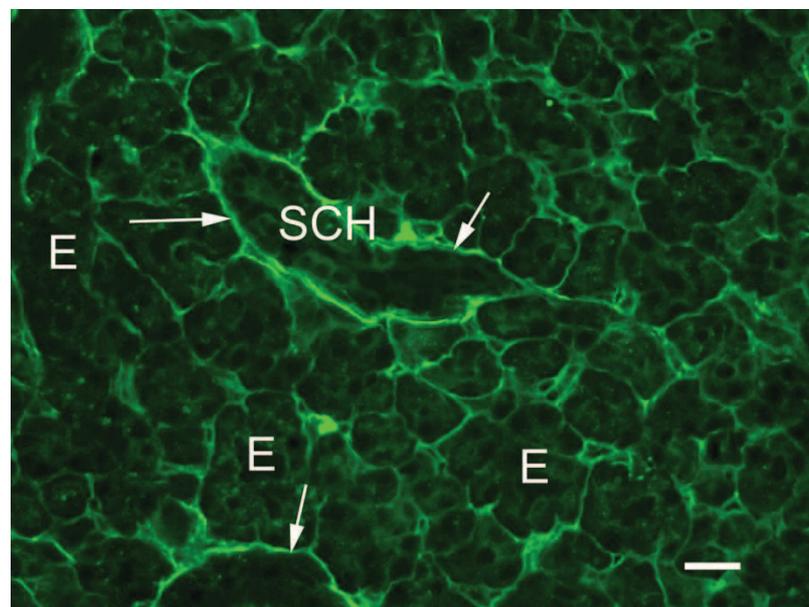
**Tabelle 24:** Lektinhistochemischer Nachweis mit LCA

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	-
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	+
Ausführgang	Epithelzellen	+/-
	Becherzellen	++
Stroma	Bindegewebe	++
	Blutgefäße	+
	Nerven	++



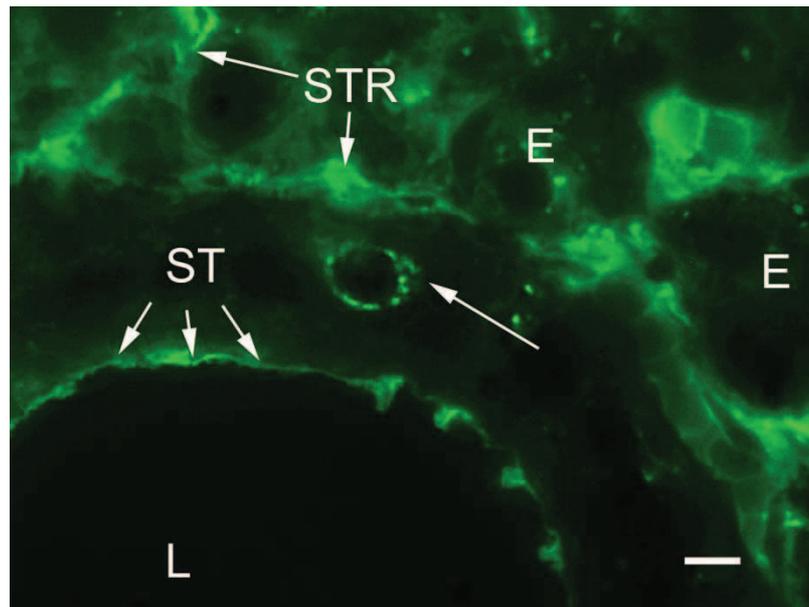
**Abbildung 27:** Glandula parotis; Lektinbindung mit LCA; SB = 20  $\mu\text{m}$

Die serösen Endstückzellen (E) stellen sich negativ dar. Die Hauptzellen des Streifenstückes (ST) weisen an ihrer lumenseitigen Oberfläche eine deutliche Lektinbindung auf. Auch das Stroma zeigt eine starke Reaktion ( $\rightarrow$ ).



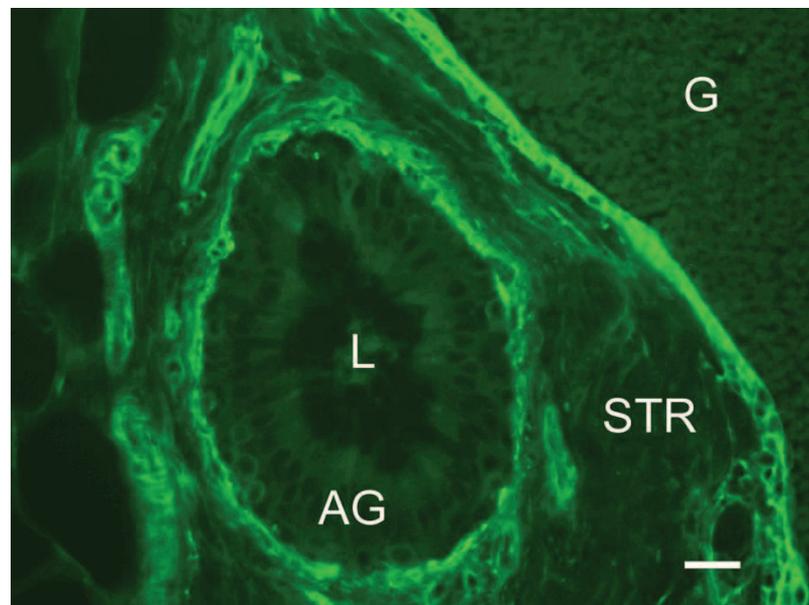
**Abbildung 28:** Glandula parotis; Lektinbindung mit LCA; SB = 20  $\mu\text{m}$

Die Epithelzellen der Endstücke (E) und Schaltstücke (SCH) weisen keine Lektinbindung auf. Das Stroma zeigt eine starke Fluoreszenz ( $\rightarrow$ ).



**Abbildung 29:** Glandula parotis, Streifenstück; Lektinbindung mit LCA; SB = 3,75  $\mu\text{m}$

Während die Enstücke (E) keine Lektinbindung aufweisen, zeigen die Hauptzellen der Streifenstücke (ST) eine deutliche Bindungsreaktion von LCA an ihrer zum Lumen (L) gerichteten apikalen Zellmembran. Einige Basalzellen im Streifenstück ( $\rightarrow$ ) zeigen deutlich fluoreszierende zytoplasmatische Granula. Das interstitielle Stroma (STR) weist eine starke Reaktion auf.



**Abbildung 30:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit LCA; SB = 20  $\mu\text{m}$

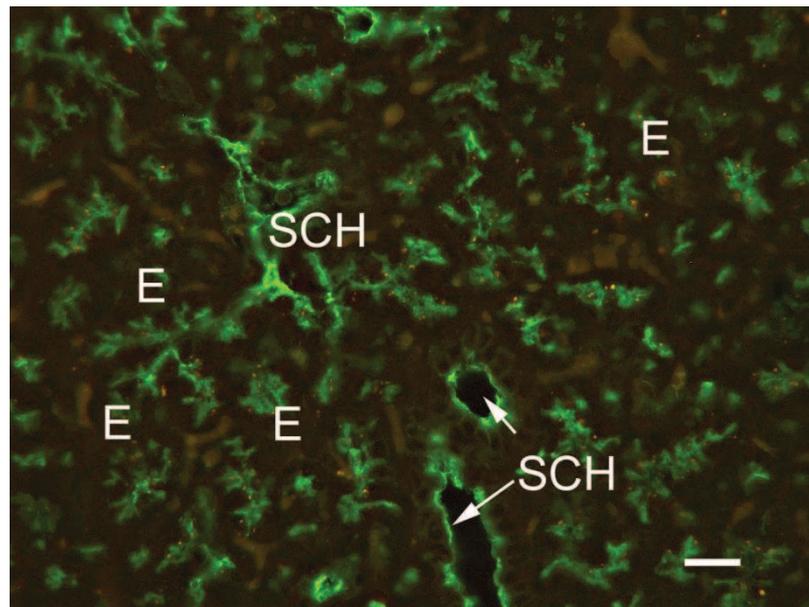
Das Stroma (STR) zeigt eine deutliche Lektinbindung, während sich das Ausführungsgangepithel (AG) negativ darstellt. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L), Blutgefäß (G);

## 4.2.6. Maackia amurensis Agglutinin I biotinyliert (MAA-I)

Der lektinhistochemische Nachweis durch das biotinylierte Lektin MAA-I ergab lediglich bei drei untersuchten Tieren (Tier 7, 8, 9) positive Ergebnisse für die apikale Zellmembran der serösen Endstückzellen. Alle anderen untersuchten Tiere weisen negative Ergebnisse für diesen Zelltyp auf. Auch Myoepithelzellen stellen sich negativ dar. Die Epithelien aller Gangabschnitte zeigen ebenfalls eine deutliche Fluoreszenz der apikalen Zellmembran, wobei die luminale Auskleidung bei Streifenstücken und Ausführungsgängen eine wesentlich stärkere Fluoreszenz als bei Schaltstücken aufweisen. Becherzellen der großen Ausführungsgänge reagieren ebenfalls positiv auf das Lektin MAA-I. Die das Drüsenparenchym umgebenden Strukturen wie kollagenes Bindegewebe, Gefäße und Nerven zeigen keine Reaktion.

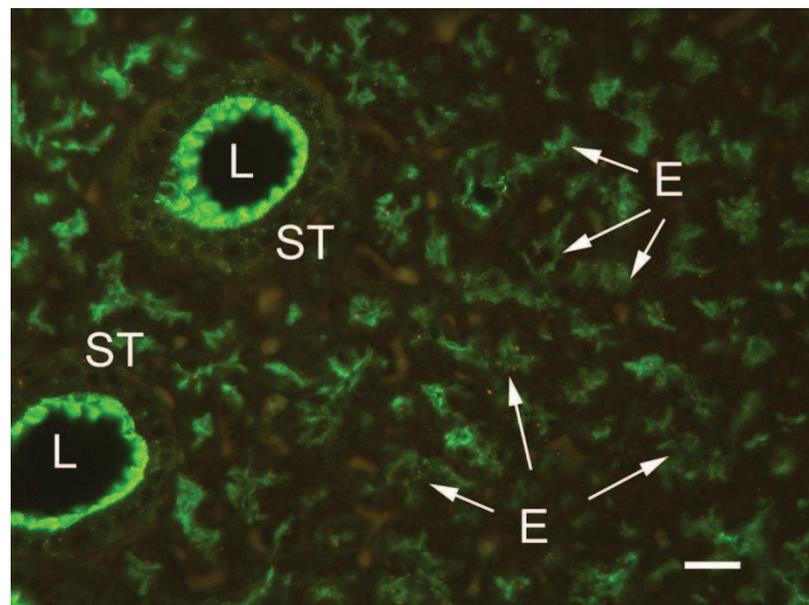
**Tabelle 25:** Lektinhistochemischer Nachweis mit MAA-I

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+/-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+
Streifenstücke	Hauptzellen	++
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	++
	Becherzellen	++
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-



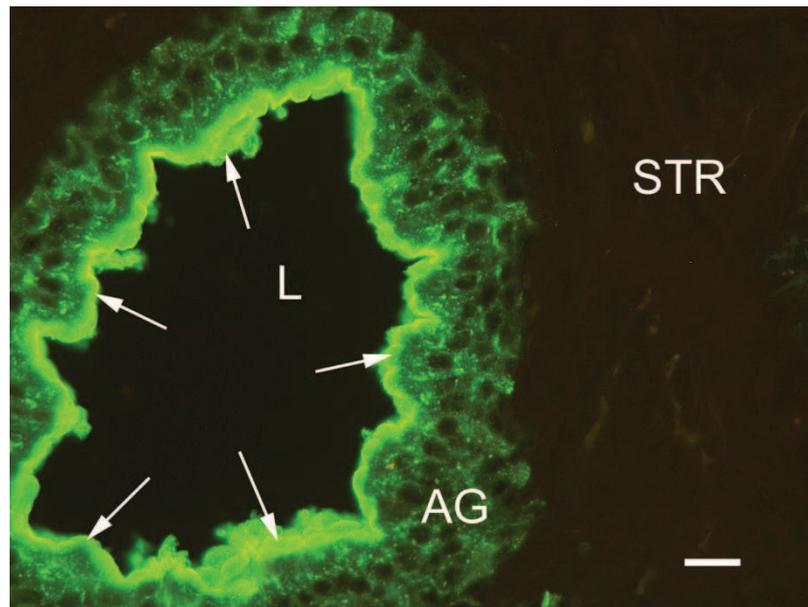
**Abbildung 31:** Glandula parotis; Lektinbindung mit MAA-I; SB = 20  $\mu$ m

Die lumenseitige Oberfläche von Endstück (E)- und Schaltstückepithelien (SCH) zeigen eine deutliche Lektinbindung. Das Zytoplasma der Epithelien erscheint negativ.



**Abbildung 32:** Glandula parotis; Lektinbindung mit MAA-I; SB = 20  $\mu$ m

Die zum Lumen (L) gerichtete Oberfläche der Streifenstücke (ST) und Endstücke (E) weist eine deutliche Bindungsreaktion mit MAA-I auf.



**Abbildung 33:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit MAA-I; SB = 20  $\mu\text{m}$

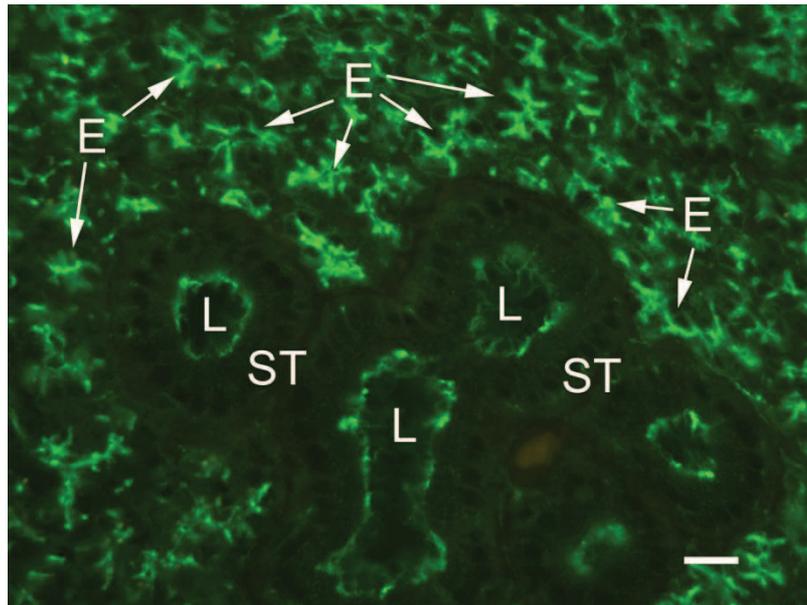
Die zum Lumen (L) gerichtete Zelloberfläche der obersten Epithelzellschicht des Ausführungsganges weist eine starke Lektinbindung mit MAA-I auf. Das Zytoplasma der Epithelzellen des Ausführungsganges stellt sich ebenfalls deutlich positiv dar. Das Stroma (STR) zeigt keine Reaktion.

## 4.2.7. Phytohämagglutinin-erythrocyte Agglutinin (PHA-E)

Der Nachweis von komplexen N-Glykanen durch das Lektin PHA-E ergibt eine starke Fluoreszenz der apikalen Zellmembranen von serösen Zellen der Endstücke sowie für die Epithelien der Schaltstücke, Streifenstücke und Ausführungsgänge. Bei den Probetieren Nummer 4, 5, 8 und 10 traten in der basalen Zellreihe der Streifenstücke stark fluoreszierende „spezielle Basalzellen“ auf. Die übrigen Basalzellen der Streifenstücke stellen sich negativ dar. Die in den großen Ausführungsgängen auftretenden Becherzellen zeigen keine Reaktion auf das Lektin. Eine schwache Fluoreszenz lässt sich für die kollagenen Fasern des peripheren Bindegewebes nachweisen. Die im peripheren Bindegewebe verlaufenden Gefäße zeigen deutliche Reaktionen der Tunica intima und Tunica externa, während die Tunica muscularis keine Reaktion aufweist. Auch die peripher verlaufenden Nerven zeigen eine deutliche Fluoreszenz.

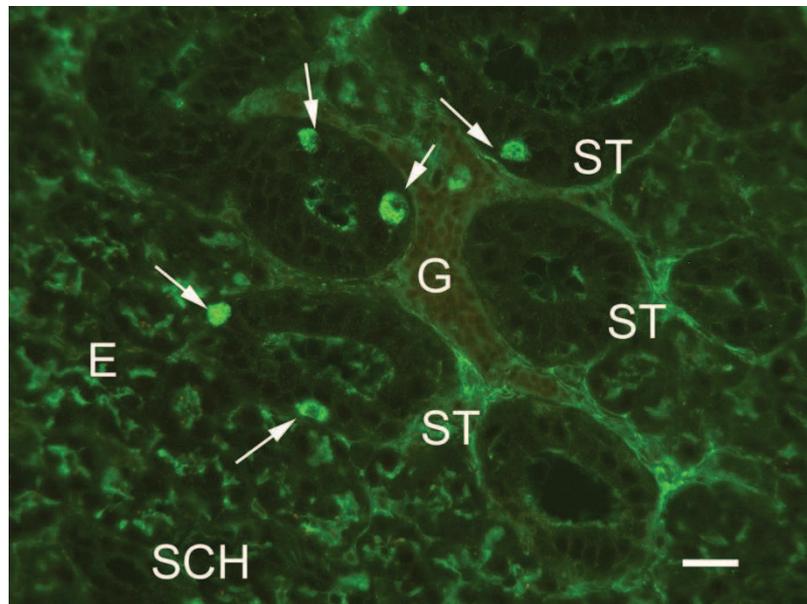
**Tabelle 26:** Lektin histochemischer Nachweis mit PHA-E

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	++
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	++
Ausführgang	Epithelzellen	++
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	+/-
	Blutgefäße	+
	Nerven	+



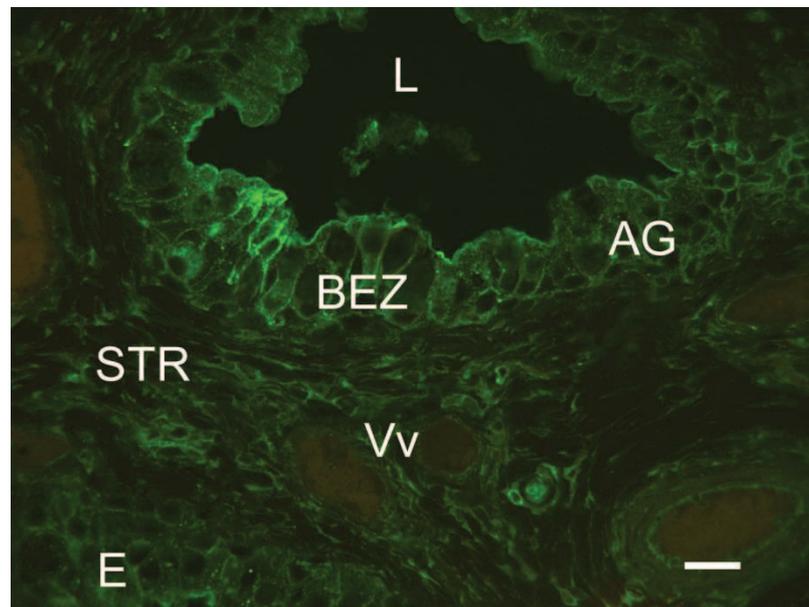
**Abbildung 34:** Glandula parotis; Lektinbindung mit PHA-E; SB = 20  $\mu\text{m}$

Die zum Lumen (L) gerichtete Oberfläche der serösen Endstückzellen (E) sowie der Hauptzellen der Streifenstücke (ST) weisen eine deutliche Bindungsreaktion mit dem Lektin PHA-E auf.



**Abbildung 35:** Glandula parotis; Lektinbindung mit PHA-E; SB = 20  $\mu\text{m}$

Die lumenseitige Oberfläche von Endstücken (E), Schaltstücken (SCH) und Streifenstücken (ST) zeigt eine deutlich positive Bindungsreaktion mit PHA-E, während das Zytoplasma der Epithelzellen negativ erscheint. Das Zytoplasma einiger Basalzellen der Streifenstücke stellt sich deutlich positiv dar ( $\rightarrow$ ).



**Abbildung 36:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit PHA-E; SB = 20  $\mu\text{m}$

Während die Epithelzellen des Ausführungsgangs (AG) eine deutliche Bindungsreaktion mit PHA-E aufweisen, stellen sich die Becherzellen (BEZ) negativ dar. Weitere Kennzeichnung: Stroma (STR), Venen (Vv), Endstücke (E), Lumen (L);

## 4.2.8. Phytohämagglutinin-Leucoagglutinin (PHA-L)

Die Auswertung der Ergebnisse für PHA-L ergibt ausschließlich eine schwache Fluoreszenz des peripheren Bindegewebes. Alle weiteren untersuchten Zell- und Gewebearten des Drüsenkomplexes zeigen keine Reaktion mit dem Lektin PHA-L.

**Tabelle 27:** Lektin histochemischer Nachweis mit PHA-L

<b>Drüsenabschnitt</b>	<b>Zelltyp / Struktur</b>	<b>Reaktionsstärke</b>
<b>Endstücke</b>	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
<b>Schaltstücke</b>	Schaltstückzellen	-
<b>Streifenstücke</b>	Hauptzellen	-
	Basalzellen	-
<b>Ausführgang</b>	Epithelzellen	-
	Becherzellen	-
<b>Stroma</b>	Bindegewebe	+/-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-

## 4.2.9. Peanut- Agglutinin (PNA)

Für den lektinhistochemischen Nachweis von Galaktose-Resten durch das Lektin PNA ergeben sich, mit Ausnahme weniger schwacher Fluoreszenzen im Bereich der lumenseitigen Zellmembran von Streifenstück-Hauptzellen, keine weiteren positiven Reaktionen der untersuchten Zellen und Gewebe des Drüsenkomplexes der Glandula parotis.

**Tabelle 28:** Lektinhistochemischer Nachweis mit PNA

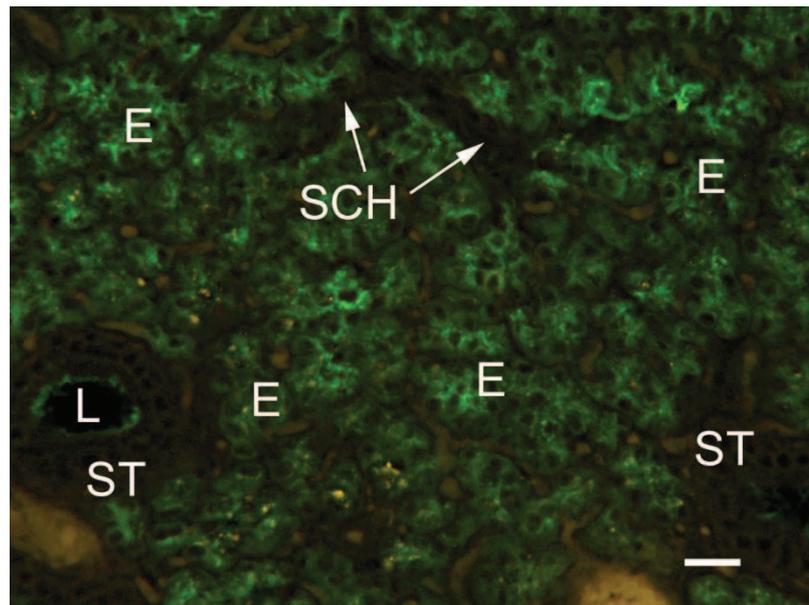
<b>Drüsenabschnitt</b>	<b>Zelltyp / Struktur</b>	<b>Reaktionsstärke</b>
<b>Endstücke</b>	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
<b>Schaltstücke</b>	Schaltstückzellen	-
<b>Streifenstücke</b>	Hauptzellen	+/-
	Basalzellen	-
<b>Ausführgang</b>	Epithelzellen	-
	Becherzellen	-
<b>Stroma</b>	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-

## 4.2.10. Pisum sativum Agglutinin (PSA)

Die serösen Zellen der Endstücke zeigen bezüglich des lektinhistochemischen Nachweises durch PSA eine deutliche bis starke Fluoreszenz, während sich die ihnen anliegenden Myoepithelzellen negativ darstellen. Die angrenzenden Schaltstücke weisen keine Reaktion mit dem Lektin PSA auf, während die lumenseitige Oberfläche der Hauptzellen deutliche bis starke Floreszenzen zeigt. Auch die luminale Auskleidung der Ausführungsgänge zeigt teilweise Fluoreszenzen, allerdings stellen sich diese nur sehr schwach und auch nicht in allen Bereichen der Ausführungsgänge dar. Die Ansammlungen von Becherzellen, die in größeren Ausführungsgängen auftreten, reagieren stark auf das Lektin und zeigen eine deutliche bis starke Fluoreszenz. Das umgebende Bindegewebe sowie die darin verlaufenden Gefäße stellen sich negativ dar. Peripher verlaufende Nerven zeigen deutliche Reaktionen des Perineuriums.

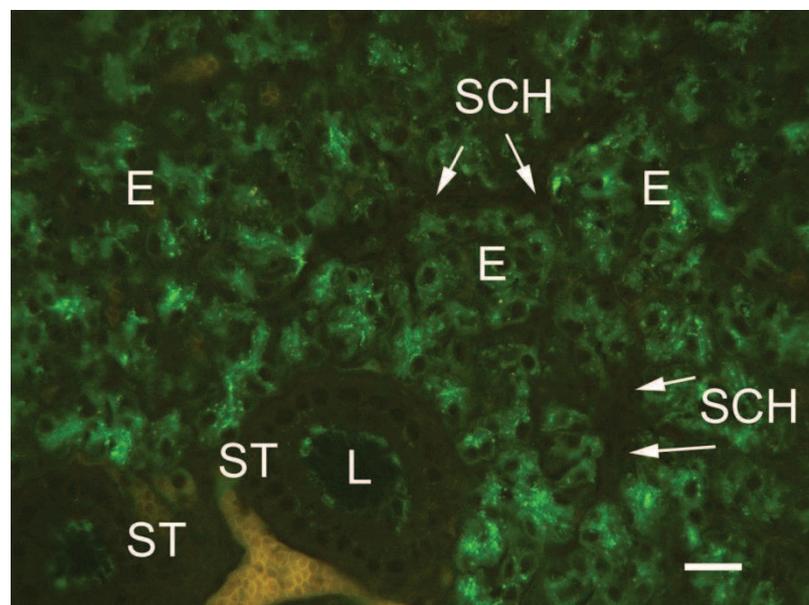
**Tabelle 29:** Lektinhistochemischer Nachweis mit PSA

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	-
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	+/-
	Becherzellen	++
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	+



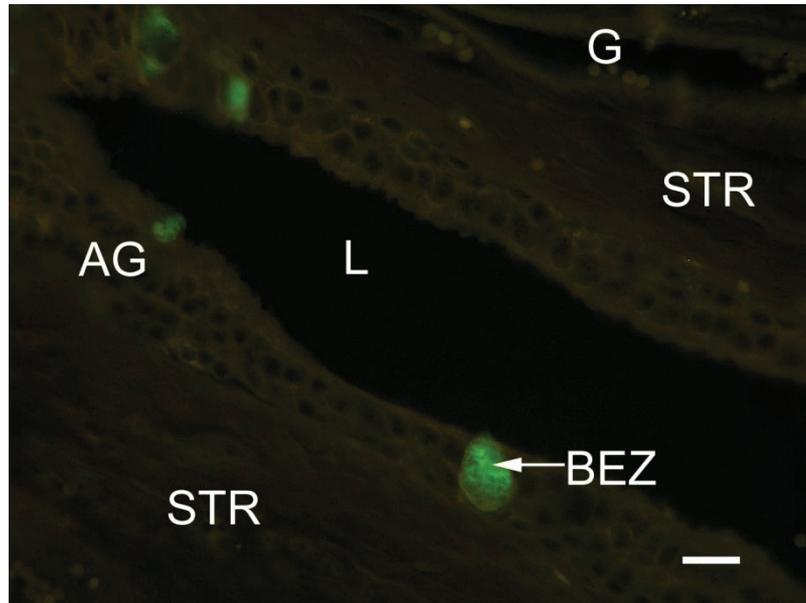
**Abbildung 37:** Glandula parotis; Lektinbindung mit PSA; SB = 20 µm

Das Zytoplasma der serösen Zellen der Endstücke (E) sowie die zum Lumen (L) gerichtete Oberfläche der Streifenstückzellen (ST) zeigen eine deutliche Lektinbindungsreaktion mit PSA. Die Schaltstückepithelien (SCH) stellen sich dagegen negativ dar (→).



**Abbildung 38:** Glandula parotis; Lektinbindung mit PSA; SB = 20 µm

Die Epithelien der Schaltstücke (SCH) weisen keine Lektinbindung mit PSA auf (→), während die Hauptzellen der Streifenstücke (ST) an ihrer lumenseitigen Zelloberfläche eine deutliche Fluoreszenzreaktion aufweisen. Weitere Kennzeichnung: seröses Epithel der Endstücke (E), Lumen (L);



**Abbildung 39:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit PSA; SB = 20  $\mu$ m

Die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) sowie das umgebende Stroma (STR) zeigen keine Bindungsreaktion mit dem Lektin PSA. Die in das Ausführungsgangepithel eingelagerten Becherzellen (BEZ) zeigen dagegen eine deutlich positive Reaktion. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L), Blutgefäß (G);

## 4.2.11. Ricinus communis Agglutinin (RCA)

Mit Ausnahme einer schwachen Fluoreszenz im Bereich des kollagenen Bindegewebes zeigen alle weiteren untersuchten Zellen und Gewebe des Drüsenkomplexes der Glandula parotis keine Reaktion auf den lektinhistochemischen Nachweis von Galaktose-Endzuckern durch das FITC-markierte Lektin RCA.

**Tabelle 30:** Lektinhistochemischer Nachweis mit RCA

<b>Drüsenabschnitt</b>	<b>Zelltyp / Struktur</b>	<b>Reaktionsstärke</b>
<b>Endstücke</b>	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
<b>Schaltstücke</b>	Schaltstückzellen	-
<b>Streifenstücke</b>	Hauptzellen	-
	Basalzellen	-
<b>Ausführgang</b>	Epithelzellen	-
	Becherzellen	-
<b>Stroma</b>	Bindegewebe	+/-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-

## 4.2.12. Soyabean- Agglutinin (SBA)

Der lektinhistochemische Nachweis von N-Acetylgalaktosamin-Resten durch das FITC-markierte Lektin SBA ergibt keine positive Reaktion in allen untersuchten Zellen und Geweben des Drüsenkomplexes der Glandula parotis.

**Tabelle 31:** Lektinhistochemischer Nachweis mit SBA

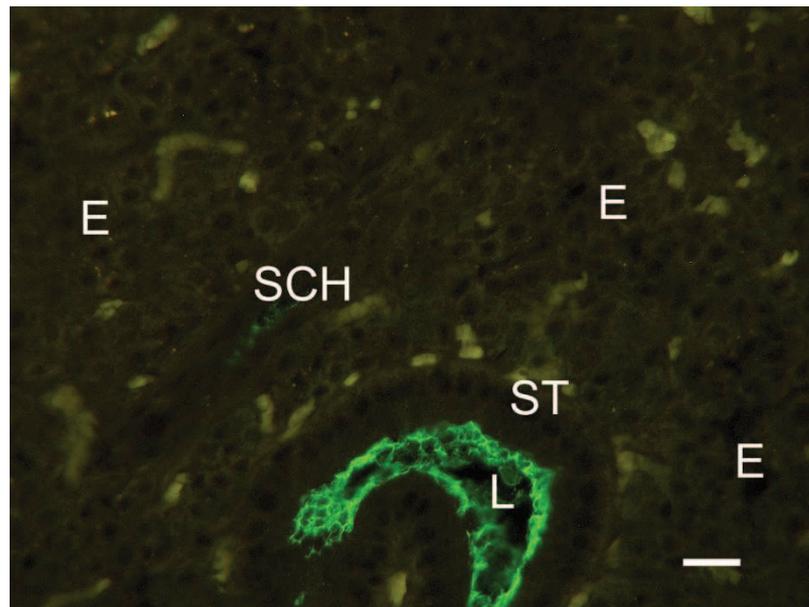
<b>Drüsenabschnitt</b>	<b>Zelltyp / Struktur</b>	<b>Reaktionsstärke</b>
<b>Endstücke</b>	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
<b>Schaltstücke</b>	Schaltstückzellen	-
<b>Streifenstücke</b>	Hauptzellen	-
	Basalzellen	-
<b>Ausführgang</b>	Epithelzellen	-
	Becherzellen	-
<b>Stroma</b>	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-

### 4.2.13. Saphora japonica Agglutinin (SJA)

Der lektinhistochemische Nachweis von N-Acetyl-Galaktosamin durch das biotinylierte Lektin SJA zeigt deutliche Reaktionen der luminalen Oberflächenmembran der Epithelzellen von Schaltstücken, Streifenstücken und Ausführungsgängen. Während die Fluoreszenz bei den Hauptzellen der Streifenstücke und der luminalen Zellreihe der Ausführungsgänge stark ausgeprägt ist, zeigt sie sich bei Schaltstückepithelzellen zwar deutlich erkennbar, in einigen Fällen jedoch um einiges schwächer als bei den erstgenannten Gangabschnitten. Die in großen Ausführungsgängen vorkommenden Ansammlungen von Becherzellen weisen ebenfalls eine starke Fluoreszenz auf, ebenso wie das im Lumen verbliebene Sekret. Die das Drüsenparenchym umgebenden Strukturen wie kollagenes Bindegewebe, Nerven und Gefäße stellen sich durchwegs negativ dar.

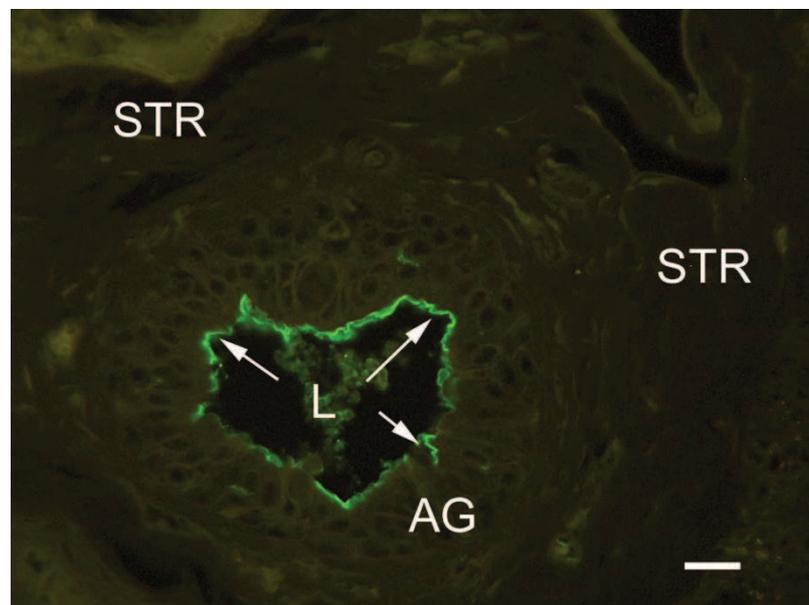
**Tabelle 32:** Lektinhistochemischer Nachweis mit SJA

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+
Streifenstücke	Hauptzellen	++
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	++
	Becherzellen	+
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-



**Abbildung 40:** Glandula parotis; Lektinbindung mit SJA; SB = 20 µm

Während die lumenseitige Oberfläche der Schaltstückzellen (SCH) nur eine schwache Fluoreszenz aufweist, zeigen die Hauptzellen der Streifenstücke (ST) an ihrer zum Lumen (L) gerichteten Zellmembran eine starke Lektinbindungsreaktion mit SJA. Die Einstücke (E) stellen sich negativ dar.



**Abbildung 41:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit SJA; SB = 20 µm

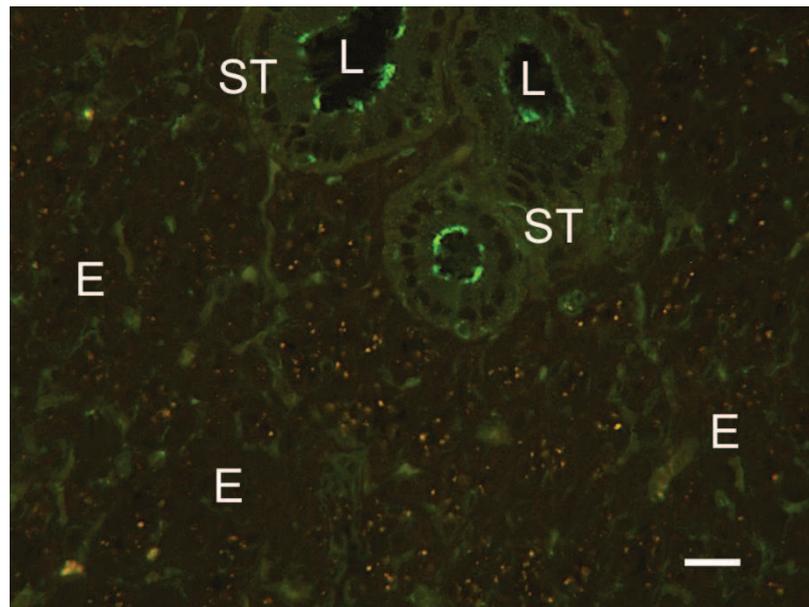
Die das Lumen (L) auskleidende Oberfläche des Ausführungsgangepithels (AG) zeigt eine deutliche Reaktion auf die Bindung mit SJA (→). Das die Ausführungsgänge umgebende Stroma (STR) stellt sich negativ dar.

## 4.2.14. Sambucus nigra Agglutinin biotinyliert (SNA)

Bei dem Nachweis von Galaktose und N-Acetylgalaktosamin durch das biotinylierte Lektin SNA ergeben sich sowohl für die serösen Zellen der Endstücke als auch für Myoepithelzellen negative Ergebnisse. Das Zytoplasma der Schaltstückepithelien zeigt eine homogene, jedoch sehr schwache Fluoreszenz. Während die Hauptzellen der Streifenstücke nur sporadisch auftretende positive Strukturen an der luminalen Zellmembran aufweisen, reagieren die sogenannten „speziellen Basalzellen“ häufig mit sehr starker Fluoreszenz, welche die gesamte Zelle ausfüllt und das Zytoplasma der Zellen schaumig erscheinen lässt. Die Epithelzellen der Ausführungsgänge zeigen ebenfalls in basalen Zellreihen eine deutlich stärkere Reaktion als in den eher luminal gelegenen Zellschichten. Auftretende Becherzellen weisen keine Reaktion mit dem Lektin auf. Endothelzellen der Tunica intima großer Blutgefäße stellen sich stark positiv dar, ebenso wie Kapillarendothelzellen, die verteilt im Drüsenparenchym zu finden sind. Das periphere Bindegewebe sowie darin verlaufende Nerven zeigen nur eine schwache Fluoreszenz.

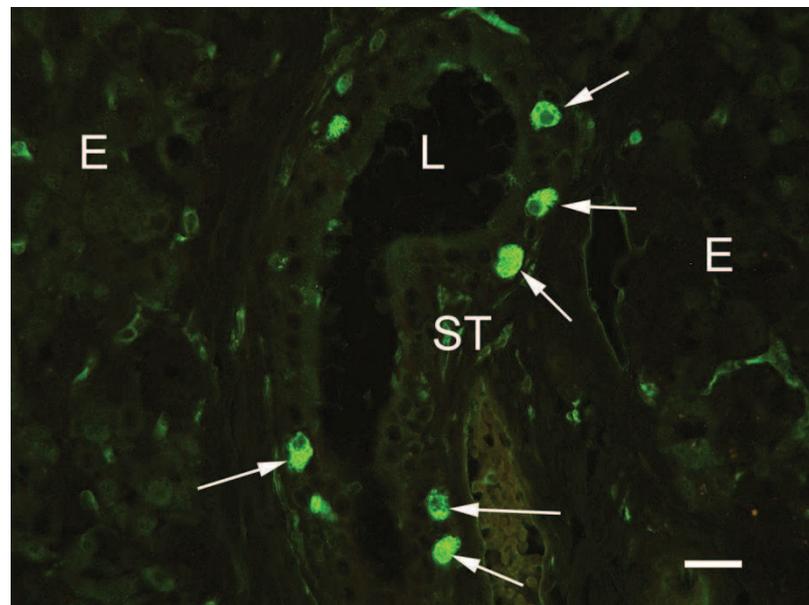
**Tabelle 33:** Lektin histochemischer Nachweis mit SNA

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+/-
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	++
Ausführgang	Epithelzellen	+
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	+/-
	Blutgefäße	++
	Nerven	+



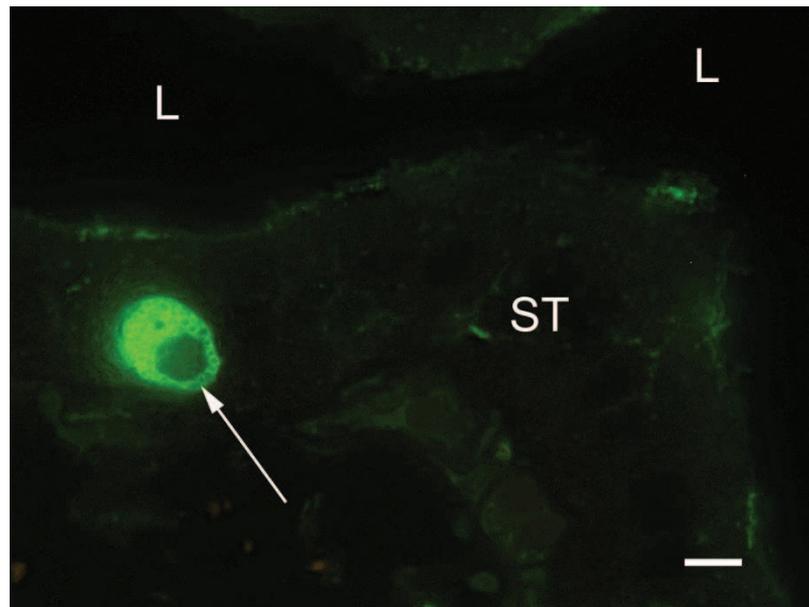
**Abbildung 42:** Glandula parotis; Lektinbindung mit SNA; SB = 20  $\mu\text{m}$

Die zum Lumen (L) gerichtete Oberfläche der Hauptzellen der Streifenstücke (ST) weist eine deutlich positive Reaktion auf die Bindung mit SNA auf, während sich die Endstücke (E) negativ darstellen.



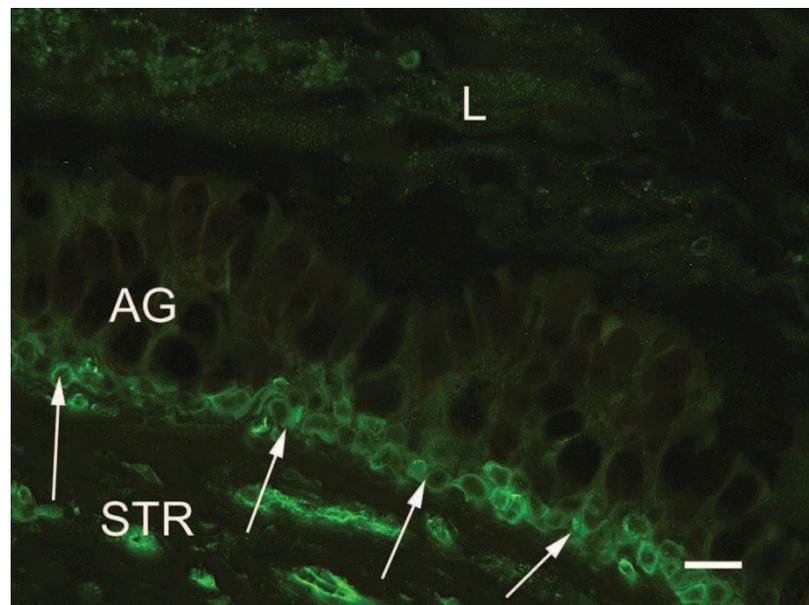
**Abbildung 43:** Glandula parotis, Streifenstück; Lektinbindung mit SNA; SB = 20  $\mu\text{m}$

In einigen Streifenstücken (ST) treten stark positive Basalzellen ( $\rightarrow$ ) auf. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L), Endstücke (E);



**Abbildung 44:** Glandula parotis, Basalzelle des Streifenstückes; Lektinbindung mit SNA; SB = 3,75  $\mu\text{m}$

Einige Basalzellen ( $\rightarrow$ ) des Streifenstückes (ST) zeigen eine positive Bindungsreaktion mit SNA. Ihr stark granuliertes Zytoplasma ist deutlich erkennbar. Sie weisen keine Verbindung zum Lumen (L) auf.



**Abbildung 45:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit SNA; SB = 20  $\mu\text{m}$

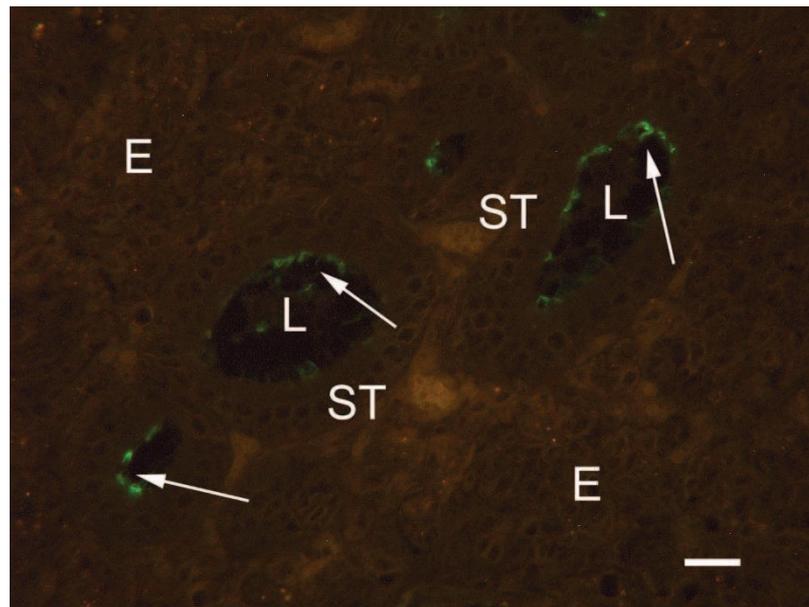
Die Ausführungsgänge (AG) weisen eine deutlich stärkere Reaktion ihrer basalen Zellschichten ( $\rightarrow$ ) auf. Die zum Lumen (L) gerichteten Zellschichten erscheinen dagegen negativ. Im Stroma (STR) sind zahlreiche positiv reagierende Blutgefäße erkennbar.

## 4.2.15. Ulex europaeus Agglutinin Isolektin I (UEA-I)

Fukose-Reste können mit dem Lektin UEA-I im Drüsenparenchym der Glandula parotis des Rindes lediglich an der luminalen Zelloberfläche von Hauptzellen der Streifenstücke und Schaltstückepithelzellen nachgewiesen werden, wobei die Fluoreszenzstärke bei Streifenstücken deutlich erhöht ist. In wenigen Fällen werden auch Fluoreszenzen der luminalen Auskleidung von kleinlumigen Ausführungsgängen beobachtet, jedoch zeigt die Reaktion nur eine schwache Fluoreszenzstärke. Große Ausführungsgänge zeigen eine starke Reaktion der zwischen Epithelzellen liegenden Becherzellen. Auch das im Ausführungsganglumen verbliebene Sekret weist eine starke Fluoreszenz auf. Während Gefäßstrukturen negativ reagieren, stellt sich das Bindegewebe schwach positiv dar. Auch Epi- und Perineurium der im kollagenen Bindegewebe verlaufenden Nervenbahnen zeigen eine schwache Fluoreszenz.

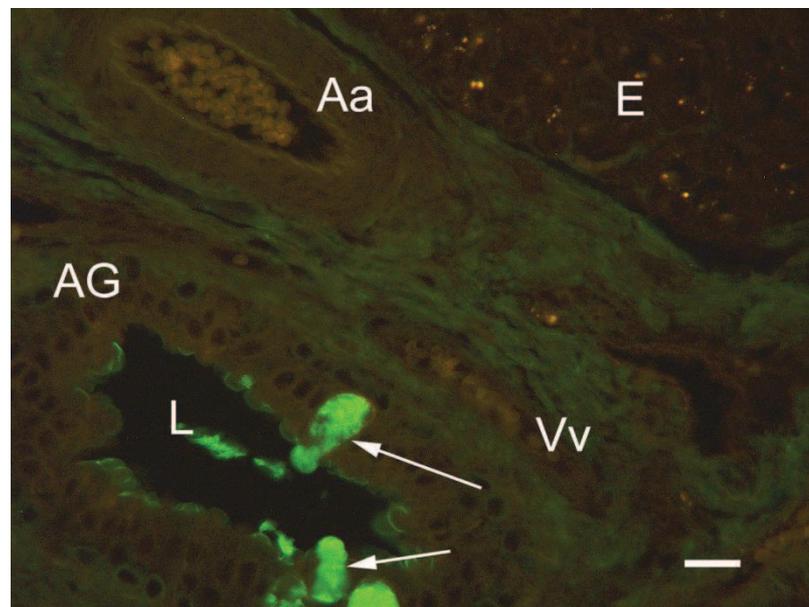
**Tabelle 34:** Lektin histochemischer Nachweis mit UEA-I

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+/-
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	+/-
	Becherzellen	++
Stroma	Bindegewebe	+/-
	Blutgefäße	-
	Nerven	+/-



**Abbildung 46:** Glandula parotis; Lektinbindung mit UEA-I; SB = 20  $\mu$ m

Die zum Lumen (L) gerichtete Oberfläche der Streifenstückzellen weist eine positive Lektinbindung mit UEA-I auf ( $\rightarrow$ ). Das Zytoplasma der Streifenstückzellen sowie Endstücke (E) und Schaltstücke erscheinen negativ.



**Abbildung 47:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit UEA-I; SB = 20  $\mu$ m

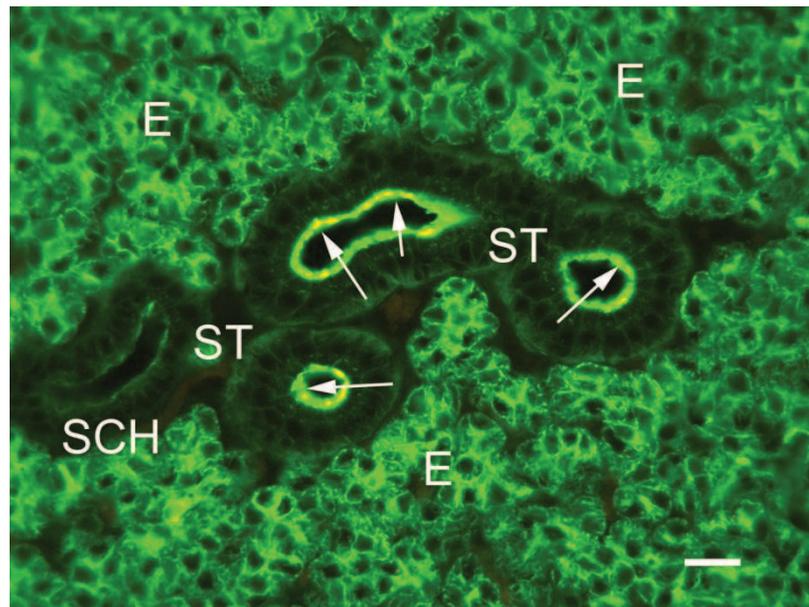
Während sich die Zellen des Ausführungsgangepithels negativ darstellen, zeigen die Becherzellen ( $\rightarrow$ ) eine deutliche Lektinbindung. Das kollagene Bindegewebe des Stromas zeigt lediglich eine schwache Fluoreszenz. Arterien (Aa) und Venen (Vv) erscheinen negativ. Weitere Kennzeichnung: Endstücke (E);

### 4.2.16. Wheatgerm-Agglutinin (WGA)

Der Lektin histochemische Nachweis mit WGA ergibt eine starke positive Reaktionen der serösen Zellen der Endstücke, jedoch nicht für Myoepithelzellen, die keine Reaktion auf das Lektin WGA zeigen. Die Epithelien aller Gangabschnitte weisen deutliche N-Acetyl-Glukosamin-Endzucker an ihrer luminalen Zelloberfläche auf. Sowohl Schalt- und Streifenstückzellen sowie Epithelzellen der luminalen Zellreihe des Ausführungsgangepithels zeigen eine starke Oberflächenreaktion. Neben dieser Reaktion der apikalen Zellmembran, reagieren bei Streifenstücken auch deren basale Streifen und Granula im Bereich des Nukleus mit einer schwachen Fluoreszenz. Die Ansammlungen von Becherzellen, die in größeren Ausführungsgängen auftreten, stellen sich ebenfalls stark positiv dar. Das periphere kollagene Bindegewebe, Gefäßstrukturen und Nerven zeigen durchwegs keine Reaktion auf das Lektin WGA.

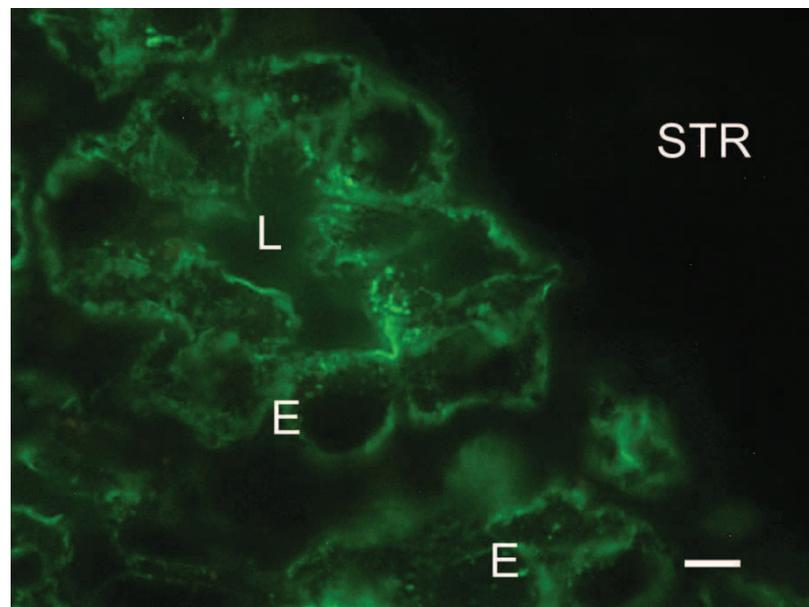
**Tabelle 35:** Lektin histochemischer Nachweis mit WGA

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	++
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	++
Streifenstücke	Hauptzellen	++
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	++
	Becherzellen	++
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-



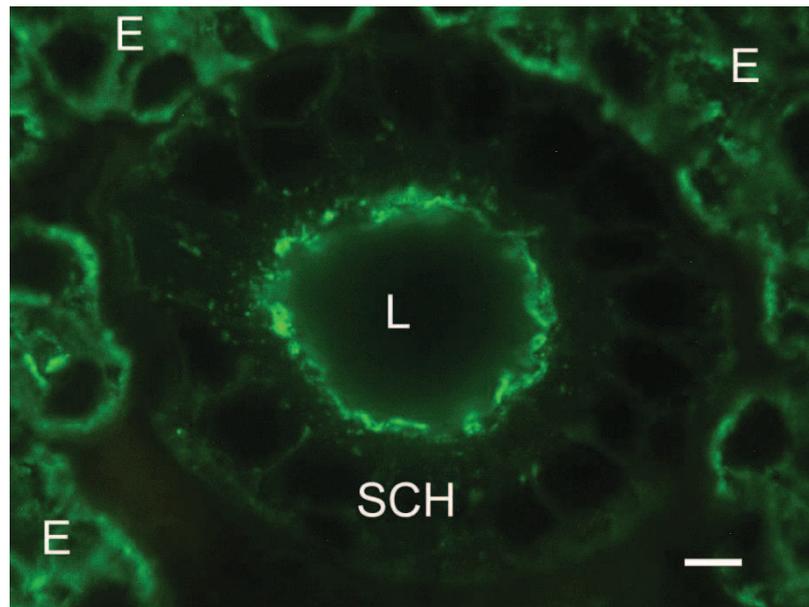
**Abbildung 48:** Glandula parotis; Lektinbindung mit WGA; SB = 20  $\mu\text{m}$

Das Zytoplasma der Endstückzellen (E) zeigt eine starke Reaktion auf die Bindung mit dem Lektin WGA. Streifenstücke (ST) und Schaltstücke (SCH) weisen eine deutliche bis starke Fluoreszenz an ihrer apikalen, zum Lumen gerichteten Zellmembran auf (→).



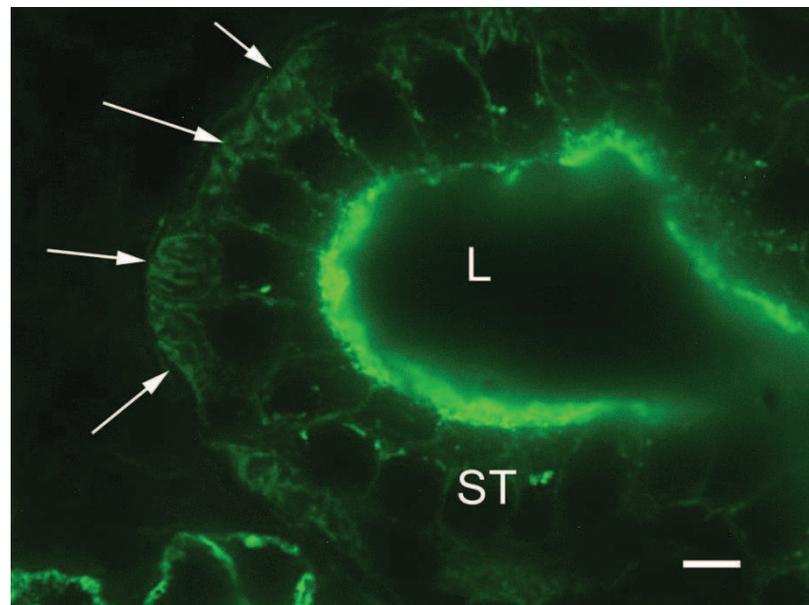
**Abbildung 49:** Glandula parotis, Endstück; Lektinbindung mit WGA; SB = 3,75  $\mu\text{m}$

Die serösen Zellen der Endstücke (E) zeigen eine deutliche Lektinbindungsreaktion. Das sie umgebende Stroma (STR) stellt sich dagegen negativ dar. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L)



**Abbildung 50:** Glandula parotis, Schaltstück; Lektinbindung mit WGA; SB = 3,75  $\mu\text{m}$

Die Epithelzellen der Schaltstücke (SCH) zeigen eine deutliche Lektinbindungsreaktion mit WGA an ihrer zum Lumen (L) gerichteten Zelloberfläche. Das Zytoplasma der Endstückzellen (E) weist ebenfalls eine positive Reaktion auf.



**Abbildung 51:** Glandula parotis, Streifenstück; Lektinbindung mit WGA; SB = 3,75  $\mu\text{m}$

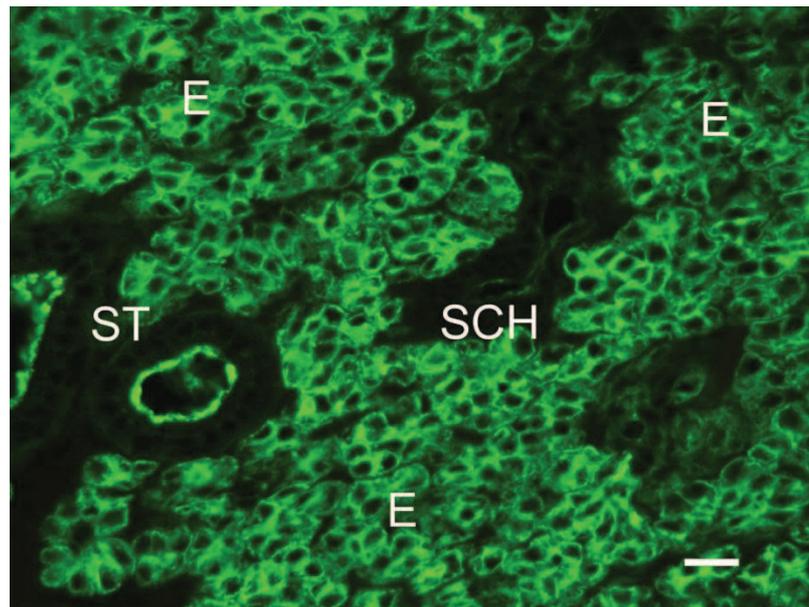
Die Hauptzellen der Streifenstücke (ST) zeigen eine starke Bindungsreaktion ihrer apikalen, zum Lumen (L) gerichteten Zellmembran. Die Einfaltungen der basalen Zellmembran („basale Streifung“) stellen sich ebenfalls positiv dar ( $\rightarrow$ ), obwohl die Reaktionsstärke in diesem Bereich wesentlich geringer ist, als die der apikalen Zelloberfläche.

### 4.2.17. Wheatgerm-Agglutinin succinylated (WGA succ.)

Im Gegensatz zu seinem konventionellen Ursprungslektin WGA weist das Derivat WGA succ. ganz spezifisch N-Acetyl-Glukosamin-Rückstände nach, da es keine zusätzliche Affinität zu Sialinsäurederivaten aufweist wie WGA. Allerdings zeigt die Auswertung der untersuchten Proben dieser Arbeit keine wesentlichen Unterschiede gegenüber der konventionellen FITC-markierten Form von WGA. Die einzige beobachtete Abweichung stellt eine schwächere Ausprägung der Fluoreszenzstärke an der apikalen Zellmembran der Schaltstückepithelien dar.

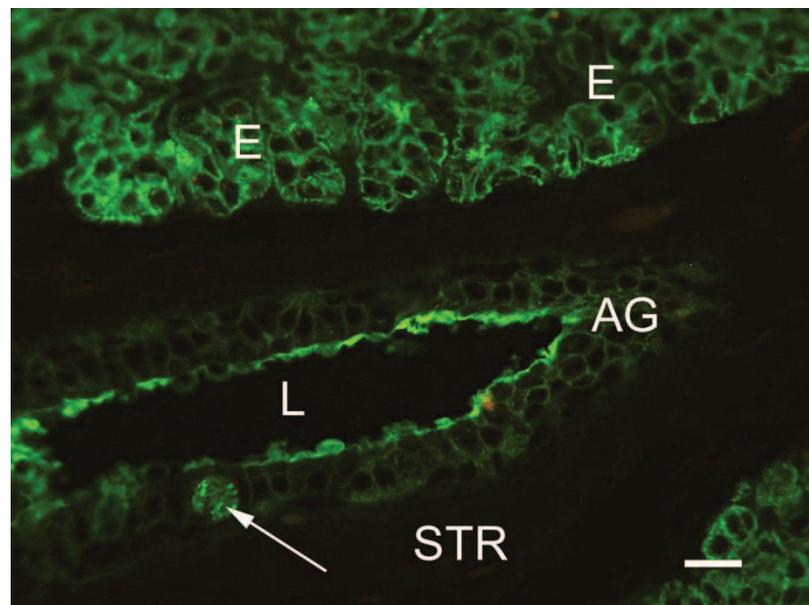
**Tabelle 36:** Lektin histochemischer Nachweis mit WGA succ.

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	++
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+
Streifenstücke	Hauptzellen	++
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	++
	Becherzellen	++
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-



**Abbildung 52:** Glandula parotis; Lektinbindung mit WGA succ.; SB = 20  $\mu$ m

Während die serösen Zellen der Endstücke (E) eine stark positive Reaktion des gesamten Zytoplasmas auf die Bindung mit WGA succ. zeigen, weisen die Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) lediglich eine positive Reaktion ihrer lumenseitigen Zellmembran auf.



**Abbildung 53:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit WGA succ.; SB = 20  $\mu$ m

Die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) weisen eine starke Lektinbindung an ihrer apikalen, zum Lumen (L) gerichteten Zelloberfläche auf. Auch die im Ausführungsgang eingebetteten Becherzellen ( $\rightarrow$ ) erscheinen deutlich positiv. Das umgebende Stroma (STR) stellt sich negativ dar. Weitere Kennzeichnung: Endstücke (E);

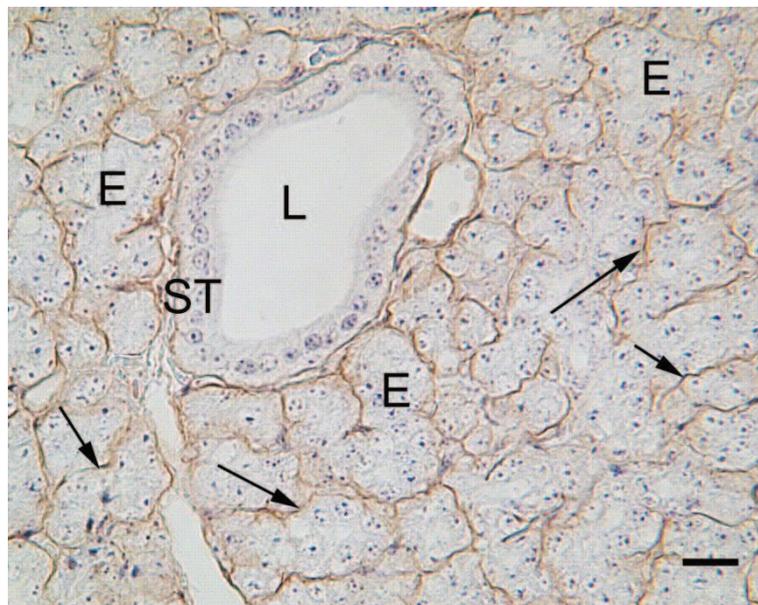
## 4.3. Immunhistochemie

### 4.3.1. Immunhistochemischer Nachweis von Laminin

Die lichtmikroskopische Auswertung des immunhistochemischen Nachweises von Laminin ergibt vor allem eine starke Reaktion der Basalmembranen von Endstücken, Schalt- und Streifenstücken. Auch die Basalmembran der Ausführungsgänge weist ein positives Ergebnis auf, allerdings in einer schwächeren Form als in anderen funktionellen Drüsenbereichen. Die serösen Zellen der Endstücke zeigen eine schwache inhomogene Färbung. Myoepitheliale Zellen sind nur schwer von den serösen Zellen der Endstücke abzugrenzen und zeigen ein schwach positives Färbungsergebnis. Auch die Epithelzellen aller Gangabschnitte zeigen eine schwach positive Reaktion. Die teilweise in den Ausführungsgängen auftretenden Becherzellen stellen sich deutlich positiv dar. Die Zellgrenzen der im peripheren Bindegewebe liegenden Adipozyten zeigen ein deutlich positives Ergebnis, während sich weder in Bindegewebszellen noch in kollagenen Fasern Laminin-Moleküle nachweisen ließen. Blutgefäße und Nerven weisen beiderseits ein starkes bis sehr starkes Färbungsergebnis auf. Epi- und Perineurium der Nerven erscheinen deutlich gefärbt. Bei größeren Arterien und Venen hebt sich eine intensiv gefärbte Membrana elastica interna von einer stark gefärbten Tunica externa und Tunica media ab.

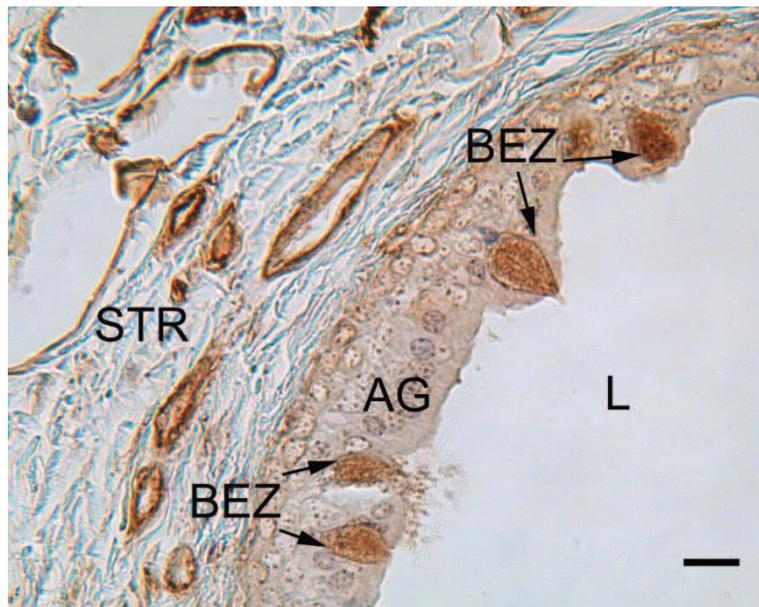
**Tabelle 37:** Immunhistochemischer Nachweis von Laminin

Drüsenabschnitt	Zelltyp/Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+/-
	Myoepithelzellen	+/-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+/-
Streifenstücke	Hauptzellen	+/-
	Basalzellen	+/-
Ausführgang	Epithelzellen	+/-
	Becherzellen	+
Stroma	Bindegewebe	-
	Fettzellen	+
	Blutgefäße	++
	Nerven	++
	Basalmembranen	++



**Abbildung 54:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Laminin; SB = 16,5 µm

Die Epithelzellen der Endstücke (E), Schaltstücke und Streifenstücke (ST) weisen lediglich eine schwache inhomogene Färbung des Zytoplasmas auf. Die Basalmembranen aller Drüsenabschnitte stellt sich dagegen stark positiv dar (→). Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);



**Abbildung 55:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Laminin; SB = 16,5  $\mu$ m

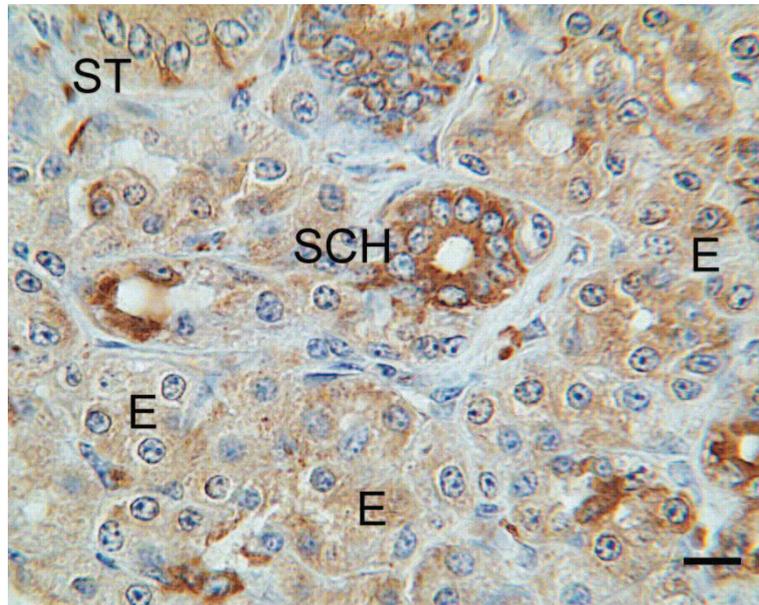
Die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) zeigen eine schwache Antikörperreaktion, während die in großen Ausführungsgängen auftretenden Becherzellen (BEZ) eine starke Farbreaktion aufweisen. Die kollagenen Bindegewebsfasern des Stromas (STR) erscheinen negativ. Die im Stroma (STR) verlaufenden Blutgefäße stellen sich stark positiv dar.

## 4.3.2. Immunhistochemischer Nachweis von „Non muscular myosin“ (nicht-muskuläres Myosin)

Im Drüsenparenchym der Glandula parotis der untersuchten Rinder zeigen vor allem die Epithelzellen der Ausführungsgänge eine starke Reaktion mit dem Antikörper gegen „Non muscular myosin“, die sich bei den basal liegenden Epithelzellen der Ausführungsgänge noch verstärkt äußerte. Für Becherzellen liegt ein negatives Ergebnis vor. Auch die Zellen der Schaltstücke weisen durchweg eine starke Färbung auf. Bei Haupt- und Basalzellen der Streifenstücke liegt eine deutliche, homogene Verteilung der Immunfärbung vor, die jedoch im Vergleich zu den Epithelzellen der Ausführungsgänge und Schaltstücke schwächer ausgeprägt erscheint. Die serösen Zellen der Endstücke sowie Myoepithelzellen weisen ebenfalls eine schwache Reaktion auf, deren reaktive Bereiche jedoch eine sehr diffuse Verteilung aufweisen. Das umgebende Bindegewebe stellt sich negativ dar, während Nerven und Blutgefäße eine starke Reaktion auf den Primärantikörper gegen „Non muscular myosin“ zeigen. Die Endothelzellen der Blutgefäße heben sich durch eine sehr starke positive Reaktion deutlich von einer nur schwach angefärbten Tunica muscularis ab.

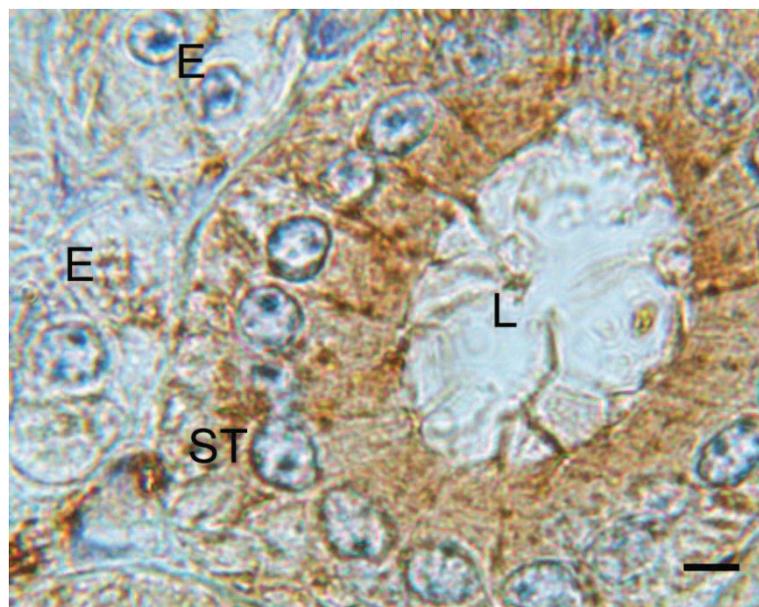
**Tabelle 38:** Immunhistochemischer Nachweis von „Non muscular myosin“

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+
	Myoepithelzellen	+/-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	++
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	+
Ausführgang	Epithelzellen	++
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	+++
	Nerven	++



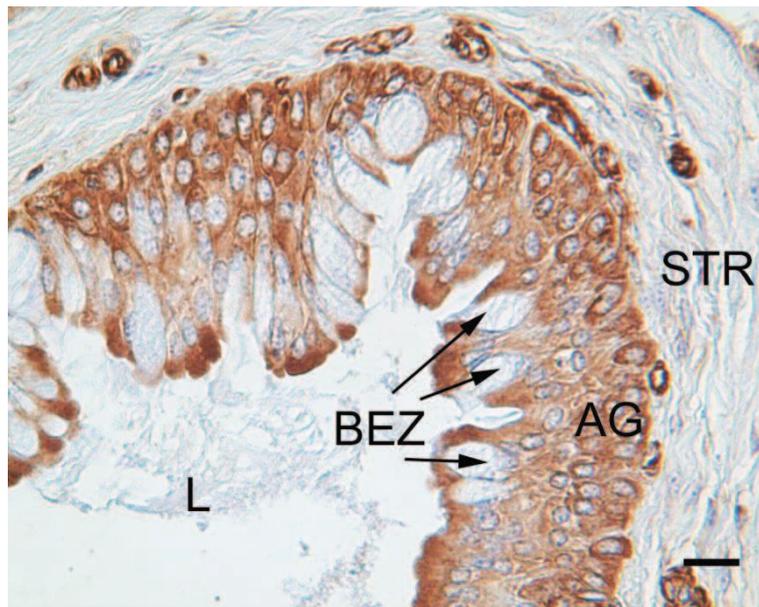
**Abbildung 56:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von „Non muscular myosin“; SB = 10  $\mu$ m

Die serösen Zellen der Endstücke (E), Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) zeigen eine homogene Farbreaktion des Zytoplasmas, wobei die Reaktion der Schaltstückepithelien (SCH) deutlich stärker erscheint.



**Abbildung 57:** Glandula parotis, Streifenstück; Immunhistochemischer Nachweis von „Non muscular myosin“; SB = 5  $\mu$ m

Das Zytoplasma der Hauptzellen des Streifenstücks (ST) weist eine homogene Verteilung der Farbreaktion auf.



**Abbildung 58:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von „Non muscular myosin“; SB = 16,5  $\mu$ m

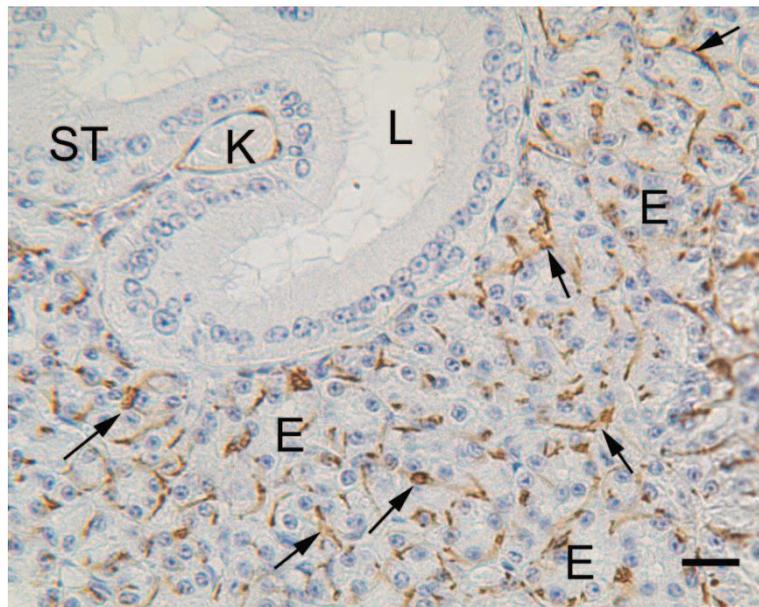
Während die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) eine starke Antikörperreaktion aufweisen, stellen sich die Becherzellen (BEZ) der Ausführungsgänge negativ dar. Die kollagenen Fasern des Stromas zeigen keine Reaktion auf den Immunhistochemischen Nachweis von Non muscular myosin. Die im Stroma verlaufenden Blutgefäße und Nerven erscheinen positiv.

## 4.3.3. Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“ (SMA)

Bei der immunhistochemischen Darstellung von SMA zeigen Myoepithelzellen eine starke Reaktion auf den Primärantikörper. Die serösen Zellen der Endstücke sowie die Epithelzellen der Schalt- und Streifenstücke weisen durchweg ein negatives Ergebnis auf. Die Epithelzellen und Becherzellen der Ausführungsgänge und das sie umgebende Bindegewebe zeigen ebenfalls keine Reaktion. Die Tunica media aller Blutgefäße färbt sich stark an, während in Tunica intima und Tunica externa keine Ansammlungen von SMA nachgewiesen werden können. Nervale Strukturen stellen sich negativ dar.

**Tabelle 39:** Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
<b>Endstücke</b>	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	++
<b>Schaltstücke</b>	Schaltstückzellen	-
<b>Streifenstücke</b>	Hauptzellen	-
	Basalzellen	-
<b>Ausführgang</b>	Epithelzellen	-
	Becherzellen	-
<b>Stroma</b>	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	++
	Nerven	-



**Abbildung 59:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“; SB = 16,5  $\mu$ m

Die Epithelien der Endstücke (E), Schaltstücke und Streifenstücke (ST) zeigen keine Bindungsreaktion mit Smooth muscle actin. Myoepithelzellen ( $\rightarrow$ ), welche die Endstücke (E) umspannen stellen sich stark positiv dar.



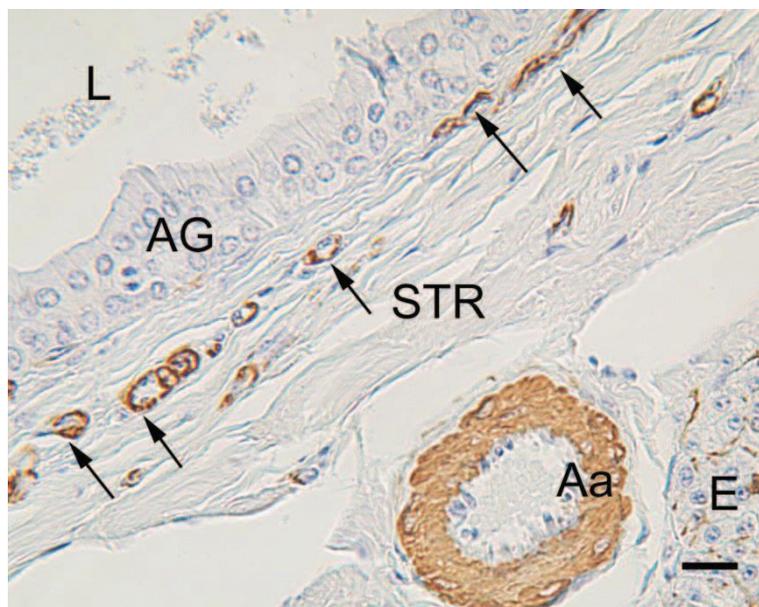
**Abbildung 60:** Glandula parotis, Myoepithelzelle; Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“; SB = 5  $\mu$ m

Sowohl der Zelleib, als auch die langen Fortsätze der Myoepithelzellen (MEZ) zeigen eine starke Antikörper Reaktion. Die sternförmigen Zellausläufer der Myoepithelzellen liegen den serösen Endstückzellen (E) basal an.



**Abbildung 61:** Glandula parotis, Myoepithelzelle; Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“; SB = 5  $\mu$ m

Im Bereich von Schaltstücken (SCH) weisen die Myoepithelzellen (MEZ) meist einen eher spindelförmigen Querschnitt auf. Weitere Kennzeichnung: seröse Endstückzellen (E).



**Abbildung 62:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“; SB = 16,5  $\mu$ m

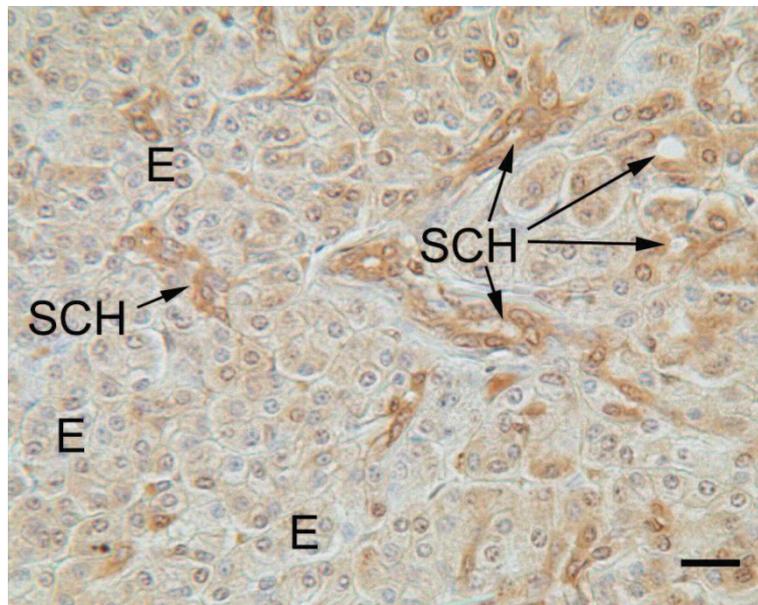
Die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) zeigen keine Bindungsreaktion mit „Smooth muscle actin“. Die Ausführungsgänge sind von zahlreichen kleineren Blutgefäßen ( $\rightarrow$ ) und Nerven umgeben. Die Tunica muscularis dieser kleinen Gefäße ( $\rightarrow$ ) und auch größerer Arterien (Aa) und Venen stellen sich deutlich positiv dar. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);

### 4.3.4. Immunhistochemischer Nachweis von Synemin

Bei der immunhistochemischen Darstellung von Synemin zeigen Epithelzellen von Schalt- und Streifenstücken eine deutlich positive Reaktion mit dem Antikörper gegen Synemin. Die Färbung weist ein homogenes Verteilungsmuster in der gesamten Zelle auf, wobei sich die Kernmembran häufig stärker anfärbte. Die serösen Zellen der Endstücke weisen eine schwach positive Reaktion auf den Primärantikörper gegen Synemin auf, obwohl das Verteilungsmuster der Färbung im Gegensatz zu Epithelzellen der Schaltstücke und Streifenstücke eher diffus verteilt ist. Jedoch erscheint auch hier die Kernmembran in vielen Fällen stärker angefärbt. Auch die Epithelzellen der Ausführungsgänge zeigen mehrfach eine erhöhte Reaktivität der Kernmembran neben einer homogenen Verteilung der angefärbten Syneminmoleküle im Zytoplasma der Zelle. Die teilweise in größeren Ausführungsgängen auftretenden Ansammlungen von Becherzellen zeigen durchwegs ein negatives Ergebnis. Das periphere Bindegewebe stellt sich in allen untersuchten Proben negativ dar, während peripher verlaufende Nerven eine deutliche bis starke Anfärbung von Syneminstrukturen aufweisen. Die Axone der Nervenzellen können aufgrund des dichten Färbungsmusters nicht von den sie umhüllenden Schwann-Zellen abgegrenzt werden. Die glatten Muskelzellen der Tunica muscularis größerer Blutgefäße zeigen eine homogene aber schwache Reaktion auf den Primärantikörper, während deren Endothelien sowie die im Drüsenparenchym eingebetteten Kapillarendothelzellen sich stärker anfärben. Die Tunica externa stellt sich durchwegs negativ dar. In der Auswertung zeigen sich keine Unterschiede im Verteilungsmuster und Reaktionsstärke der Gewebereaktionen zwischen Bouin-fixierten und Formalin-fixierten Proben.

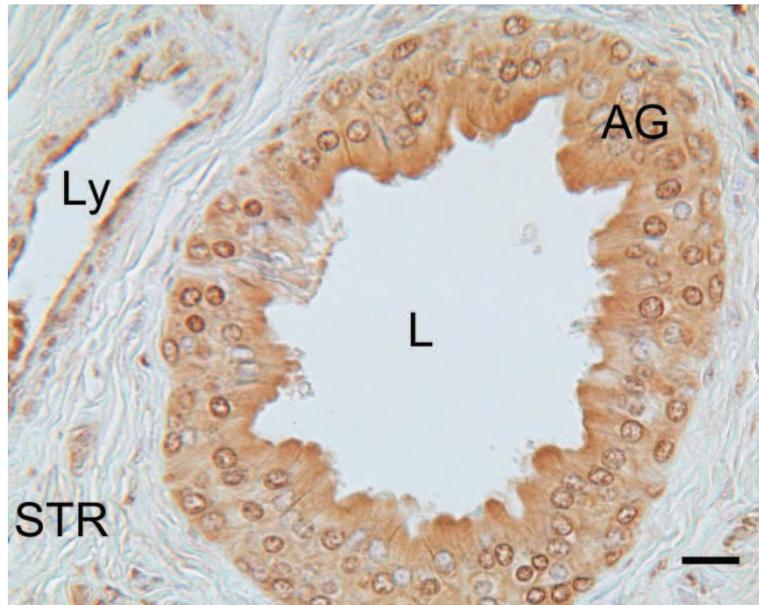
**Tabelle 40:** Immunhistochemischer Nachweis von Synemin

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+/-
	Myoepithelzellen	+/-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	+
Ausführgang	Epithelzellen	+
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	+
	Nerven	++



**Abbildung 63:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Synemin; SB = 16,5 µm

Während die Epithelzellen der Endstücke (E) nur eine schwache Bindungsreaktion aufweisen, erscheinen die Epithelien der Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke deutlich positiv.



**Abbildung 64:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Synemin; SB = 16,5  $\mu$ m

Die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) zeigen eine homogene Farbreaktion. Das umgebende Stroma (STR) erscheint negativ. Die im Stroma verlaufenden Blut- und Lymphgefäße (Ly) sowie Nerven stellen sich positiv dar. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);



**Abbildung 65:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Synemin; SB = 10  $\mu$ m

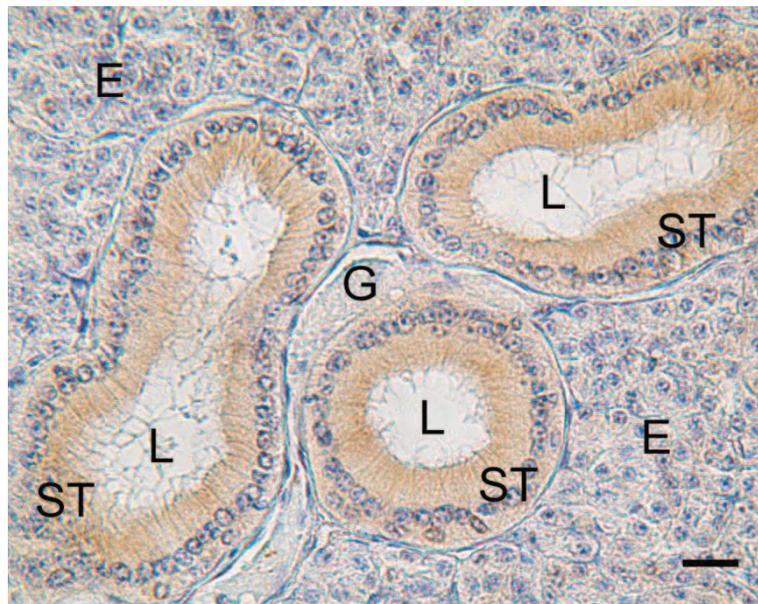
Während die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) eine deutliche Bindungsreaktion zeigen, stellen sich die in großen Ausführungsgängen auftretenden Becherzellen (BEZ) negativ dar. Weitere Kennzeichnung: Stroma (STR), Lumen (L);

### 4.3.5. Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin

Der Nachweis von Tubulin ergibt durchschnittlich schwach positive Reaktionen der serösen Endstückzellen, wobei die Glandula parotis von drei der untersuchten Rinder ein negatives Ergebnis zeigt. Auch die Auswertung der Myoepithelzellen ergibt ein schwach positives Ergebnis. Die Färbung verteilt sich diffus auf unterschiedliche Areale der Endstücke. Die Untersuchung der Epithelzellen von Schaltstücken, Streifenstücken und Ausführungsgängen auf Tubulin zeigt je nach Abschnitt des Gangsystems durchschnittlich eine deutlich positive Reaktion auf den Primärantikörper, wobei die Reaktionsstärke teilweise variiert. Eine Ausnahme bildet die Probe einer untersuchten Kuh (Tier Nr. 4), deren Auswertung ein negatives Ergebnis für die Epithelzellen der Schaltstücke aufweist. Auch bei den Epithelzellen der Streifenstücke zeigen sich geringfügige Variationen der Färbung. Drei untersuchte Rinder weisen eine verstärkte Ansammlung von Tubulin im apikalen Bereich der Streifenstückzellen auf. Basal liegende Epithelzellen der Ausführungsgänge zeigen eine dichtere Verteilung von Tubulin als luminal gelegene Epithelzellen. Vier der untersuchten männlichen Tiere zeigen nur eine schwach positive Reaktion auf den Primärantikörper gegen Tubulin und drei weibliche Rinder weisen eine stärkere Anfärbung der Epithelzellen der Ausführungsgänge auf. Becherzellen zeigen eine negative Reaktion. Das periphere Bindegewebe stellt sich durchweg negativ dar. Die Axone der Nervenzellen zeigen eine starke Ansammlung von Tubulinmolekülen. Die glatte Muskulatur der Tunica muscularis größerer Blutgefäße reagiert ebenfalls positiv auf den Tubulinantikörper. Die Endothelzellen der Tunica intima weisen eine starke Reaktion auf.

**Tabelle 41:** Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+/-
	Myoepithelzellen	+/-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	+
Ausführgang	Epithelzellen	+
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	++
	Nerven	++



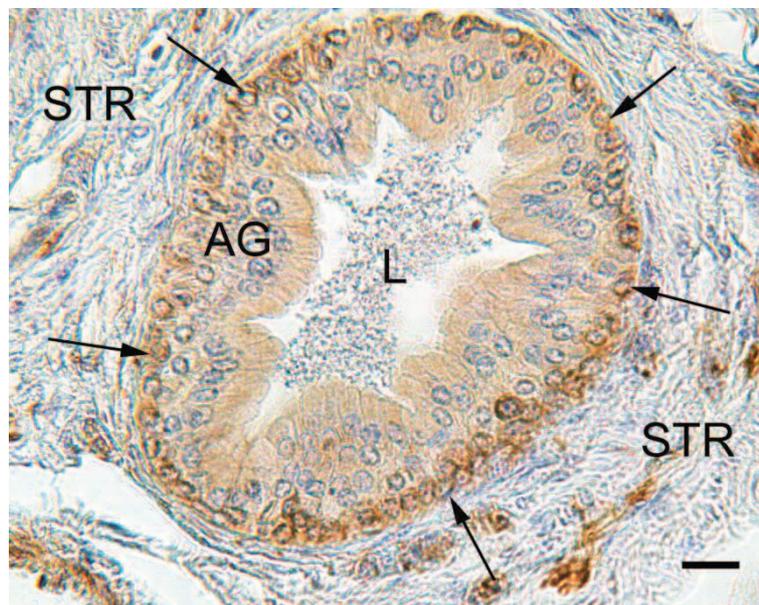
**Abbildung 66:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin; SB = 16,5 µm

Die serösen Zellen der Endstücke (E) zeigen nur eine schwache Bindungsreaktion, die Epithelien der Schaltstücke und Streifenstücke (ST) weisen eine deutliche Farbreaktion auf. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L), Blutgefäße (G);



**Abbildung 67:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin; SB = 16,5  $\mu$ m

Die Schaltstückepithelien (SCH) und Streifenstückepithelzellen (ST) zeigen eine deutlich positive, homogene Farbreaktion des gesamten Zytoplasmas. Die serösen Zellen der Endstücke (E) erscheinen deutlich schwächer gefärbt. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);



**Abbildung 68:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin; SB = 16,5  $\mu$ m

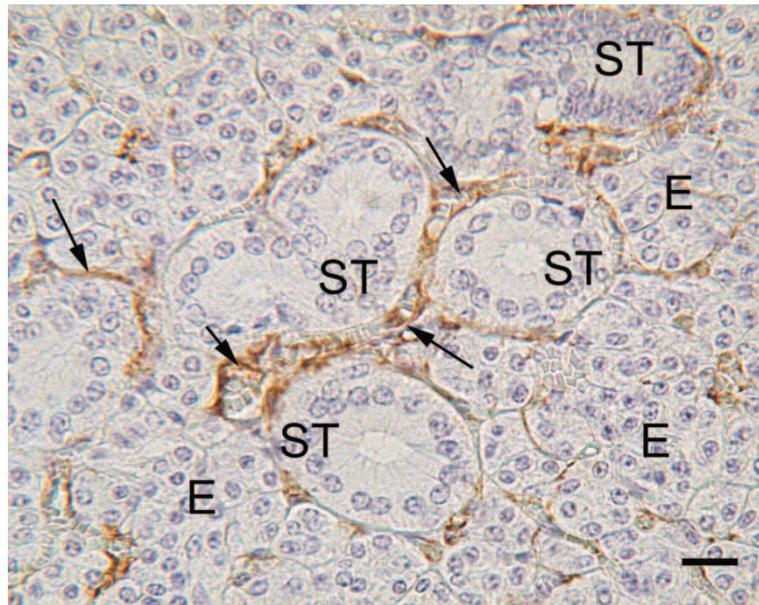
Die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) zeigen eine positive Antikörperbindung. Einige der untersuchten Tiere wiesen eine deutlich stärkere Farbreaktion ( $\rightarrow$ ) der basalen Zellreihe des Ausführungsgangepithels (AG) auf. Weitere Kennzeichnung: Stroma (STR), Lumen (L);

## 4.3.6. Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin

Der Nachweis von Vimentin ergibt ein negatives Ergebnis für die serösen Epithelzellen der Endstücke und ebenso für die Epithelien von Schaltstücken, Streifenstücken und Ausführungsgängen. Ein untersuchtes Rind (Tier Nr. 4) zeigt allerdings eine geringe Anfärbung der „speziellen Basalzellen“ der Streifenstücke und stellt im Vergleich der Probetiere eine Ausnahme dar. Die in großen Ausführungsgängen auftretenden Basalzellen weisen ebenfalls keine Reaktion auf den Vimentinantikörper auf. Myoepithelzellen erscheinen negativ. Die Kapillarendothelzellen des Parenchyms zeigen eine starke Ansammlung von Vimentin und heben sich deutlich von den negativ reagierenden Parenchymzellen ab. Die Tunica muscularis und die Tunica externa größerer Blutgefäße zeigen ebenfalls eine schwach positive Reaktion auf den Vimentinantikörper. Die kollagenen Fasern des peripheren Bindegewebes färben sich nicht an, während jedoch vereinzelt angefärbte Fibrozyten im Bindegewebe verteilt zu finden sind. Auch peripher verlaufende Nervenfasern zeigen eine deutlich positive Reaktion.

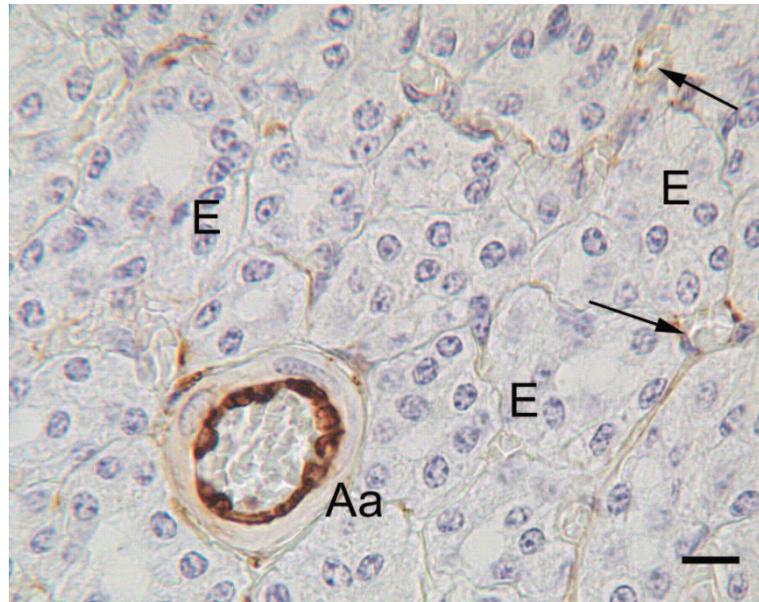
**Tabelle 42:** Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	-
Streifenstücke	Hauptzellen	-
	Basalzellen	-
Ausführgang	Epithelzellen	-
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	+
	Blutgefäße	++
	Nerven	+



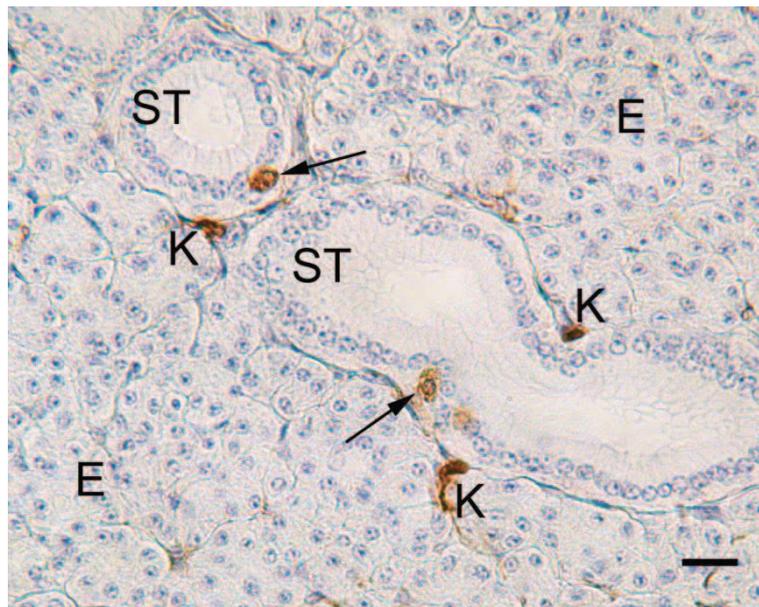
**Abbildung 69:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin; SB = 16,5  $\mu\text{m}$

Die Epithelzellen der Endstücke (E), Schaltstücke und Streifenstücke (ST) weisen keine Bindungsreaktion mit Vimentin auf. Zwischen den Drüsenabschnitten verlaufen zahlreiche fenestrierte Kapillaren, deren Endothelien sich stark positiv darstellen ( $\rightarrow$ ).



**Abbildung 70:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin; SB = 10  $\mu\text{m}$

Die Endothelzellen von Arterien (Aa), Venen und Kapillaren ( $\rightarrow$ ) zeigen eine starke Farbreaktion auf die Antikörperbindung mit Vimentin. Auch die Tunica muscularis der Blutgefäße stellt sich schwach positiv dar. Das seröse Epithel der Endstücke (E) erscheint negativ.



**Abbildung 71:** Glandula parotis, Schaltstück; Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin; SB = 16,5  $\mu$ m

Einige Streifenstücke (ST) weisen positiv reagierende Basalzellen ( $\rightarrow$ ) auf. Weitere Kennzeichnung: Kapillarendothelzellen (K), Endstücke (E);



**Abbildung 72:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin; SB = 16,5  $\mu$ m

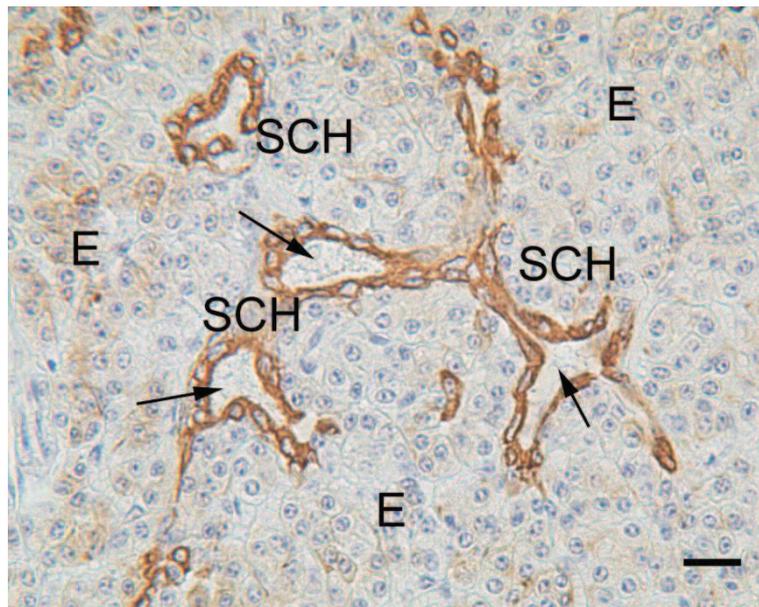
Das Epithel der Ausführungsgänge (AG) erscheint negativ. Parallel zu den Ausführungsgängen (AG) verlaufen Arterien (Aa), Venen (Vv), Lymphgefäße und periphere Nerven im Stroma (STR). Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);

## 4.3.7. Immunhistochemischer Nachweis von Pancytokeratin

Die Epithelzellen aller Gangabschnitte zeigen eine starke bis teils sehr starke Reaktion auf den Primärantikörper Pancytokeratin plus (132). Schaltstücke und Ausführungsgänge weisen eine homogene, sehr dichte Anfärbung des Zytoplasmas auf. Die Becherzellen der großen, interlobulären Ausführungsgänge färben sich dagegen nicht an. Haupt- und Basalzellen von Streifenstücken zeigen ebenfalls eine homogene Verteilung der nachgewiesenen Intermediärfilamentbündel, weisen aber eine etwas schwächere Färbung auf, als die Epithelzellen von Schaltstücken und Ausführungsgängen. Die serösen Zellen der Endstücke stellen sich im lichtmikroskopischen Bild meist nur schwach positiv dar und zeigen eine diffuse Verteilung des Färbungsmusters. Myoepithelzellen zeigen keine Reaktion auf den Primärantikörper, sind jedoch nur schwer von Kapillarendothelzellen zu unterscheiden. Blutgefäße und Nervengewebe weisen ebenfalls ein durchweg negatives Ergebnis auf, bis auf das Epineurium der peripheren Nerven, das sich schwach positiv anfärbt. Das umgebende Bindegewebe stellt sich durchweg negativ dar.

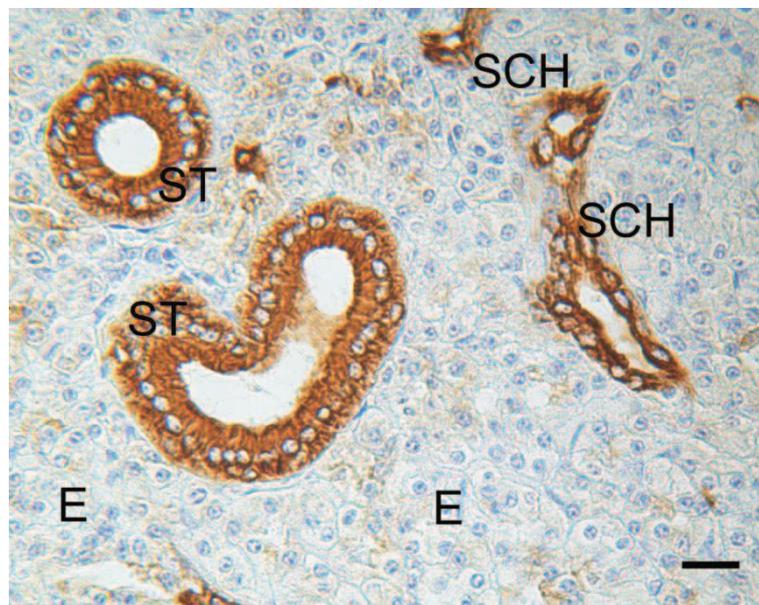
**Tabelle 43:** Immunhistochemischer Nachweis von Pancytokeratin

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
<b>Endstücke</b>	Seröse Zellen	+/-
	Myoepithelzellen	-
<b>Schaltstücke</b>	Schaltstückzellen	+++
<b>Streifenstücke</b>	Hauptzellen	+++
	Basalzellen	++
<b>Ausführgang</b>	Epithelzellen	+++
	Becherzellen	-
<b>Stroma</b>	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	+/-



**Abbildung 73:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Pancytokeratin;  
SB = 16,5  $\mu$ m

Während die serösen Zellen der Endstücke (E) nur eine schwache Farbreaktion aufweisen, erscheinen die Schaltstückzellen (SCH) sehr stark angefärbt. Bei Schaltstückepithelien mit einem weiten Lumendurchmesser ( $\rightarrow$ ) nehmen die Schaltstückzellen eine flache Form an.



**Abbildung 74:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Pancytokeratin;  
SB = 16,5  $\mu$ m

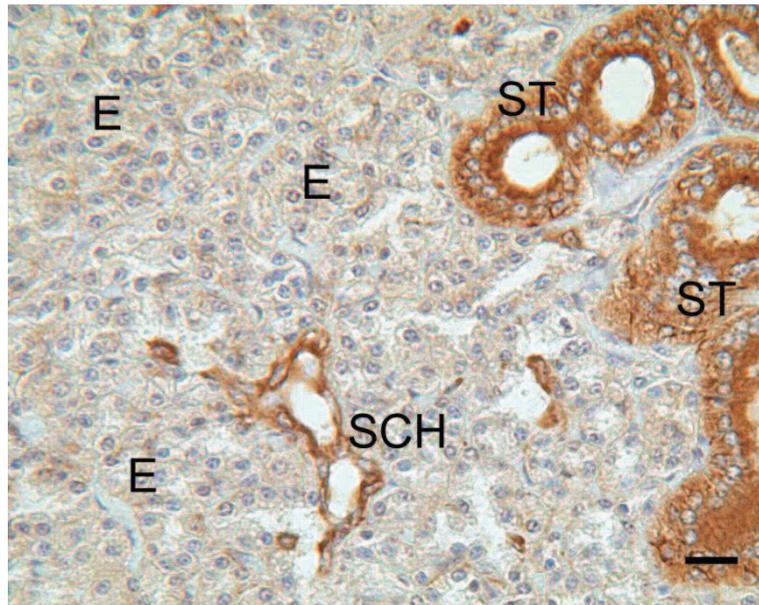
Die Epithelien der Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) zeigen eine starke Bindungsreaktion mit Pancytokeratin. Die serösen Zellen der Endstücke (E) stellen sich nur schwach positiv dar.

## 4.3.8. Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 5

Die serösen Zellen der Endstücke zeigen für den Nachweis von Cytokeratin 5 ein schwach positives, jedoch homogenes Färbungsergebnis. Auch Myoepithelzellen stellen sich schwach positiv dar, in einigen Fällen treten auch stärkere Anfärbungen auf. Die Epithelien der Schaltstücke zeigen deutlich positive Ergebnisse, wobei fünf Tiere (ein männliches Rind, vier weibliche Rinder) stärkere Färbungen aufweisen. Auch die Basal- und Hauptzellen der Streifenstücke stellen sich deutlich positiv dar. Die in den lumennahen Schichten angeordneten Epithelzellen der Ausführungsgänge reagieren ebenfalls deutlich positiv auf den Primärantikörper gegen Cytokeratin 5. Die basal liegenden Zellen zeigen teilweise sogar eine noch stärkere Reaktion. Das umgebende Bindegewebe weist keinen Hinweis auf Cytokeratin 5-Moleküle auf, so dass die positiv angefärbten Blutgefäße und Nerven deutlich hervortreten.

**Tabelle 44:** Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 5

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+/-
	Myoepithelzellen	+/-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	+
Ausführgang	Epithelzellen	+
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	+
	Nerven	+



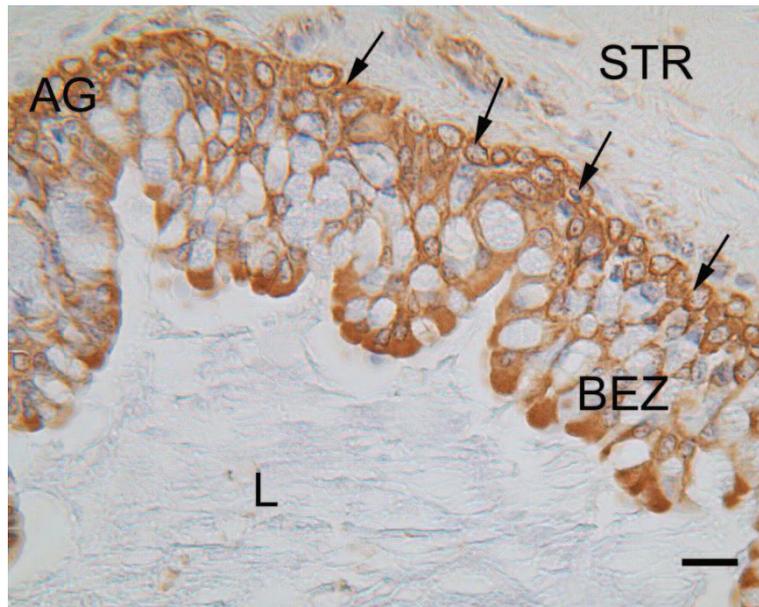
**Abbildung 75:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 5;  
SB = 16,5  $\mu$ m

Während die serösen Zellen der Endstücke (E) wie auch Myoepithelzellen nur eine schwache Farbreaktion zeigen, stellen sich die Epithelzellen der Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) deutlich positiv dar.



**Abbildung 76:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von  
Cytokeratin 5; SB = 16,5  $\mu$ m

Die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) stellen sich deutlich positiv dar. Die im Stroma (STR) verlaufenden Arterien (Aa), Venen (Vv) und peripheren Nerven zeigen eine deutliche Farbreaktion.



**Abbildung 77:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 5; SB = 10 µm

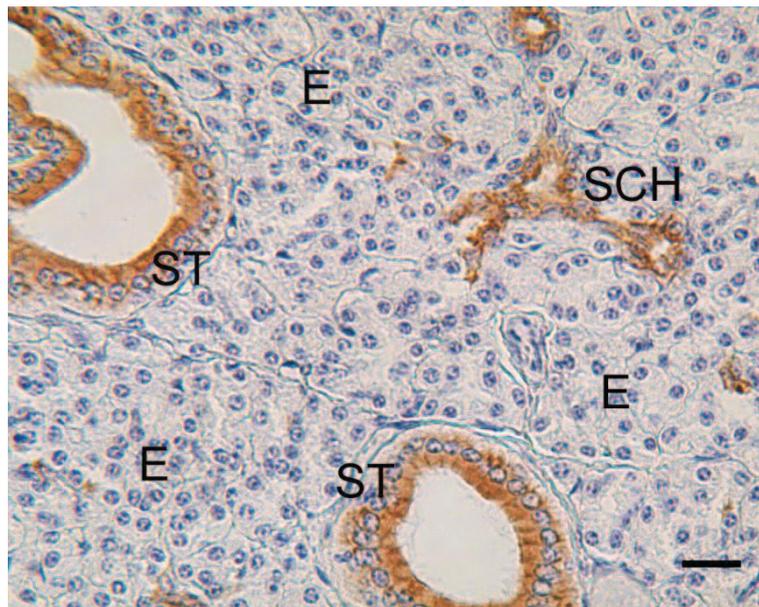
Die basal angeordneten Zellen des Ausführungsgangepithels (AG) zeigen eine deutlich stärkere Reaktion auf die Bindung von Cytokeratin 5. Die in großen Ausführungsgängen (AG) auftretenden Becherzellen (BEZ) erscheinen negativ. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);

## 4.3.9. Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 7

Die Ergebnisse für den immunhistochemischen Nachweis von Cytokeratin 7 ergeben eine positive Reaktion in den Epithelien der Schaltstücke, Streifenstücke und Ausführungsgänge. Beachtenswert ist eine vorrangige Verteilung der Cytokeratin 7-Filamente im apikalen Bereich der Hauptzellen der Streifenstücke und auch bei lumennahen Epithelzellen der Ausführungsgänge. Des Weiteren ergibt die Auswertung der Ausführungsgänge ein negatives Ergebnis für basal liegende Zellen bei fünf untersuchten Rindern (vier männliche Rinder, ein weibliches Rind). Die serösen Zellen der Endstücke zeigen ein durchgängig negatives Ergebnis, ebenso wie Myoepithelzellen. Auch das umgebende Bindegewebe sowie Blutgefäße und Nervengewebe stellen sich durchwegs negativ dar.

**Tabelle 45:** Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 7

<b>Drüsenabschnitt</b>	<b>Zelltyp / Struktur</b>	<b>Reaktionsstärke</b>
<b>Endstücke</b>	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
<b>Schaltstücke</b>	Schaltstückzellen	+
<b>Streifenstücke</b>	Hauptzellen	+
	Basalzellen	+
<b>Ausführgang</b>	Epithelzellen	+
	Becherzellen	-
<b>Stroma</b>	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-



**Abbildung 78:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 7;  
SB = 16,5  $\mu$ m

Die Epithelzellen der Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) zeigen eine deutliche Antikörperbindungsreaktion, während die serösen Zellen der Endstücke (E) negativ erscheinen. Die Hauptzellen der Streifenstücke (ST) weisen eine vorrangige Verteilung des Farbstoffes im apikalen Zellbereich auf.



**Abbildung 79:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von  
Cytokeratin 7; SB = 16,5  $\mu$ m

Die Epithelzellen der Ausführungsgänge (AG) zeigen eine deutlich positive Antikörperbindung. Einige der untersuchten Rinder wiesen eine negative Reaktion der basalen Zellschichten ( $\rightarrow$ ) auf. Das umgebende Stroma (STR) stellt sich negativ dar. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);

### 4.3.10. Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 8

Der immunhistochemische Nachweis von Cytokeratin 8 ergibt ein positives Ergebnis für die Epithelzellen aller Gangabschnitte, wobei die Epithelien der Schaltstücke eine dichtere Färbung aufweisen als die Zellen der Streifenstücke oder Ausführungsgänge. In den Hauptzellen der Streifenstücke sammeln sich die Cytokeratin 8-Moleküle dichter in der supranukleären Hälfte der Zellen an und führen zu einer dichteren Färbung der Zelloberfläche und apikalen Zellregion. Die Basalzellen der Streifenstücke zeigen hingegen eine schwächere Reaktion auf den Primärintikörper. Auch bei einigen interlobulären Ausführungsgängen färben sich die basal angeordneten Zellen teilweise schwächer an oder zeigen keine Reaktion. Myoepithelzellen und die serösen Zellen der Endstücke stellen sich durchgängig negativ dar wie auch das periphere Bindegewebe und alle Gefäßstrukturen. Bei Nervengewebe stellt sich das Epineurium positiv dar, während Peri- und Endoneurium sowie Axone und Schwann-Zellen negativ reagieren.

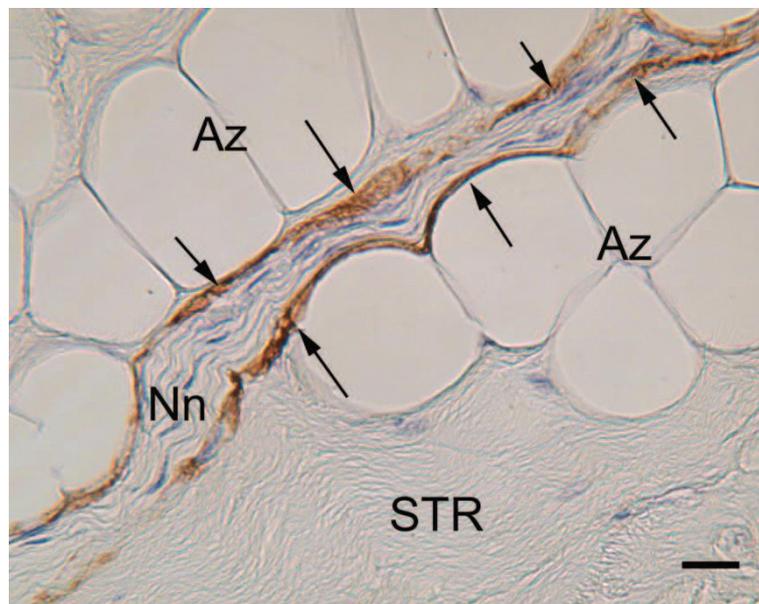
**Tabelle 46:** Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 8

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	++
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	+/-
Ausführgang	Epithelzellen	+
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	+



**Abbildung 80:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 8;  
SB = 16,5  $\mu$ m

Die Epithelzellen der Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) zeigen eine deutliche Farbreaktion. Während die Schaltstücke (SCH) eine dichte, homogene Verteilung von Cytokeratin 8 aufweisen, stellt sich bei den Hauptzellen der Streifenstücke (ST) eine stärkere Reaktion der apikalen Zelhälfte heraus. Die serösen Zellen der Endstücke (E) erscheinen negativ.



**Abbildung 81:** Glandula parotis, Stroma; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 8;  
SB = 16,5  $\mu$ m

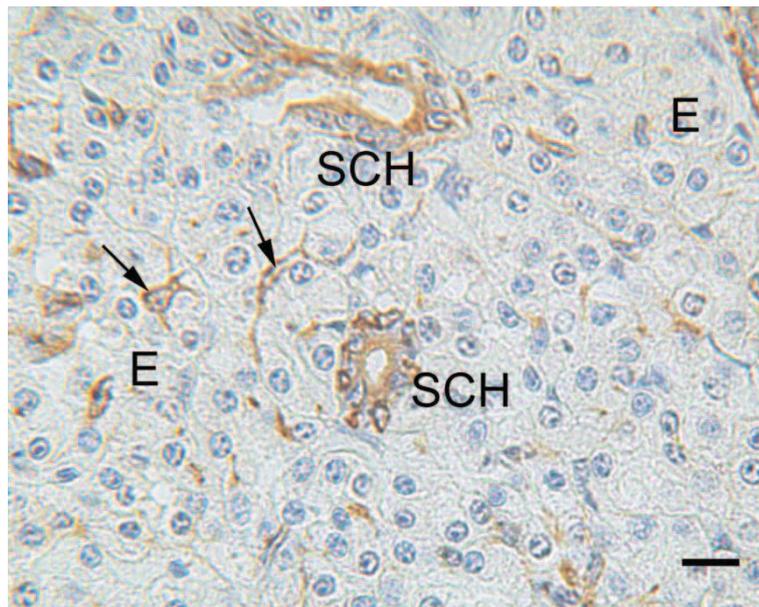
Die kollagenen Bindegewebsfasern des Stromas (STR) zeigen keine Antikörperbindungsreaktion, während das Epineurium der peripheren Nerven deutlich positiv erscheint ( $\rightarrow$ ). Im Stroma (STR) der Glandula parotis treten zahlreiche Adipozyten (Az) auf.

## 4.3.11. Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14

Die Auswertung des immunhistochemischen Nachweises von Cytokeratin 14 ergibt für die serösen Zellen der Endstücke nur für drei der untersuchten Rinder eine schwach positive Reaktion. Alle anderen Tiere zeigen keine Reaktion im Bereich der serösen Endstückzellen. Die deutlich positiv reagierenden Myoepithelzellen stellen sich deutlich im Parenchym dar. Auch die Epithelien aller Gangabschnitte weisen eine positive Reaktion auf den verwendeten Primärantikörper auf. Allerdings färben sich die Schaltstückzellen eine stärker an als die Epithelzellen der Ausführungsgänge und die Hauptzellen der Streifenstücke. Die Basalzellen der Streifenstücke und auch die Zellen basaler Schichten der Ausführungsgänge zeigen eine stärkere Ansammlung von Cytokeratin 14 als Hauptzellen oder eher luminal angeordnete Zellen der Ausführungsgänge. Während das umgebende Bindegewebe negativ mit dem Antikörper reagiert, weisen Blutgefäße und Nerven eine schwach positive Reaktion auf. Bei größeren Blutgefäßen befinden sich Cytokeratin 14-Moleküle vor allem in der Tunica muscularis während sich bei peripheren Nerven vor allem das Epi-, Peri- und Endoneurium sowie Axone anfärben.

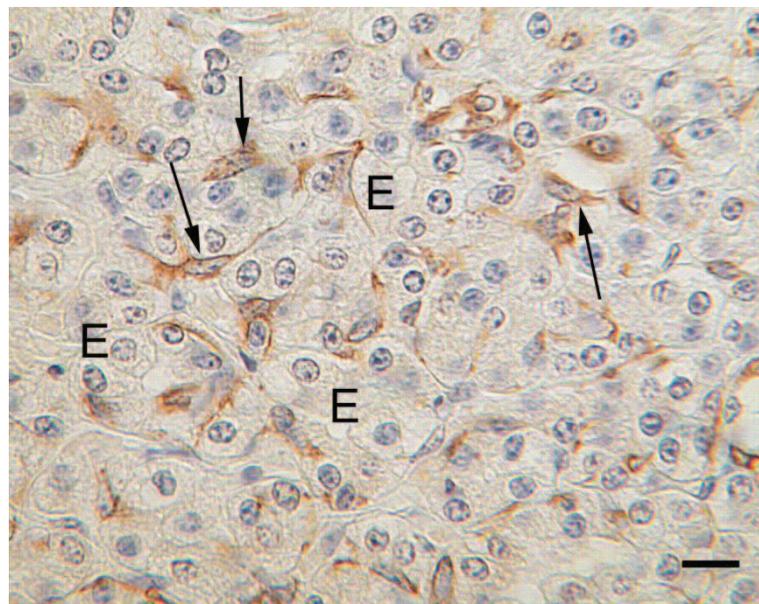
**Tabelle 47:** Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	+
Schaltstücke	Schaltstückzellen	++
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	++
Ausführgang	Epithelzellen	+
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	+/-
	Nerven	+/-



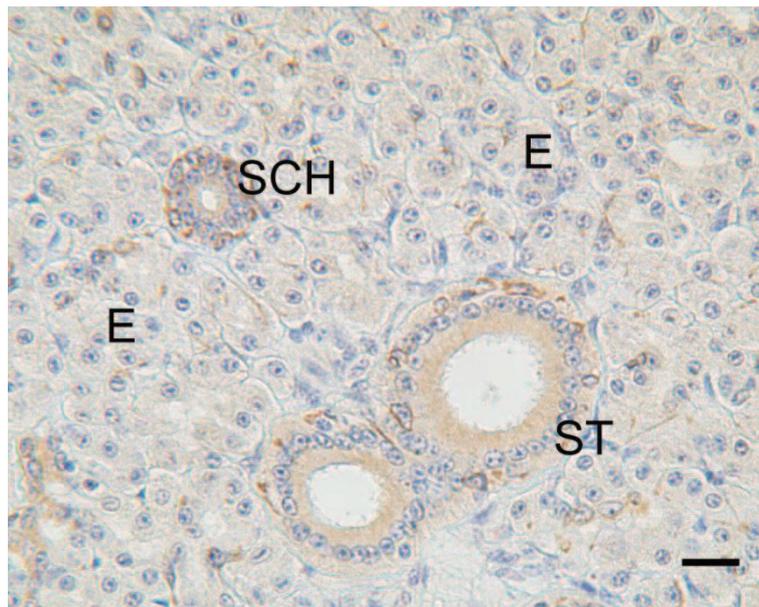
**Abbildung 82:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14;  
SB = 16,5  $\mu$ m

Während die serösen Zellen der Endstücke (E) negativ erscheinen, weisen Myoepithelzellen ( $\rightarrow$ ) eine deutliche Antikörperbindung auf. Die Epithelzellen der Schaltstücke (SCH) reagieren ebenfalls deutlich positiv auf den immunhistochemischen Nachweis von Cytokeratin 14.



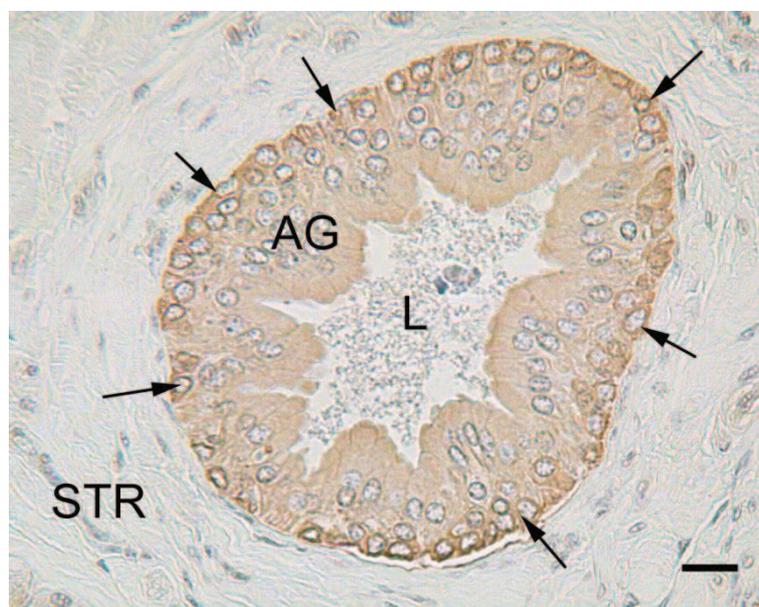
**Abbildung 83:** Glandula parotis, Endstücke; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14; SB = 10  $\mu$ m

Myoepithelzellen ( $\rightarrow$ ) zeigen eine deutliche Antikörperbindungsreaktion, während die serösen Zellen der Endstücke (E) negativ erscheinen.



**Abbildung 84:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14; SB = 16,5  $\mu\text{m}$

Während die Epithelzellen der Endstücke (E) keine Farbreaktion zeigen, stellen sich die Epithelien der Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) deutlich positiv dar. Allerdings zeigen die Basalzellen der Streifenstücke eine stärkere Antikörperbindung als die hochprismatischen Hauptzellen.



**Abbildung 85:** Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14; SB = 16,5  $\mu\text{m}$

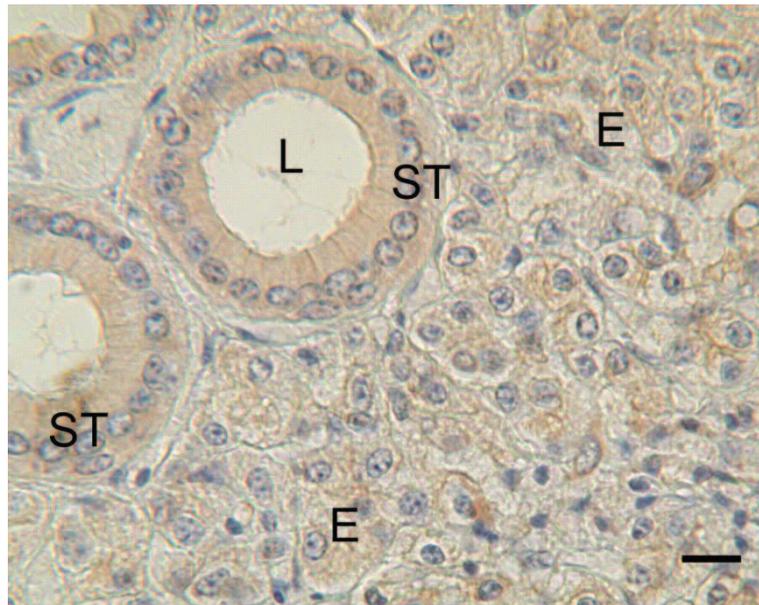
Das Epithel der Ausführungsgänge (AG) weist eine deutlich stärkere Antikörperbindungsreaktion der basalen Zellschicht ( $\rightarrow$ ) gegenüber den eher apikal angeordneten Zellschichten auf. Das Stroma (STR) erscheint negativ. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);

## 4.3.12. Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 18

Die serösen Zellen der Endstücke zeigen eine deutlich positive Reaktion auf den Primärantikörper, während Myoepithelzellen im Durchschnitt keine Reaktion aufweisen. Bei zwei untersuchten Rindern kann eine schwach positive Reaktion bei Myoepithelzellen verzeichnet werden. Die Epithelzellen der Schaltstücke weisen ebenfalls eine positive Reaktion auf und färbten sich ähnlich stark an wie die serösen Zellen der Endstücke. Auch Haupt- und Basalzellen der Streifenstücke stellen sich deutlich positiv dar, wobei die basale Streifung der Hauptzellen bei einigen untersuchten Proben deutlich auf den Antikörper reagiert. Die Epithelzellen der Ausführungsgänge färben sich ebenfalls deutlich positiv an. Die nachgewiesenen Cytokeratin 18 Strukturen weisen eine homogene Verteilung im Zytoplasma der Zelle auf. Auch Blutgefäße und Nerven zeigen positive Ergebnisse. Während das peripher gelegene Nervengewebe eine deutliche positive Reaktion aufweist, färben sich die Blutgefäßwände eher schwach an. Im umgebenden Bindegewebe ließ sich Cytokeratin 18 nicht nachweisen.

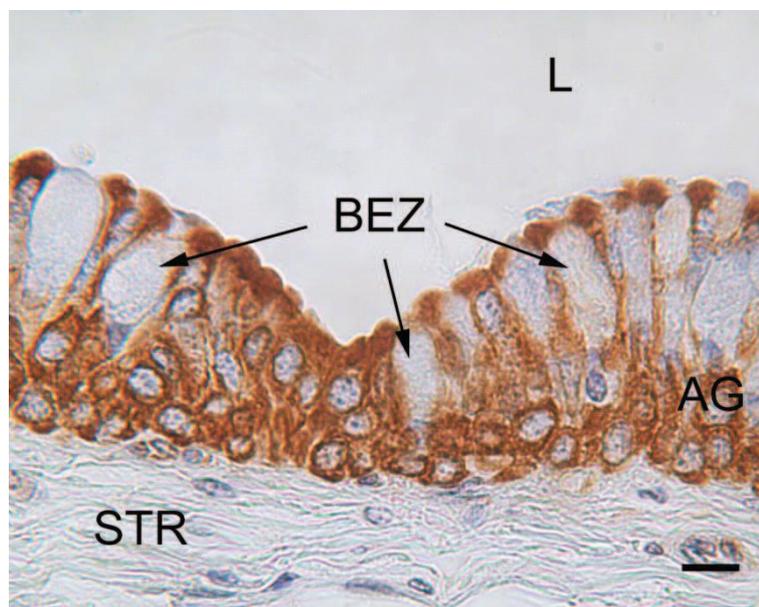
**Tabelle 48:** Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 18

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	+
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	+
Streifenstücke	Hauptzellen	+
	Basalzellen	+
Ausführgang	Epithelzellen	+
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	+/-
	Nerven	+



**Abbildung 86:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 18;  
SB = 10  $\mu$ m

Die Epithelzellen der Endstücke (E), Schaltstücke und Streifenstücke (ST) weisen eine sehr homogene Verteilung der Antikörperbindungsreaktion auf.



**Abbildung 87:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 18;  
SB = 10  $\mu$ m

Während die Epithelzellen der Ausführungsgänge eine stark positive Reaktion auf die Antikörperbindung mit Cytokeratin 18 zeigen, stellen sich die in großen Ausführungsgängen auftretenden Becherzellen negativ dar. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L); Stroma (STR);

## 4.3.13. Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 19

Seröse Zellen der Endstücke sowie die Myoepithelzellen aller untersuchten Proben Tiere zeigen keine Reaktion nach Inkubation mit dem Antikörper gegen Cytokeratin 19. Positiv reagieren die Epithelien der Schaltstücke, Streifenstücke und Ausführungsgänge und weisen eine starke Anfärbung des Zytoplasmas auf. Die Hauptzellen der Streifenstücke zeigen eine dichtere Ansammlung der Cytokeratin 19-Moleküle im apikalen Bereich der Zelle. Die im Ausführungsgang eingebetteten Becherzellen stellen sich negativ dar. Außer einer schwachen Anfärbung des Epineuriums liegt keine weitere positive Reaktion der umgebenden Strukturen wie Nerven, Blutgefäße und Bindegewebsfasern vor.

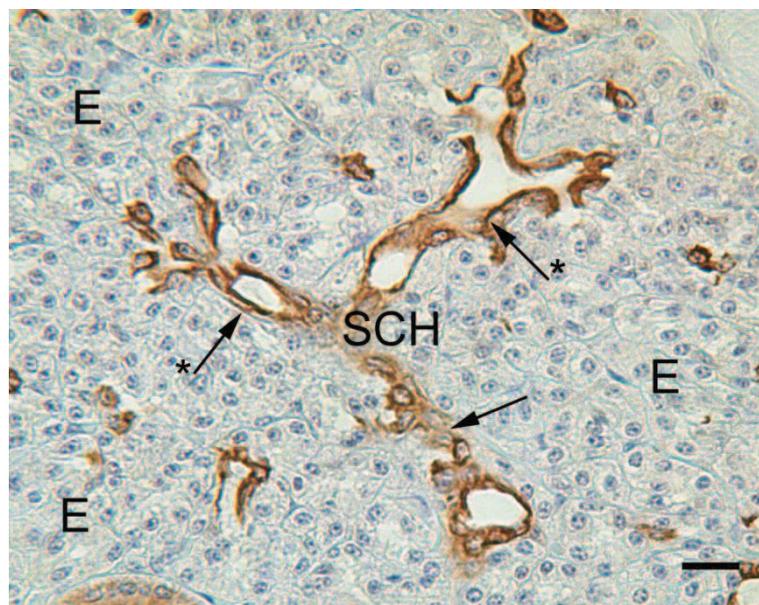
**Tabelle 49:** Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 19

Drüsenabschnitt	Zelltyp / Struktur	Reaktionsstärke
Endstücke	Seröse Zellen	-
	Myoepithelzellen	-
Schaltstücke	Schaltstückzellen	++
Streifenstücke	Hauptzellen	++
	Basalzellen	+
Ausführungsgang	Epithelzellen	++
	Becherzellen	-
Stroma	Bindegewebe	-
	Blutgefäße	-
	Nerven	-



**Abbildung 88:** Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 19;  
SB = 16,5  $\mu$ m

Während die serösen Zellen der Endstücke (E) keine Reaktion auf die Antikörperbindung mit Cytokeratin 19 aufweisen, stellen sich die Epithelien der Schaltstücke (SCH) und Streifenstücke (ST) deutlich positiv dar.



**Abbildung 89:** Glandula parotis, Schaltstück; Immunhistochemischer Nachweis von  
Cytokeratin 19; SB = 16,5  $\mu$ m

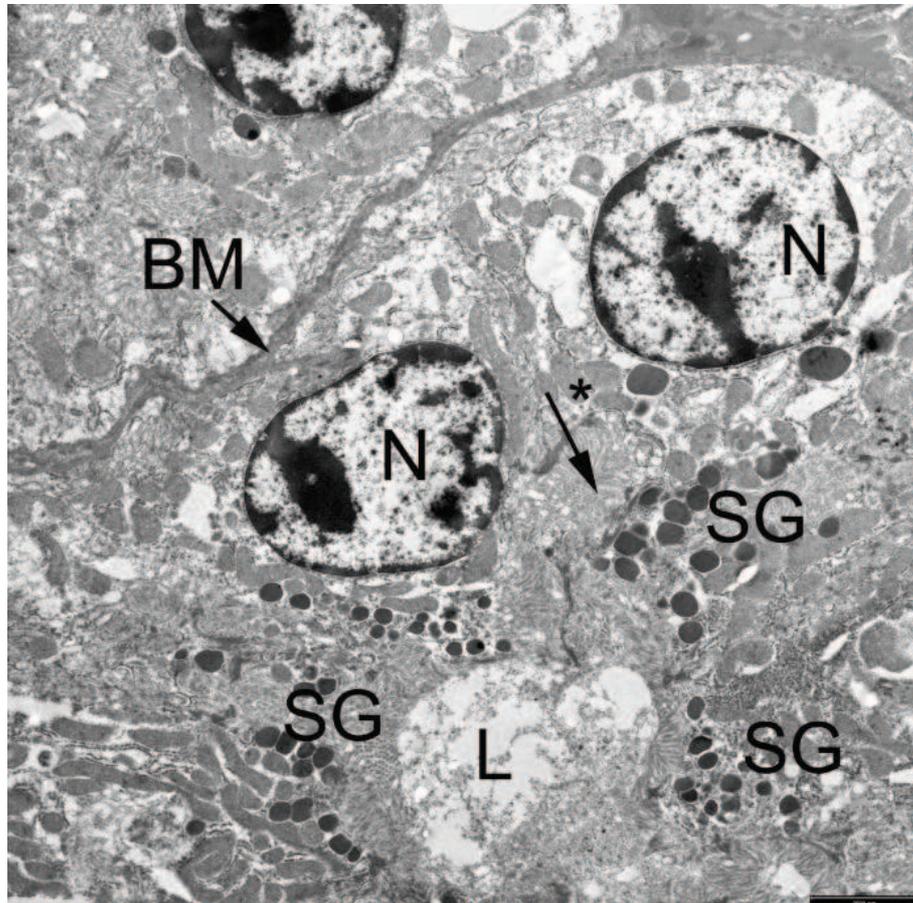
Die Schaltstücke (SCH) der Glandula parotis zeigen eine deutliche Antikörperbindungsreaktion. Sie weisen im Querschnitt mindestens eine Verzweigungsstelle auf und lassen sich daher in Schaltstücke 1. ( $\rightarrow$ ) und 2. Ordnung (\* $\rightarrow$ ) einteilen. Die serösen Zellen der Endstücke (E) erscheinen negativ.

## 4.4. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

### 4.4.1. Ultrastruktur des Endstückepithels und der Myoepithelzellen

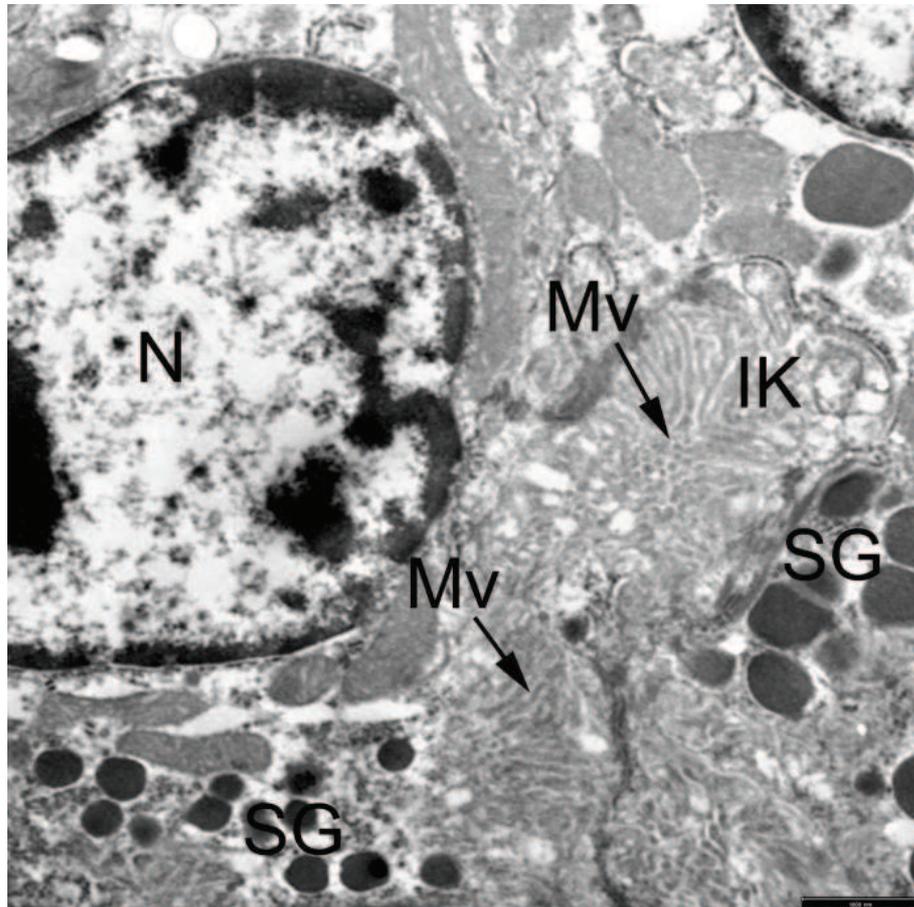
Die Sekret produzierenden Zellen der Endstücke besitzen im longitudinalen Schnittbild meist eine kubische Form, können aber auch teilweise hochprismatisch bis leicht konisch erscheinen. An ihrer apikalen Oberfläche ist ein sehr dichter Besatz von langen Mikrovilli erkennbar, welche die Lumina weitgehend ausfüllen. Die Lumina einzelner Endstücke sind je nach Sekretionszustand der Drüse geöffnet und gut zu erkennen und zeigen meist einen ovalen bis länglichen Anschnitt. Teilweise sind zwischen benachbarten Zellen an der lateralen Zellmembran der apikalen Zellhälfte Interzellularkanälchen ausgebildet. Diese weisen einen ähnlichen Mikrovillibesatz wie die apikale Oberfläche auf. Im Bereich der basalen Zellhälfte bilden sich zwischen den Epithelzellen interzelluläre Spalträume aus. In diese ragen fingerförmige zytoplasmatische Ausläufer der lateralen Zellmembran, die sich mit den Ausstülpungen benachbarter Zellen horizontal verzahnen und so den kompletten Spaltraum überbrücken. Im Zellinneren befindet sich ein meist rundlicher Zellkern, der bei einigen Zellen jedoch auch polymorph erscheint. Eine moderate Menge RER verteilt sich vor allem basal des Nukleus, ist aber auch in der apikalen Zellhälfte vertreten. Auffällig sind die zahlreichen Mitochondrien, die im gesamten Zytoplasma verstreut sind. Ein gut entwickelter Golgi-Apparat liegt meist apikal oder lateral in enger Beziehung zum Zellkern. Zudem können zwei Arten von Sekretvesikeln oder Sekretgranula unterschieden werden. Beide Granula erscheinen meist kugelig bis oval geformt. Sie unterscheiden sich durch die Elektronendichte ihres Inhaltes und ihre Lage im Zytoplasma. Der erste Typ erscheint dunkler und mit einem kleineren Durchmesser und ist meist unterhalb der apikalen Zellmembran oder lateral in der Nähe der Interzellularkanälchen anzutreffen. Der Inhalt dieser Granula erscheint meist homogen, doch weisen einige Granula stark elektronendichte Einschlüsse auf. Der zweite Typ ist seltener, liegt eher im Bereich des Golgi-Apparates oder des Nukleus und weist ebenfalls einen homogenen Inhalt auf, ist jedoch elektronendurchlässiger als die apikal gelegenen Sekretgranula.

Neben den eben beschriebenen serösen Epithelzellen findet man dunkler erscheinende Zellen mit ähnlicher Morphologie. Sie weisen einen meist verformten Zellkern und dichter gelagerte Zellorganellen auf.



**Abbildung 90:** Glandula parotis, seröse Endstückzellen; TEM; SB = 2500 nm

Pyramidal geformte seröse Endstückzellen ordnen sich um das zentrale Lumen (L) an und werden durch eine Basalmembran (BM) von den umliegenden Drüsensegmenten abgegrenzt. Sie besitzen zahlreiche Sekretgranula (SG) im apikalen Zellbereich. Der Zellkern (N) liegt im Zentrum der serösen Endstückzellen. Zwischen benachbarten serösen Endstückzellen kommt es zur Ausformung von Interzellularkanälchen (\*→).



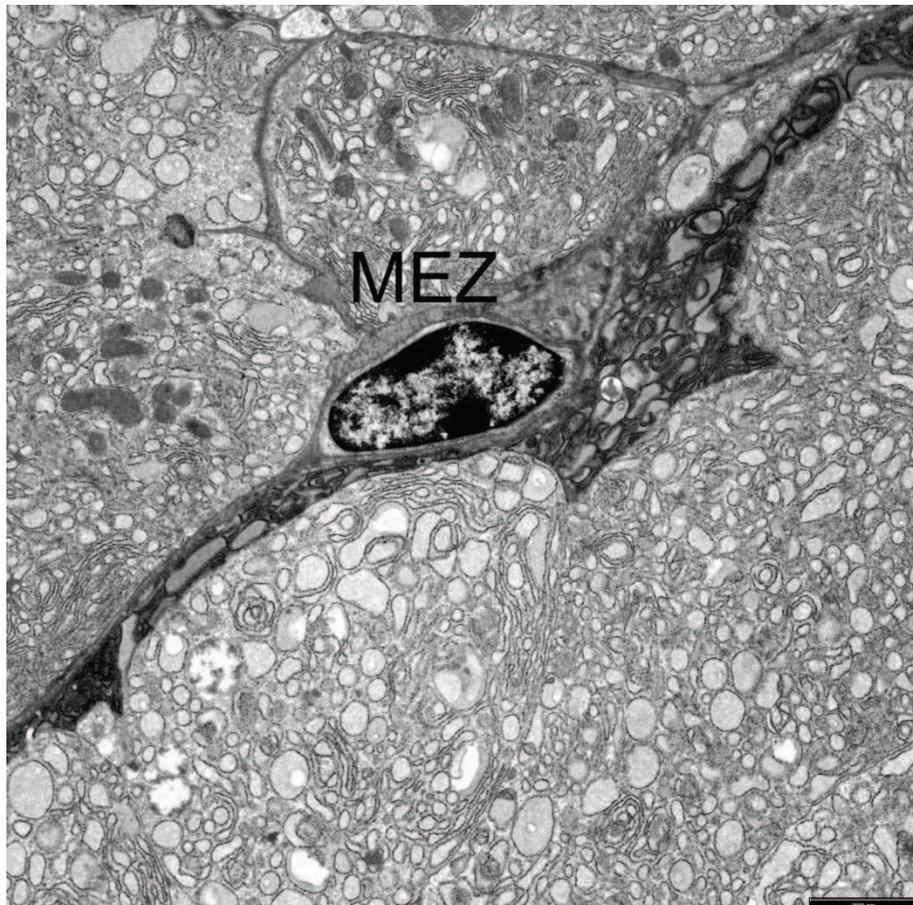
**Abbildung 91:** Glandula parotis, seröse Endstückzelle; TEM; SB = 1000 nm

Die serösen Endstückzellen weisen an ihrer lumenseitigen Zelloberfläche zahlreiche lange und teilweise verzweigte Mikrovilli (Mv) auf, die sich an der dorsolateralen Zelloberfläche in ein Interzellularkanälchen (IK) fortsetzen. Weitere Kennzeichnung: Zellkern (N); Sekretgranula (SG);

## Ergebnisse

---

Zwischen den Sekret produzierenden Epithelzellen und der Basallamina sind Myoepithelzellen eingebettet. Diese zeigen im Bereich der Endstücke häufig einen spindelförmigen oder dreieckigen Querschnitt mit langen zytoplasmatischen Fortsätzen, welche sich an die basale Zellmembran der serösen Endstückzellen anlegen. Ihr Zellkern passt sich der Form des Zelleibes an und erscheint je nach Form spindelförmig bis dreieckig. Das Zytoplasma erscheint elektronendichter als das der serösen Endstückzellen und weist außer zahlreichen Filamentbündeln nur wenige Zellorganellen auf. Die Mikrofilamente bilden starke, parallel gelagerte Stränge, die sich bis in die langen Zellausläufer der Myoepithelzellen fortsetzen.

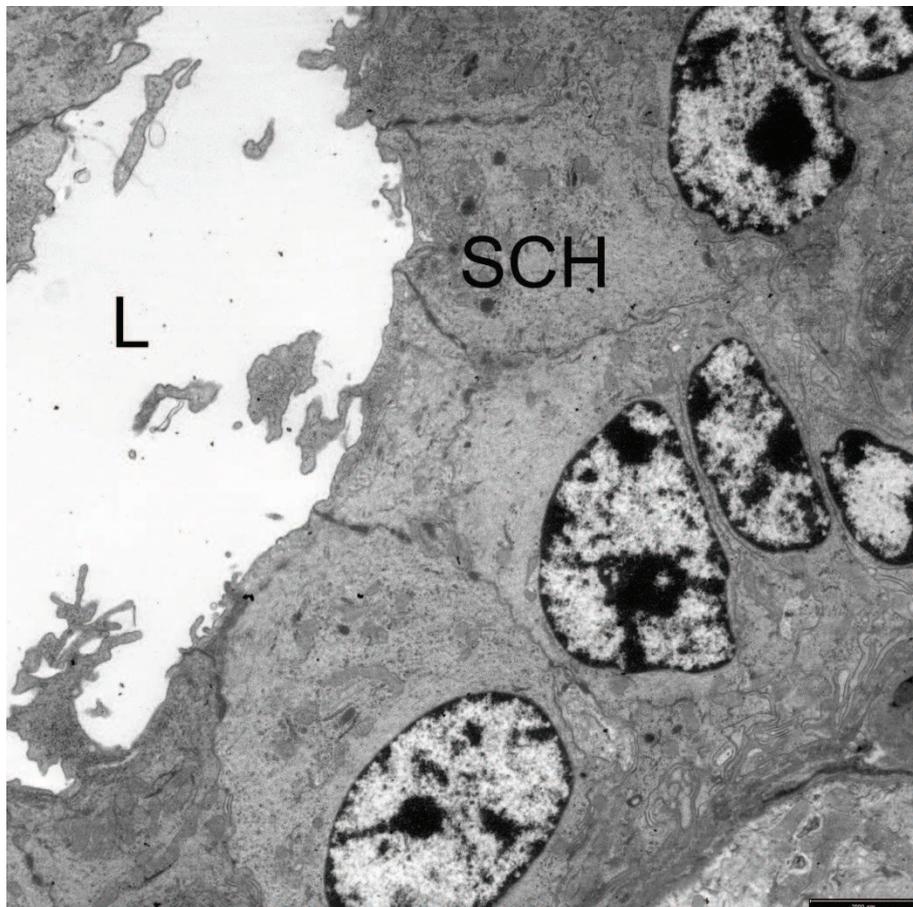


**Abbildung 92:** Glandula parotis, Myoepithelzelle; TEM; SB = 2500 nm

Die Myoepithelzellen (MEZ) liegen den serösen Zellen der Endstücke und Schaltstücke basal an und werden von derselben Basalmembran umschlossen wie die Drüsenepithelzellen. Ihr Zellkern erscheint meist spindelförmig. Ihr Zytoplasma bildet lange Zellausläufer, welche die Epithelzellen der serösen Endstücke sternförmig umschließen.

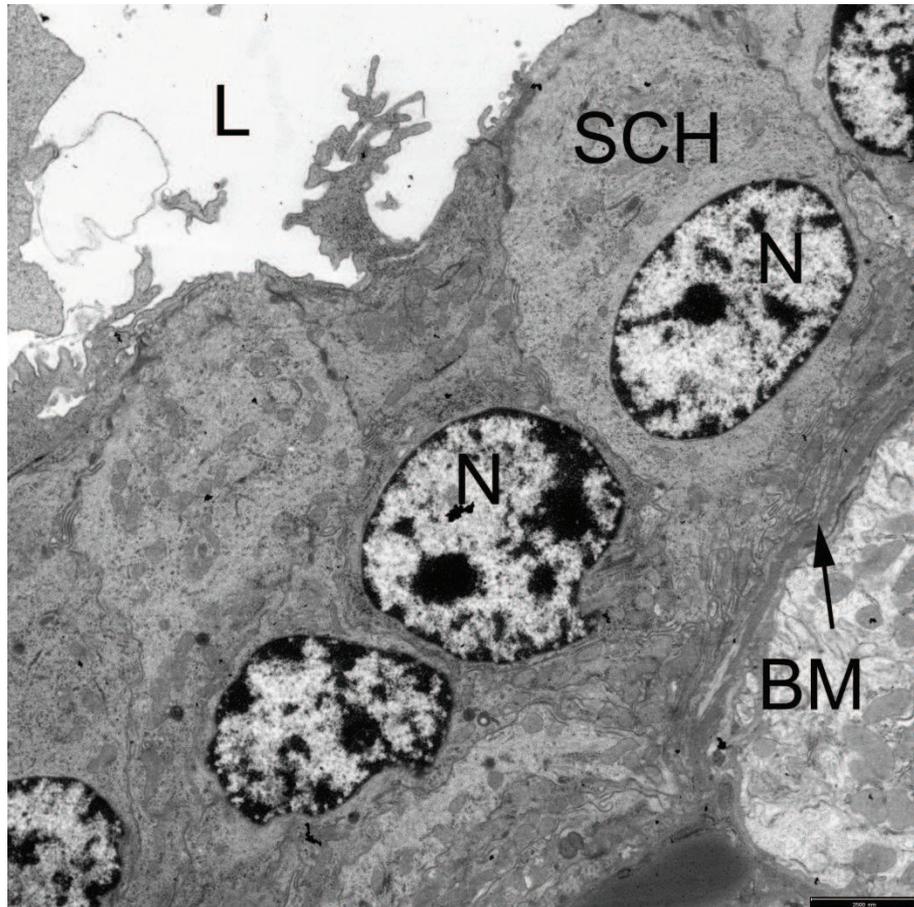
## 4.4.2. Ultrastruktur der Schaltstücke

Die Epithelzellen der Schaltstücke erscheinen flach bis kubisch mit eher glatten Rändern. Im apikalen Zellbereich befinden sich wenige homogen erscheinende Vesikel mit einer mittleren Elektronendichte. Der Zellkern erscheint rund, bei flachen Schaltstückzellen eher oval. Der Golgi-Apparat, das RER sowie die Mitochondrien sind nur spärlich im Zytoplasma verteilt. An ihre basale Oberfläche grenzen Myoepithelzellen an.



**Abbildung 93:** Glandula parotis, Schaltstück; TEM; SB = 2500 nm

Die Schaltstückzellen weisen eine eher kubische Zellform auf. Ihr großer Zellkern liegt in der basalen Zellhälfte. Sie weisen eine glatte lumenseitige und laterale Zelloberflächen auf und enthalten im Vergleich zu den serösen Zellen der Endstücke nur wenige Zellorganellen. Weitere Kennzeichnung: Lumen (L);



**Abbildung 94:** Glandula parotis, Schaltstück; TEM; SB = 2500 nm

Die Epithelzellen der Schaltstücke (SCH) beinhalten einen rundlichen, prominenten Zellkern (N), der die basale Zelhälfte fast vollständig ausfüllt. Sie besitzen ein Zytoplasma mittlerer Elektronendichte und im Vergleich zu den serösen Zellen der Endstücke und der Streifenstücke nur wenige Zellorganellen. Weitere Kennzeichnung: Basalmembran (BM), Lumen (L);

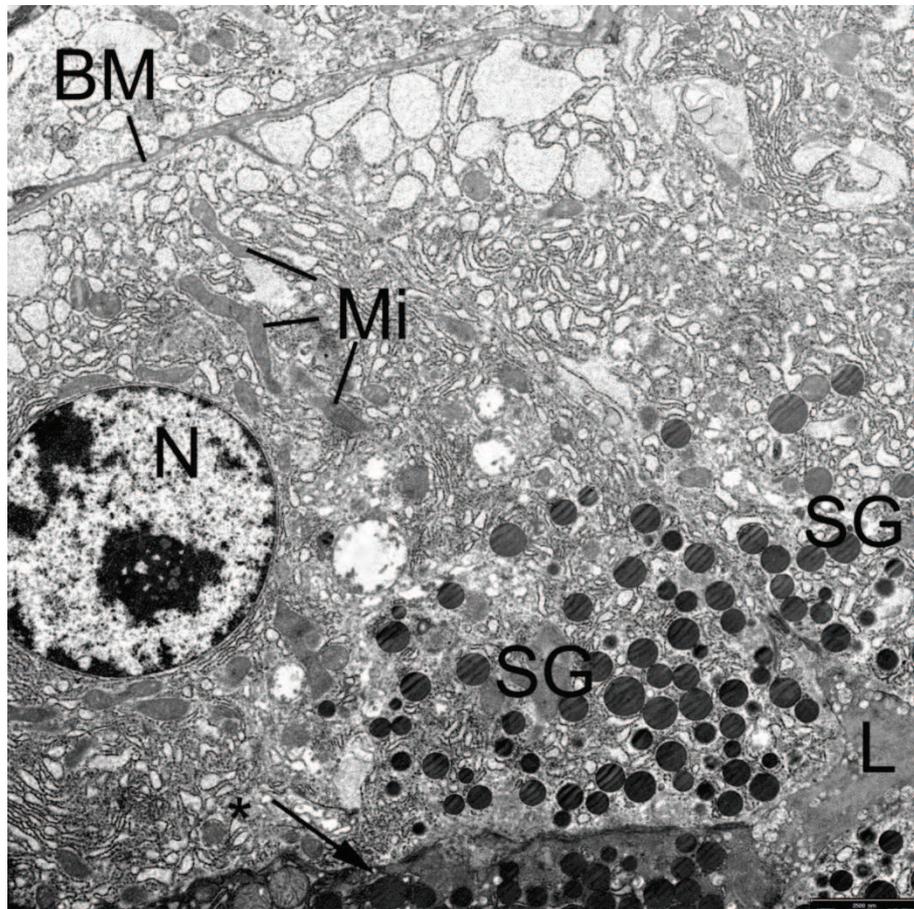
### 4.4.3. Ultrastruktur der Streifenstücke

Die hochprismatischen Hauptzellen der Streifenstücke besitzen eine konische Form und glatte laterale Zellgrenzen. Die basalen Einfaltungen der Zellmembran sind nur schwach ausgebildet. Zahlreiche Mitochondrien liegen in der basalen Zelhälfte der Streifenstückzellen. Der Nukleus ist rund und eher basal angeordnet. Der Golgi-Apparat und das RER sind nur wenig entwickelt. Die apikale Zelhälfte enthält eine große Anzahl von Sekretgranula, die einen homogenen Inhalt mit einer mittleren Elektronendichte aufweisen. Oberhalb des Zellkerns treten teilweise mehrere vesikuläre Strukturen („microbodies“) auf, bei welchen es sich vermutlich um Peroxisomen oder Lysosomen handelt. Wie die Schaltstückzellen enthalten auch die Hauptzellen der Streifenstücke zahlreiche Filamente.

Seltener treten dunkel erscheinende, hochprismatische Zellen mit einer höheren Elektronendichte auf. Sie sind morphologisch ähnlich aufgebaut wie die eben beschriebenen Hauptzellen. Ihre Filamente sind dichter gepackt und sie enthalten ebenfalls eine große Anzahl elektronendichterer Vesikel im apikalen Bereich der Zelle.

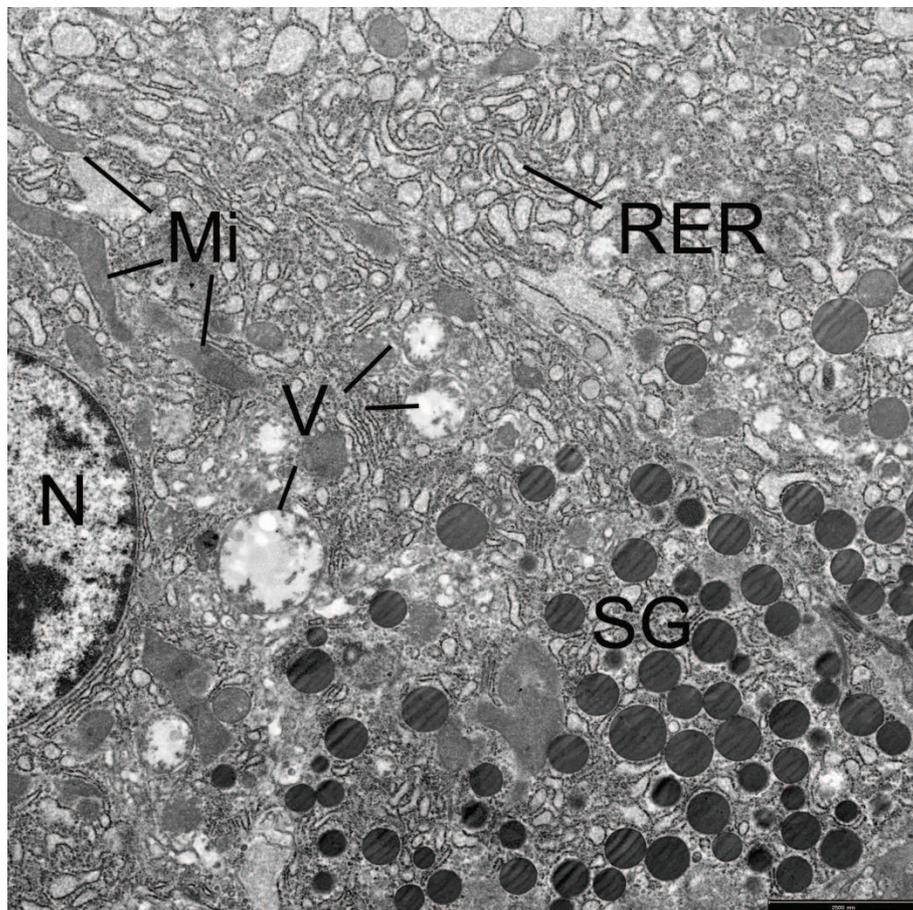
Die Basalzellen der Streifenstücke treten wie die Hauptzellen in zwei verschiedenen Formen auf. Die erste, am häufigsten auftretende Form von Basalzellen zeigt einen rundlich bis ovalen Querschnitt und ein helles, elektronendurchlässiges Zytoplasma. Der Zellkern ist rund und zentralständig und weist einige Kernporen auf. Das Zytoplasma ist durchzogen von einigen Intermediärfilamentbündeln und Mikrotubuli. Außerdem enthalten die Basalzellen ein gut entwickeltes RER sowie eine mittlere Anzahl von Mitochondrien des Christae-Typs und einen mäßig ausgeprägten Golgi-Apparat.

Neben dieser hellen Basalzellform treten immer wieder eher kubische bis polymorphe Basalzellen auf, die einen unregelmäßig verformten Zellkern sowie ein elektronendichtes Zytoplasma aufweisen. Der Gehalt an Zellorganellen ist ähnlich wie bei den helleren Basalzellen, jedoch erscheinen die zytoskelettalen Strukturen dichter angeordnet.



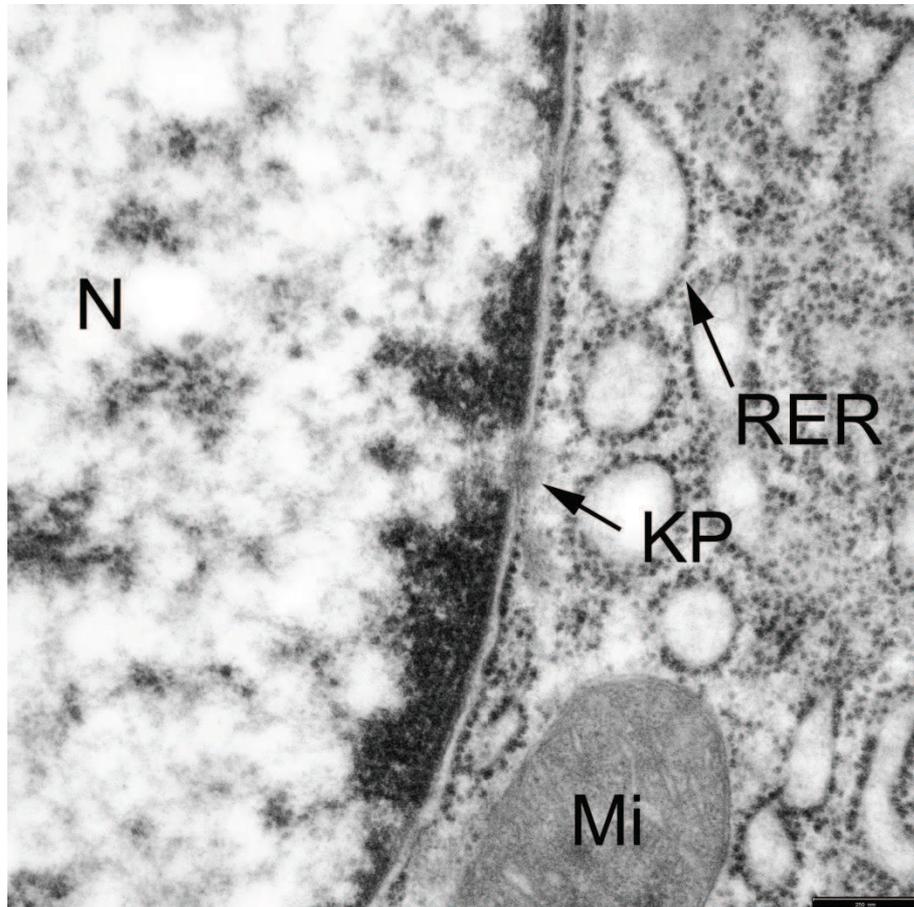
**Abbildung 95:** Glandula parotis, Streifenstück; TEM; SB = 2500 nm

Die Hauptzellen des Streifensückes (ST) enthalten im apikalen Zellbereich viele Sekretgranula (SG), während die basale Zellhälfte durch den runden Zellkern (N) und zahlreiche Mitochondrien (Mi) dominiert wird. Neben den im Elektronenmikroskop hell erscheinenden Hauptzellen kommen auch dunkle hochprismatische Zellen (\*->) vor.



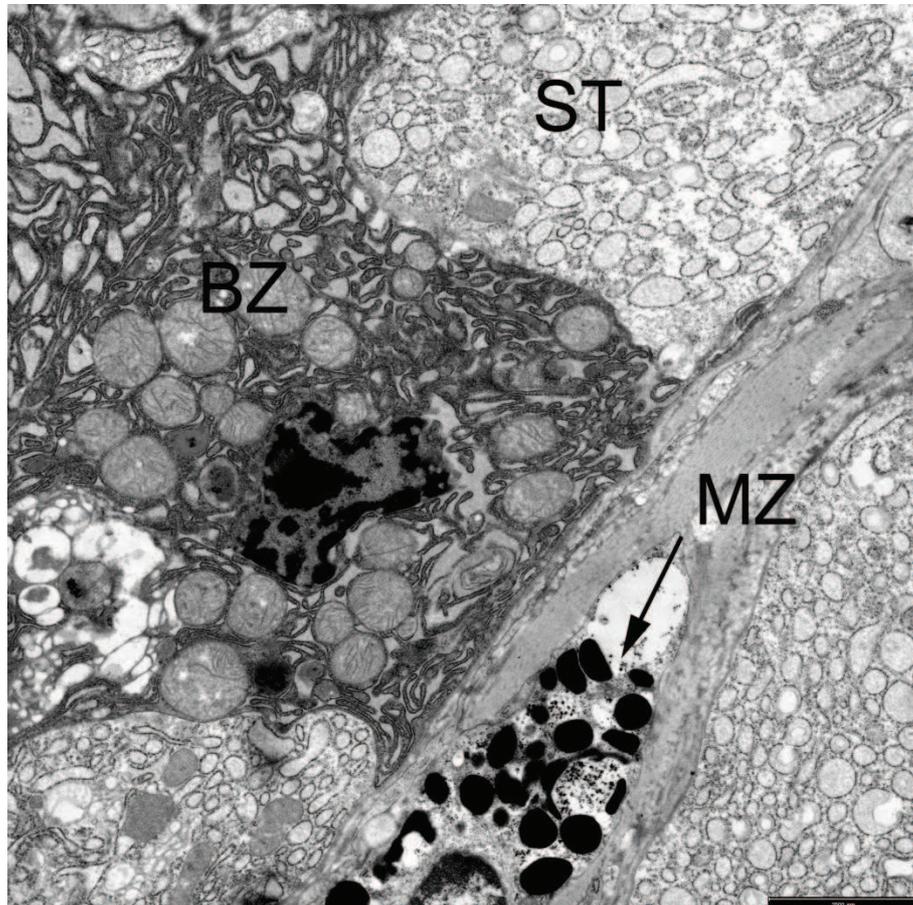
**Abbildung 96:** Glandula parotis, Streifenstück, Hauptzellen; TEM; SB = 2500 nm

Die Streifenstückzellen weisen in der apikalen Zellhälfte zahlreiche Sekretgranula (SG) und einige Vesikel (V) („microbodies“) auf. Das raue endoplasmatische Retikulum (RER) ist im Bereich der Hauptzellen des Streifenstücks gut ausgeprägt. Im basalen Zellbereich liegen ein rundlicher Zellkern (N), sowie senkrecht zur Basalmembran angeordnete Mitochondrien (Mi), die mit den basalen Einfaltungen der Zellmembran die lichtmikroskopisch sichtbare basale Streifung der Hauptzellen bilden.



**Abbildung 97:** Glandula parotis, Streifenstück, Basalzelle; TEM; SB = 250 nm

Der rundliche Zellkern (N) der Basalzellen weist zahlreiche Kernporen (KP) auf. Ihr raues endoplasmatisches Retikulum (RER) ist gut ausgeprägt. Die im Zytoplasma verteilt auftretenden Mitochondrien sind vom Cristae-Typ.



**Abbildung 98:** Glandula parotis, „dunkle“ Basalzelle; TEM; SB = 2500 nm

Neben „hellen“ Basalzellen (ST) treten auch dunkel erscheinende Basalzellen (BZ) auf. Diese zeigen ein elektronendichtes Zytoplasma. Die Zellorganellen liegen dicht gepackt und ihr zentralständiger Zellkern weist eine unregelmäßige, fast pyknotisch erscheinende Form auf. Im Stroma der Drüsenlobuli sind zahlreiche Mastzellen (MZ) zu finden.



**Abbildung 99:** Glandula parotis, Mastzelle; TEM; SB = 2500 nm

Im Stroma der Glandula parotis treten zahlreiche Mastzellen (MZ) auf, deren Zytoplasma mit zahlreichen homogenen Granula gefüllt ist.

### 5. Diskussion

#### 5.1. Endstücke und Myoepithelzellen

##### 5.1.1. Seröse Epithelzellen der Endstücke

Die Glandula parotis des Rindes ist gemäß der Klassifizierungsschemata von Shackelford und Klapper (1962), Young und van Lennep (1978) und Tandler und Phillips (1993), die bereits unter Punkt 2.3.1 beschrieben wurden, als rein seröse, exokrine Drüse mit homokriner Sekretion zu bewerten (Shackelford und Klapper, 1962; Young und van Lennep, 1978; Tandler und Phillips, 1993). Die erste Einteilung von Shackelford und Klapper (1962) beruht zu einem großen Teil auf der Reaktion der sekretorisch aktiven Zellen der Endstücke auf konventionelle Färbungsmethoden mit Alcianblau und der Perjodsäure-Schiff-Reaktion. Beide Methoden wurden auch für diese Arbeit durchgeführt. Bei Shackelford und Klapper (1962) werden seröse Endstücke nach ihrem Gehalt an „sauren“ und „neutralen“ Kohlenhydratstrukturen eingeteilt. Demnach gelten Zellen als serös, die negative Ergebnisse für Alcianblau und positive Ergebnisse für die Perjodsäure-Schiff-Reaktion zeigen (Shackelford und Klapper, 1962). Diese Reaktionen wurden bereits von Shackelford und Wilborn (1969) bei Kälbern und von Suzuki et al. (1981c) beim adulten Rind nachgewiesen (Shackelford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c). Auch die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen diese Beobachtungen. Es ist jedoch anzumerken, dass die Reaktionsstärke der Perjodsäure-Schiff-Reaktion durch vorherige Acetylierung oder Methylierung des Gewebes abgeschwächt wurde und bei Vorbehandlung des Gewebes mit  $\alpha$ -Amylase ausblieb, was einen deutlichen Hinweis auf die Anwesenheit von Glykogen-Partikeln in den serösen Zellen der Endstücke darstellt.

Shackelford und Klapper (1962) schrieben im Besonderen den Parotiden von Rindern und Schafen einen „atypisch serösen“ Charakter zu, da sie nachweislich nur sehr geringe Mengen oder sogar keine  $\alpha$ -Amylase sezernieren und generell einen niedrigen Proteingehalt des Speichels aufweisen. Dies steht in einer deutlichen Abweichung zu den auch als serös eingestuften Endstücken anderer Spezies (Shackelford und Klapper, 1962). Van Lennep et al. (1977) griffen diesen Gedanken bei ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung der Glandula parotis des Schafes auf und

verwiesen unter anderem auf die tubulöse Anordnung der Endstückepithelien bei einigen Wiederkäuerspezies, deren Speichelproduktion vor allem auf den Transport von Flüssigkeit und Elektrolyten ausgerichtet zu sein scheint und weniger auf die Proteinsynthese. Die Endstücke anderer Spezies mit einem hohen Proteingehalt des Speichels erscheinen dagegen eher azinös (Lennep et al., 1977; Elewa et al., 2010b). Auch Shackelford und Wilborn (1969) wiesen in ihrer Studie „Ultrastructure of bovine parotid glands“ von 1969 eine tubulöse Organisation der Endstückzellen nach, die diese These unterstützt (Shackelford und Wilborn, 1969). In diesem Zusammenhang ist noch einmal die Studie von Hofmann et al. (2008) mit dem Titel „Convergent Evolution in Feeding Types: Salivary gland mass differences in wild ruminant species“ zu erwähnen, die Größenunterschiede verschiedener Speicheldrüsen von futterselktierenden und grasenden Wiederkäuerspezies verglichen. Diese legen den Schluss nahe, dass die volumenmäßig größeren Speicheldrüsen von futterselktierenden Wiederkäuerspezies nicht unbedingt eine höhere Speichelproduktion, sondern einen höheren Proteingehalt des Speichels zur Folge haben, während sich die Parotiden grasender Ruminantier evolutorisch verkleinern konnten, da diese zwar ebenfalls auf die Produktion eines großen Speichelvolumens angewiesen sind, jedoch nicht so stark auf den Proteingehalt (Hofmann et al., 2008). Untermuert wurde diese These durch die vergleichende Studie von Elewa et al. (2010b), die nicht nur Unterschiede im Aufbau der Endstücke der Glandula parotis zwischen Wiederkäuerspezies (Ziege und Schaf) und der Maus, sondern auch unter den untersuchten Wiederkäuerspezies nachwies (Elewa et al., 2010b).

Während bei vielen Spezies, wie beispielsweise bei Pferden (Suzuki et al., 1981b) oder Hunden (Suzuki et al., 1980) enge und kaum sichtbare Endstücklumina beschrieben wurden, konnten bei vielen Wiederkäuerarten weitgeöffnete und bereits lichtmikroskopisch deutlich erkennbare Lumina der Endstücke nachgewiesen werden (Shackelford und Wilborn, 1969; Lennep et al., 1977; Suzuki et al., 1981c). Diese sind beim Rind gemäß Suzuki et al. (1981c) vermutlich durch einen kontinuierlichen Speichelfluss bedingt (Suzuki et al., 1981c). Wie van Lennep et al. (1977) beim Schaf, beschrieben auch Shackelford und Wilborn (1969) beim Rind tubulös angeordnete Endstücke sowie eine relativ mäßige Menge RER und eine höhere Anzahl an Mitochondrien als bei nicht-ruminanten Spezies (Shackelford und Wilborn, 1968; Shackelford und Wilborn, 1969; Lennep et al., 1977). Der höhere Gehalt an RER bei nicht-ruminanten Spezies ist ein wichtiger Hinweis auf eine erhöhte Proteinsynthese dieser Zellen (Lennep et al., 1977). Auch die Ergebnisse der elektronenmikros-

kopischen Untersuchungen dieser Arbeit ergaben für die serösen Endstückzellen einen eher mäßigen Gehalt an RER und zahlreiche Mitochondrien, die als Energielieferant für Transportprozesse der Zelle maßgeblich sind. Der von Shackleford und Wilborn beschriebene tubulöse Charakter der Endstücke deutet sich in den eher länglich bis oval erscheinenden Umrissen deutlich erkennbarer Endstücklumina an. Auch der von einigen Autoren geführte Nachweis von Carboanhydrasen in verschiedenen Segmenten der Glandula parotis des Rindes, unter anderem auch in den Endstückzellen, unterstützt diese Idee (Asari et al., 1994; Asari et al., 2000; Kaseda et al., 2006; Mau et al., 2010). Carboanhydrasen werden vor allem mit dem transepithelialen Transport von Flüssigkeiten und Ionen in Verbindung gebracht (Asari et al., 1994) und sind vermutlich an der pH-Regulation des Speichels beteiligt (Mau et al., 2010).

Van Lennep et al. (1977) vermuten außerdem eine Korrelation zwischen Sekretionsverhalten einer serösen Drüse und ihrer Zellform sowie der Ausprägung der apikalen Oberflächenstrukturen. Sie verweisen auf die für einen gesteigerten Flüssigkeits- und Elektrolyttransport nötige Oberflächenvergrößerung (Lennep et al., 1977). Für die Spezies Schaf (Lennep et al., 1977; Elewa et al., 2010b), Ziege (Suzuki et al., 1981a; Elewa et al., 2010b) und Rind (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c; Eisenbrückner, 2000) wurde eine Oberflächenvergrößerung der apikalen Zellmembran in Form eines dichten Besatzes langgezogener Mikrovilli beschrieben, die beim Rind sogar Verzweigungen aufweisen (Shackleford und Wilborn, 1969). Zwar zeigen auch nicht-ruminante Spezies wie das Schwein (Boshell und Wilborn, 1978), das Pferd (Suzuki et al., 1981b) oder der Hund (Suzuki et al., 1980) apikale Mikrovilli, jedoch nicht in der starken Ausprägung wie bei Wiederkäuern. Auch die elektronenmikroskopischen Untersuchungsergebnisse dieser Arbeit zeigen einen dichten Mikrovillibesatz der Endstückzellen. Die Mikrovilli stehen dicht nebeneinander und ragen weit in die teilweise geöffneten Lumina der Endstücke. Sie setzen sich teilweise lateral fort und bilden die Auskleidung von interzellulären Kanälchen.

Diese werden durch „Tight junctions“ von den basalen Interzellularspalten abgegrenzt (Jezernik und Pipan, 1986; Eisenbrückner, 2000). C. Pinkstaff (1993) weist in dem Artikel „Serous, Seromucous, and Special Serous Cells in Salivary Glands“ auf die von Sakai (1984) angeführte These hin, dass „die Tight junctions zwischen Interzellulären Kanälchen und den basal angrenzenden Interzellularspalten eine gewisse Durchlässigkeit besitzen und die Interzellulären Kanälchen somit eine aktive Rolle bei der Elektrolytsekretion spielen könnten“. Dieser stellt C. Pinkstaff (1993) den von Segawa

et al. (1991) erbrachten Nachweis der aktiven Exozytose von Sekretgranula in das Lumen der interzellulären Kanälchen gegenüber (Sakai, 1984; Segawa et al., 1991; Pinkstaff, 1993). Auch Hashimoto et al. (2000) vermuten, dass während exozytotischer Prozesse in den interzellulären Kanälchen die selektive Permeabilität der „Tight junctions“ gesteigert wird, so dass größere Moleküle die Tight junctions passieren können (Hashimoto et al., 2000). Ausgeprägte interzelluläre Kanälchen wurden beim Rind von verschiedenen Autoren (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c; Eisenbrückner, 2000) und auch innerhalb dieser Arbeit beschrieben (Abbildung 91).

Basal der interzellulären Kanälchen schließen sich durch „Tight junctions“ abgegrenzte „Interzellularspalten“ an (Pinkstaff, 1993). Diese werden von Interdigitationen ausgefüllt, die bei Schaf (Lennep et al., 1977; Elewa et al., 2010b), Ziege (Elewa et al., 2010b) und Rind (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c; Eisenbrückner, 2000) stark entwickelt sind. Anhand ihrer Untersuchungen der Parotiden von Schaf (Lennep et al., 1977; Elewa et al., 2010b) und Ziege (Elewa et al., 2010b) sehen van Lennep ebenso wie Elewa et al. in der starken Ausprägung von apikalen Mikrovilli, interzellulären Kanälchen und Interzellularspalten deutliche Signale dafür, dass die serösen Zellen der Endstücke vornehmlich auf die Sekretion von Flüssigkeit und Elektrolyten ausgelegt sind. Diese These lässt sich aufgrund der in dieser Arbeit bei adulten Rindern beobachteten ultrastrukturellen Eigenschaften der dieser Bereiche auch auf das Rind übertragen, das wie auch das Schaf zu den grasenden Wiederkäuern gehört.

Durch die speziellen Eigenschaften der Plasmamembran, insbesondere durch die Unterteilung der lateralen Seitenfläche durch „Tight junctions“ in apikal gelegene interzelluläre Kanälchen und basal ausgebildete Interzellularspalten, ergeben sich für die serösen Endstückzellen zwei funktionelle Bereiche, die sich auch in ihrer Glykokalix unterscheiden (Jezernik und Pipan, 1986). Die ursprüngliche Idee, dass die Unterschiede der Glykokalix der apikalen Zelhälfte durch die Glykoproteinrückstände verschmelzender Vesikel zustande kommt (Jezernik und Pipan, 1986), wurde durch die Untersuchungen von Jezernik (1989) in Frage gestellt: Während Jezernik und Pipan (1989) qualitative und quantitative Unterschiede in den Zuckerrückständen von Sekretgranula in Schaltstücken und Azinuszellen beobachteten konnte, färbte sich das apikale Plasmalemma relativ einheitlich an. Dies weist darauf hin, dass die apikale Glykokalix der Endstück- und Schaltstückzellen humaner Parotiden nur wenig durch die Bestandteile der Sekretgranula beeinflusst wird (Jezernik und Pipan, 1989). Auch

im tierartlichen Vergleich konnten bereits Unterschiede zwischen gespeicherten Glykoproteinen und der Glykokalix der Zelle festgestellt werden (Gargiulo et al., 1993b; Pedini et al., 1994). Die Glandula parotis des Hundes wurde 1994 von Pedini et al. und 1999 von Sozmen et al. lektinhistochemisch untersucht. Beide Untersuchungen konnten eine Bindungsaffinität der Parotisendstücke für die Lektine ConA und WGA nachweisen, das Lektin DBA lieferte dagegen bei Hunden negative Ergebnisse. Unterschiede traten in der Reaktivität der Lektine SBA und PNA auf (Pedini et al., 1994; Sozmen et al., 1999). Pedini et al. (1994) demonstrierten außerdem, dass Sekretgranula und die apikale Oberfläche der serösen Zellen nach dem Vorverdau durch Neuraminidase positive Ergebnisse für die Lektine PSA und DBA zeigten und lieferten den Beweis, dass N-Acetyl-Galaktosamin ein Sekretionsprodukt der caninen Glandula parotis darstellt (Pedini et al., 1994). Beim Pferd konnten Gargiulo et al. (1993b) N-Acetyl-Galaktosamin durch das Lektin DBA in einigen Endstückzellen der Glandula parotis des Pferdes (ca. 10% der untersuchten Zellpopulation) nachweisen (Gargiulo et al., 1993b). Auch bei ihrer Untersuchung der Zungendrüsen des Rindes zeigten die serösen Halbmondzellen der Endstücke eine deutliche Affinität für das Lektin DBA, jedoch negative Ergebnisse für den Nachweis von N-Acetyl-Glukosamin durch das Lektin WGA (Gargiulo et al., 1993a).

Im Gegensatz zu den Untersuchungen der Glandula parotis des Pferdes und der Zungendrüsen des Rindes von Gargiulo et al. (1993b), die N-Acetyl-Galaktosamin-Moleküle nachweisen konnten, zeigten die Endstückzellen der Glandula parotis des Rindes in dieser Arbeit keine Bindung des Lektins DBA. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten bei adulten Rindern, ähnlich wie die Ergebnisse von Sozmen et al. (1999) und Pedini et al. (1994) beim Hund, positive Reaktionen des gesamten Zytoplasmas der Endstückzellen für Con A, PSA und WGA. Die positiven Ergebnisse für Con A und PSA stellen einen Beleg für die Anwesenheit von D-Mannose-Molekülen in allen Bereichen innerhalb der Endstückzellen dar. Das ebenfalls D-Mannose-spezifische Lektin LCA lieferte in dieser Arbeit dagegen negative Ergebnisse. Weiterhin ließ sich innerhalb der Zellgrenzen N-Acetyl-Glukosamin durch das spezifische Lektin WGA nachweisen. Auch Pedini et al. (1997) stellten bei ihrer Untersuchung der Glandula parotis erwachsener Dammhirsche D-Mannose und N-Acetyl-Glukosamin-Moleküle in den serösen Endstückzellen fest (Pedini et al., 1997). Zudem zeigten die Endstückzellen ebenfalls Hinweise auf die Produktion von N-Acetyl-Galaktosamin (Pedini et al., 1997), das in dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden konnte. Das Lektin PHA-E und MAA-I zeigten lediglich positive Reaktionen an der apikalen

Oberfläche der Endstückzellen. Das komplexe N-Glykan-Strukturen markierende Lektin PHA-E wies eine starke Fluoreszenz der apikalen Oberflächenstrukturen auf, während die ebenfalls N-Glykan-spezifische Variante des Phaseolus Lektins PHA-L keine Reaktion auslöste. Das Neuraminsäure bindende Lektin MAA-I führte ebenfalls zu einer leichten Fluoreszenz der apikalen Oberfläche. Allerdings konnte diese Reaktion nur bei drei Probetieren (Tier 7, 8 und 9) beobachtet werden. Es ist außerdem zu bemerken, dass durch die lektinhistochemischen Untersuchungen dieser Arbeit kein Hinweis auf die Anwesenheit von L-Fukose-, D-Galaktose- und N-Acetyl-Galaktosamin-Molekülen erbracht werden konnte. Es zeigten sich weder innerhalb der Endstückzellen noch auf deren Plasmamembran positive Ergebnisse für die Lektine UEA-I, ECA, PNA, RCA, DBA, GSL-I, SBA und SJA. Es ist bekannt, dass die zelluläre Expression Glykoproteinen sehr variabel ist und durch viele Faktoren beeinflusst wird. Einer dieser Faktoren ist die krankheitsbedingte Veränderung der Glykokalix. Ein Beispiel bilden die von Sobral et al. (2010) dokumentierten Veränderungen in der Bindungsaffinität der Lektine Con A und UEA-I bei mucoepidermoiden Karzinomen der humanen Glandula parotis (Sobral et al., 2010). Bei der Submandibulardrüse der Katze wurden von Menghi et al. (1987) für die Hexosen altersabhängige Veränderungen der Lektinaffinität festgestellt. L-Fukose, Glukosamin und D-Galaktose werden als „Growth Markers“ bezeichnet (Menghi et al., 1987; Sozmen et al., 1999). Da der für diese Arbeit verwendete Probenbestand fast ausschließlich Tiere im Alter von zwei bis drei Jahren umfasste, konnten keine Daten über altersabhängige Veränderungen der Glandula parotis im Bezug auf die Lektinaffinität oder die von Kim und Allen (1994) beschriebenen morphologischen Veränderungen des Drüsenparenchyms erbracht werden (Kim und Allen, 1994). Weitere Abweichungen der Bindungsaffinität können durch sexualdimorphe Unterschiede auftreten, wie bei Endstückzellen (Accili et al., 1996; Menghi et al., 1999) und Sekretgranula (Menghi et al., 1996) der Submandibulardrüsen einiger Nagetierspezies nachgewiesen werden konnte.

Wie erwähnt zeigen auch die Sekretgranula seröser Endstückzellen von Parotiden verschiedener Spezies deutliche Unterschiede in ihrer Morphologie und ihren Inhaltsstoffen (Pinkstaff, 1993). Detaillierte Beschreibungen zu diesem Thema findet man beispielsweise in dem Artikel „Structure of Serous Cells in Salivary Glands“ von Tandler und Phillips (1993). Diese Unterschiede können jedoch zusätzlich durch verschiedene Faktoren wie Gewebefixation, Sexualdimorphismus, Fütterung der Tiere und Ernährungszustand beeinflusst werden (Harrison et al., 1987; Pinkstaff, 1993).

Pinkstaff (1993) weist ebenfalls darauf hin, dass auch unterschiedliche Reifungsgrade der Granula von einigen Autoren für die häufigen Variationen ursächlich gemacht werden (Pinkstaff, 1993). Auch Suzuki et al. (1981c) vermuten beim Rind eine Änderung der Morphologie bei Sekretgranula während ihrer Reifung. Sie beschreiben elektronendichtere Sekretgranula, die den apikalen Bereich der Endstückzellen weitestgehend ausfüllen und auch im Bereich der interzellulären Kanälchen nachgewiesen werden können sowie einen zweiten Granula-Typ, der elektronendurchlässiger erscheint und eher mit dem Golgi-Apparat in Verbindung steht (Suzuki et al., 1981c). Auch die Beschreibungen der Sekretgranula der Glandula parotis beim Kalb (Shackleford und Wilborn, 1969; Eisenbrückner, 2000) sowie die ultrastrukturellen Ergebnisse dieser Arbeit beim erwachsenen Rind entsprechen den Beobachtungen von Suzuki et al. (Suzuki et al., 1981c) und lassen auf eine Verdichtung des Inhaltes der Sekretgranula mit zunehmender Reife und Annäherung an die Sekretionsoberfläche vermuten. Für einen Sexualdimorphismus der Sekretgranula der Glandula parotis des Rindes, wie er für die Submandibulardrüse einiger Nagetiere beschrieben wurde, ließen sich in dieser Arbeit weder ultrastrukturell noch lektin histochemisch Hinweise finden. In seltenen Fällen zeigten die Sekretgranula der Endstückzellen in der elektronenmikroskopischen Untersuchung dieser Arbeit runde, dunkel erscheinende Verdichtungen. Elewa et al. (2010b) beschrieben diese auch in den Sekretgranula der Endstückzellen bei Schafen und Ziegen und vermuten, dass es sich um ein Fixierungsartefakt handeln könnte (Elewa et al., 2010b). Dies ist auch für die Verdichtungen der Sekretgranula in dieser Arbeit anzunehmen. Des Weiteren beschrieben Elewa et al. (2010b) Sekretgranula, die peripher gelegene Einschlüsse aufweisen und scheinbar nicht in das Lumen sezerniert werden. Elewa et al. vermuten, dass es sich hierbei eher um sekundäre Lysosomen handelt als um Sekretgranula im eigentlichen Sinn (Elewa et al., 2010b). Sekundäre Lysosomen wurden bereits von Oliver in den Azinuszellen der Glandula parotis bei Nagetierspezies beschrieben (Oliver, 1983a; Oliver et al., 1989). Diese sind jedoch eher basal in den Zellen angeordnet und scheinen mehr mit dem RER in Verbindung zu stehen als mit dem Golgi-Apparat (Oliver, 1983a).

Die reifen Sekretgranula werden vermutlich innerhalb der Zelle über eine aus Mikrofilamenten aufgebaute netzartige Struktur, das sogenannte „terminal web“, zur apikalen Oberfläche befördert (Drenckhahn und Mannherz, 1983; Redman, 1994). Drenckhahn und Mannherz (1983) dokumentierten in der Glandula parotis des Rindes positive Reaktionen dieser Struktur mit Antikörper gegen Aktin, Myosin, Tropomyosin,

$\alpha$ -Actinin und Villin (Drenckhahn und Mannherz, 1983). Über weitere zytoskelettale Strukturen der serösen Endstückzellen der Glandula parotis ist beim Rind nur sehr wenig bekannt. Für die Untersuchungen der Basalmembran und der zytoskelettalen Zusammensetzung aller Parotissegmente wurden für diese Arbeit insgesamt 13 verschiedene Antikörper eingesetzt, die unter Punkt 3.5 im Detail erläutert werden. Der immunhistochemische Nachweis von „Smooth muscle actin“ zeigte in meinen Untersuchungen keine positiven Reaktionen der Azinuszellen, während die Reaktion für „Non muscular myosin“ über das gesamte Zytoplasma der Endstückzellen schwach bis deutlich positiv ausfiel. Der Nachweis von Tubulin zeigte in den Endstückzellen lediglich eine schwache Anfärbung des Zytoplasmas. Im Bereich der Intermediärfilamente konnte eine deutlich positive Reaktion der Endstückzellen nur auf den Antikörper gegen Cytokeratin 18 beobachtet werden. Dieses Ergebnis deckt sich auch mit den Beobachtungen von Gustafsson et al. (1988) bei der Glandula parotis des Menschen (Gustafsson et al., 1988) und von Farina und Zedda (1992) bei exokrinen Drüsen des Kaninchens (Farina und Zedda, 1992). Weiterhin wurden schwache Reaktionen für die Antikörpernachweise von Cytokeratin 5 und Pancytokeratin beobachtet. Auch für die Intermediärfilamente Vimentin und Synemin ergab sich im Bereich der Endstückzellen ein unterschiedliches Bild. Während der Antikörpernachweis von Vimentin negativ ausfiel, zeigten die serösen Endstückzellen schwach positive Reaktionen im Bereich der Endstückzellen für Synemin. Die Bindung des Antikörpers gegen Laminin zeigte sich im Bereich aller intralobulär gelegenen Strukturen besonders stark. Im Bereich der Endstückzellen umschließt die Basalmembran außerdem Myoepithelzellen, die sich dem Sekret produzierenden Epithel der Endstücke basal anlagerten.

Ultrastrukturell wurden die serösen Zellen der Glandula parotis von verschiedenen Autoren in „helle“ und „dunkle“ Zellen unterteilt (Shackleford und Wilborn, 1969; Boshell und Wilborn, 1978; Suzuki et al., 1981c). Da sich beide Zelltypen stark in ihren morphologischen Eigenschaften ähneln und nur in ihrer Elektronendichte variieren, vertreten Elewa et al. (2010b) den Standpunkt, dass dieses unterschiedliche Erscheinungsbild von der Zellzyklusphase oder des Aktivitätsstatus einer Zelle abhängig sei (Elewa et al., 2010b). Tandler et al. (1993) vermuteten dagegen, dass es sich bei den meisten als „dunkle“ Zellen bezeichneten Strukturen um durch Präfixationstraumata geschädigte seröse Endstückzellen handelt (Tandler, 1993), verweisen jedoch auch auf die Diskussion von Pinkstaff (Pinkstaff, 1980). Gemäß Pinkstaff (1980) könnte es sich bei einigen beschriebenen „dunklen“ Zellen um aktive

Komponenten des Epithels handeln. Suzuki et al. beschrieben bei verschiedenen Spezies noch einen dritten Zelltyp, den sie als „specific light cell“ bezeichneten (Suzuki et al., 1980; Suzuki et al., 1981b; Suzuki et al., 1981a; Suzuki et al., 1981c). Diese enthalten keine Seretgranula und nur wenige Mitochondrien und weisen ein stark elektronendurchlässiges Zytoplasma auf (Suzuki et al., 1981c). Die Autoren Suzuki et al. (1981c) vermuteten, dass es sich bei diesen Zellen um degenerierte seröse Endstückzellen handelt (Suzuki et al., 1981c).

### 5.1.2. Myoepithelzellen

Myoepithelzellen vereinen typische epitheliale Zellmerkmale und die für Muskelzellen charakteristische parallele Anordnung von Mikrofilamentbündeln. Sie liegen innerhalb der Basallamina des Speicheldrüsenepithels und dienen vermutlich der Kontraktion des Drüsenepithels und der Sekretion des Speichels (Redman, 1994). Bei den Wiederkäuerspezies Ziege (Elewa et al., 2010a; Elewa et al., 2010b), Schaf (Lennep et al., 1977) und Rind (Shackleford und Wilborn, 1969; Eisenbrückner, 2000) wurden sie hauptsächlich im Bereich der End- und Schaltstücke lokalisiert. Die Autoren Van Lennep et al. (1977) beschreiben bei der Glandula parotis des Schafes, dass sich die Fortsätze der Myoepithelzellen bis in den distalen Anteil der Streifenstücke erstrecken können (Lennep et al., 1977). Auch Studien humaner Speicheldrüsen zeigten Hinweise auf die Anwesenheit von Myoepithelzellen in Streifenstücken (Dardick et al., 1988; Riva et al., 1992). Die immunhistochemischen und ultrastrukturellen Untersuchungen myoepithelialer Zellen dieser Arbeit sprechen für eine vornehmliche Lokalisation der Myoepithelzellen im Bereich der End- und Schaltstücke, wobei der immunhistochemische Nachweis von „Smooth muscle actin“ Hinweise für die Ausdehnung von myoepithelialen Fortsätzen zumindest im Bereich der proximalen Streifenstücksegmente zulässt.

Aufgrund ihres hohen Gehaltes an Filamentbündeln lassen sich die Myoepithelzellen immunhistochemisch gut durch Antikörper gegen „Smooth muscle actin“ darstellen (Redman, 1994). Positive Ergebnisse für „Smooth muscle actin“ wurden für die Myoepithelzellen der Glandula parotis des Rindes bereits bei Feten und neugeborenen Kälbern dokumentiert (Miura et al., 1996; Eisenbrückner, 2000; Eisenbrückner et al., 2003). Die Ergebnisse dieser Arbeit für die Glandula parotis erwachsener Rinder ergab ebenfalls eine starke Immunfärbung der Myoepithelzellen mit dem Antikörper gegen

„Smooth muscle actin“ (Punkt 4.3.3). Sowohl im Bereich des Zelleibes als auch in den langen Fortsätzen der Myoepithelzellen zeigte sich eine homogene Verteilung des Farbstoffes (Abbildung 60, 61).

Neben Mikrofilamenten ließen sich auch Intermediärfilamente, vorallem Cytokeratine, in Myoepithelzellen nachweisen. Im Rahmen dieser Untersuchung konnten die Cytokeratine 14 und 5 in Myoepithelzellen lokalisiert werden, wobei die Reaktionsstärke des immunhistochemischen Nachweises von Cytokeratin 5 schwächer ausfiel als die Reaktion auf den Antikörper gegen Cytokeratin 14. Die Cytokeratine 14 (Burns et al., 1988; Dardick et al., 1988; Ogawa, 2003) und 5 (Burns et al., 1988; Ogawa, 2003) wurden auch in Myoepithelzellen der Glandula parotis des Menschen nachgewiesen. Außerdem wurden für die Myoepithelzellen der humanen Glandula parotis positive Ergebnisse für die Cytokeratine 4, 6 und 18 (Burns et al., 1988) sowie für die Cytokeratine 7, 17, und 19 (Gustafsson et al., 1988) dokumentiert. Ein immunhistochemischer Nachweis der Cytokeratine 7, 18 und 19 wurde auch für diese Arbeit durchgeführt, lieferte allerdings negative Ergebnisse für Myoepithelzellen. Auch Elewa et al. (2010a) beschrieben eine negative Reaktion der Myoepithelzellen auf die Antikörper gegen die Cytokeratine 17 und 18 bei der Glandula parotis von Ziegen (Elewa et al., 2010a). Die Beschreibungen des immunhistochemischen Nachweises von Vimentin in Myoepithelzellen variieren in der Literatur zum Teil sehr. Verschiedene Autoren berichten von positiven Ergebnissen für den Nachweis von Vimentin in Myoepithelzellen der Glandula parotis des Menschen (Burns et al., 1988; Gustafsson et al., 1988; Ogawa, 2003). Andere Autoren konnten Vimentin in den Speicheldrüsen des Menschen weder in den Epithelien der Glandula parotis noch in Myoepithelzellen lokalisieren (Franke et al., 1980; Gustafsson et al., 1998). Auch Elewa et al. (2010a) beschreiben Vimentin in den Myoepithelzellen der Glandula parotis der Ziege (Elewa et al., 2010a). In dieser Arbeit konnte Vimentin immunhistochemisch weder in den Epithelien der Parotissegmente noch in Myoepithelzellen nachgewiesen werden. Lektin histochemisch wurden für die Myoepithelzellen der humanen Glandula parotis eine schwache Affinität für die Lektine Con A und UEA-I beschrieben (Sobral et al., 2010). Eine schwach positive Reaktion mit dem Lektin Con A konnte auch in dieser Arbeit für Myoepithelzellen beobachtet werden. Allerdings konnte keine Reaktion der Myoepithelzellen mit den Lektinen LCA und PSA festgestellt werden, die ebenfalls eine Spezifität für D-Mannose aufweisen. Der Nachweis von L-Fukose durch das Lektin UEA-I fiel für Myoepithelzellen negativ aus. Auch die Hexosen D-Galaktose, N-Acetyl-Galaktosamin und N-Acetyl-Glukosamin konnten lektin histochemisch nicht in den

## Diskussion

---

Myoepithelzellen der Glandula parotis des Rindes dargestellt werden.

### 5.2. Gangsystem und Stroma

#### 5.2.1. Schaltstücke

Der Übergang der serösen Endstücke in das angrenzende Schaltstückepithel ist bei der Glandula parotis des Rindes durch eine abrupte Abflachung des serösen Epithels, eine Verkürzung und Verringerung des Mikrovillibesatzes sowie durch den Rückgang interzellulärer Kanälchen gekennzeichnet (Shackleford und Wilborn, 1969). Die Schaltstücke weisen ein kubisches bis sehr flaches Epithel mit einem rund bis oval erscheinenden Kern auf. Im Längsanschnitt zeigen die Schaltstücke häufig eine Verzweigung und können so gemäß der Beschreibung von Tandler et al. (1998) in distale Schaltstücke 1. Ordnung und proximale Schaltstücke 2. Ordnung unterteilt werden (Abbildung 89). Dabei erfolgt die Richtungsbezeichnung anhand des Speichelflusses. Als „proximal“ gelegen wird dabei das dem Endstück angegliederte Gangsegment bezeichnet und der Terminus „distal“ kennzeichnet den dem Streifenstück zugewandten Anteil des Schaltstückes (Tandler et al., 1998).

Das apikale Zytoplasma der Schaltstückzellen der Glandula parotis des Rindes enthält einige Vesikel mittlerer Elektronendichte, jedoch keine Sekretgranula (Suzuki et al., 1981c) wie sie bei anderen Wirbeltieren (Boshell und Wilborn, 1978; Suzuki et al., 1980; Suzuki et al., 1981a; Tandler, 1993; Tandler et al., 1998) oder beim Menschen (Riva et al., 1976) nachgewiesen werden konnten. Zahlreiche Filamentbündel durchspannen das Innere der Schaltstückzellen (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c). Ein hoher Anteil dieser Filamente besteht aus Cytokeratinen, wie immunhistochemische Untersuchungen belegen (Gustafsson et al., 1988; Farina und Zedda, 1992; Tandler et al., 1998). In den Schaltstücken der Glandula parotis von adulten Rindern konnten im Rahmen dieser Arbeit die Cytokeratine 5, 7, 8, 14, 18 und 19 lokalisiert werden. Die Filamentbündel der Schaltstücke zeigten ebenfalls eine starke Reaktion mit den eingesetzten Antikörper gegen „Non muscular myosin“ und Synemin. Auch die Tubulin-Moleküle der Mikrotubuli ließen sich deutlich positiv in Schaltstücken darstellen. „Smooth muscle actin“ konnte immunhistochemisch in den Schaltstückzellen nicht lokalisiert werden, während durch elektronenmikroskopische Untersuchungen Mikrofilamente in den Schaltstücken der Glandula parotis des Schafes (Lennep et al., 1977) und auch bei Rindern (Suzuki et al., 1981c) nachgewiesen werden konnten. Der hohe Gehalt der Schaltstückzellen an

zytoskelettalen Strukturen deutet auf eine hohe mechanische Beanspruchung dieser Gewebeabschnitte hin. In der lichtmikroskopischen Übersicht zeigten einige Schaltstücke weite Lumina bei einer gleichzeitigen Abflachung der Epithelhöhe. Bei ihrer Untersuchung der Glandula parotis des Schafes wiesen van Lennep et al. (1977) darauf hin, dass die Schaltstücke der Glandula parotis von Spezies, die einen kontinuierlichen Speichelfluss aufweisen, große Mengen Primärspeichel aus den langen tubulösen Endstücken aufnehmen müssen, was eine Erhöhung des intraluminalen Drucks zur Folge hat (Lennep et al., 1977). Der von Emmelin et al. (1975) erbrachte Nachweis, dass eine Kontraktion der Myoepithelzellen zu einer Stabilisierung des Epithelzellverbandes von End- und Schaltstücken gegen den luminalen Innendruck bei der Speichelsekretion beiträgt und gleichzeitig zu einer Lenkung des Speichelflusses in Richtung der Streifenstücke führt, unterstützt diese Beobachtungen (Emmelin et al., 1977; Tandler et al., 1998). Die Autoren van Lennep et al. (1977) vermuten weiterhin, dass das ausgeprägte Zytoskelett der Schaltstückzellen sowie ihr hoher Gehalt an Tonofilamentbündeln dem Epithel die nötige Stabilität und Flexibilität geben, um von einer flachen, gedehnten Zellform bei der Speichelsekretion in das ursprünglich kubische Epithel zurückzukehren (Lennep et al., 1977). Auch der Nachweis von Laminin 5 in den Basalmembranen der humanen Speicheldrüsen deutet gemäß Strassburger et al. (1998) auf eine höhere mechanische Beanspruchung der Gangsegmente im Vergleich zu den Endstücken hin (Strassburger et al., 1998). Die immunhistochemische Untersuchung von Laminin ergab auch in dieser Arbeit eine deutlich stärkere Anfärbung der Basalmembranen intralobulär gelegener Strukturen.

Die Autoren Tandler et al. (1998) vermuten, „ dass die Bedeutung der Schaltstücke über ihre Funktion als Transportkanal für den in den Endstücken gebildeten Primärspeichel hinausgeht und dass die Zusammensetzung des Speichels durch Sekretion und Resorption von Glykoproteinen aktiv beeinflusst wird“ (Tandler et al., 1998). Einen Hinweis darauf sehen Tandler et al. (1998) darin, dass auf der apikalen Schaltstückoberfläche zahlreiche Glykokonjugate lektinhistochemisch nachgewiesen werden konnten (Schulte et al., 1985; Jezernik und Pipan, 1989; McMahon et al., 1989b; Accili et al., 1992; Gargiulo et al., 1993b, a; Pedini et al., 1994; Pedini et al., 1997; Sozmen et al., 1999). Bei der Glandula parotis des Hundes konnten D-Mannose, N-Acetyl-Galaktosamin und N-Acetyl-Glukosamin an der apikalen Oberfläche von Schaltstückzellen nachgewiesen werden (Pedini et al., 1994; Sozmen et al., 1999). Unterschiede zeigten sich bei diesen Untersuchungen in der Affinität für Lektine gegen

L-Fukose. Die Autoren führen diese auf die nominale Spezifität der von ihnen eingesetzten Lektine LTA und TGP auf N-glykosidisch gebundene Fukose zurück, während UEA-I nur O-glykosidisch gebundene L-Fukose anzeigt (Pedini et al., 1994; Sozmen et al., 1999). Die Autoren Gargiulo et al. (1993b) konnten dagegen an der Oberfläche der Schaltstückzellen bei der Glandula parotis von Pferden ohne Vorbehandlung des Gewebes durch Enzyme nur N-Acetyl-Galaktosamin durch das Lektin SBA nachweisen (Gargiulo et al., 1993b). Durch die lektinhistochemischen Untersuchungen dieser Arbeit konnten N-Acetyl-Galaktosamin-Moleküle durch die Lektine SJA, GSL-I, SNA sowie N-Acetyl-Glukosamin durch die Lektine WGA und WGA succinylated an der luminalen Oberfläche der Schaltstückzellen nachgewiesen werden. Außerdem zeigten sich positive Reaktionen der apikalen Oberfläche für Sialinsäuren und komplexe N-Glykanstrukturen durch die Lektine MAA-I und PHA-E. Im Zytoplasma der Schaltstückzellen konnte lediglich D-Mannose durch das Lektin Con A lokalisiert werden. Auch L-Fukose-Moleküle ließen sich durch das Lektin UEA-I an der apikalen Oberfläche der Schaltstückzellen in geringer Zahl nachweisen. Obwohl sich die in dieser Arbeit an der Oberfläche von Schaltstückzellen nachgewiesenen Zuckerstrukturen mit den Ergebnissen der oben erwähnten Autoren weitgehend decken, ist zu bemerken, dass für den lektinhistochemische Nachweis von N-Acetyl-Galaktosamin in dieser Arbeit weder durch das Lektin DBA noch SBA ein positives Ergebnis erzielt werden konnte. Diese beiden Lektine zeigten jedoch bei den genannten Untersuchungen der Glandula parotis von Hunden (Pedini et al., 1994; Sozmen et al., 1999) positive Ergebnisse. Auch die Untersuchung der Glandula parotis von Pferden durch Gargiulo et al. (1993b) beschreibt eine positive Reaktion mit dem Lektin DBA.

### 5.2.2. Streifenstücke

Der Übergang von den Schaltstücken mit isoprismatischem Epithel in die Streifenstücke erfolgt beim Rind durch einen kontinuierlichen Anstieg der Zellhöhe (Shackleford und Wilborn, 1969). Das Streifenstückepithel setzt sich aus den hochprismatischen Hauptzellen zusammen und aus einer Reihe von Basalzellen, welche jedoch keine Verbindung zum Lumen aufweisen. Die Oberfläche der Hauptzellen stellt sich im tierartigen Vergleich vielgestaltig dar (Tandler et al., 2001). Im Gegensatz zu anderen Spezies, bei denen an der apikalen Oberfläche von Streifenstückzellen der Glandula parotis ein Mikrovillibesatz beschrieben wurde, wie

beispielsweise bei Hunden (Suzuki et al., 1980), Pferden (Suzuki et al., 1981b), oder Schafen (Lennep et al., 1977), zeigt die apikale Oberfläche der Hauptzellen der Streifenstücke des Rindes keine Mikrovilli. Die Streifenstückzellen der Glandula parotis des Rindes erscheinen an der Oberfläche entweder flach bis leicht eingefaltet (Suzuki et al., 1981c) oder bilden kugelförmige, blasenartige Ausstülpungen des Zytoplasmas aus, die in der Literatur häufig als „apical blebs“ bezeichnet werden (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c; Tandler et al., 2001). Während einige Autoren vermuten, dass diese Formationen bei der aktiven Sekretion der Streifenstückzellen auftreten (Suzuki et al., 1981a) weisen die Autoren Tandler et al. (2001) darauf hin, dass sogenannte „apical blebs“ vor allem bei Immersionsfixierten Proben aber nicht bei Perfusionsfixierung der Gewebe auftraten und es sich somit vermutlich um eine Artefaktbildung handelt (Tandler, 1993; Tandler et al., 2001). Lektinhistochemisch zeigte die Glykokalix der Streifenstücke starke Reaktionen auf viele der in dieser Arbeit eingesetzten Lektine. An der lumenseitigen Zellmembran konnten die Hexosen D-Mannose, N-Acetyl-Galaktosamin, N-Acetyl-Glukosamin, L-Fukose und D-Galaktose nachgewiesen werden, wobei die Reaktionen der eingesetzten Lektine, die eine Affinität für D-Galaktose aufweisen (ECA, PNA) nur schwach ausfiel und im Fall des Lektins RCA sogar negativ war. Außerdem zeigte sich eine deutliche Fluoreszenz für die Lektine PHA-E, das komplexe N-Glykanstrukturen anzeigt und für das Lektin MAA-I, das ein Marker für Sialinsäuren ist. Auch in der Glandula submandibularis von adulten Rindern wurden D-Galaktose, N-Acetyl-Galaktosamin und N-Acetyl-Glukosamin an der Oberfläche der Streifenstückzellen nachgewiesen (Menghi et al., 1992). Allerdings verwendeten die Autoren Menghi et al. (1992) für den Nachweis von N-Acetyl-Galaktosamin die Lektine DBA und SBA, die in den Untersuchungen meiner Arbeit negative Ergebnisse lieferten, obwohl N-Acetyl-Galaktosamin-Strukturen an der Oberfläche durch die Lektine GSL-I und SJA angefärbt werden konnten. Die Autoren Gargiulo et al. (1993a) beschrieben bei ihren Untersuchungen der Glandula lingualis von adulten Rindern ebenfalls positive Ergebnisse für D-Galaktose und N-Acetyl-Galaktosamin an der luminalen Zellmembran der Streifenstückzellen, konnten jedoch weder L-Fukose durch das Lektin UEA-I noch N-Acetyl-Glukosamin mit dem Lektin WGA nachweisen (Gargiulo et al., 1993a). Die lektinhistochemischen Untersuchungen mit diesen beiden Lektinen ergaben in dieser Arbeit deutlich positive Ergebnisse. An der Oberfläche der Hauptzellen der Glandula parotis des Hundes konnten die Lektine D-Mannose, L-Fukose, N-Acetyl-Galaktosamin und N-Acetyl-Glukosamin nachgewiesen werden. Lektinhistochemische Untersuchungen durch das Lektin PNA

ergaben jedoch in beiden hier erwähnten Studien negative Ergebnisse (Pedini et al., 1994; Sozmen et al., 1999). In dieser Arbeit zeigte die luminaire Streifenstückoberfläche der Glandula parotis des Rindes eine schwache Reaktion auf das Lektin PNA. Die Autoren Gargiulo et al. (1993b) konnten an der luminalen Gangoberfläche der Streifenstückzellen der Glandula parotis des Pferdes lediglich N-Acetyl-Galaktosamin-Strukturen durch das Lektin DBA nachweisen (Gargiulo et al., 1993b).

Wie die serösen Endstückzellen zeigen auch die Hauptzellen der Streifenstücke bei vielen Tierarten morphologische und funktionelle Unterschiede zwischen ihrer apikalen und basalen Zellarealen. Die apikale Zellhälfte ist vor allem durch das Auftreten von zahlreichen Vesikeln und Sekretgranula gekennzeichnet. Nach der Meinung der Autoren Tandler et al. (2001) spricht dies dafür, dass die Streifenstücke nicht nur eine Rolle bei der Homöostase der Speichелеlektrolyte spielen, sondern die Zusammensetzung des Speichels maßgeblich durch die aktive Sekretion verschiedener Produkte modifizieren. Bei der Glandula parotis des Rindes sind elektronenmikroskopisch in den Hauptzellen der Streifenstücke zahlreiche runde, elektronendichte Granula und einige vesikuläre Strukturen („microbodies“) (Abbildung 96), die vermutlich Peroxisomen oder Lysosomen darstellen, im apikalen Bereich der Hauptzellen zu erkennen. Ob es sich bei den beschriebenen Strukturen um Peroxisomen oder Lysosomen handelt, müsste jedoch durch den Nachweis von spezifischen lysosomalen und peroxisomalen Enzymen verifiziert werden.

Die Verschmelzung von Glykoprotein-transportierenden Vesikeln mit der apikalen Streifenstückoberfläche wurde bereits bei der Glandula parotis der Ratte nachgewiesen (Hand, 1979; Tandler et al., 2001). Auch der lektin histochemische Nachweis von N-Acetyl-Glukosamin durch das Lektin WGA zeigte innerhalb dieser Arbeit deutliche positive Reaktionen sowohl für die apikal gelegenen Granula, als auch für die lumenseitige Oberfläche der hochprismatischen Streifenstückzellen. Tandler et al. (2001) weisen in diesem Zusammenhang außerdem auf eine Studie von Corthesy und Kraehenbuhl (1999) hin, die zeigen konnten, dass Streifenstückzellen, neben ihren eigenen Sekretionsprodukten auch Immunoglobulin A sezernieren, das von den umliegenden Plasmazellen des MALT („mucosa associated lymphatic tissue“) gebildet und über basale Rezeptormoleküle in die Streifenstückzellen aufgenommen wird. Das Immunoglobulin A wird über transzytotische Prozesse an der apikalen Zellmembran der Streifenstückzellen in den Speichel abgegeben (Corthesy und Kraehenbuhl, 1999; Tandler et al., 2001). Neue Untersuchungen deuten allerdings darauf hin, dass die

Glandula parotis des Rindes im Gegensatz zu der Glandula parotis des Menschen und der Glandula parotis der Ratte kein Immunglobulin A in den Speichel abgibt. Das Immunglobulin A im Speichel von Rindern stammt vermutlich aus der Glandula sublingualis und der Glandula submandibularis (Sakaguchi et al., 2013). Neben sekretorischen Prozessen wird den Streifenstücken der großen Speicheldrüsen auch endozytotische Aktivität zugesprochen (Tandler et al., 2001). Sie können bestimmte Stoffe aus dem Lumen aufnehmen und lysosomal abbauen (Hand et al., 1987; Tandler et al., 2001). Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen dieser Arbeit zeigten einige Peroxisomen ähnliche Strukturen in den Streifenstückzellen der Glandula parotis adulter Rinder, was diese These unterstützt.

Verschiedene Autoren wiesen elektronenmikroskopisch neben zahlreichen Sekretvesikeln auch ausgeprägte Tonofilamentbündel in der apikalen Zellhälfte der Hauptzellen der Streifenstücke bei adulten Rindern nach (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c). Die immunhistochemischen Untersuchungen dieser Arbeit zeigten, dass sich die Cytokeratine 7, 8 und 19 unterhalb der luminalen Oberfläche der Hauptzellen wesentlich stärker anreicherten als in den eher basal gelegenen Zellregionen. Außerdem konnten in den Hauptzellen die Cytokeratine 5, 14 und 18 nachgewiesen werden. Auch die immunhistochemische Untersuchung von Mikrotubuli durch Antikörper gegen das Molekül Tubulin lieferten bei drei Probetieren stärkere Reaktionen des apikalen Zytoplasmas. Die Antikörpernachweise des Intermediärfilamentproteins Synemin und von „Non muscular myosin“ erbrachten ebenfalls positive Ergebnisse, während „Smooth muscle actin“ immunhistochemisch nicht in den Hauptzellen der Streifenstücke lokalisiert werden konnte.

Des Weiteren wurden in der Literatur Anreicherungen von Glykogenpartikeln in den Streifenstücken des Hundes und beim Menschen beschrieben (Riva et al., 1976; Sozmen et al., 1999). Auch die Untersuchungen von A. Eisenbrückner (2000) zeigten Ansammlungen von Glykogen in Streifenstückzellen der Glandula parotis von Rindern während der Embryonalentwicklung und bei neugeborenen Kälbern, wobei die Menge des vorhandenen Glykogens mit fortschreitender Entwicklung abnahm (Eisenbrückner, 2000). Mittels Durchführung einer Perjodsäure-Schiff-Reaktion mit kombiniertem Vorverdau des Gewebes durch das Enzym  $\alpha$ -Amylase konnten auch von mir Ansammlungen von Glykogenpartikeln in der Region oberhalb des Nukleus in den Hauptzellen der Streifenstücke nachgewiesen werden. Allerdings stellten sich fixierungsbedingte Unterschiede heraus. Die in (PBS) 4%-gepuffertem Formalin

fixierten Gewebeproben zeigten eine deutlich höhere Sensitivität für die Perjodsäure-Schiff-Reaktion als die in Bouin'scher Lösung fixierten Proben. Diese könnten gemäß den Angaben von Schneyer et al. (1972) als Energiereserven für die zahlreichen Mitochondrien der Streifenstückzellen dienen (Schneyer et al., 1972; Sozmen et al., 1999).

Mitochondrien sind die vorherrschenden Zellorganellen der Streifenstücke und liegen vor allem in ihrer basalen Hälfte. Dieser Zellbereich ist von einer starken Einfaltung der basalen Zellmembran geprägt. Die Autoren Riva et al. (1976) beschrieben bei der humanen Glandula parotis starke Falten der basalen Zellmembran, die teilweise in einem 90°-Winkel zur Basalmembran ausgerichtet sind. Die Lagen der einzelnen Einfaltungen sind über Desmosomen miteinander verknüpft und führen zu einer Unterteilung des basalen Zytoplasmas in rinnenförmige Kompartimente. Diese Zellbereiche werden von vertikal angeordneten Mitochondrien nahezu ausgefüllt, die teilweise eine stabförmige Gestalt aufweisen (Riva et al., 1976). Lichtmikroskopisch entsteht dadurch das Bild der charakteristischen basalen Längsstreifung der hochprismatischen Streifenstückzellen (Tandler et al., 2001). Anders als bei Hunden (Suzuki et al., 1980), Pferden (Suzuki et al., 1981b), Ziegen (Suzuki et al., 1981a), Schafen (Lennep et al., 1977) und Schweinen (Boshell und Wilborn, 1978) zeigen die Streifenstücke der Glandula parotis des Rindes eine schwache Ausprägung der basalen Einfaltungen, obwohl diese in einigen Zellbereichen dennoch erkennbar ist (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c). Die basalen Falten der hochprismatischen Streifenstückzellen wiesen in dieser Arbeit eine schwache Affinität für die Lektine WGA und WGA succinylated auf, welche eine nominale Spezifität für N-Acetyl-Glukosamin besitzen (Abbildung 51).

Frühere Annahmen, dass die Hauptzellen der Streifenstücke vor allem an der Resorption und Sekretion von Flüssigkeit beteiligt sind, werden heute von einigen Autoren in Frage gestellt (Riva et al., 1976; Baum, 1993). Vielmehr vermuten viele Autoren heute, dass die Hauptaufgabe der Streifenstücke darin liegt, die Osmolarität des Speichels durch aktiven Elektrolyttransport und die Sekretion von eigenen produzierten Substanzen zu beeinflussen (Riva et al., 1976; Tandler, 1993; Tandler et al., 2001). Der Speichel wird in einem zweistufigen Prozess gebildet. Der in den Endstücken gebildete Primärspeichel weist eine Plasma ähnliche Osmolarität auf. In den Gangabschnitten erhält der Primärspeichel durch den Austausch von Elektrolyten sowie teilweise durch die Abgabe, der in den Streifenstückzellen produzierten Stoffe eine hypotone Qualität (Thaysen et al., 1954; Paulais et al., 1994; Zhao et al., 1995).

Bei diesem Vorgang resorbieren die Gangabschnitte  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$ -Ionen und sekretieren  $\text{K}^+$  und  $\text{HCO}_3^-$ -Ionen. Enzyme, die für den transzellulären Transport von Elektrolyten benötigt werden, wurden bereits zahlreich in den Streifenstücken der Speicheldrüsen nachgewiesen. Im Bereich der basalen Einfaltungen der Streifenstückzellen konnten zahlreiche  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPasen nachgewiesen werden (Bundgaard et al., 1977; Winston et al., 1988). Die basalen Einfaltungen bilden eine nötige Oberflächenvergrößerung für die vielen Transportenzyme. An der apikalen Zellmembran der Streifenstückzellen der humanen Glandula submandibularis beschrieben die Autoren Zhao et al. (1995)  $\text{K}^+$ -gesteuerte Transportmechanismen für  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$  und  $\text{HCO}_3^-$ -Ionen (Zhao et al., 1995). Carboanhydrase-Enzyme, die über  $\text{HCO}_3^-$ -Ionen und  $\text{H}^+$ -Ionen transmembranöse Transportprozesse und Molekülsekretion steuern sowie Kallikrein, das an der Kontrolle des Elektrolyt- und Wassertransportes, der Regulation der Speicheldrüsen-durchblutung und der Speichelsekretion beteiligt ist, konnten bereits in den Gangabschnitten der Speicheldrüsen verschiedener Spezies und auch beim Menschen nachgewiesen werden (Asari et al., 1994; Tandler et al., 2001; Tandler et al., 2006; Mau et al., 2010).

Elektronenmikroskopisch werden die Hauptzellen der Streifenstücke der Glandula parotis des Rindes, ähnlich den serösen Zellen der Endstücke, von einigen Autoren in „helle“ und „dunkle“ Zellen unterteilt (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c). Das Auftreten von „dunklen“ Zellen wurde bereits eingehend diskutiert. Einige Autoren vermuten, dass es sich hierbei entweder um Fixierungsartefakte handelt, die durch Präfixationstraumata entstanden sind (Tandler et al., 2001) oder dass die unterschiedliche Elektronendichte durch unterschiedliche Funktions- oder Reifungsstadien der Streifenstückzellen bedingt ist (Tandler et al., 2001; Elewa et al., 2010b). Die Autoren Suzuki et al. (1998c) beschreiben beim Rind außerdem einen sogenannten „spezifisch hellen“ Streifenstückzelltyp und gehen davon aus, dass es sich um degenerative Hauptzellen handelt (Suzuki et al., 1981c).

Neben den hochprismatischen Hauptzellen kommt im Streifenstück der Glandula parotis des Rindes eine diskontinuierliche Lage von Basalzellen vor. Diese treten in zwei unterschiedlichen Formen auf. Einige Basalzellen weisen eher eine kubische Form auf und besitzen einen großen zentralständigen, runden Nukleus, während andere Basalzellen eher durch einen dreieckigen Querschnitt und einen kleineren, verformten Zellkern gekennzeichnet sind. Auch die Autoren Boshell und Wilborn (1978) beschrieben bei ihren Untersuchungen der Glandula parotis des Schweines ähnliche

Ausprägungen der Basalzellen (Boshell und Wilborn, 1978). Beim Menschen und bei einigen tierischen Spezies bilden die Basalzellen unregelmäßige Zytoplasmafortsätze aus, die das Epithel mit der Basalmembran verankern (Riva et al., 1976; Tandler, 1993). In der Literatur wird vor allem ihr hoher Gehalt an Filamentbündeln als charakteristisches Merkmal beschrieben (Shackleford und Wilborn, 1969; Suzuki et al., 1981c; Tandler, 1993; Eisenbrückner, 2000). Ein großer Anteil dieser Filamente wird von Cytokeratinen gebildet. In der humanen Glandula parotis konnten bereits die Cytokeratine 4, 5, 6, 13, 14, 16, 17, 18 und 19 nachgewiesen werden (Burns et al., 1988; Dardick et al., 1988). Auch bei Hunden beschrieben die Autoren Sozmen et al. (1998) positive Reaktionen der Basalzellen der Streifenstücke für die Cytokeratine 5, 6, 8, 17 und 19 (Sozmen et al., 1998). Mittels immunhistochemischer Methoden konnten in den Basalzellen der Streifenstücke in dieser Arbeit bei adulten Rindern die Cytokeratine 5, 7, 8, 14, 18 und 19 lokalisiert werden. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass der immunhistochemische Nachweis von Cytokeratin 8 nur eine schwache Reaktion zeigte, während der Nachweis von Cytokeratin 14 besonders stark ausfiel. Diese Ergebnisse decken sich mit den Erkenntnissen anderer Autoren bei verschiedenen Spezies. Weitere Untersuchungen von zytoskelettalen Strukturen durch immunhistochemische Methoden bestätigten das Vorkommen von Synemin-, Tubulin- und „Non muscular myosin“-Molekülen. Allerdings zeigten die Basalzellen keine Reaktion auf den Antikörper gegen „Smooth muscle actin“. Lektin histochemisch konnte lediglich D-Mannose im Zytoplasma der Basalzellen durch das Lektin Con A nachgewiesen werden. Alle weiteren in dieser Arbeit eingesetzten Lektine lieferten negative Ergebnisse. Die Funktion der Basalzellen ist noch weitestgehend unklar. Frühere Vermutungen, dass die Basalzellen pluripotente Reservezellen für hochprismatische Hauptzellen darstellen oder eine myoepitheliale Funktion besitzen (Dardick et al., 1988), werden heute in Frage gestellt (Tandler, 1993). Basalzellen zeigen zwar einige Ähnlichkeiten zu Myoepithelzellen in der Expression von Cytokeratinen, sind jedoch in ihrer Morphologie doch sehr unterschiedlich (Riva et al., 1992). Die starke Ausprägung von zytoskelettalen Strukturen und der Ausbildung von Zellausläufern, die zu einer Verankerung des Epithels mit der Basalmembran führen, weisen auf eine epithelstabilisierende Funktion der Basalzellen hin.

In der Literatur wird ein weiterer Basalzelltyp für die Glandula parotis des Rindes beschrieben. Im Jahr 1962 erwähnten die Autoren Shackleford und Klapper in den Streifenstücken der Glandula parotis von Rindern vorkommende Basalzellen, die sie als „intra-striated duct cells“ bezeichneten. Diese wurden als stark metachromatisch

erscheinende Zellen beschrieben, die Mastzellen ähneln und sich nicht gut durch die Perjodsäure-Schiff-Reaktion anfärben lassen (Shackleford und Klapper, 1962). Auch die Autoren Suzuki et al. (1981) wiesen bei ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung der Glandula parotis adulter Rinder auf diese auch als „spezielle Basalzellen“ bezeichnete („special basal cells“) Zellen hin (Suzuki et al., 1981c). Die Autoren Gurusinghe und Birtles (1985) berichten von polymorphen Basalzellen in den Streifenstücken der bovinen Glandula parotis, die zahlreiche „basophile“ und „azidophil metachromatische“ Granula enthalten und vergleichen diese mit den „globulären Leukozyten“ (Schollenleukozyten) des Verdauungstraktes, die vermutlich von Mastzellen abstammen (Kent, 1952; Gurusinghe und Birtles, 1985; Dahme, 2007). Ähnliche Zellen wurden auch in der Glandula parotis von Schafen nachgewiesen (Lennep et al., 1977). Auch in dieser Arbeit zeigten sich in den Streifenstücken der Glandula parotis adulter Rinder solche polymorph geformten, stark granulierte Zellen. Diese wiesen ebenfalls eine basale Lage im Streifenstückepithel auf und zeigten keine Verbindung zum Lumen. Sie enthielten einen runden Zellkern und zahlreiche zytoplasmatische Granula, die sich nur schwach mit Alcianblau anfärbten (Abbildung 17). Immunhistochemisch zeigten diese Zellen als einziger epithelialer Zelltyp eine Reaktion auf den Nachweis von Vimentin (Abbildung 71), was auf einen mesenchymalen Ursprung dieser Zellen hinweist. In der Umhüllung der zahlreichen Granula konnten lektinhistochemisch N-Glykane durch das Lektin PHA-E, D-Galaktose/ N-acetyl-Galaktosamin durch das Lektin SNA (Abbildung 44) und D-Mannose durch das Lektin LCA nachgewiesen werden (Abbildung 29). Die Untersuchungen erbrachten bei den eben genannten Lektinen eine sehr starke Fluoreszenz, während die mit anderen Lektinen durchgeführten lektinhistochemischen Nachweise durchwegs negative Ergebnisse lieferten. Die „speziellen Basalzellen“ konnten in den Streifenstücken aller untersuchten Probetiere beobachtet werden, obwohl sich deutliche Unterschiede in der Anzahl der auftretenden Zellen nicht nur zwischen den einzelnen Tieren, sondern auch innerhalb eines untersuchten Drüsenkomplexes zeigten. Bei den Probetieren, die besonders viele „spezielle Basalzellen“ in den Streifenstücken aufwiesen, konnte außerdem eine höhere Anzahl von Mastzellen im Stroma beobachtet werden. Es konnte kein Hinweis auf sexualdimorphe Unterschiede nachgewiesen werden; Vielmehr wird ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der „speziellen Basalzellen“ und dem Immunstatus der Tiere vermutet. Es ist bereits bekannt, dass Zellen des mononukleären Phagozytosesystems, dendritische Zellen, Lymphozyten und

Plasmazellen in den Epithelien der intra- und interlobulär gelegenen Gangabschnitte der großen Speicheldrüsen vorkommen (Pappo et al., 1988; Stasulis und Hand, 2003; Elewa et al., 2010b; Le et al., 2011). Intraepitheliale Mastzellen in den Streifenstücken von Speicheldrüsen wurden bei Schafen (Lennep et al., 1977), Ziegen (Elewa et al., 2010b) und einigen Wildwiederkäuerarten (Stolte und Ito, 1996) beschrieben. In dieser Arbeit konnten intraepithelial gelegene Mastzellen nicht beobachtet werden.

### 5.2.3. Ausführungsgänge

Die Streifenstücke der Glandula parotis gehen kontinuierlich in die interlobulär gelegenen Ausführungsgänge über. Diese zeigen am Übergang zu den Streifenstücken noch Ansätze einer basalen Streifung (Tandler et al., 2006). Die Ausführungsgänge der Glandula parotis des Rindes besitzen ein mehrschichtiges Epithel, das in den proximalen (dem Streifenstück angrenzenden) Gangabschnitten meist zwei Zelllagen aufweist. Die Anzahl der Zellschichten erhöht sich kontinuierlich mit der Zunahme des Lumendurchmessers und der Entfernung der Ausführungsgänge von den Drüsenlobuli. Im Durchschnitt wiesen die großen interlobulär gelegenen Ausführungsgänge drei bis fünf Zellschichten auf. Alle Ausführungsgänge liegen extralobulär und werden von einer Schicht kollagenem Bindegewebe umhüllt (Tandler et al., 2006). Dieser bindegewebige Mantel enthält zahlreiche Blutgefäße, Nerven und Lymphgefäße. Luminale und basale Epithelabschnitte weisen funktionelle und morphologische Unterschiede auf.

Die luminalen Zellen sind vermutlich ähnlich wie die Hauptzellen des Streifenstückes an der Resorption von Elektrolyten aus dem Speichel und der Sekretion von Makromolekülen beteiligt (Tandler et al., 2006). An der apikalen Oberfläche der luminal gelegenen Hauptzellen der Ausführungsgänge konnten in dieser Arbeit D-Mannose durch die Lektine Con A, LCA und PSA, N-Acetyl-Galaktosamin durch die Lektine GSL-I und SJA, N-Acetyl-Glukosamin durch die Lektine WGA und WGA succinylated sowie Sialinsäure-Moleküle durch das Lektin MAA-I nachgewiesen werden. Die lektinhistochemischen Nachweise von D-Mannose durch das Lektin Con A und N-Glykanstrukturen durch das Lektin PHA-E erbrachten positive Reaktionen des Zytoplasmas der Epithelzellen der Ausführungsgänge. D-Galaktose konnte in den Ausführungsgangzellen der Glandula parotis adulter Rinder nicht lokalisiert werden. Ein besonderes Merkmal der Ausführungsgangzellen ist ihr hoher Gehalt an

Cytokeratinen. Diese sind bereits bei vielen Säugetierarten sowie auch beim Menschen untersucht worden (Gustafsson et al., 1988; Sozmen et al., 1998; Tandler et al., 2006). In dieser Arbeit konnten immunhistochemisch die Cytokeratine 5, 7, 8, 14, 18 und 19 sowie eine sehr starke Reaktion auf den Antikörper gegen Pancytokeratin nachgewiesen werden. Auch die Antikörpernachweise weiterer zytoskelettaler Proteinstrukturen wie „Non muscular myosin“, Synemin und Tubulin erbrachten positive Ergebnisse. „Smooth muscle actin“ sowie Vimentin ließen sich in den Epithelzellen der Ausführungsgänge nicht anfärben.

Basal angeordnete Zellen zeigen zwar die gleiche Cytokeratinexpression wie luminal gelegene Zellen, weisen jedoch ähnlich wie die Basalzellen der Streifenstücke eine stärkere immunhistochemische Reaktion mit dem Antikörper gegen Cytokeratin 14 auf. Auch lektinhistochemisch weichen die Basalzellen von den luminal gelegenen Zellen ab. Im Gegensatz zu den oberen Zellschichten konnte innerhalb des Zytoplasmas der Basalzellen lediglich D-Galaktose durch das Lektin SNA nachgewiesen werden, das keine Reaktion bei luminalen Zellen hervorrief (Abbildung 45). Ähnlich wie bei den Basalzellen der Streifenstücke wird auch über die Funktion der Basalzellen von Ausführungsgängen diskutiert. Die genaue Funktion ist jedoch immer noch unklar. Die Autoren Tandler et al. (2006) vermuten, dass die Hauptfunktion der Basalzellen die Stabilisierung und Verknüpfung des Epithelverbandes mit der Basalmembran ist (Tandler et al., 2006).

In den distalen Gangabschnitten der Glandula parotis des Rindes treten zahlreiche Becherzellen auf. Diese enthalten stark PAS- und Alcianblau-positive Glykokonjugate (Abbildung 18). Lektinhistochemisch konnte D-Mannose durch die Lektine Con A, LCA und PSA nachgewiesen werden sowie N-Acetyl-Glukosamin durch die Lektine WGA und WGA succinylated. Außerdem zeigten die Becherzellen Ansammlungen von L-Fukose und Sialinsäuren. D-Galaktose sowie N-Glykane konnten nicht in Becherzellen nachgewiesen werden. Immunhistochemisch zeigten die Becherzellen eine positive Reaktion auf den Antikörper gegen Laminin. Die starken Ansammlungen von Becherzellen geben muköse Stoffe in den serösen Speichel der Drüsenlobuli ab.

### 5.2.4. Stroma

Die Glandula parotis des Rindes ist von einer starken bindegewebigen Kapsel umhüllt, deren Trabekel das Drüsenparenchym in Lobi und kleinere Lobuli unterteilen. Das interstitielle Bindegewebe besteht zu einem großen Anteil aus kollagenen Fasern, wobei auch feine, elastische Fasern das Gewebe netzartig durchziehen. Kollagene und elastische Bindegewebsfasern umgeben alle Abschnitte des Drüsenparenchyms sowie die im Stroma eingebetteten großen Ausführungsgänge und Nerven, Blut- und Lymphgefäße. Das interstitielle Bindegewebe zeigte starke Reaktionen auf das Lektin LCA, das eine nominale Spezifität für das Monosaccharid D-Mannose aufweist. Außerdem wurden D-Galaktose, N-Acetyl-Galaktosamin, L-Fukose und N-Glykanstrukturen durch Untersuchungen mittels der Lektine DBA, RCA, SNA, UEA-I, PHA-E und PHA-L nachgewiesen werden.

Im interstitiellen Bindegewebe verlaufen die interlobulären Ausführungsgänge der Glandula parotis, sowie Blutgefäße, Nerven und Lymphgefäße. Eine immunhistochemische Studie von Aiyama et al. (2011) der Speicheldrüsen von Ratten wies eine Verteilung der Lymphgefäße im Bereich der interlobulären Ausführungsgänge, Arterien und Venen im Stroma der großen Speicheldrüsen nach (Aiyama et al., 2011). Die Speicheldrüsen sind stark vaskularisiert. Größere Arterien und Venen liegen allerdings ausschließlich im Bereich der Ausführungsgänge und der distalen Anteile von Streifenstücken vor. Im Stroma der Lobuli sind lichtmikroskopisch zahlreiche fenestrierte Kapillaren und kleinere Arteriolen und Venolen erkennbar (Tandler, 1993). Die lektinhistochemischen Untersuchungen mit dem Lektin GSL-I zeigten eine Besonderheit in der Verteilung der Lektinaffinität zwischen arteriellen und venösen Blutgefäßen. Während Kapillarendothelzellen und die Tunica intima arterieller Gefäße eine starke Fluoreszenz aufwiesen, reagierten venöse Gefäße nicht auf das Lektin. Weitere positive Reaktionen der Tunica Intima aller Gefäßabschnitte konnten bei den lektinhistochemischen Nachweisen durch die Lektine LCA, Con A, PHA-E und SNA verzeichnet werden. Immunhistochemisch konnten positive Reaktionen der Gefäßstrukturen der Glandula parotis für die Cytokeratine 5, 14 und 18 beobachtet werden. Diese zeigten sich vereinzelt auch im Stroma um End- und Schaltstücke. Es ist bereits bekannt, dass Mastzellen, Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen und dendritische Zellen im Interstitium der Speicheldrüsen vorkommen (Stasulis und Hand, 2003; Elewa et al., 2010b). Auch in dieser Arbeit konnten zahlreiche Mastzellen durch die Färbung mit Alcianblau 8GX (Abbildung 18) und durch Transelektronenmikroskopie

(Abbildung 98 und 99) im interstitiellen Bindegewebe, vorallem in der Umgebung von Ausführungsgängen und Streifenstücken, nachgewiesen werden.

In der Nähe von Ausführungsgängen und Blutgefäßen verlaufen im interstitiellen Bindegewebe der Glandula parotis zahlreiche Nerven. Es handelt sich um nicht myelinisierte Nervenfasern, die von Schwann-Zellen umgeben werden. Diese Schwann-Axon-Bündel nehmen Nervenfasern unterschiedlicher Qualitäten auf (Garrett und Kidd, 1993). Die Speichelsekretion wird sowohl durch sympathische als auch parasympathische Stimuli beeinflusst. Es wird vermutet, dass sympathische Impulse durch den Neurotransmitter Noradrenalin zu einer erhöhten Proteinsekretion führen, während Acetylcholin-vermittelte parasympathische Stimuli eher zu einer höheren Sekretion von Wasser beitragen (Baum, 1993). Auch die Kontraktion von Myoepithelzellen scheint sowohl durch sympathische als auch parasympathische Einflüsse gesteuert zu sein (Garrett und Kidd, 1993).

## 6. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Glandula parotis adulter Rinder (*Bos taurus*) anhand konventioneller lichtmikroskopischer, lektinhistochemischer und immunhistochemischer Methodik sowie ultrastrukturell durch Transelektronenmikroskopie untersucht und beurteilt.

Bei der Glandula parotis des Rindes handelt es sich um eine rein seröse, exokrine Drüse. Die Endstücke werden von einem einschichtigen Epithel aus pyramidal bis isoprismatisch geformten Zellen gebildet. Charakteristisch für das Rind sind relativ weit geöffnete Lumina der Endstücke sowie deren tubulöse Anordnung. Im Gesamterscheinungsbild zeigten die Endstückzellen zahlreiche Merkmale, die auf einen hohen Flüssigkeitstransport hinweisen. Wichtige Oberflächenmerkmale der serösen Endstückzellen sind ein dichter Besatz langgezogener Mikrovilli ebenso wie die Ausprägung von interzellulären Kanälchen und Interzellularspalten zwischen benachbarten Endstückzellen. Im apikalen Zytoplasma beinhalten die Endstückzellen zahlreiche Sekretgranula. Lektinhistochemisch konnten D-Mannose und N-Acetylglukosamin im Zytoplasma und an der apikalen Oberfläche der Endstückzellen nachgewiesen werden. Die apikale Zellmembran zeigte außerdem positive Reaktionen für den lektinhistochemischen Nachweis von N-Glykanstrukturen und Neuraminsäuren. Bei den immunhistochemischen Untersuchungen der zytoskelettalen Strukturen der serösen Endstückzellen wurden die Cytokeratine 5 und 18 nachgewiesen. Die Nachweise von Tubulin, Synemin und „Non muscular myosin“ zeigten nur schwache Reaktionen im Bereich der Endstücke. Insgesamt erscheint das Zytoskelett der serösen Endstückzellen geringer ausgeprägt als in den Gangsegmenten.

Die Myoepithelzellen der bovinen Glandula parotis liegen innerhalb der epithelialen Basallamina von End- und Schaltstücken. Die Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchung von Myoepithelzellen durch den Antikörper gegen „Smooth muscle actin“, die für diese Arbeit durchgeführt wurde, lassen die Vermutung zu, dass sich die langen Fortsätze der Myoepithelzellen bis in den Bereich der proximalen Streifenstückanteile erstrecken. Lektinhistochemisch konnte im Verlauf dieser Arbeit lediglich eine schwache Reaktion der Myoepithelzellen auf den Nachweis von D-Mannose durch das Lektin Con A verzeichnet werden.

## Zusammenfassung

---

Die den Endstücken angrenzenden Schaltstücke gliedern sich bei der Glandula parotis des Rindes in Schaltstücke 1. und 2. Ordnung. Die Zellhöhe des Epithels variiert je nach Lumendurchmesser von flach bis kubisch. Das charakteristischste Merkmal der Schaltstückzellen ist die starke Ausprägung zytoskelettaler Strukturen. Im Rahmen der immunhistochemischen Untersuchungen dieser Arbeit konnten starke Reaktionen der Schaltstückzellen auf die Antikörper gegen Tubulin und „Non muscular myosin“ sowie zahlreiche, das Zytoplasma durchspannende Intermediärfilamente nachgewiesen werden. Neben Synemin wurden vor allem die Cytokeratine 5, 7, 8, 14, 18 und 19 im Zytoplasma der Schaltstückzellen lokalisiert. Lektin histochemisch zeigten die Schaltstückzellen deutliche Unterschiede in der Affinität im Bereich des Zytoplasmas und der apikalen Zellmembran. Während an der apikalen Zelloberfläche lektin histochemisch die Hexosen D-Mannose, L-Fukose, N-Acetyl-Galaktosamin, N-Acetyl-Glukosamin, Sialinsäuren und N-Glykanstrukturen lokalisiert werden konnten, wies das Zytoplasma lediglich eine Affinität für das D-Mannose anzeigende Lektin Con A auf.

Die Schaltstücke der bovinen Glandula parotis gehen kontinuierlich in die Streifenstücke über. Das Epithel der Streifenstücke wird zum einen von hochprismatischen Hauptzellen und einer Reihe Basalzellen gebildet. Zusätzlich wird bei der bovinen Glandula parotis neben den normalen Basalzellen ein weiterer, in der Literatur als „spezielle Basalzellen“ bezeichneter Zelltyp beschrieben.

Die hochprismatischen Hauptzellen der Streifenstücke weisen beim Rind im Gegensatz zu anderen Tierarten oder dem Menschen nur eine schwache Ausprägung der namensgebenden basalen Streifung auf. Während der basale Zellbereich von zahlreichen Mitochondrien dominiert wird, weist der apikale Zellbereich vor allem eine hohe Anzahl von Sekretgranula sowie ein gut ausgebildetes Netz an zytoskelettalen Strukturen auf, die eine maßgebliche Rolle bei Transportprozessen innerhalb der Zelle spielen. Bei den Untersuchungen dieser Arbeit sind in diesem Zusammenhang vor allem die Cytokeratine 7, 8 und 19 zu nennen, die sich vermehrt im apikalen Zellbereich nachweisen ließen. Außerdem wurden die Cytokeratine 5, 14 und 18 gleichmäßig im gesamten Zellinneren der Hauptzellen lokalisiert. Weiterhin zeigten die immunhistochemischen Nachweise der Zytoskelettkomponenten Synemin, Tubulin und „Non muscular myosin“ positive Resultate. Ein weiteres besonderes Merkmal der apikalen Zelhälfte der Hauptzellen besteht in der starken Reaktion der luminalen Zellmembran auf die in dieser Arbeit eingesetzten Lektine. Es konnten D-Mannose, N-Acetyl-Galaktosamin, N-Acetyl-Glukosamin, L-Fukose, D-Galaktose, N-Glykane sowie

Sialinsäuren nachgewiesen werden.

Die basale Zelllage der Streifenstücke zeigt zwei unterschiedliche Ausprägungsformen der Basalzellen. Einige Basalzellen erscheinen isoprismatisch mit einem zentralständigen, rundlichen Zellkern. Die zweite Form weist eher eine pyramidale Zellform auf und zeichnet sich durch einen unregelmäßig verformten Zellkern aus. Es konnte keine Verbindung der Basalzellen zur luminalen Oberfläche nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu den Hauptzellen der Streifenstücke enthalten die Basalzellen ein sehr stark ausgeprägtes Zytoskelett. Im Rahmen dieser Arbeit zeigten sich vor allem starke Reaktionen auf die immunhistochemischen Nachweise der Cytokeratine 5, 7, 8, 14, 18 und 19, das Intermediärfilamentprotein Synemin, „Non muscular myosin“ und Tubulin. Glycohistochemisch konnte lediglich D-Mannose durch das Lektin Con A im Zytoplasma der Basalzellen nachgewiesen werden.

In der Literatur wird bei Rindern ein dritter, als „intra-striated duct cells“ (Shackleford und Klapper, 1962) oder auch als „special basal cells“ (Suzuki et al., 1981c) bezeichneter Basalzell-Typus beschrieben. Diese Basalzellen weisen gemäß der Autoren Gurushinge und Birtles (1985) große Ähnlichkeiten mit sogenannten „Schollenleukozyten“ („globular leucocyte“) auf. Derartige Basalzellen konnten auch im Rahmen dieser Arbeit nachgewiesen werden. Diese polymorph gestalteten Zellen traten in unterschiedlicher Häufigkeit in der basalen Zellreihe der Streifenstücke auf und zeichneten sich durch ein stark granuliertes Zytoplasma und einen großen runden Zellkern aus. Die zahlreichen zytoplasmatischen Granula dieser „speziellen Basalzellen“ wiesen im Rahmen der lektinhistochemischen Untersuchungen durch die Lektine PHA-E, SNA und LCA eine starke Reaktion auf.

Die Streifenstücke der bovinen Glandula parotis gehen kontinuierlich in die Ausführungsgänge des Drüsenkomplexes über. Das mehrschichtige Ausführungsgangepithel weist an den Übergängen zu den Streifenstücken meist zwei Schichten kugeliger Epithelzellen auf. Die Anzahl der Zellschichten steigt mit wachsendem Lumendurchmesser und einer zunehmenden Entfernung von den Drüsenlobi auf durchschnittlich drei bis fünf Zellschichten an. Die Zellen des Ausführungsgangepithels wie auch die proximalen Abschnitte des Gangsystems weisen eine starke Ausprägung zytoskelettaler Strukturen auf. Die immunhistochemischen Untersuchungen dieser Arbeit ergaben positive Reaktionen der Ausführungsgangzellen auf die Antikörper gegen „Non muscular myosin“, Tubulin, Synemin sowie die Cytokeratine 5, 7, 8, 14, 18

und 19. Des Weiteren konnten im Rahmen dieser Arbeit unterschiedliche Reaktionen der Ausführungsgangzellen auf die lektinhistochemischen Untersuchungen festgestellt werden. Während im Bereich der Basalzellen lediglich D-Galaktose durch das Lektin SNA innerhalb des Zytoplasmas nachgewiesen werden konnte, zeigte das Zytoplasma der apikalen Zellschichten deutliche Reaktionen auf den Nachweis von D-Mannose durch das Lektin Con A und von N-Glykanstrukturen durch das Lektin PHA-E. Außerdem konnten durch den Einsatz von Lektinen D-Mannose, N-Acetyl-Galaktosamin, N-Acetyl-Glukosamin und Sialinsäuren an der luminalen Oberfläche der obersten Zellschicht der Ausführungsgänge lokalisiert werden. Zahlreiche Becherzellen sind in das Epithel großlumiger Ausführungsgänge eingebettet, die muköse Substanzen in den serösen Speichel der Glandula parotis sezernieren.

Die Ausführungsgänge der Glandula parotis werden von einer starken Bindegewebsschicht umschlossen, deren Trabekel das Drüsengewebe in größere Lobi und kleine Lobuli unterteilt. Das Bindegewebe zeigte starke Reaktionen auf die lektinhistochemischen Nachweise von D-Mannose, D-Galaktose, N-Acetyl-Galaktosamin, L-Fukose und N-Glykane. In der näheren Umgebung der Ausführungsgänge verlaufen größere Arterien und Venen sowie periphere Nerven und Lymphgefäße. Im Rahmen dieser Arbeit konnte im Bereich der Gefäßversorgung der Glandula parotis adulter Rinder eine unterschiedliche Reaktivität arterieller und venöser Gefäßstrukturen auf das Lektin GSL-I beobachtet werden. Während arterielle Blutgefäße und Kapillarendothelzellen eine starke Fluoreszenz zeigten, konnte für venöse Gefäßabschnitte keine Reaktion verzeichnet werden. Neben vaskulären und neuronalen Strukturen können im Stroma der Glandula parotis Mastzellen, Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen ausgemacht werden, die auch das Drüsengewebe der Lobi durchwandern.

### 7. Summary

The aim of this study was a detailed morphological analysis and characterization of the bovine parotid gland. In this study light microscopical, lectin histochemical, immunohistochemical and ultrastructural techniques were used.

The bovine parotid gland is an exclusively serous, exocrine gland. The epithelium of the endpieces ("acini") consists of of pyramidal to cuboidal shaped cells. Wide lumina as well as a tubular alignment of the endpieces are distinctive features of the parotid gland in bovines. The general appearance of the endpieces revealed several characteristics, which indicate a high rate of fluid transport. The cells of the endpieces contain numerous secretory granules in their apical cytoplasm. On the luminal surface and in the cytoplasm D-Mannose and N-acetyl-glucosamine were detected by lectin histochemistry. Immunohistochemical investigations of cytoskeletal structures showed that cells of the endpieces contain cytokeratins 5 and 18. Tubulin, synemin and non-muscular-myosin only showed a weak immunohistochemical staining in the endpieces.

The myoepithelial cells of the bovine parotid gland are located within the basal lamina of the endpieces and intercalated ducts. The immunohistochemical data ( $\alpha$ -SMA) suggest that the long processes of the myoepithelial cells expand into the proximal striated duct.

The intercalated ducts bordering the endpieces of the bovine parotid gland are divided into intercalated ducts of first and second order. The height of the cells varies depending on the diameter of the lumen from flat to cuboidal. The most characteristic feature of the intercalated duct cells is distinct development of the cytoskeleton within their cytoplasm. Using immunohistochemistry strong cytoplasmatic staining of the epithelium of intercalated ducts observed with antibodies to tubulin, non-muscular-myosin and most intermediate filaments (CK 5, 7, 8, 14, 18 and 19). The intercalated duct cells showed clear staining pattern with the lectins used in my study. D-mannose, L-fucose, N-acetyl-galactosamine, N-acetyl-glucosamine, sialic acids and N-glycans bound to the apical cell membrane whereas the cytoplasm only showed binding of D-mannose.

Intercalated duct cells go continuously into the striated ducts. The striated duct epithelium is composed of high columnar main cells and basal cells. In addition to the

## Summary

---

normal basal cells another type of basal cells can be found in the bovine parotid gland, which is called “special basal cells”.

In contrast to other animal species or humans the high columnar principal cells of the bovine striated ducts show only a weak development of the basal striations. Whereas the basal part of the cell is dominated by numerous mitochondria, the apical part of the cell shows a high number of secretory granules as well as a well developed network of cytoskeletal structures. These play a pivotal role in the cells' transport mechanisms. In this context, especially the cytokeratins 7, 8 and 19 have to be mentioned, which primarily were found in the apical portion of the cells. Furthermore cytokeratins 5, 14 and 18 were located throughout the whole cytoplasm of the principal cells. Moreover, synemin, tubulin and non-muscular-myosin were immunohistochemically positive. Another important feature of principal cells is the strong binding of several lectins used in this study to the luminal cell membrane. D-mannose, N-acetyl-galactosamine, N-acetyl-glucosamine, L-fucose, D-galactose, N-glycans as well as sialic acids were detected.

Two types of basal cells were detected. Some appeared cuboidal, containing a centrally located roundish nucleus. The other shape shows a pyramidal form with a polymorphic deformed nucleus. The basal cells did not extend to the luminal surface. Contrary to the principal cells of the striated ducts the basal cells contained a highly developed cytoskeleton. Strong reactions were especially shown with antibodies against cytokeratins 5, 7, 8, 14, 18 und 19, the intermediate filament protein synemin, non-muscular myosin and tubulin. Using lectin histochemistry only D-mannose could be detected in the cytoplasm of the cells.

A third type of basal cells has been described in literature in the bovine parotid gland, called “intra-striated duct cells” (Shackleford and Klapper, 1962) or “special basal cells” (Suzuki et al., 1981c). According to Gurushinge and Birtles (1985) these basal cells resemble “globular leucocytes”. I also found this cell type in my study. These characteristic cells occurred in varying number in the basal cell part of the striated ducts. They show a highly granulated cytoplasm and a big, roundish nucleus. The large number of their cytoplasmatic granules was strongly positive with the lectins PHA-E, SNA and LCA.

The striated ducts of the bovine parotid gland continuously merge into the excretory

## Summary

---

ducts of the glandular complex. The multilayered epithelium of the excretory ducts usually shows two layers of epithelial cells on the transition to the striated ducts. The number of epithelial cell layers of the duct increased with a growing diameter of the lumen and an increasing distance from the glands' lobules. An average gain of three to five cell-layers was detected. The excretory duct cells as well as the proximal duct segments of the parotid gland show a strongly developed cytoskeletal structures. The immunohistochemical examinations resulted in positive reactions of the excretory duct cells to the antibodies of non-muscular-myosin, tubulin, synemin and the cytokeratins 5, 7, 8, 14, 18 and 19. Furthermore diverse reactions of the excretory duct cells to the lectin histochemical tests were obtained. In the basal cell cytoplasm merely D-galactose was detected through the lectin SNA. On the contrary, the cytoplasm of the apical layers of the excretory duct showed clear reactions to the proof of D-mannose through the lectin con A and N-glycans through the lectin PHA-E. Moreover D-mannose, N-acetyl-galactosamine, N-acetyl-glucosamine and sialinic acids were localised on the luminal surface of the top layer of the excretory ducts through the application of lectins. Numerous goblet cells are embedded in the epithelium of excretory ducts with a large diameter of the lumen, which secrete mucous components into the serous saliva.

The excretory ducts of the bovine parotid gland are surrounded by a distinct layer of connective tissue, which divides the parenchym of glandular lobules of varying size. The connective tissue shows staining with the lectins specific for D-mannose, D-galactose, N-acetyl-galactosamine, L-fucose and N-glycans. Besides vascular and neuronal structures mast cells, lymphocytes, plasma cells and macrophages are scattered throughout the stroma. These cells also pass through the parenchyma of the gland lobules.

## 8. Verzeichnisse

### 8.1. Literaturverzeichnis

Accili, D., Gabrielli, M.G., Menghi, G., 1994. Variety of sialic acids occurring in the bovine sublingual gland. *Histol Histopathol* 9, 723-731.

Accili, D., Gabrielli, M.G., Menghi, G., Materazzi, G., 1996. Histoenzymological detection of sialic acids in the rodent salivary glands. *Histol Histopathol* 11, 647-658.

Accili, D., Menghi, G., Bondi, A.M., Scocco, P., 1992. Glycoconjugate composition of mammalian parotid glands elucidated in situ by lectins and glycosidases. *Acta Histochem* 92, 196-206.

Adnyane, I.K.M., Zuki, A.B., Noordin, M.M., Agungpriyono, S., 2010. Histological Study of the Parotid and Mandibular Glands of Barking Deer (*Muntiacus muntjak*) with Special Reference to the Distribution of Carbohydrate Content. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 39, 516-520.

Aiyama, S., Kikuchi, K., Takada, K., Ikeda, R., Sato, S., Kuroki, J., 2011. Immunohistochemical study of the lymphatic vessels in major salivary glands of the rat. *Okajimas Folia Anat Jpn* 87, 177-180.

Araujo, V.C., Araujo, N.S., 1990. Vimentin as a marker of myoepithelial cells in salivary gland tumors. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 247, 252-255.

Asari, M., Miura, K., Ichihara, N., Nishita, T., Amasaki, H., 2000. Distribution of carbonic anhydrase isozyme VI in the developing bovine parotid gland. *Cells Tissues Organs* 167, 18-24.

Asari, M., Miura, K., Sasaki, K., Igarashi, S.I., Kano, Y., Nishita, T., 1994. Expression of carbonic anhydrase isozymes II and III in developing bovine parotid gland. *Histochemistry* 101, 121-125.

Baum, B.J., 1993. Principles of Saliva Secretion. *Annals of the New York Academy of Sciences* 694, 17-23.

Bellin, R.M., Sernett, S.W., Becker, B., Ip, W., Huiatt, T.W., Robson, R.M., 1999. Molecular Characteristics and Interactions of the Intermediate Filament Protein Synemin: Interactions with  $\alpha$ -actinin may anchor synemin-containing heterofilaments. *Journal of Biological Chemistry* 274, 29493-29499.

Bensley, R.R., 1908. Observations on the salivary glands of mammals. *Anat. Rec.* 2, 105-107.

Boshell, J.L., Wilborn, W.H., 1978. Histology and ultrastructure of the pig parotid gland. *American Journal of Anatomy* 152, 447-465.

Boyd, W.C., Shapleigh, E., 1954a. Antigenic Relations of Blood Group Antigens as Suggested by Tests with Lectins. *The Journal of Immunology* 73, 226-231.

Boyd, W.C., Shapleigh, E., 1954b. Specific Precipitating Activity of Plant Agglutinins (Lectins). *Science* 119, 419.

Brooks, S.A., Leathem, A.J.C., Schumacher, U., 1997. *Lectin Histochemistry - a concise practical handbook*. Bios Scientific Publishers Limited, Oxford.

Bundgaard, M., Moller, M., Poulsen, J.H., 1977. Localization of sodium pump sites in cat salivary glands. *J Physiol* 273, 339-353.

Burns, B.F., Dardick, I., Parks, W.R., 1988. Intermediate filament expression in normal parotid glands and pleomorphic adenomas. *Virchows Archiv A* 413, 103-112.

Cardona, A., Madewell, B.R., Naydan, D.K., Lund, J.K., 1989. A comparison of six monoclonal antibodies for detection of cytokeratins in normal and neoplastic canine tissues. *J Vet Diagn Invest* 1, 316-323.

Chang, L., Goldman, R.D., 2004. Intermediate filaments mediate cytoskeletal crosstalk. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5, 601-613.

Corthesy, B., Kraehenbuhl, J.P., 1999. Antibody-mediated protection of mucosal surfaces. *Curr Top Microbiol Immunol* 236, 93-111.

D'Amico, F., Castrogiovanni, P., Skarmoutsou, E., Sanfilippo, S., 1999. Lectin binding sites in parotid acinar secretory granules of normal and isoproterenol treated rat. *J Submicrosc Cytol Pathol* 31, 115-121.

Dahme, E., 2007. *Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere*. Enke, Stuttgart.

Dardick, I., Naiberg, J., Leung, R., Ramjohn, S., Christensen, H., 1990. Ultrastructural study of acinar and intercalated duct organization of submandibular and parotid salivary gland. *Lab Invest*. 63, 394-404.

Dardick, I., Parks, W., Little, J., Brown, D., 1988. Characterization of cytoskeletal proteins in basal cells of human parotid salivary gland ducts. *Virchows Archiv A* 412, 525-532.

Desai, A., Mitchison, T.J., 1997. Microtubule polymerization dynamics. *Annu Rev Cell Dev Biol* 13, 83-117.

Downing, K.H., Nogales, E., 1998. Tubulin and microtubule structure. *Current Opinion in Cell Biology* 10, 16-22.

Draeger, A., Nathrath, W.B., Lane, E.B., Sundstrom, B.E., Stigbrand, T.I., 1991. Cytokeratins, smooth muscle actin and vimentin in human normal salivary gland and pleomorphic adenomas. Immunohistochemical studies with particular reference to myoepithelial and basal cells. *APMIS* 99, 405-415.

Drenckhahn, D., Mannherz, H.G., 1983. Distribution of actin and the actin-associated proteins myosin, tropomyosin, alpha-actinin, vinculin, and villin in rat and bovine exocrine glands. *Eur J Cell Biol* 30, 167-176.

Durbeej, M., Ekblom, P., 1997. Dystroglycan and Laminins: Glycoconjugates Involved in Branching Epithelial Morphogenesis. *Experimental Lung Research* 23, 109-118.

Eisenbrückner, A., 2000. Ontogenetische Entwicklung des Drüsenepithels der Glandula parotis und der Glandula mandibularis beim Rind licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen.

Eisenbrückner, A., Fink, C., Kressin, M., 2003. Development of the glandular epithelium of the bovine parotid gland during ontogenesis. *Anat Histol Embryol* 32, 145-153.

Elewa, Y., Bareedy, M., Abu Al Atta, A., Ichii, O., Otsuka, S., Kanazawa, T., Lee, S.-H., Hashimoto, Y., Kon, Y., 2010a. Cytoarchitectural differences of myoepithelial cells among goat major salivary glands. *Vet Res Commun* 34, 557-567.

Elewa, Y.H., Bareedy, M.H., Abuel-Atta, A.A., Ichii, O., Otsuka, S., Kanazawa, T., Lee, S., 2010b. Structural characteristics of goat (*Capra hircus*) parotid salivary glands. *Japanese Journal of Veterinary Research* 58, 121-135.

Emmelin, N., Garrett, J.R., Gjorstrup, P., 1977. Supporting effects of myoepithelial cells in submandibular glands of dogs when acting against increased intraluminal pressure. *J Physiol* 268, 73-85.

Engelhardt, W.v., 2005. *Physiologie der Haustiere*. Enke, Stuttgart.

Farina, V., Zedda, M., 1992. On the expression of cytokeratins and their distribution in some rabbit gland tissues. *Eur J Histochem* 36, 479-488.

Franke, W.W., Schmid, E., Freudenstein, C., Appelhans, B., Osborn, M., Weber, K., Keenan, T.W., 1980. Intermediate-sized filaments of the prekeratin type in myoepithelial cells. *The Journal of Cell Biology* 84, 633-654.

Fuchs, E., Weber, K., 1994. Intermediate filaments: structure, dynamics, function, and disease. *Annu Rev Biochem* 63, 345-382.

Gabius, H.-J., André, S., Jiménez-Barbero, J., Romero, A., Solís, D., 2011. From lectin structure to functional glycomics: principles of the sugar code. *Trends in Biochemical Sciences* 36, 298-313.

Gabius, H.-J., Siebert, H.-C., André, S., Jiménez-Barbero, J., Rüdiger, H., 2004. *Chemical Biology of the Sugar Code*. *ChemBioChem* 5, 740-764.

Gabius, H.J., 2009. *The Sugar Code - fundamentals of glycosciences*. Wiley - VCH Verlag, Weinheim.

Gargiulo, A.M., Pedini, V., Ceccarelli, P., 1993a. Lectin histochemical study of bovine lingual glands. *Arch Oral Biol* 38, 881-884.

Gargiulo, A.M., Pedini, V., Ceccarelli, P., 1993b. Lectin histochemistry of glycoconjugates in horse salivary glands. *Anat Histol Embryol* 22, 83-90.

Garrett, J.R., Kidd, A., 1993. The innervation of salivary glands as revealed by morphological methods. *Microsc Res Tech* 26, 75-91.

Geiger, S., Geiger, B., Leitner, O., Marshak, G., 1987. Cytokeratin polypeptides expression in different epithelial elements of human salivary glands. *Virchows Archiv A* 410, 403-414.

Goldstein, I.J., Hughes, R.C., Monsigny, M., Osawa, T., Sharon, N., 1980. What should be called a lectin? *Nature* 285, 66-66.

Goldstein, I.J., Poretz, R.D., 1986. Isolation, physicochemical characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins. In: Liener, I.E., Sharon, N., Goldstein, I.J. (Eds.), *The lectins: properties, functions and applications in biology and medicine*. Elsevier Academic Press, Orlando.

Granger, B.L., Lazarides, E., 1979. Desmin and vimentin coexist at the periphery of the myofibril Z disc. *Cell* 18, 1053-1063.

Granger, B.L., Lazarides, E., 1980. Synemin: a new high molecular weight protein associated with desmin and vimentin filaments in muscle. *Cell* 22, 727-738.

Gurusinghe, C.J., Birtles, M.J., 1985. Light Microscopic Observations of an Intraepithelial Granular Cell Type in the Bovine Parotid Gland. *Cells Tissues Organs* 124, 122-126.

Gustafsson, H., Aalto, Y., Franzen, L., Thornell, L.E., Henriksson, R., 1998. Effects of fractionated irradiation on the cytoskeleton and basal lamina in parotid glands--an immunohistochemical study. *Acta Oncol* 37, 33-40.

Gustafsson, H., Kjorell, U., Eriksson, A., Virtanen, I., Thornell, L.E., 1988. Distribution of intermediate filament proteins in developing and adult salivary glands in man. *Anat Embryol (Berl)* 178, 243-251.

Hammond, J.W., Cai, D., Verhey, K.J., 2008. Tubulin modifications and their cellular functions. *Current Opinion in Cell Biology* 20, 71-76.

Hand, A.R., 1979. Synthesis of secretory and plasma membrane glycoproteins by striated duct cells of rat salivary glands as visualized by radioautography after 3H-fucose injection. *Anat Rec* 195, 317-339.

Hand, A.R., Coleman, R., Mazariegos, M.R., Lustmann, J., Lotti, L.V., 1987. Endocytosis of proteins by salivary gland duct cells. *J Dent Res* 66, 412-419.

Hardman, P., Spooner, B.S., 1992. Localization of extracellular matrix components in developing mouse salivary glands by confocal microscopy. *Anat Rec* 234, 452-459.

Harrison, J.D., Auger, D.W., Badir, M.S., Paterson, K.L., 1987. Ultrastructural morphology of secretory granules of submandibular and parotid salivary glands of man. *Arch Oral Biol* 32, 229-234.

Hashimoto, S., Ochiai, S., Muramatsu, T., Shimono, M., 2000. Tight Junctions in the Rat Parotid Gland. *Eur J Morphol* 38, 263-267.

Hees, H., Sinowatz, F., 2000. *Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie*. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln.

Heidenhain, A., 1870. Über die acinösen Drüsen der schleimhäute, insbesondere der Nasenschleimhaut. *Inaug.-Diss.*, Breslau.

Heidenhain, R., 1868. Beiträge zur Lehre von der Speichelabsonderung, Vol. 4. *Stud. Physiol. Inst. Breslau*

Hepler, P.K., Palevitz, B.A., 1974. Microtubules and Microfilaments. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 25, 309-362.

Hofmann, R.R., Streich, W.J., Fickel, J., Hummel, J., Clauss, M., 2008. Convergent evolution in feeding types: salivary gland mass differences in wild ruminant species. *J Morphol* 269, 240-257.

Hosokawa, Y., Takahashi, Y., Kadoya, Y., Yamashina, S., Nomizu, M., Yamada, Y., Nogawa, H., 1999. Significant role of laminin-1 in branching morphogenesis of mouse salivary epithelium cultured in basement membrane matrix. *Dev Growth Differ* 41, 207-216.

Jezernik, K., Pipan, N., 1986. Lectin-binding pattern in parotid acinar cells. The fracture-labelling method and post-embedding staining. *Histochemistry* 85, 515-521.

Jezernik, K., Pipan, N., 1989. Cytochemical localization of carbohydrates in intercalated duct and acinar cells of mouse parotid gland. *The Histochemical Journal* 21, 131-135.

Kadoya, Y., Yamashina, S., 2005. Salivary gland morphogenesis and basement membranes. *Anat Sci Int* 80, 71-79.

Kaseda, M., Ichihara, N., Nishita, T., Amasaki, H., Asari, M., 2006. Immunohistochemistry of the bovine secretory carbonic anhydrase isozyme (CA-VI) in bovine alimentary canal and major salivary glands. *J Vet Med Sci* 68, 131-135.

Kent, J.F., 1952. The origin, fate, and cytochemistry of the globule leucocyte of the sheep. *The Anatomical Record* 112, 91-115.

Kim, S., Wong, P., Coulombe, P.A., 2006. A keratin cytoskeletal protein regulates protein synthesis and epithelial cell growth. *Nature* 441, 362-365.

Kim, S.K., Allen, E.D., 1994. Structural and functional changes in salivary glands during aging. *Microsc Res Tech* 28, 243-253.

König, H.E., Liebich, H.G., 2012. *Anatomie der Haussäugetiere - Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis ; mit 53 Tabellen.* Schattauer, Stuttgart

Korn, E.D., 1982. Actin polymerization and its regulation by proteins from nonmuscle cells. *Physiol Rev* 62, 672-737.

Laden, S.A., Schulte, B.A., Spicer, S.S., 1984. Histochemical evaluation of secretory glycoproteins in human salivary glands with lectin-horseradish peroxidase conjugates. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 32, 965-972.

Lazarides, E., 1980. Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space. *Nature* 283, 249-256.

Lazarides, E., 1982. Intermediate filaments: a chemically heterogeneous, developmentally regulated class of proteins. *Annu Rev Biochem* 51, 219-250.

Lazowski, K.W., Mertz, P.M., Redman, R.S., Kousvelari, E., 1994. Temporal and spatial expression of laminin, collagen types IV and I and  $\alpha 6/\beta 1$  integrin receptor in the developing rat parotid gland. *Differentiation* 56, 75-82.

Le, A., Saverin, M., Hand, A.R., 2011. Distribution of dendritic cells in normal human salivary glands. *Acta Histochem Cytochem* 44, 165-173.

Leblond, C.P., 1950. Distribution of periodic acid-reactive carbohydrates in the adult rat. *American Journal of Anatomy* 86, 1-49.

- Leblond, C.P., Puchtler, H., Clermont, Y., 1960. Structures Corresponding to Terminal Bars and Terminal Web in Many Types of Cells. *Nature* 186, 784-788.
- Lehmann, F., Tiralongo, E., Tiralongo, J., 2006. Sialic acid-specific lectins: occurrence, specificity and function. *Cellular and Molecular Life Sciences* 63, 1331-1354.
- Lenep, E., Kennerson, A., Compton, J., 1977. The ultrastructure of the sheep parotid gland. *Cell Tissue Res* 179, 377-392.
- Lev, R., Spicer, S.S., 1964. Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 12, 309.
- Liebich, H.G., 2010. Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel. Schattauer Verlag, Stuttgart.
- Martin, G.R., Timpl, R., 1987. Laminin and other basement membrane components. *Annu Rev Cell Biol* 3, 57-85.
- Martinez-Hernandez, A., Amenta, P.S., 1983. The basement membrane in pathology. *Lab Invest* 48, 656-677.
- Mau, M., Kaiser, T.M., Sudekum, K.H., 2010. Carbonic anhydrase II is secreted from bovine parotid glands. *Histol Histopathol* 25, 321-329.
- McMahon, R., Benbow, E., Lofthouse, A., Stoddart, R., 1989a. Human salivary gland glycoconjugates: a lectin histochemical study. *The Histochemical Journal* 21, 663-674.
- McMahon, R.F., Benbow, E.W., Lofthouse, A.K., Stoddart, R.W., 1989b. Human salivary gland glycoconjugates: a lectin histochemical study. *Histochem J* 21, 663-674.
- Menghi, G., Accili, D., Bondi, A.M., 1987. Differential binding sites of peroxidase-labelled lectins in the submandibular gland of sucking and adult cats. *Acta Histochem* 82, 59-IN53.
- Menghi, G., Accili, D., Scocco, P., Materazzi, G., 1992. Sialoglycoderivatives of bovine submandibular gland identified in situ by histochemical techniques combined with lectins. *Histochemistry* 97, 397-403.
- Menghi, G., Bondi, A.M., Marchetti, L., Sabbieti, M.G., Gabrielli, M.G., Materazzi, G., 1999. Sex-related expression of sialic acid acceptor sugars in the mouse submandibular gland. Simultaneous visualization by confocal laser scanning microscopy. *Histol Histopathol* 14, 711-717.
- Menghi, G., Marchetti, L., Bondi, A.M., Materazzi, G., 1996. Sialylation patterns of the mouse parotid secretory granules. Combined deacetylation, enzymatic degradation and lectin-gold binding. *Eur J Morphol* 34, 181-185.

Miura, K., Sasaki, K., Amasaki, H., Kano, Y., Asari, M., 1996. Expression and distribution of myoepithelial cells in developing bovine parotid gland. *Okajimas Folia Anat Jpn* 73, 205-209.

Moll, R., Divo, M., Langbein, L., 2008. The human keratins: biology and pathology. *Histochem Cell Biol* 129, 705-733.

Moll, R., Franke, W.W., Schiller, D.L., Geiger, B., Krepler, R., 1982. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 31, 11-24.

Mureşsan, Z., Mureşsan, V., 1987. Differential distribution of sialic acid in exocrine pancreas and parotid gland. *Acta Histochem* 81, 109-115.

Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E., 2004. *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere/2*. Parey Verlag, Stuttgart.

Nicolescu, M.I., Bucur, A., Dinca, O., Rusu, M.C., Popescu, L.M., 2012. Telocytes in parotid glands. *Anat Rec (Hoboken)* 295, 378-385.

Nogales, E., 2000. Structural Insights into Microtubule Function. *Annu Rev Biochem* 69, 277-302.

Ogawa, Y., 2003. Immunocytochemistry of myoepithelial cells in the salivary glands. *Prog Histochem Cytochem* 38, 343-426.

Ohtani, O., Ohtsuka, A., Lipsett, J., Gannon, B., 1983. The microvasculature of rat salivary glands. A scanning electron microscopic study. *Acta Anat (Basel)* 115, 345-356.

Oliver, C., 1983a. Characterization of basal lysosomes in exocrine acinar cells. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 31, 1209-1216.

Oliver, C., 1983b. Lysosomal heterogeneity in exocrine acinar cells. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 31, 222-223.

Oliver, C., Dromy, R., Hart, T.K., 1989. Density gradient separation of two populations of lysosomes from rat parotid acinar cells. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 37, 1645-1652.

Pappo, J., Ebersole, J.L., Taubman, M.A., 1988. Phenotype of mononuclear leucocytes resident in rat major salivary and lacrimal glands. *Immunology* 64, 295-300.

Paulais, M., Cragoe, E.J., Jr., Turner, R.J., 1994. Ion transport mechanisms in rat parotid intralobular striated ducts. *Am J Physiol* 266, C1594-1602.

- Pedini, V., Ceccarelli, P., Gargiulo, A.M., 1994. Localization of glycoconjugates in dog parotid gland by lectin histochemistry. *Vet Res Commun* 18, 269-279.
- Pedini, V., Ceccarelli, P., Gargiulo, A.M., Dall'Aglio, C., 1997. Histochemical study of lectin binding in the major salivary glands of adult fallow-deer (*Dama dama* L.). *Acta Histochem* 99, 81-89.
- Pinkstaff, C.A., 1980. The cytology of salivary glands. *Int Rev Cytol* 63, 141-261.
- Pinkstaff, C.A., 1993. Serous, seromucous, and special serous cells in salivary glands. *Microsc Res Tech* 26, 21-31.
- Redman, R.S., 1994. Myoepithelium of salivary glands. *Microscopy Research and Technique* 27, 25-45.
- Riva, A., Motta, G., Riva-Testa, F., 1974. Ultrastructural diversity in secretory granules of human major salivary glands. *American Journal of Anatomy* 139, 293-298.
- Riva, A., Serra, G.P., Proto, E., Faa, G., Puxeddu, R., Riva, F.T., 1992. The myoepithelial and basal cells of ducts of human major salivary glands: a SEM study. *Arch Histol Cytol* 55 Suppl, 115-124.
- Riva, A., Testa-Riva, F., Del Fiacco, M., Lantini, M.S., 1976. Fine structure and cytochemistry of the intralobular ducts of the human parotid gland. *J Anat* 122, 627-640.
- Riva, A., Valentino, L., Lantini, M.S., Floris, A., Riva, F.T., 1993. 3D-structure of cells of human salivary glands as seen by SEM. *Microsc Res Tech* 26, 5-20.
- Romeis, B., 2010. *Romeis Mikroskopische Technik*. Spektrum, Akad. Verl., Heidelberg.
- Roth, J., 2011. Lectins for histochemical demonstration of glycans. *Histochemistry and Cell Biology* 136, 117-130.
- Rüdiger, H., Gabius, H.-J., 2001. Plant lectins: Occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconjugate Journal* 18, 589-613.
- Rüsse, I., Sinowatz, F., 1998. *Lehrbuch der Embryologie der Haustiere*. Parey, Berlin.
- Sakaguchi, K., Yokota, H., Miyasho, T., Maeda, N., Nakamura, K., Onaga, T., Koiwa, M., Matsuda, K., Okamoto, M., Hirayama, K., Taniyama, H., 2013. Polymeric immunoglobulin receptor expression and local immunoglobulin A production in bovine sublingual, submandibular and parotid salivary glands. *Vet J*.
- Sakai, T., 1984. Intercellular canaliculi of salivary glands serve as a device for secretion of electrolytes and fluids. *Biomed. Res.* 5, 433-440.

Salomon, F.-V., 2005. Anatomie für die Tiermedizin. Enke, Stuttgart.

Sasaki, M., Kleinman, H.K., Huber, H., Deutzmann, R., Yamada, Y., 1988. Laminin, a multidomain protein. The A chain has a unique globular domain and homology with the basement membrane proteoglycan and the laminin B chains. *Journal of Biological Chemistry* 263, 16536-16544.

Schneyer, L.H., Young, J.A., Schneyer, C.A., 1972. Salivary secretion of electrolytes. *Physiol Rev* 52, 720-777.

Schulte, B.A., Spicer, S.S., Miller, R.L., 1985. Lectin histochemistry of secretory and cell-surface glycoconjugates in the ovine submandibular gland. *Cell Tissue Res* 240, 57-66.

Schweizer, J., Bowden, P.E., Coulombe, P.A., Langbein, L., Lane, E.B., Magin, T.M., Maltais, L., Omary, M.B., Parry, D.A.D., Rogers, M.A., Wright, M.W., 2006. New Consensus Nomenclature for Mammalian Keratins. *The Journal of Cell Biology* 174, 169-174.

Segawa, A., Terakawa, S., Yamashina, S., Hopkins, C.R., 1991. Exocytosis in living salivary glands: direct visualization by video-enhanced microscopy and confocal laser microscopy. *Eur J Cell Biol* 54, 322-330.

Shackleford, J.M., Klapper, C.E., 1962. Structure and carbohydrate histochemistry of mammalian salivary glands. *American Journal of Anatomy* 111, 25-47.

Shackleford, J.M., Wilborn, W.H., 1968. Structural and histochemical diversity in mammalian salivary glands. *The Alabama journal of medical sciences* 5, 180-203.

Shackleford, J.M., Wilborn, W.H., 1969. Ultrastructure of bovine parotid glands. *Journal of Morphology* 127, 453-473.

Sobral, A.P., Rego, M.J., Cavalcanti, C.L., Carvalho, L.B., Jr., Beltrao, E.I., 2010. ConA and UEA-I lectin histochemistry of parotid gland mucoepidermoid carcinoma. *J Oral Sci* 52, 49-54.

Sozmen, M., Brown, P., Eveson, J., 1999. Lectin histochemistry of dog major and minor salivary glands. *Vet Res* 30, 583-593.

Sozmen, M., Brown, P.J., Eveson, J.W., 1998. Cytokeratin immunostaining in normal dog major and minor salivary glands. *Vet Res* 29, 457-465.

Spicer, S.S., 1960. A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 8, 18-35.

Stasulis, C.A., Hand, A.R., 2003. Immunohistochemical identification of antigen presenting cells in rat salivary glands. *Arch Oral Biol* 48, 691-699.

Steedman, H.F., 1950. Alcian Blue 8GS: A New Stain for Mucin. *Quarterly Journal of Microscopical Science* s3-91, 477-479.

Steinert, P.M., Marekov, L.N., Parry, D.A., 1993. Diversity of intermediate filament structure. Evidence that the alignment of coiled-coil molecules in vimentin is different from that in keratin intermediate filaments. *J Biol Chem* 268, 24916-24925.

Steinert, P.M., Roop, D.R., 1988. Molecular and cellular biology of intermediate filaments. *Annu Rev Biochem* 57, 593-625.

Stolte, M., Ito, S., 1996. A comparative ultrastructural study of the parotid gland acinar cells of nine wild ruminant species (mammalia, artiodactyla). *European journal of morphology* 34, 79-85.

Stossel, T.P., 1984. Contribution of actin to the structure of the cytoplasmic matrix. *J Cell Biol* 99, 15s-21s.

Strassburger, S., Berndt, A., Hyckel, P., Katenkamp, D., Kosmehl, H., 1998. Differential expression of laminin chains in the human major salivary gland. *Histochem J* 30, 81-88.

Suzuki, S., Nishinakagawa, H., Otsuka, J., 1980. Scanning electron microscopic observations of the dog parotid gland. *Bull. Fac. Agr. Kagoshima Univ.* 30, 87-96.

Suzuki, S., Nishinakagawa, H., Otsuka, J., 1981a. Scanning Electron Microscopic Observations on the Goat Parotid Glands. *The Japanese journal of veterinary science* 43, 181-189.

Suzuki, S., Nishinakagawa, H., Otsuka, J., 1981b. Scanning Electron Microscopic Observations on the Horse Parotid Glands. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.* 17, 139-145.

Suzuki, S., Nishinakagawa, H., Otsuka, J., Mochizuki, K., 1981c. Fine Structure of the Bovine Parotid Gland. *Japanese Journal of Veterinary Science* 43, 169-&.

Tamarin, A., 1966. Myoepithelium of the rat submaxillary gland. *Journal of Ultrastructure Research* 16, 320-338.

Tamarin, A., Sreebny, L.M., 1965. The rat submaxillary salivary gland. A correlative study by light and electron microscopy. *J Morphol.* 117, 295-352.

Tandler, B., 1993. Structure of the duct system in mammalian major salivary glands. *Microsc Res Tech* 26, 57-74.

Tandler, B., Gresik, E.W., Nagato, T., Phillips, C.J., 2001. Secretion by striated ducts of mammalian major salivary glands: Review from an ultrastructural, functional, and evolutionary perspective. *The Anatomical Record* 264, 121-145.

Tandler, B., Nagato, T., Toyoshima, K., Phillips, C.J., 1998. Comparative ultrastructure of intercalated ducts in major salivary glands: a review. *The Anatomical Record* 252, 64-91.

Tandler, B., Phillips, C.J., 1993. Structure of serous cells in salivary glands. *Microsc Res Tech* 26, 32-48.

Tandler, B., Pinkstaff, C.A., Phillips, C.J., 2006. Interlobular excretory ducts of mammalian salivary glands: Structural and histochemical review. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 288A, 498-526.

Thaysen, J.H., Thorn, N.A., Schwartz, I.L., 1954. Excretion of sodium, potassium, chloride and carbon dioxide in human parotid saliva. *Am J Physiol* 178, 155-159.

Timpl, R., 1989. Structure and biological activity of basement membrane proteins. *Eur J Biochem* 180, 487-502.

Van Damme, E.J.M., Barre, A., Rougé, P., Peumans, W.J., 2004. Cytoplasmic/nuclear plant lectins: a new story. *Trends in Plant Science* 9, 484-489.

Wimsatt, W.A., 1956. Histological and histochemical observations on the parotid, submaxillary and sublingual glands of the tropical American fruit bat *Artibeus jamaicensis* Leach. *Journal of Morphology* 99, 169-209.

Winston, D.C., Hennigar, R.A., Spicer, S.S., Garrett, J.R., Schulte, B.A., 1988. Immunohistochemical localization of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase in rodent and human salivary and lacrimal glands. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 36, 1139-1145.

Young, J.A., van Lennep, E.W., 1978. *The morphology of salivary glands* / J. A. Young and E. W. Van Lennep. Academic Press, London ; New York :.

Zhao, H., Xu, X., Diaz, J., Muallem, S., 1995. Na, K, and H/HCO Transport in Submandibular Salivary Ducts: Membrane localization of transporters. *Journal of Biological Chemistry* 270, 19599-19605.

## 8.2. Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Übersicht über die großen Speicheldrüsen des Rindes modifiziert nach König und Liebich, 2012.....	10
<b>Abbildung 2:</b> Übersicht über den Aufbau einer zusammengesetzten tubulo-azinösen Drüse (eigene Zeichnung).....	13
<b>Abbildung 3:</b> Schematische Darstellung der ABC-Methode modifiziert nach Romeis, 2010.....	58
<b>Abbildung 4:</b> Glandula parotis; H.E.-Färbung nach Mayer.....	68
<b>Abbildung 5:</b> Glandula parotis; Trichromfärbung nach Masson und Goldner.....	68
<b>Abbildung 6:</b> Glandula parotis; Resorcinfuchsin-van Gieson-Färbung.....	69
<b>Abbildung 7:</b> Glandula parotis, Ausführungsgangepithel; H.E.-Färbung nach Mayer.....	69
<b>Abbildung 8:</b> Glandula parotis; PAS-Färbung nach Mc Manus; Fixierung Bouin' sche Lösung.....	71
<b>Abbildung 9:</b> Glandula parotis, Streifenstück; PAS-Färbung nach Mc Manus; Fixierung Formalin.....	71
<b>Abbildung 10:</b> Glandula parotis; PAS-Färbung nach Mc Manus mit vorausgehender Acetylierung.....	73
<b>Abbildung 11:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; PAS-Färbung nach Mc Manus mit vorausgehender Acetylierung.....	73
<b>Abbildung 12:</b> Glandula parotis; PAS-Färbung mit vorausgehender Methylierung.....	75
<b>Abbildung 13:</b> Glandula parotis; PAS-Färbung nach Mc Manus mit vorausgehender Methylierung; Fixierung Formalin.....	75

## Verzeichnisse

---

<b>Abbildung 14:</b> Glandula parotis; PAS-Färbung nach Mc Manus mit vorausgehender Amylase-Behandlung.....	77
<b>Abbildung 15:</b> Glandula parotis; Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 1,0.....	79
<b>Abbildung 16:</b> Glandula parotis; Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5.....	79
<b>Abbildung 17:</b> Glandula parotis; Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 1,0.....	80
<b>Abbildung 18:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5.....	80
<b>Abbildung 19:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit Con A.....	82
<b>Abbildung 20:</b> Glandula parotis, Streifenstück; Lektinbindung mit Con A.....	82
<b>Abbildung 21:</b> Glandula parotis, Endstück; Lektinbindung mit Con A.....	83
<b>Abbildung 22:</b> Glandula parotis, Schaltstück; Lektinbindung mit Con A.....	83
<b>Abbildung 23:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit DBA.....	85
<b>Abbildung 24:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit ECA.....	87
<b>Abbildung 25:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit ECA.....	87
<b>Abbildung 26:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit GSL-I.....	89
<b>Abbildung 27:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit LCA.....	91
<b>Abbildung 28:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit LCA.....	91
<b>Abbildung 29:</b> Glandula parotis, Streifenstück; Lektinbindung mit LCA.....	92
<b>Abbildung 30:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit LCA.....	92
<b>Abbildung 31:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit MAA-I.....	94

## Verzeichnisse

---

<b>Abbildung 32:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit MAA-I .....	94
<b>Abbildung 33:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit MAA-I .....	95
<b>Abbildung 34:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit PHA-E .....	97
<b>Abbildung 35:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit PHA-E .....	97
<b>Abbildung 36:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit PHA-E .....	98
<b>Abbildung 37:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit PSA .....	102
<b>Abbildung 38:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit PSA .....	102
<b>Abbildung 39:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit PSA .....	103
<b>Abbildung 40:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit SJA .....	107
<b>Abbildung 41:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit SJA .....	107
<b>Abbildung 42:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit SNA .....	109
<b>Abbildung 43:</b> Glandula parotis, Streifenstück; Lektinbindung mit SNA .....	109
<b>Abbildung 44:</b> Glandula parotis, Basalzelle des Streifenstücks; Lektinbindung mit SNA .....	110
<b>Abbildung 45:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit SNA .....	110
<b>Abbildung 46:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit UEA-I .....	112
<b>Abbildung 47:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit UEA-I .....	112
<b>Abbildung 48:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit WGA .....	114
<b>Abbildung 49:</b> Glandula parotis, Endstück; Lektinbindung mit WGA .....	114
<b>Abbildung 50:</b> Glandula parotis, Schaltstück; Lektinbindung mit WGA .....	115

## Verzeichnisse

---

<b>Abbildung 51:</b> Glandula parotis, Streifenstück; Lektinbindung mit WGA.....	115
<b>Abbildung 52:</b> Glandula parotis; Lektinbindung mit WGA succ.....	117
<b>Abbildung 53:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Lektinbindung mit WGA succ.....	117
<b>Abbildung 54:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Laminin .....	119
<b>Abbildung 55:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Laminin .....	120
<b>Abbildung 56:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von „Non muscular myosin“.....	122
<b>Abbildung 57:</b> Glandula parotis, Streifenstück; Immunhistochemischer Nachweis von „Non muscular myosin“ .....	122
<b>Abbildung 58:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von „Non muscular myosin“ .....	123
<b>Abbildung 59:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“ .....	125
<b>Abbildung 60:</b> Glandula parotis, Myoepithelzelle; Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“ .....	125
<b>Abbildung 61:</b> Glandula parotis, Myoepithelzelle; Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“ .....	126
<b>Abbildung 62:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von „Smooth muscle actin“ .....	126
<b>Abbildung 63:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Synemin .....	128
<b>Abbildung 64:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Synemin.....	129

## Verzeichnisse

---

<b>Abbildung 65:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Synemin .....	129
<b>Abbildung 66:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin .....	131
<b>Abbildung 67:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin .....	132
<b>Abbildung 68:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin .....	132
<b>Abbildung 69:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin .....	134
<b>Abbildung 70:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin .....	134
<b>Abbildung 71:</b> Glandula parotis, Schaltstück; Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin .....	135
<b>Abbildung 72:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin .....	135
<b>Abbildung 73:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Pancytokeratin .....	137
<b>Abbildung 74:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Pancytokeratin .....	137
<b>Abbildung 75:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 5 .....	139
<b>Abbildung 76:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 5 .....	139
<b>Abbildung 77:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 5 .....	140
<b>Abbildung 78:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 7 .....	142

<b>Abbildung 79:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 7 .....	142
<b>Abbildung 80:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 8 .....	144
<b>Abbildung 81:</b> Glandula parotis, Stroma; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 8 .....	144
<b>Abbildung 82:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14 .....	146
<b>Abbildung 83:</b> Glandula parotis, Endstücke; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14 .....	146
<b>Abbildung 84:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14 .....	147
<b>Abbildung 85:</b> Glandula parotis, Ausführungsgang; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14 .....	147
<b>Abbildung 86:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 18 .....	149
<b>Abbildung 87:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 18 .....	149
<b>Abbildung 88:</b> Glandula parotis; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 19 .....	151
<b>Abbildung 89:</b> Glandula parotis, Schaltstück; Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 19 .....	151
<b>Abbildung 90:</b> Glandula parotis, seröse Endstückzellen; TEM Aufnahme: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz .....	153
<b>Abbildung 91:</b> Glandula parotis, seröse Endstückzelle; TEM	

## Verzeichnisse

---

Aufnahme: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz.....	154
<b>Abbildung 92:</b> Glandula parotis, Myoepithelzelle; TEM	
Aufnahme: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz.....	155
<b>Abbildung 93:</b> Glandula parotis, Schaltstück; TEM	
Aufnahme: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz.....	156
<b>Abbildung 94:</b> Glandula parotis, Schaltstück; TEM	
Aufnahme: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz.....	157
<b>Abbildung 95:</b> Glandula parotis, Streifenstück; TEM	
Aufnahme: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz.....	159
<b>Abbildung 96:</b> Glandula parotis, Streifenstück, Hauptzellen; TEM	
Aufnahme: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz.....	160
<b>Abbildung 97:</b> Glandula parotis, Streifenstück, Basalzelle; TEM	
Aufnahme: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz.....	161
<b>Abbildung 98:</b> Glandula parotis, „dunkle“ Basalzelle; TEM	
Aufnahme: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz.....	162
<b>Abbildung 99:</b> Glandula parotis, Mastzelle; TEM	
Aufnahme: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz.....	163

## 8.3. Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b>	Übsicht über die Einteilung ausgewählter Pflanzenlektine nach ihrer Zuckerspezifität modifiziert nach Gabius, 2009.....	30
<b>Tabelle 2:</b>	Einteilung der Intermediärfilamente nach Fuchs und Weber, 1994; Chang und Goldman, 2004.....	39
<b>Tabelle 3:</b>	Einteilung der Keratine modifiziert nach Schweizer et al., 2006.....	40
<b>Tabelle 4:</b>	Übersicht über das Probenmaterial für lichtmikroskopische, lektinhistochemische und immunhistochemische Untersuchungen.....	43
<b>Tabelle 5:</b>	Übersicht über das Probenmaterial für die ultrastrukturellen Untersuchungen.....	44
<b>Tabelle 6:</b>	Durchführung der H.E.-Färbung nach Mayer.....	47
<b>Tabelle 7:</b>	Durchführung der Trichromfärbung nach Masson und Goldner.....	48
<b>Tabelle 8:</b>	Durchführung der Resorcinfuchsin-van Gieson-Färbung.....	49
<b>Tabelle 9:</b>	Durchführung der Perjodsäure-Schiff-Reaktion nach Mc Manus.....	50
<b>Tabelle 10:</b>	Durchführung der Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5.....	52
<b>Tabelle 10.1:</b>	Durchführung der Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 1,0.....	53
<b>Tabelle 11:</b>	Verwendete Lektine.....	54
<b>Tabelle 12:</b>	Durchführung der Lektin-Untersuchungen mit FITC-konjugierten Lektinen.....	55
<b>Tabelle 13:</b>	Durchführung der Lektin-Untersuchungen mit biotinylierten Lektinen.....	56
<b>Tabelle 14:</b>	Übersicht über eingesetzte Primär-Antikörper mit Herstellerangabe.....	59

## Verzeichnisse

---

<b>Tabelle 15:</b> Übersicht über die Abfolge möglicher Arbeitsschritte bei der ABC-Methode .....	61
<b>Tabelle 15.1:</b> Anwendungsabfolge der in Tabelle 15 geschilderten Arbeitsschritte für alle verwendeten Antikörper .....	61
<b>Tabelle 16:</b> Durchführung der Arbeitsschritte zur Fixierung und Aufbereitung der Proben für die ultrastrukturellen Untersuchungen bis zur Einbettung in Kunstharz .....	64
<b>Tabelle 17:</b> Durchführung der Kunststoffeinbettung mit Kunstharz .....	65
<b>Tabelle 18:</b> Auswertung der Perjodsäure-Schiff-Reaktion nach Mc Manus .....	70
<b>Tabelle 18.1:</b> Auswertung der Perjodsäure-Schiff-Reaktion mit vorausgehender Acetylierung .....	72
<b>Tabelle 18.2:</b> Auswertung der Perjodsäure-Schiff-Reaktion mit vorausgehender Methylierung .....	74
<b>Tabelle 18.3:</b> Auswertung der Perjodsäure-Schiff-Reaktion mit vorausgehender Amylase-Behandlung .....	76
<b>Tabelle 19:</b> Auswertung der Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 2,5 und pH 1,0 .....	78
<b>Tabelle 20:</b> Lektin histochemischer Nachweis mit Con A .....	81
<b>Tabelle 21:</b> Lektin histochemischer Nachweis mit DBA .....	84
<b>Tabelle 22:</b> Lektin histochemischer Nachweis mit ECA .....	86
<b>Tabelle 23:</b> Lektin histochemischer Nachweis mit GSL-I .....	88
<b>Tabelle 24:</b> Lektin histochemischer Nachweis mit LCA .....	90
<b>Tabelle 25:</b> Lektin histochemischer Nachweis mit MAA-I .....	93
<b>Tabelle 26:</b> Lektin histochemischer Nachweis mit PHA-E .....	96

## Verzeichnisse

---

<b>Tabelle 27:</b>	Lektin histochemischer Nachweis mit PHA-L.....	99
<b>Tabelle 28:</b>	Lektin histochemischer Nachweis mit PNA.....	100
<b>Tabelle 29:</b>	Lektin histochemischer Nachweis mit PSA.....	101
<b>Tabelle 30:</b>	Lektin histochemischer Nachweis mit RCA.....	104
<b>Tabelle 31:</b>	Lektin histochemischer Nachweis mit SBA.....	105
<b>Tabelle 32:</b>	Lektin histochemischer Nachweis mit SJA.....	106
<b>Tabelle 33:</b>	Lektin histochemischer Nachweis mit SNA.....	108
<b>Tabelle 34:</b>	Lektin histochemischer Nachweis mit UEA-I.....	111
<b>Tabelle 35:</b>	Lektin histochemischer Nachweis mit WGA.....	113
<b>Tabelle 36:</b>	Lektin histochemischer Nachweis mit WGA succ.....	116
<b>Tabelle 37:</b>	Immun histochemischer Nachweis von Laminin.....	119
<b>Tabelle 38:</b>	Immun histochemischer Nachweis von Non muscular myosin.....	121
<b>Tabelle 39:</b>	Immun histochemischer Nachweis von Smooth muscle actin.....	124
<b>Tabelle 40:</b>	Immun histochemischer Nachweis von Synemin.....	128
<b>Tabelle 41:</b>	Immun histochemischer Nachweis von Tubulin.....	131
<b>Tabelle 42:</b>	Immun histochemischer Nachweis von Vimentin.....	133
<b>Tabelle 43:</b>	Immun histochemischer Nachweis von Pancytokeratin.....	136
<b>Tabelle 44:</b>	Immun histochemischer Nachweis von Cytokeratin 5.....	138
<b>Tabelle 45:</b>	Immun histochemischer Nachweis von Cytokeratin 7.....	141

## Verzeichnisse

---

<b>Tabelle 46:</b>	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 8 .....	143
<b>Tabelle 47:</b>	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 14 .....	145
<b>Tabelle 48:</b>	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 18 .....	148
<b>Tabelle 49:</b>	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratin 19 .....	150

## 8.4. Chemikalienverzeichnis

### 8.4.1. Fixierungen

#### 8.4.1.1. Lichtmikroskopie

##### Bouin'sche Lösung

Menge	Reagenz
375 ml	Gesättigte wässrige Pikrinsäure (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
125 ml	35%iges Formalin (Formaldehyd) (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)
25 ml	Eisessig (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)

##### 4% (PBS) gepuffertes Formalin

Menge	Reagenz
100 ml	37%ige Formalin (Formaldehyd) (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)
90 ml	PBS-Puffer
810 ml	DEPC (Diethylpyrocarbonat)-Wasser (K.028.2) (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)

#### 8.4.1.2. Elektronenmikroskopie

##### Fixierungslösung nach Karnovsky

Menge	Reagenz
Stammlösung	
20 ml	10%ige Paraformaldehyd-Lösung (Fa. Sigma-Aldrich)
50 ml	0,2 M-Natriumcacodylat-Puffer
0,05 g	Wasserfreies Calciumchlorid (CaCl <sub>2</sub> ) (Fa. Serva, Heidelberg/Deutschland)

Menge	Reagenz
Gebrauchslösung	
10 ml	Stammlösung
1,37 ml	25%iges Glutaraldehyd (Fa. Polysciences, Warrington/USA)

### 8.4.2. Lösungen und Pufferlösungen

#### 8.4.2.1. Lösungen für Lichtmikroskopie

Alcianblau 8GX pH 1,0

Menge	Reagenz
1 g	Alcianblau 8GS (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)
100 ml	0,1 N-Salzsäure (HCl) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
1 Stk.	Thymolkristall (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)

Alcianblau 8GX pH 2,5

Menge	Reagenz
1 g	Alcianblau 8GS (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)
100 ml	3%ige Essigsäure (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)
1 Stk.	Thymolkristall (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)

Azophloxin

Menge	Reagenz
0,5 g	Azophloxin (Fa. Chroma, Münster/Deutschland)
100 ml	Aqua dest.
0,2 ml	Eisessig (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)

## Eisenhämatoxylin nach Weigert

Menge	Reagenz
Stammlösung A	
1 g	Hämatoxylin (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
100 ml	96%iges Äthanol
Stammlösung B	
2,48 g	Eisen-III-Chlorid ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
100 ml	Aqua dest.
1 ml	37%ige Salzsäure (HCl) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
Eisenhämatoxylin nach Weigert	
1:1	Stammlösung A : Stammlösung B

## Eosin

Menge	Reagenz
1%ige Stammlösung	
2 g	Eosin (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
198 ml	Aqua dest.
tropfenweise	Formol (Haltbarkeit)
Menge	Reagenz
Gebrauchslösung	
60 ml	Stammlösung
600 ml	Aqua dest.
8 Tropfen	Eisessig (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)

## Essigsäure-Verdünnungen

Menge	Reagenz
1%ige Essigsäure	
10 ml	Eisessig (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)
1 l	Aqua dest.
3%ige Essigsäure	
30 ml	Eisessig (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)
1 l	Aqua dest.

## Essigsäureanhydrid-Pyridin-Lösung

Menge	Reagenz
16 ml	Essigsäureanhydrid (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim/Deutschland)
24 ml	Pyridin (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)

## Hämalaun nach Mayer

Menge	Reagenz
2 g	Hämatoxylin (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
0,4 g	Natriumjodat (Fa. Riedel de Haen AG, Seelze/Deutschland)
100 g	Kalialaun p.A. (Aluminiumkaliumsulfat, $\text{AlK}(\text{SO}_4)_x12\text{H}_2\text{O}$ )
100 g	Chloralhydrat ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}_3\text{O}_2$ ) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
2 g	kristalline Zitronensäure (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
ad 2 l	Aqua dest.

### Lichtgrün

Menge	Reagenz
0,1 - 0,2 g	Lichtgrün (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
100 ml	Aqua dest.
0,2 ml	Eisessig

### 0,5%ige wässrige Lösung von Perjodsäure

Menge	Reagenz
0,5 g	Perjodsäure (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)
100 ml	Aqua dest.

### Phosphormolybdänsäure-Orange

Menge	Reagenz
3 - 5 g	Phosphormolybdänsäure (Phosphorwolframsäure)
100 ml	Aqua dest.
2 g	Orange G (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)

### Pikrinsäure-Thiazinrot nach Domagk

Menge	Reagenz
100 ml	Gesättigte wässrige Pikrinsäure (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
7,5 ml	1%ige wässrige Thiazinlösung

## Resorcinfuchsinlösung

Menge	Reagenz
Stammlösung A	
2 g	Fuchsin (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
4 g	Resorcin (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
200 ml	Aqua dest.
Stammlösung B	
8 g	Eisen-III-Chlorid (FeCl <sub>3</sub> p.A.)
40 ml	Aqua dest.
Gebrauchslösung: Lösung A + Lösung B erhitzen und Niederschlag filtrieren	
350 ml	96%iges Äthanol (Filtrat und Äthanol bis zum Siedepunkt erhitzen)
2.8 ml	37%ige Salzsäure (HCl) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)

## 0,1 N-Salzsäure-Methanol (absolut)-Lösung

Menge	Reagenz
10 ml	1 N-Salzsäure (HCl) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
100 ml	Methanol (absolut) (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)

## Schwefeldioxid (SO<sub>2</sub>)-Wasser

Menge	Reagenz
200 ml	Leitungswasser
10 ml	Natrium- oder Kaliumpyrosulfit-Lösung
10 ml	1 N-Salzsäure (HCl) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)

### 8.4.2.2. Lösungen für Immunhistochemie

#### DAB (3,3-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid)-Wasserstoffperoxid-Lösung

Menge	Reagenz
Stammlösung	
5 ml	PBS Puffer (pH 7,4)
15 µl	30%iges Wasserstoffperoxid (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
Gebrauchslösung	
6	DAB-Tabletten (Fa. Kem-En-Tec Diagnostics A/S, Taastrup/Dänemark)
60 ml	Aqua dest.
400 µl	Stammlösung

### 8.4.2.3. Pufferlösungen

#### Phosphate Buffered Saline Solution (PBS)-Puffer pH 7,4

Menge	Reagenz
42,5 g	Natriumchlorid (NaCl) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
6,35 g	Di-Natrium-Hydrogenphosphat-Dihydrat (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
1,95 g	Natrium-Dihydrogen-Phosphat-1-Hydrat (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O) (Fa. Merck, Darmstadt/Deutschland)
5 l	Aqua dest.

## 8.4.2.4. Lösungen und Puffer für die Elektronenmikroskopie

### Bleicitratlösung nach Reynolds (pH 12)

Menge	Reagenz
0,266 g	Bleinitrat ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ) (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim/Deutschland)
0,352 g	Natriumcitrat ( $\text{Na}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim/Deutschland )
6 ml	Aqua dest.
1,6 ml	1N-Natronlauge (NaOH) (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland))

### Kontrastierungslösung

Menge	Reagenz
2%ige Osmiumtetroxid-Lösung	
2 ml	4%ige Osmiumtetroxid ( $\text{OsO}_4$ ) (Fa. Polysciences, Warrington/USA)
2 ml	0,1 M-Natriumcacodylat-Puffer
3%ige Kaliumferrocyanid-Lösung	
0,3 g	Kaliumferrocyanid ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim/Deutschland)
10 ml	0,1 M-Natriumcacodylat-Puffer
1%ige Osmiumtetroxid + 1,5%ige Kaliumferrocyanid in 0,1 M-Natriumcacodylatpuffer	
4 ml	2%ige Osmiumtetroxid-Lösung
4 ml	3%ige Kaliumferrocyanid-Lösung

## Methylenblau nach Richardson

Mischungsverhältnis	Reagenz
Stammlösung	
1:1	1%iges Methylenblau ( $C_{16}H_{18}N_3SCl$ ) (Fa. Merck, Darmstadt Deutschland) in 1%iges Borax ( $Na_2[B_4O_5(OH)_4] \cdot 8H_2O$ ) (Fa. Serva, Heidelberg/Deutschland)
Gebrauchslösung	
1:1	Stammlösung : 1%iges Azur II (Fa. Chroma-Gesellschaft GmbH & Co., Münster/Deutschland)

## Natriumcacodylat-Puffer

Menge	Reagenz
Stammlösung	
18,256 g	Natriumcacodylat-Natrium-Salt ( $Na(CH_3)_2AsO_2 \cdot 3H_2O$ ) (Fa.MP Biomedicals, mpbio.com)
200 ml	Aqua dest.
tropfenweise	0,2 M-Salzsäure (HCl) (Fa.Merck, Darmstadt/Deutschland) bis pH 7,2
0,2 M-Natriumcacodylat-Puffer (pH 7,2)	
50 ml	Stammlösung (tropfenweise 0,2 M-HCl bis pH 7,2)
ad 100 ml	Aqua dest.
0,1 M-Natriumcacodylat-Puffer (pH 7,2)	
50 ml	0,2 M-Natriumcacodylat-Puffer
ad 100 ml	Aqua dest.

### 10%ige Paraformaldehyd (PFA)-Lösung

Menge	Reagenz
10 g	Paraformaldehyd (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim/Deutschland)
100 ml	Aqua dest.
1-2 Tropfen	1 N-Natronlauge (NaOH) (Fa. Carl Roth, Karlsruhe/Deutschland)

### Polyembed-Einbettmedium

Menge	Reagenz
20 ml + 1,4 ml	Poly/Bed 812-BDMA (Fa. Polysciences, Warrington/USA)
16 ml	DDSA (Dodeceny Succinic Anhydride)
10 ml	NMA (NADIC Methyl Anhydride)

### 9. Anhang

#### 9.1. Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz für die Überlassung des Themas, die jederzeit gewährte wissenschaftliche Beratung und die freundliche Betreuung während der Anfertigung dieser Doktorarbeit herzlich bedanken. Ferner danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz für die Erstellung und Bereitstellung der in dieser Arbeit verwendeten elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Ferner danke ich Frau Rußmeier, Frau Settles und Herrn Gök für ihre Hilfe und Unterstützung bei der Einarbeitung in lichtmikroskopische, glykohistochemische und immunhistochemische Techniken.

Frau Scholz und Frau Neumüller danke ich besonders für die engagierte Hilfe bei der Vorbereitung der Proben für die ultrastrukturellen Untersuchungen und ihre Unterstützung bei der Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Ein besonderes Dankeschön gilt Frau Dr. Ebach, Frau Dr. Kenngott, Frau Dr. Rodler und Herrn Dr. Habermann für ihr offenes Ohr bei Fragen jeder Art und die Bereitstellung wissenschaftlicher Literatur.

Frau Karzior möchte ich herzlich für ihre Hilfe bei organisatorischen Fragen danken.

Des Weiteren danke ich der Münchner Schlachthof Betriebs GmbH, Zenettistr. 10, München für die Erlaubnis zur Gewinnung der Proben.

Von ganzem Herzen bedanke ich mich bei meinen Freunden Ines Czupalla, Carolin Daniczek, Carina Lang und Peter Meinhard für ihre Hilfe bei der Korrektur dieser Arbeit und vorallem für ihre motivierende Unterstützung in allen Lebenslagen.

Abschließend möchte ich mich ganz besonders bei meinen Eltern bedanken ohne deren liebe Hilfe und Unterstützung die Erstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.