

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

**HISTOLOGISCHE, HISTOCHEMISCHE UND  
ULTRASTRUKTURELLE UNTERSUCHUNGEN AN DER  
NIERE DES STRAUßES**  
*(STRUTHIO CAMELUS)*

von Annette Reistle  
aus Starnberg  
München 2015

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

Lehrstuhl für Anatomie, Histologie und Embryologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. Fred Sinowatz

Gedruckt mit 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: Prof. Dr. Sabine André

Tag der Promotion: 18. Juli 2015

## INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS.....	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	IV
<b>1 EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURÜBERSICHT.....</b>	<b>2</b>
2.1 AUFBAU DER VOGELNIERE.....	2
2.2 FEINBAU DER VOGELNIERE.....	3
2.2.1 Nierenkörperchen.....	4
2.2.2 Tubulusapparat.....	5
2.2.3 Juxtaglomerulärer Apparat.....	8
2.2.4 Interstitium.....	10
2.3 FUNKTION DER VOGELNIERE.....	10
2.4 LEKTINHISTOCHEMIE.....	12
2.4.1 Definition.....	12
2.4.2 Vorkommen und Anwendung.....	12
2.4.3 Einteilung und Struktur.....	14
2.4.4 Lektinbindungsstellen in der Niere.....	16
2.5 IMMUNHISTOCHEMIE.....	17
<b>3 MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>19</b>
3.1 UNTERSUCHUNGSMATERIAL.....	19
3.2 PROBENENTNAHME UND FIXIERUNG.....	19
3.3 KONVENTIONELLE FÄRBUNGEN FÜR DIE LICHTMIKROSKOPIE.....	20
3.3.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung.....	21
3.3.2 Trichromfärbung nach Masson-Goldner.....	21
3.3.3 Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS-Reaktion) nach McManus mit und ohne Amylase.....	21
3.3.4 Alcianblau-Färbung.....	22
3.4 GLYKOHISTOCHEMISCHE FÄRBUNGEN.....	23
3.5 IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNGEN.....	27
3.6 ELEKTRONENMIKROSKOPIE.....	30
<b>4 ERGEBNISSE.....</b>	<b>32</b>
4.1 LICHTMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN.....	32
4.1.1 Nierenkörperchen.....	33
4.1.2 Tubulusapparat.....	36

---

4.1.3 Nierenmark und Henle-Schleifen.....	38
4.1.4 Sammelrohre und Ductus colligens.....	40
4.2 GLYKOHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN.....	43
4.2.1 Bindungsstellen von <i>Canavalia ensiformis</i> Agglutinin (ConA).....	43
4.2.2 Bindungsstellen von <i>Dolichos biflorus</i> Agglutinin (DBA).....	43
4.2.3 Bindungsstellen von <i>Griffonia simplicifolia</i> Agglutinin I (GSL-I).....	43
4.2.4 Bindungsstellen von <i>Lens culinaris</i> Agglutinin (LCA).....	44
4.2.5 Bindungsstellen von <i>Maackia amurensis</i> Agglutinin I (MAA-I).....	46
4.2.6 Bindungsstellen von <i>Phaseolus vulgaris</i> Erythroagglutinin (PHA-E).....	48
4.2.7 Bindungsstellen von <i>Phaseolus vulgaris</i> Leukoagglutinin (PHA-L).....	50
4.2.8 Bindungsstellen von Peanut Agglutinin (PNA).....	52
4.2.9 Bindungsstellen von <i>Pisum sativum</i> Agglutinin (PSA).....	54
4.2.10 Bindungsstellen <i>Ricinus communis</i> Agglutinin (RCA).....	56
4.2.11 Bindungsstellen von Soybean Agglutinin (SBA).....	57
4.2.12 Bindungsstellen von <i>Sophora japonica</i> Agglutinin (SJA).....	59
4.2.13 Bindungsstellen von <i>Sambucus nigra</i> Agglutinin (SNA).....	60
4.2.14 Bindungsstellen von <i>Ulex europaeus</i> Agglutinin I (UEA-I).....	60
4.2.15 Bindungsstellen von Wheat germ Agglutinin (WGA) .....	61
4.2.16 Bindungsstellen von Wheat germ Agglutinin succinyliert (WGAs).....	63
4.3 IMMUNHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN.....	65
4.3.1 Immunhistochemischer Nachweis von Zytokeratin 8.....	66
4.3.2 Immunhistochemischer Nachweis von Zytokeratin 14.....	67
4.3.3 Immunhistochemischer Nachweis von Zytokeratin 18.....	69
4.3.4 Immunhistochemischer Nachweis von Zytokeratin 19.....	71
4.3.5 Immunhistochemischer Nachweis von Desmin.....	73
4.3.6 Immunhistochemischer Nachweis von Panzytokeratin.....	74
4.3.7 Immunhistochemischer Nachweis von „ $\alpha$ -smooth muscle actin“ ( $\alpha$ -SMA).....	76
4.3.8 Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin.....	78
4.4 ULTRASTRUKTURELLE UNTERSUCHUNGEN.....	80
4.4.1 Ultrastruktur des Glomerulum.....	80
4.4.2 Ultrastruktur des Tubulusapparates.....	84
4.4.3 Ultrastruktur der Henle-Schleife.....	87
4.4.4 Ultrastruktur des Sammelrohres.....	89
<b>5 DISKUSSION.....</b>	<b>93</b>
<b>6 ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>106</b>
<b>7 SUMMARY.....</b>	<b>108</b>

---

<b>8 VERZEICHNISSE .....</b>	<b>110</b>
8.1 LITERATURVERZEICHNIS.....	110
8.2 ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	118
8.3 TABELLENVERZEICHNIS.....	123
<b>9 ANHANG.....</b>	<b>124</b>
9.1 GEBRAUCHSLÖSUNGEN FÜR DIE LICHTMIKROSKOPIE.....	124
9.1.1 <i>Fixantien</i> .....	124
9.1.2 <i>Puffer</i> .....	124
9.1.3 <i>Lösungen</i> .....	124
9.2 GEBRAUCHSLÖSUNGEN FÜR DIE ELEKTRONENMIKROSKOPIE.....	127
9.2.1 <i>Fixantien</i> .....	127
9.2.2 <i>Puffer</i> .....	127
9.2.3 <i>Kontrastierungslösungen</i> .....	127
9.2.4 <i>Einbettmedien</i> .....	128
9.2.5 <i>Färbelösungen</i> .....	128
9.2.6 <i>Nachkontrastierungsmedien</i> .....	128
<b>10 DANKSAGUNG.....</b>	<b>129</b>

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

Abb.	Abbildung
ABC	Avidin - Biotin - Complex
Aqua dest.	Aqua destillata
AK	Antikörper
$\alpha$ -SMA	alpha - „smooth muscle actin“
biot.	Biotinyliert
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CK	Zytokeratin
CK 5	Zytokeratin 5
CK 7	Zytokeratin 7
CK 8	Zytokeratin 8
CK 14	Zytokeratin 14
CK 18	Zytokeratin 18
CK 19	Zytokeratin 19
cm	Zentimeter
ConA	Canavalia ensiformis Agglutinin
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DAPI	4',6-Diamidin-2'-phenylindol-dihydrochlorid
DBA	Dolichos biflorus Agglutinin
DEPC	Diethylpyrocarbonat
EM	Elektronenmikroskopie
et al.	et alii, et aliae
FITC	Fluoreszeinisothiocyanat
Fuc	Fukose
g	Gramm
Gal	Galaktose
GalNAc	N-Acetyl-Galaktosamin
Glc	Glukose
GlcNAc	N-Acetyl-Glukosamin
GSL-I	Griffonia simplicifolia Agglutinin I
H.E.	Hämatoxylin-Eosin

---

HRP	Horseradish peroxidase
IgG	Immunglobulin G
kg	Kilogramm
km/h	Kilometer pro Stunde
L	Liter
LCA	Lens culinaris Agglutinin
LM	Lichtmikroskopie
m	männlich
M	molar
MAA-I	Maackia amurensis Agglutinin I
Man	Mannose
µg	Mikrogramm
min	Minute
µl	Mikroliter
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
Neu5Ac	N-Acetyl-Neuraminsäure
nm	Nanometer
PAS	Periodic Acid Schiff
PBS	Phosphate buffered saline
pH	potentia Hydrogenii
PHA-E	Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin
PHA-L	Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin
PNA	Peanut Agglutinin
PSA	Pisum sativum Agglutinin
RCA	Ricinus communis Agglutinin
RT	Raumtemperatur
SB	scale bar
SJA	Sophora japonica Agglutinin
SNA	Sambucus nigra Agglutinin
UEA-I	Ulex europaeus Agglutinin I
v.a.	vor allem
w	weiblich

WGA	Wheat germ Agglutinin
WGAs	Wheat germ Agglutinin succinyliert
z. B.	zum Beispiel

## 1 Einleitung

Der afrikanische Strauß (*Struthio camelus*) aus der Familie der Struthionidae gehört zusammen mit Kiwi, Emu, Rhea und Cassowary zu den Laufvögeln (Integrated Taxonomy Information System, ITIS). Er ist mit bis zu 2,75 Metern nicht nur der größte und mit 90 bis 150 kg schwerste gegenwärtig lebende Vogel, sondern auch der am schnellsten Laufende und erreicht bis zu 60 - 70 km/h (Deeming, 1999). Ursprünglich in Afrika, Arabien und Persien verbreitet (Smalian, 2013), kommt er heute nur noch südlich der Sahara auf dem afrikanischen Kontinent vor, ist jedoch durch die Haltung auf Farmen als Fleisch-, Leder- und Federlieferant auch in Europa als Nutztier beliebt geworden (Westheide et al., 2014).

Der Name „*Struthio camelus*“ stammt aus dem altgriechischen und bedeutet soviel wie „Kamelspatz“, was als Anspielung auf seinen langen Hals zu verstehen ist (Cooper et al., 2009). Jedoch nicht nur sein Aussehen, auch sein Trinkverhalten erinnert an ein Kamel. Der Strauß kann sehr lange ohne Wasser auskommen. Ist dies der Fall, kann seine Niere Urin hoch konzentrieren und es werden nur kleine Mengen viskösen Urins ausgeschieden. Steht ihm jedoch unbegrenzt Wasser zur Verfügung, trinkt er relativ große Mengen an Wasser und scheidet hochverdünnten Urin aus (Dingle, 1999; Smalian, 2013).

Aus histologischer und histochemischer Sicht existieren über die Niere des Straußes bisher noch kaum Untersuchungen. Ziel dieser Arbeit ist es, die Niere des Straußes auf seine histologischen, immunhistochemischen, glykohistochemischen und ultrastrukturellen Besonderheiten hin zu untersuchen und zu beschreiben.



Abbildung 1: Afrikanischer Strauß, Krüger Nationalpark, Südafrika

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Aufbau der Vogelniere

Die Vogelniere liegt retroperitoneal in Einbuchtungen des Synsacrums mit Darmabschnitten kaudal, den Nebennieren und Keimdrüsen kranial und dem Peritoneum des Eingeweidebauchfellsacks ventral (König & Liebich, 2009). Je nach Blutgehalt ist sie blass- bis dunkelbraunrot und macht relativ ca. 1 % des Körpergewichts aus, bei großen Vögeln (über 1 kg Körpergewicht) etwas weniger, bei kleinen (unter 1 kg) etwas mehr (Warui, 1989; Nickel et al., 2004). Sie ist paarig in drei Abteilungen angelegt: Die Divisio renalis cranialis wird durch die Arteria und Vena iliaca externa sowie den Nervus femoralis von der meist kleinsten Divisio renalis media abgegrenzt, welche wiederum von der Divisio renalis caudalis getrennt wird durch die Arteria und Vena ischiadica (Hummel, 2000). Äste des Plexus lumbalis und des Plexus sacralis ziehen durch das Nierengewebe der mittleren und kaudalen Abteilungen hindurch. Untereinander sind die Abteilungen über Parenchymbrücken verbunden, die manchmal auch oberflächlich undeutlich voneinander abgegrenzt sind (Nickel et al., 2004).

Jede Abteilung ist von einer zarten Kapsel umgeben, deren Septen ins Nierengewebe ziehen und die Läppchen, Lobuli renales, begrenzen. Dreidimensional betrachtet ist ein Läppchen birnenförmig aufgebaut: Der breite Teil, die Rindenzone (Cortex renalis), enthält kortikale und medulläre Nephronen (Hummel, 2000) sowie Übergangstypen (Boykin & Braun, 1993). Sie macht mit 70 - 80 % den weitaus größeren Anteil der Niere aus, während der Markanteil (Medulla renalis) nur bei 5 - 15 % des Nierenvolumens liegt und bei arid lebenden Vogelarten wie beispielsweise dem Strauß mit einem Markanteil von 14,83 % besser ausgebildet ist (Warui, 1989). In dem sich pyramidenartig verjüngenden Teil, der Markzone (Medulla renalis), finden sich parallel angeordnet die Henle-Schleifen der medullären Nephronen, Vasa recta der Blutgefäße sowie die Sammelrohre (Nishimura et al., 1986). Diese führen blumenstraußartig zu einem Ureterast 1. Ordnung, dem Primärast (Ductus colligens) zusammen. Zur Spitze der Markpyramide hin finden sich immer weniger bis keine Henle-Schleifen mehr (Nickel et al., 2004). Deshalb ist das in eine Bindegewebshülle eingefasste Mark kegelförmig (Casotti et al., 2000). Da Harn aus der Rindenzone eines Läppchens in mehrere Markzonen abgeführt wird bzw. jede Markzone Harn von

Rindenbereichen verschiedener Läppchen erhält, ist ein Läppchen definiert als Markkegel mit denjenigen Rindenanteilen, deren Sammelrohre darin münden (King et al., 1978; Nickel et al., 2004).

Das Bindegewebe, das ein Nierenläppchen umgibt, führt die zuführenden Venen (Venae interlobulares) sowie abführende Rindensammelrohre (Tubuli colligentes perilobulares), die an der Rinden-Markgrenze in die Marksammelrohre übergehen. Im Zentrum hingegen verlaufen die Arteria intralobularis und die abführende Vene, Vena intralobularis oder centralis (Nickel et al., 2004).

In der Läppchenperipherie münden die distalen Tubuli der kortikalen Nephronen in Sammelrohre. Diese verbinden sich und erhalten im folgenden Verlauf ausschließlich Zugänge der Übergangsnephronen. Diese Sammelrohre gelangen in die Markkegel und fließen wiederum zusammen. Im weiteren Verlauf erhalten sie Zuflüsse der medullären Nephronen, normalerweise jedoch maximal drei. Anschließend vereinigen sich weitere Sammelrohre und bilden schließlich am Ende des Markkegels einen einzigen Abfluss (Boykin & Braun, 1993). Dem Markkegel benachbarte kortikale Sammelrohre ziehen dagegen gleich in diesen hinein, ohne sich zu verzweigen (Johnson & Mugaas, 1970).

Die Markzonen mehrerer Läppchen konvergieren und bilden Lobi renales, Nierenlappen (Hummel, 2000). Ein Lobus beinhaltet mehrere Markbereiche und deren Einzugsgebiete aus der Nierenrinde, deren Harn über einen Ureterast zweiter Ordnung (Ramus uretericus secundarius) abgeführt wird (King et al., 1978; König & Liebich, 2009). Je Nierenlappen münden unterschiedlich viele Sekundäräste in Primäräste, die dem Harnleiter direkt zufließen (König & Liebich, 2009), da die Vogelniere kein Nierenbecken besitzt (Whittow, 1999).

Da nicht alle Rindenbereiche die Nierenoberfläche erreichen sondern die Lobuli oberflächlich und tief im Gewebe liegen, findet sich keine Schichtung in äußere Rinde und inneren Markbereich. Statt dessen ergeben sich im histologischen Schnittbild große Rindenbezirke mit kleinen Markinseln. Deren Anzahl variiert nach Vogelarten und ist umso höher, je mehr Wasser zurückgewonnen werden kann (King et al., 1978). Diejenigen Läppchen, die an die Oberfläche treten, sind makroskopisch als vorgewölbte Kuppeln erkennbar (Liebich, 2010)

## 2.2 Feinbau der Vogelniere

Wie beim Säugetier bilden die Nephronen die kleinste Funktionseinheit der Niere,

bestehend aus Nierenkörperchen und anschließendem Tubulusapparat. Im Unterschied dazu sind die Nierenkörperchen allerdings deutlich kleiner mit einer höheren Anzahl pro Volumeneinheit Nierengewebe und es werden verschiedene Arten von Nephronen beschrieben: 60 - 90 % sind vom kortikalen Typ ("reptilian-type nephron") mit kleineren, einfacheren Glomerula und keiner oder kaum ausgebildeten Henle-Schleifen in der Rindenzone; bei 10 - 40 % der Nephrone kommt der medulläre Typ ("mammalian-type nephron") vor, mit relativ großen und komplexen Glomerula nahe des Markkegels und Henle-Schleifen, die in den Markkegel ziehen. Bei verschiedenen Vogelarten wird ein dritter Typ beschrieben, der eine Zwischenstellung mit kürzerer Henle-Schleife einnimmt (Nickel et al., 2004) und als Übergangsform kontinuierlich an Größe und Komplexität zunimmt (Boykin & Braun, 1993). Während die kleineren Nephrone mehr an der Oberfläche der Niere lokalisiert sind, nimmt deren Größe zu je tiefer sie im Nierengewebe liegen (Whittow, 1999)

### 2.2.1 Nierenkörperchen

Zu Beginn des Nephrons steht das Nierenkörperchen, das sich aus Gefäßknäuel (Glomerulus) und Bowman-Kapsel (Capsula glomerularis) zusammensetzt (Nickel et al., 2004). Am Gefäßpol des Glomerulums treten die afferenten und efferenten Arteriolen ein und aus und bilden ein arterio-arterielles Kapillarnetz (Rete capillare glomerulare) aus 4 bis 8 Ästen des Vas afferens mit bis zu 50 Kapillarschlingen und Anastomosen (Liebich, 2010). Als Aufhängeapparat für die Kapillarschlingen dienen Mesangialzellen, die vom Gefäßpol in das Nierenkörperchen ziehen (Nickel et al., 2004) und selbst in eine PAS-positive, basalmembranartige Grundsubstanz eingebettet sind (Hees & Sinowatz, 2006); durch Phagozytose reinigen sie den Filtrationsapparat von höhermolekularen Ablagerungen (Hummel, 2000).

Die Bowman-Kapsel besteht aus einem äußeren, parietalen Blatt, das aus einer Schicht Plattenepithelzellen gebildet wird, die am Harnpol in das isoprismatische Epithel des proximalen Tubulus übergeht. Am Gefäßpol schlägt sie in ein inneres, viszerales Blatt um (Nickel et al., 2004). Es besteht aus kubischen Zellen, den Podozyten, von deren Zellkörpern zahlreiche verzahnte Zytoplasmafortsätze ausgehen, die der Basalmembran der Kapillaren aufliegen (Snelgrove-Hobson et al., 1988). Teilweise liegen sie auch den Mesangialzellen auf (Nickel et al., 2004). Der Filtrationsapparat des Nierenkörperchens besteht aus Kapillarendothel,

Basalmembran der Kapillaren und dem viszeralen Blatt der Kapsel, deren aneinander grenzende Podozytenfortsätze Schlitzmembranen bilden (Hummel, 2000; Hees & Sinowatz, 2006).

Das Endothel der Kapillaren ist sehr dünn mit vielen kleinen runden Poren von etwa 80 Nanometer Breite. Es erlaubt den Austritt von Blutplasma (Weyrauch, 2009) und kann Endothelin produzieren, das die Vasokonstriktion der glomerulären Arteriolen reguliert (Liebich, 2010).

Der Kapillarwand liegt die Basalmembran als Grenz- und Filterschicht an. Sie ist aufgebaut aus der Lamina rara interna innen, der Lamina densa als mechanischer Filter, und der Lamina rara externa außen (Liebich, 2010). Sie ist für die Größenselektion zuständig und hält Moleküle mit einer Masse größer 400 000 Dalton zurück (Hees & Sinowatz, 2006; Weyrauch, 2009)

Die feinste Filterstruktur der Blut-Harn-Schranke bilden die Öffnungen der nebeneinander liegenden Fortsätze der Podozyten, die von einer Schlitzmembran mit Poren überzogen sind (Hees & Sinowatz, 2006; Weyrauch, 2009). Durch diese Spalträume können nur Substanzen mit einem Molekulargewicht unter 70000 und einem Durchmesser kleiner 7 nm passieren (Hummel, 2000). So werden auch die Plasmaproteine, die kleinsten Proteine des Blutes, zurückgehalten (Hees & Sinowatz, 2006).

Durch den hämodynamischen Druck, der im Anfangsteil der Kapillaren größer ist als der kolloidosmotische Druck, wird der Primärharn, ein fast proteinfreies Ultrafiltrat des Blutes, in den Kapselraum (Lumen capsulae) gepresst, das über den Harnpol das Nierenkörperchen verlässt (Hees & Sinowatz, 2006).

### **2.2.2 Tubulusapparat**

Da nur ein geringer Anteil des Primärharns letztendlich ausgeschieden wird, ist dem Nierenkörperchen ein Tubulussystem angeschlossen, das für die Reabsorption und Konzentration des Ultrafiltrats zuständig ist (Weyrauch, 2009).

Der Aufbau des medullären Nephrontyps entspricht dem der Säugetiere. Zwischen proximalem und distalem Tubulus contortus befindet sich die im Vergleich etwas kürzere Henle-Schleife (Ansa nephroni) mit einem absteigenden dünnen und aufsteigenden dicken Teil (Hummel, 2000). Sie gleicht dem kurzen Typ der Säuger, da sich ihr Durchmesser bereits vor dem Umschlagpunkt erweitert (King et al., 1978). Ein Zwischenstück verbindet den distalen Tubulus an der Lappchenperipherie mit dem Sammelrohr (Nickel et al., 2004).

Die kortikalen Nephronen unterscheiden sich durch Fehlen der Henle-Schleife von denen der Säuger (Hummel, 2000; Liebich, 2010). Hier nimmt der proximale Tubulus contortus mit N-förmigem Verlauf ca. die Hälfte der Länge des Nephrons ein (Nickel et al., 2004). Ihm folgt nach einem kurzen, gewundenen Zwischenstück der distale Tubulus contortus, der sich in der Nähe der intralobulären Vene befindet (King et al., 1978).

Die Übergangsform von kortikalem zu medullärem Nephron besitzt Merkmale beider Nephrontypen und liegt in verschiedenen Stufen vor in Bezug auf ihre Komplexität und Länge. Diese Nephronen besitzen längere schleifenähnliche Mittelstücke, die nicht durch die Markkegel ziehen. Der proximale Tubulus ist bei diesem Typ weniger gewunden als bei medullären Nephronen (Boykin & Braun, 1993).

Aus dem äußeren Blatt der Bowman-Kapsel geht der proximale Tubulus (Pars contorta) hervor und bildet Schlingen in Nähe seines zugehörigen Nierenkörperchens (Liebich, 2010). Vor seinem Eintritt in den Markkegel wird der proximale Tubulus gerade und formt die Pars recta (Braun & Reimer, 1988). Bei einem Durchmesser von ca. 40  $\mu\text{m}$  besteht er aus iso- bis leicht hochprismatischem Epithel mit ca. 12  $\mu\text{m}$  hohen Zellen und runden, zentralen Zellkernen und eosinophilem Zytoplasma. (Nishimura et al. 1986; Nickel et al., 2004). Apikal befindet sich ein 1 - 1,5  $\mu\text{m}$  breiter Saum aus Mikrovilli (Nickel et al., 2004), durch deren hohe Dichte die Resorptionsoberfläche enorm vergrößert wird (Liebich, 2010). Da die Mitochondrien anders als beim Säuger in der Zelle verteilt statt regelmäßig angeordnet sind, tritt keine basale Streifung auf (Nickel et al., 2004). Hauptfunktion des proximalen Tubulus ist die Reabsorption von Proteinen, Aminosäuren, Bikarbonat und Glukose (Liebich, 2010).

Die gerade Markschleife (Henle-Schleife, Ansa nephroni) der medullären Nephronen ist wie beim Säuger am Umschlagpunkt im Durchmesser deutlich erweitert und ähnelt daher dessen „kurzem Typ“. Im Gegensatz zum Säugetier lässt sich jedoch keine klare Grenze zum proximalen Tubulus bestimmen, da der Durchmesser zum absteigenden, dünnen Teil (Pars descendens ansae) der Markschleife stetig abnimmt (Nickel et al., 2004). Unabhängig von der Nierengröße ist der Durchmesser der Henle-Schleife beim Vogel relativ gleich groß mit 18 bis 35 im aufsteigenden und 11 bis 22 im absteigenden Teil, der damit

breiter als bei Säugern ist (Johnson & Mugaas, 1970). Beim Vogel existiert kein dünner aufsteigender Teil, auch nicht bei Nephronen mit langen Schleifen; statt dessen befindet sich immer ein dickes Segment vor dem Umkehrpunkt der Schleife, dessen Zellen vom dickem Epithelzelltyp sind (Nishimura et al., 1986; Braun & Reimer, 1988). Hauptaufgaben der Henle-Schleife sind die Wasserreabsorption und Konzentrierung des Primärharns. Die Länge der Schleife ist ausschlaggebend für diese Fähigkeit (Liebich, 2010). Über ein Gegenstromprinzip mit den eng parallel aneinander liegenden Schenkeln der Schleife, den Vasa recta und den Sammelrohren wird der Harn konzentriert (Braun, 1972; Liebich, 2010).

Die kortikalen Nephronen besitzen an Stelle der Markschleife ein Verbindungsstück zum distalen Tubulus. Dieses besteht aus 15 - 20 µm hohen kubischen Zellen und weist im Gegensatz zum proximalen Tubulus keinen Bürstensaum auf (Nishimura et al., 1986).

Die Stelle, an der sich der Tubulus an sein zugehöriges Glomerulum anlegt, markiert den Beginn des distalen Tubulus contortus (Nishimura et al., 1986). Bei einem kleineren äußeren Durchmesser von ca. 23 µm und isoprismatischem Epithel liegen die runden Zellkerne zentral wie im proximalen Tubulus, apikal befinden sich dagegen nur wenige Mikrovilli und weiter distal schließlich keine mehr (Nickel et al., 2004).

Die apikale Zellmembran erscheint zum Lumen hin vorgewölbt mit zahlreichen darunterliegenden mikropinozytotischen Vesikeln. Die großen, länglichen Mitochondrien sind in Einfaltungen der Membran basal und lateral eingebettet, weiter distal treten sie rundlicher und kleiner auf. In diesem Abschnitt findet sich als neuer Zelltyp die sog. Schaltzellen oder „dark cells“ (Nickel et al., 2004).

Den Tubulusabschnitten schließt sich ein ca. 30 µm starkes Verbindungsstück (Tubulus conjungens) an, das den distalen Tubulus mit dem kortikalem Sammelrohr verbindet. Dieses ist gekennzeichnet durch das Auftreten dreier verschiedener Zelltypen: Schleimzellen, die dunkleren Schaltzellen („dark cells“), sowie die den Hauptzellen des distalen Tubulus entsprechenden Zellen, die im distalen Verlauf zunehmend ersetzt werden durch Schalt- und Schleimzellen. Sie alle haben isoprismatische Form und zentral oder basal gelegene, runde Zellkerne. Die Schaltzellen haben kleine Mikrovilli, zahlreiche mikropinozytotische Vesikel

und runde Mitochondrien unter Einfaltungen der Zellmembran. Ihre genaue Funktion ist noch ungeklärt, vermutlich sind sie an Wasserabsorption und Kaliumtransport beteiligt (Nickel et al., 2004).

Die Schleimzellen sind mit zahlreichen muzinhaltigen, dem Golgi-Apparat entstammenden, bis zu 2 µm großen Vakuolen ausgestattet, die sich oft apikal in größeren Gruppen befinden (Nicholson, 1982). Ihr Muzin besteht ausschließlich aus sauren Mukopolysacchariden die das Epithel schützen, der Stabilisierung des Uratsols dienen und ein Ausfallen der Harnsäure verhindern (Nickel et al., 2004).

Am Übergang in die perilobulären Sammelrohre in der Lappchenperipherie verschwinden die Schaltzellen bald. Das sehr helle, zunächst einschichtiges Epithel des Sammelrohrs nimmt im Verlauf an Höhe zu iso- bis hochprismatischem Epithel zu (Nicholson, 1982). Der Durchmesser des initialen Sammelrohres beträgt ca. 30 - 40 µm (Nishimura et al., 1986). Viele Epithelzellen besitzen Muzingranula, die im Gegensatz zu denen der Verbindungsstücke jedoch saure und neutrale Glycosaminoglycane enthalten. In den Sammelrohren kommt ein weiterer Zelltyp vor, der keine Schleimvakuolen, dafür jedoch pinozytotische Vesikel aufweist (Nickel et al., 2004). Kortikale und medulläre Sammelrohre sowie ihre Vakuolen stellen sich stark PAS und Alcianblau positiv dar. Im Lumen anfärbbares Material spricht für Entleerung von Schleim (Nicholson, 1982).

### **2.2.3 Juxtaglomerulärer Apparat**

Der juxtaglomeruläre Apparat (Complexus juxtaglomerularis) ist eine Einrichtung am proximalen Teil des Nierenkörperchens, dem Gefäßpol (König und Liebich, 2009). Er ist bei den meisten Vogelarten vollständig ausgebildet und besteht aus Macula densa, epitheloiden, juxtaglomerulären Zellen und extraglomerulären Mesangiumzellen (Nickel et al., 2004). Diese Strukturen dienen zur Blutdruckregulation sowie als Sensoren für die Natriumkonzentration des Harns (Hees & Sinowatz, 2006).

Die epitheloiden, juxtaglomerulären Zellen oder Polkissenzellen liegen in der Gefäßwand der afferenten glomerulären Arteriole kurz bevor diese ins Glomerulum eintritt. Sie sind modifizierte glatte Muskelzellen mit Sekretgranula, die die Protease Renin beinhalten. Bei Bedarf wird dieses ins Blut abgegeben und wirkt einerseits über die Spaltung von Angiotensinogen zu Angiotensin I und II stark vasokonstriktorisch, und führt andererseits über die Freisetzung von Aldosteron und Katecholaminen in der Nebenniere zur Verminderung der renalen

Durchblutung, glomerulären Filtration, und damit zur reduzierten Natrium- und Wasserausscheidung (Hees & Sinowatz, 2006). Auch bei verschiedenen Vogelarten wurde immunhistochemisch Renin nachgewiesen (Nickel et al., 2004). Beim Huhn wird das Fehlen von juxtaglomerulären Zellen mit Granula in benachbarter Arteriole und Mesangium beschrieben. Bei medullären Nephronen konnte immerhin eine juxtaglomeruläre, körnige Beschaffenheit in der afferenten Arteriole identifiziert werden, obwohl keine spezielle Macula densa Region ausgebildet war (Wideman et al., 1981).

Als Macula densa bezeichnet man den Teil des distalen Tubulus, der dem Nierenkörperchen im Bereich des Gefäßpols zwischen afferenter und efferenter Arteriole eng anliegt (Doll et al., 2010). Bei Huhn und Wachtel konnten keine spezialisierten Macula densa Zellen nachgewiesen werden, wie die dichteren und höheren Zellen mit verlängertem Zellkern beim Säuger. Statt dessen besteht dieser Bereich aus relativ kleinen Epithelzellen mit kompaktem, basal liegendem Zellkern (Ogawa & Sokabe, 1971, Wideman et al., 1981, Nishimura et al., 1986). Ihre Funktion ist die Bestimmung der Natriumkonzentration im tubulären Harn, ihre Zellen grenzen direkt an die extraglomerulären Mesangiumzellen, die wiederum mit dem Vas afferens in direkter Verbindung stehen. Auch diese Zellen sind modifizierte Muskelzellen und dienen der renalen Durchblutungsregulation (Doll et al., 2010). Bei verschiedenen Vogelarten nachgewiesen und auch Insulae juxtavasculares, Lacis-Zellen oder Goormaghtigsche Zellen genannt (Nickel et al., 2004), setzt sich diese Ansammlung kleiner, spindelförmiger Zellen mit dünnen, sich verzweigenden Fortsätzen in das intraglomeruläre Mesangium fort (Hees & Sinowatz, 2006).

Dieser intraglomeruläre Abschnitt schiebt sich vom Gefäßpol tief zwischen die Kapillarschlingen vor und verbindet diese. Das Mesangium besteht aus Mesangiozyten und der Mesangiummatrix (Lamella hyalina). Die langen Fortsätze der Zellen dringen teilweise bis ins Kapillarlumen vor, ihre Oberfläche ist gefaltet und schließt Matrix in ihre Invaginationen ein, deren basalmembranähnliches Material in Kontakt zur glomerulären Basalmembran steht. Neben der Vasokonstriktion über Angiotensin II, das an Mesangiumrezeptoren bindet, dient das Mesangium als Stützgerüst der Kapillarschlingen, zur Aufnahme (Phagozytose) von Substanzen aus den Kapillaren, Reinigung der Basalmembran, Abwehr durch Proliferation von Zellen und Bildung von Matrix (Liebich, 2010).

#### 2.2.4 Interstitium

Der Raum zwischen Tubuli und Sammelrohren wird von Interstitium ausgefüllt, welches aus lockerem Bindegewebe mit modifizierten Fibrozyten, wenigen Kollagenfibrillen und wasserreicher Matrix mit Proteoglykanen besteht. Neben der Regulation der renalen Durchblutung durch Freisetzung von Prostaglandinen und Bradykininen und der Bildung von Renin, ist dieses Gewebe für die Produktion von Thrombopoetin und Erythropoetin, das für die Hämatopoese wichtig ist, maßgeblich beteiligt (Liebich, 2010).

### 2.3 Funktion der Vogelniere

Die Hauptaufgabe der Niere besteht darin, den Körper von Abfall- und Stoffwechselprodukten, überschüssigem Wasser und gelösten Blutbestandteilen zu reinigen. Hierfür wird das gesamte Flüssigkeitsvolumen des Körpers mehrmals täglich durch die Glomerula gefiltert und der Großteil der Flüssigkeit (normalerweise mind. 95 %) sowie gelöste Bestandteile wieder zurückgewonnen (Whittow, 1999). Die Erhaltung des Flüssigkeitshaushaltes wird durch Regulation des osmotischen Drucks über Wasserstoffionenwiederaufnahme oder -abgabe geregelt. (Liebich, 2010). Die Ausscheidung von Stickstoff erfolgt beim Vogel vorwiegend in Form von Harnsäure. Um eine Präzipitation und damit Verstopfen der Tubuli und Sammelrohre zu vermeiden, liegt sie in ca. 2 %iger kolloidaler Lösung als breiige Substanz vor (King et al., 1978). Schleimstoffe, die von den Ureterdrüsen abgesondert werden, erleichtern den Transport (Hummel, 2000), (König & Liebich, 2009), verhindern ein Ausfallen der Harnsäure und schützen das Epithel (Nickel et al., 2004)

Die Harnbildung von Vögeln ist in vielen Punkten der der Säuger ähnlich. Während Nierendurchblutung und Filtration den Säugetieren entsprechend erfolgt, wird die Vogelniere sowohl von arteriellem Blut wie auch venösem Pfortaderblut versorgt (Engelhardt & Aurich, 2009). Dadurch erfolgt eine besonders intensive Filtration des Blutes (König & Liebich, 2009). Das antidiuretische Hormon der Vögel, Arginin-Vasotocin (AVT) entspricht dem Vasopressin der Säuger (Braun, 1978) und steuert die Wasserausscheidung (Engelhardt & Aurich, 2009). Bei Dehydratation ist die AVT-Konzentration hoch und es wird wenig Harn gebildet. Wie beim Säugetier reguliert Aldosteron die Natriumresorption durch Einbau und Öffnung von Natriumkanälen in Zellmembranen von Kloake und Dickdarm,

während das Atriale Natriuretische Peptid, ANP, das in der Vorhofwand des Herzens gebildet wird, die Wasser- und Natriumausscheidung erhöht (Engelhardt & Aurich, 2009). Das Renin-Angiotensin-System, das beim Säuger zur Blutdruckregulation dient (Liebich, 2010), ist beim Vogel zwar vorhanden, seine Funktion im Natriumhaushalts jedoch noch nicht genau geklärt (Engelhardt & Aurich, 2009).

Beim Vogel ist die Konzentrationsfähigkeit des Harns von 0.2 beim Annakolibri bis 3.0 beim Wellensittich (Casotti & Braun, 2000) hypermolar zum Plasma deutlich geringer im Vergleich zum Säuger, der Harn 20 bis 25 mal konzentrierter als Plasma produzieren kann. Durchschnittlich ist der Urin der Vögel nur 2 bis 2,5 mal verdichtet ist (Braun, 1972; Boykin & Braun, 1993; Casotti et al., 2000). Gründe sind ein osmotischer Gradient der nur durch Natriumchlorid gebildet wird, während bei Säugetieren Natriumchlorid und Harnstoff beteiligt sind. Auch die beim Vogel zahlenmäßige Überlegenheit der kortikalen Nephrone ohne und Übergangstypen mit kurzer Henle-Schleife ausserhalb der Markzonen spielen eine Rolle, da sie ohne Gegenstromprinzip arbeiten (King et al., 1978) und ihre Filtrationsrate deutlich geringer ist (Boykin & Braun, 1993). Da jedoch der Harn nicht sofort ausgeschieden wird, sondern von der Kloake in den hinteren Darmtrakt zurückfließt, ist ein weniger konzentrierter Harn wichtig, da sonst im Darm Wasser absorbiert werden würde und eine Dehydratation verursachen könnte (Boykin & Braun, 1993). Statt dessen wird im Enddarm durch Natriumchloridresorption Wasser zurückgewonnen (Engelhardt & Aurich, 2009). Nach Wasserentzug im Dickdarm fallen Harnstoff und dessen Salze aus und werden als feste, osmotisch unwirksame Substanz als weißer Bestandteil mit dem Kot ausgeschieden (Hummel, 2000).

## 2.4 Lektin histochemie

### 2.4.1 Definition

Lektine wurden erstmals 1988 von H. Stillmark entdeckt, der in den Samen des Wunderbaums (*Ricinus communis*) und verwandten Pflanzen einen toxischen Inhaltsstoff (Rizin) fand, der Erythrozyten agglutinieren konnte. Nach dieser Eigenschaft wurden sie zunächst „Hämagglutinine“ genannt (Gabius, 2009). Den Namen „Lektin“, vom lateinischen Wort „legere“ = auswählen, prägte W.C. Boyd erst Jahre später, um sie von Blutgruppen-Antikörpern abzugrenzen (Boyd & Shapleigh, 1954). Obwohl zuerst nur aus Pflanzen isoliert, wurden Lektine später in zahlreichen Organismen von Bakterien bis Säugetieren gefunden. Goldstein definierte 1980 Lektine als zuckerbindende Proteine oder Glykoproteine nicht-immunogenen Ursprungs, welche Zellen agglutinieren und / oder Glykokonjugate präzipitieren (Goldstein et al., 1980). Synonym dazu wird auch der Begriff „Agglutinin“ verwendet, um nach Peumans & van Damme die Fähigkeit hervorzuheben, nicht nur Erythrozyten, sondern Zellen allgemein zu binden (Peumans & van Damme, 1995).

Nach Definition von Gabius und Mitarbeitern gehören Lektine zur Gruppe der kohlenhydratbindenden Proteine, die jedoch durch die Bindung die Struktur ihres Liganden nicht verändern und somit unterschieden werden von Antikörpern, Enzymen sowie freien Sensor- bzw. Transportproteinen für Mono- und Oligosaccharide (Gabius et al., 2011).

### 2.4.2 Vorkommen und Anwendung

Zahlreiche Lektine wurden mittlerweile aus Pilzen, Mikroorganismen, Tieren, die meisten jedoch aus Pflanzen isoliert (Sharon, 2004). Die Konzentration des Lektins in der Pflanze ist stark variabel und meist in den Speicherorganen am höchsten. Außer in Samen kommen sie aber auch in Zwiebeln, Wurzeln, Knollen, Rinde und Blättern vor (Rüdiger & Gabius, 2001). Ihre biologische Funktion ist weitgehend unbekannt und kann auf Grund ihrer Diversität kaum verallgemeinert werden (Gabius & Rüdiger, 2009). Eine Rolle soll ihre Toxizität beim Schutz der Pflanze vor Pilzbefall, Insekten und höheren Lebewesen spielen. Zum Beispiel führt das in rohen oder ungenügend gekochten Bohnen enthaltene PHA zu

Verdauungsbeschwerden (Peumans & van Damme, 1995). Tierische Lektine wurden z.B. in Leberzellmembranen entdeckt, wo sie zur Entfernung „alter“ Plasmaproteine dienen sollen. Andere tierische Lektine sind an der Zelladhäsion oder am Proteintransport beteiligt (Rüdiger, 1981). Als Pathogenitätsmarker sind sie, auf Erregern lokalisiert, für die Anheftung an die Zielzelle verantwortlich (Franz, 1990). Das Lektin des Influenzavirus spielt beispielsweise eine wichtige Rolle bei Anheftung und Eindringen des Virus für den Infektionsmechanismus (Nelson et al., 2011).

Im weiteren Sinne sind Lektine Erkennungsmoleküle in Zellen, auf Zelloberflächen und in physiologischen Flüssigkeiten (Sharon, 2004). Sie können Kohlenhydrate erkennen, die eine enorm hohe Kodierungskapazität durch verschiedene Möglichkeiten ihrer Verknüpfungen, Konfiguration und Verzweigungsgrade (Berg et al., 2007) besitzen. Dieser Zuckercode ergibt für jedes Oligosaccharid ein eigenes "Wort", das von diesen Proteinen gelesen werden kann (Nelson et al., 2011).

Verwendung finden Lektine in Biochemie, Histochemie und medizinischer Diagnostik (Franz, 1990). Besonders nützlich ist dabei ihre Stabilität, ihre Spezifität für Glykane, sowie die Möglichkeit, sie mit Markern zu versehen - ohne dass sie sich in ihren Eigenschaften und Aktivitäten ändern (Gabijs & Rüdiger, 2009). So können Glykoproteine und Glykangemische nicht nur isoliert und identifiziert werden, sondern auch krankheitsbedingt veränderte Kohlenhydratstrukturen auf Zelloberflächen erkannt werden (Sharon, 2004). In der Immunologie wird ihre stimulierende Wirkung auf die Mitose von Lymphozyten genutzt (Gabijs & Rüdiger, 2009). In der Histochemie können zum Nachweis von Zuckerstrukturen Marker an das Lektin gekoppelt werden, z.B. Fluorochrome und Enzyme zum lichtmikroskopischen Nachweis sowie Peroxidase, Ferritin oder kolloidale Goldpartikel für die Elektronenmikroskopie. Bindungsstellen können so direkt oder indirekt (z.B. mit Streptavidin) sichtbar gemacht werden (Roth, 2011).

Übersicht der wichtigsten Anwendungsgebiete für Lektine (Sharon, 2004):

- Erkennung, Isolation und Strukturanalyse von Glykoproteinen
- Zellidentifikation und -isolation
- Untersuchung von Kohlenhydraten auf Zellen und Zellorganellen in

- Histochemie und Cytohistochemie
- Aufzeichnung neuronaler Wege
- Mitogene Stimulation von Lymphozyten
- Reinigung des Knochenmarks für Transplantationen
- Selektion lektinresistenter Mutationen
- Untersuchung der Glykoproteinbiosynthese

### 2.4.3 Einteilung und Struktur

Mit Ausnahme der Lektine ConA und WGA ohne Kohlenhydratanteil sind Lektine Glykoproteine, deren Zuckeranteil 2 bis 50 Prozent beträgt. Strukturell können die meisten Lektine in Ein- und Zweikettenlektine unterschieden werden. Erstere sind aus vier fast gleichartigen Untereinheiten zusammengesetzt und besitzen verschiedene Zuckerspezifitäten; die Zweikettenlektine dagegen binden alle Mannose, Glukose und deren  $\alpha$ -Glykoside. Sie bestehen aus einer kleineren  $\alpha$ -Kette und einer größeren  $\beta$ -Kette, die sich paarweise zu tetrameren Molekülen kombinieren (Rüdiger, 1981; Rüdiger, 1982).

Gallagher ordnete Lektine 1984 nach ihrer Affinität zu Kohlenhydraten in zwei Klassen: „class I lectins“ bzw. Exolektine werden durch einfache Monosaccharide gehemmt, während dies bei „class II lectins“ bzw. Endolektinen nur durch spezifische Kohlenhydratsequenzen, also Oligosaccharide geschieht. Sind dies gleichartige Sequenzen, bezeichnet man das Lektin als homotypisches, sind sie verschieden als heterotypisches Endolektin (Gallagher, 1984).

Die Einteilung der Lektine nach ihrer Zuckerspezifität erfolgt nach Agglutinationsversuchen mit Hemmzuckern (Roth, 2011). Verdünnungsreihen mit Kohlenhydraten werden hergestellt, mit der jeweiligen Lektinlösung gemischt und mit einer Zellsuspension inkubiert. Die niedrigste Konzentration des Zuckers aus der Verdünnungsreihe, der die Agglutination hemmt, lässt auf die Affinität des Lektins zum spezifischen Zucker rückschließen (Rüdiger, 1998).

Tabelle 1: Einteilung der in dieser Arbeit verwendeten Lektine (Goldstein & Poretz, 1986; Rüdiger & Gabius, 2009; Gabius et al., 2011)

Lektingruppe	Lektin	Abk.	Herkunft	Zuckerspezifität
D-Mannose/D-Glukose bindend	Concanavalin Aggl.	ConA	Schwertbohne	Man > Glc
	Lens culinaris Aggl.	LCA	Speiselinse	Man/Glc
	Pisum sativum Aggl.	PSA	Erbse	Man/Glc
D-Galaktose bindend	Peanut Aggl.	PNA	Erdnuss	Gal
	Ricinus communis Aggl.	RCA	Kastorbohne	Gal
N-Acetyl-D-Galaktosamin bindend	Griffonia simplicifolia Aggl. I	GSL I	Afrikan. Schwarzbohne	GalNAc
	Dolichos biflorus Aggl.	DBA	Afrikan. Pferdebohne	GalNAc
	Soybean Aggl.	SBA	Sojabohne	Gal/GalNAc
	Sophora japonica Aggl.	SJA	Chin. Schnurbaum	GalNAc
Galaktose und N-Acetyl-Galaktosamin bindend	Sambucus nigra Aggl.	SNA	Holunder	Gal/GalNAc > NeuNAc
N-Acetyl-D-Glukosamin bindend	Wheat germ Aggl.	WGA	Weizen	GlcNAc/NeuNAc
	Wheat germ Aggl. succinyliert	WGAs	Weizen	GlcNAc*
L-Fukose bindend	Ulex europaeus Aggl.	UEA I	Stechginster	Fuc
Oligosaccharide bindend	Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin	PHA-E	Gartenbohne	**
	Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin	PHA-L	Gartenbohne	
	Maackia amurensis Aggl. I (Leukoaggl.)	MAA I	asiatisches Gelbholz	

Man: D-Mannose, Glc: D-Glucose, Gal: D-Galaktose, GlcNAc: N-Acetyl-D-Glucosamin, NeuNAc: N-Acetyl-D-Neuraminsäure, GalNAc: N-Acetyl-D-Galaktosamin, Fuc: L-Fukose

\* WGAs ist bei ist bei physiologischem pH-Wert negativ geladen, im Gegensatz zu dem positiv geladenen WGA; WGAs bindet nicht an Glykokonjugate, die N-Acetyl-D-Neuraminsäure enthalten, jedoch an N-Acetyl-D-Glukosamin enthaltende. Somit kann der N-Acetyl-D-Neuraminsäuregehalt ermittelt werden (Monsigny et al., 1980)

\*\* Keine Monosaccharide als Liganden bekannt

#### 2.4.4 Lektinbindungsstellen in der Niere

Holthöfer (1983) verglich in einer Studie Bindungsstellen für WGA, RCA, SBA, PNA, DBA und UEA bei 14 verschiedenen Spezies, darunter Huhn und Wachtel. Er beobachtete einige gemeinsame Merkmale unter den Arten, wie beispielsweise gemeinsame Hauptzuckerketten, die auf ähnlichen Wegen der Glykosylierung von Glykosubstanzen beruhen. Die Verteilung der Zucker in bestimmten Bereichen des Nephrons zeigte sich jedoch spezies-spezifisch und bei einigen Arten beobachtete er in manchen Nephronabschnitten eine geringere Zuckerverteilung als in anderen. Er fand bei Huhn und Wachtel für PNA und UEA keine Bindungsstellen, ebenso für DBA beim Huhn und nur wenige bei der Wachtel im distalen Tubulus bzw. in den Sammelrohren. WGA zeigte im proximalen Tubulus beim Huhn mäßige, bei der Wachtel intensive, im distalen Tubulus dagegen nur schwache und bei der Wachtel keine Fluoreszenz. Bei allen untersuchten Spezies fluoreszierten Gefäßwände, Interstitium sowie die Kapillarwände der Glomerula, das Mesangium jedoch kaum oder höchstens schwach. Für RCA wurde bei der Wachtel im proximalen Tubulus mäßige, beim Huhn schwache und im distalen Tubulus bei beiden Spezies eine schwache Fluoreszenz beobachtet, beim Huhn des weiteren in den glomerulären Kapillarwänden. Für SBA fand sich bei den meisten Spezies schwache Fluoreszenz der Glomerula. Bei Mensch, Schwein, Ratte, Huhn und Wachtel zeigte sich eine Affinität zu Strukturen des proximalen Tubulus, bei anderen Spezies wurden dagegen Rezeptoren eher im distalen Tubulus lokalisiert (Holthöfer, 1983).

In weiteren Arbeiten wurden ebenfalls Muster für Lektinbindungsstellen der Niere verschiedener Spezies untersucht, beispielsweise bei Hamster (Aguirre et al., 1993), Ratte (Hir & Dubach, 1982) und Hund (Yabuki et al., 2012).

## 2.5 Immunhistochemie

Die Immunhistochemie ist eine Methode, bei der mit Hilfe von spezifischen Antikörpern antigene Makromoleküle sichtbar gemacht werden. Dies kann auf direktem Wege geschehen, indem an Marker gekoppelte Antikörper verwendet werden, während bei der indirekten Methode ein markierter Sekundäntikörper an einen nicht-markierten Primäntikörper bindet (Hees & Sinowatz, 2006). Durch die Marker, Enzyme wie die z.B. in dieser Arbeit verwendete Meerrettichperoxidase, werden die jeweiligen Antigene lichtmikroskopisch sichtbar gemacht (Romeis et al., 2010).

In dieser Arbeit wurden das Vorkommen und die Lokalisation verschiedener Bestandteile des Zytoskeletts der Zellen untersucht. Es wird gebildet von Proteinpolymeren, von denen das Zytoplasma der Zelle durchzogen ist und besteht aus drei Komponenten: den Mikrotubuli, den Mikrofilamenten und den Intermediärfilamenten. Sie bilden ein Gerüst, das der Zelle Form und Stabilität verleiht, und sind an Zellbewegung und Transport von Partikeln in der Zelle beteiligt (Rassow et al., 2012).

Mikrotubuli bestehen aus langen Röhren mit einem Durchmesser von ca. 25 nm und sind aus dem Protein Tubulin zusammengesetzt. Sie dienen vor allem der Zellbewegung und sind an Transportvorgängen beteiligt. Die kleinen Mikrofilamente mit ca. 7 nm Durchmesser bestehen größtenteils aus dem Protein Aktin, das zusammen mit Myosin in Muskelzellen am kontraktilen Apparat der Muskelzelle beteiligt ist. In nicht-kontraktilen Zellen ist es vor allem für Form und Stabilität verantwortlich und verleiht den Mikrovilli ihre Festigkeit (Baumhoer et al., 2003).

Die Intermediärfilamente schließlich liegen mit 8 bis 10 nm Durchmesser zwischen den beiden anderen Zellskelettarten. Intermediärfilamente sind Polypeptidketten, die parallel angeordnet entlang von Zug- und Drucklinien verlaufen und der Zelle damit Stabilität verleihen. Im Gegensatz zu Aktinfilamenten und Mikrotubuli lösen sie sich nicht auf, sondern gehören zu den permanenten Strukturelementen der Zelle. Sie werden in vier Klassen unterschieden: Keratinfilamente, vimentinhaltige Filamente, Neurofilamente und Lamine (Liebich, 2010).

Zytokeratine gehören zur Klasse der Keratinfilamente. Als Teil des Zytoskeletts bilden sie die größte Familie der Intermediärfilamente. Es werden zwei Arten

Zytokeratine unterschieden, der saure Typ I (Zytokeratine 9 - 23) und der basische Typ II (Zytokeratine 1 - 8). Sie kommen in allen Epithelzellen vor. Zur Klasse der vimentinhaltigen Filamente gehören Vimentin, das in Zellen mesodermalen Ursprungs, Endothelzellen und Myofibroblasten zu finden ist, sowie das in Muskelzellen vorkommende Desmin (Liebich, 2010). Das Protein  $\alpha$ -SMA (" $\alpha$ -smooth muscle actin") ist eine Isoform des Aktin und vorwiegend in kontraktilen Zellen zu finden. Es wird als Marker zur Differenzierung normaler und pathologischer glatter Muskelzellen verwendet (Skalli et al., 1989).

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Untersuchungsmaterial

Für die lichtmikroskopischen, glykohistochemischen, immunhistochemischen und ultrastrukturellen Untersuchungen wurden Proben von insgesamt 13 Straußen aus jeweils allen Nierenlappen verwendet. Die Tiere, eine Kreuzung aus den Rassen Blauhalsstra und Schwarzhalsstra, stammen alle von der Straußenfarm Donaumoos und wurden in einem Alter von ca. 15 bis 17 Monaten geschlachtet. Die Tiere waren klinisch gesund und die Nieren makroskopisch unverändert. Tabelle 2 bietet eine Übersicht über die verwendeten Tiere.

Tabelle 2: Übersicht der verwendeten Strauße

Probe Nr.	Geschlecht	Fixierung	LM	EM	Lektine	AK
Strauß 1	m	F	x		x	
Strauß 2	w	B	x		x	x
Strauß 3	m	B	x		x	x
Strauß 4	m	B	x		x	x
Strauß 5	m	F, B	x		x	x
Strauß 6	w	F, B	x		x	
Strauß 7	w	B	x		x	
Strauß 8	m	B	x			x
Strauß 9	w	B	x			x
Strauß 10	w	F, B	x			
Strauß 11	m	-		x		
Strauß 12	w	-		x		
Strauß 13	w	-		x		

LM = lichtmikroskopische Untersuchungen, EM = elektronenmikroskopische Untersuchungen, Lektine = glykohistochemische Untersuchungen, AK = immunhistochemische Untersuchungen, m = männliches, w= weibliches Tier, F = Formalinfixierung, B = Bouinfixierung

#### 3.2 Probenentnahme und Fixierung

Nach elektrischer Betäubung und Ausbluten nach Hals- und Herzstich erfolgte die Probenentnahme beim Ausnehmen der Tiere. Dabei wurden die Nieren aus dem Schlachtkörper herausgelöst und mit einer Skalpellklinge ca. 0,5 x 05 bis 1 x 1 x 1 cm große Würfel aus jedem Lappen entnommen. Die Proben für die lichtmikroskopischen, glyko- und immunhistochemischen Untersuchungen wurden in Formalin und Bouin'scher Lösung fixiert (Romeis et al., 2010).

Die Proben wurden bei Zimmertemperatur in den Röhrchen belassen und das Formalin am folgenden Tag und weiteren 3 Tagen gewechselt. Danach wurden die

Proben geschnitten, eingekapselt und nochmals einen Tag in Formalin auf dem Rüttler gelagert. Anschließend wurde das Formalin insgesamt 3 mal im Abstand von 40 Minuten gegen DEPC-Wasser und weitere 3 mal im Abstand von 40 Minuten mit 70%igem Alkohol getauscht.

Die in Bouin'scher Lösung fixierten Proben wurden am Tag nach der Probenentnahme gegen 70%igen Alkohol gewechselt, der nach weiteren 3 Tagen 3 mal im täglichen Abstand ausgetauscht wurde. Danach wurden die Proben geschnitten, eingekapselt und nochmals einen Tag in 70%igem Alkohol auf dem Rüttler gelagert.

Anschließend wurden die Proben 22,5 (Formol) bzw. 24 (Bouin) Stunden im Einbettungsautomaten (Shandon Duplex Processor, Firma Shandon, Frankfurt) in einer aufsteigenden Alkoholreihe mit 80%igem, 96%igem Alkohol und Isopropylalkohol und Xylol entwässert, anschließend mit flüssigem Paraplast® (Monoject Scientific Inc. Kildare, Irland) durchtränkt und mit Hilfe des „Histostat Tissue Embedding Center“ (Firma Reichert-Jung, Wien) in Paraffinblöcke gegossen und etwa eine Stunde abgekühlt.

Die Blöcke wurden mit einem Rotationsmikrotom (Microm, HM 340 E) 5 µm dünn geschnitten und auf unbeschichtete (SuperFrost®, Carl Roth Karlsruhe) und beschichtete (SuperFrost Ultra Plus®, Menzel-Gläser Braunschweig) Objektträger gezogen, auf einem Wärmestrecktisch (Firma Medax) getrocknet und mindestens 1 Tag im Wärmeschrank bei 37°C gelagert.

### **3.3 konventionelle Färbungen für die Lichtmikroskopie**

Bei allen folgenden Übersichtsfärbungen wurden die Schnitte in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert (2 mal 10 Minuten in Xylol entparaffiniert, durchschwenken in 2 mal Isopropanol, 96 % Alkohol, 70 % Alkohol, Aqua dest.), und nach der Färbung in einer aufsteigenden Alkoholreihe (in umgekehrter Reihenfolge) wieder dehydriert. Anschließend wurden die Schnitte mit Eukitt® (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim) eingedeckelt (Deckgläschen Roth, Karlsruhe).

Sämtliche Färbungen erfolgten nach Protokollen aus "Romeis Mikroskopische Technik" (Romeis et al., 2010). Die Präparate wurden an einem Mikroskop (Aristoplan®) der Firma Leitz, Wetzlar, ausgewertet. An dieses war eine Kamera (Lumenera USB Camera® Release 3.8, Firma Lumenera Corporations, Ontario,

Kanada) angeschlossen, mit dem die Präparate fotografiert wurden.

### 3.3.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Kerne stellen sich in der H.-E.-Färbung blauviolett dar, während das übrige Gewebe rosa erscheint.

#### Protokoll:

1. 20 min in Hämalaun baden
2. Kurz in destilliertes Wasser eintauchen
3. 20 min unter fließendem Leitungswasser bläuen
4. 10 min in Eosin färben
5. Abspülen in destilliertem Wasser

### 3.3.2 Trichromfärbung nach Masson-Goldner

In den Goldner gefärbten Schnitten erscheinen die Kerne braunschwarz, kollagene Bindegewebsfasern und Schleim grün, das Zytoplasma ziegelrot und die Erythrozyten orange.

#### Protokoll:

1. 1 min in Eisenhämatoxylin nach Weigert verbringen
2. Drei mal kurz in destilliertem Wasser spülen
3. 10 min unter fließendes Leitungswasser stellen
4. 5 min in Azophloxin verbringen
5. Gut in 1%iger Essigsäure ausspülen
6. 30 Minuten in Phosphormolybdänsäure-Orange unter mikroskopischer Kontrolle entfärben
7. In 1%iger Essigsäure spülen
8. Mit Lichtgrün gegenfärben
9. Mit 1%iger Essigsäure spülen, dann sofort zwei mal in 96%igen Alkohol und drei mal in Isopropanol schwenken, anschließend 2 x 5 min in Xylol stellen

### 3.3.3 Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS-Reaktion) nach McManus mit und ohne Amylase

Bei dieser Reaktion lassen sich kohlenhydratreiche Makromoleküle darstellen. Da

Glykole mit Perjodsäure oxidieren und deren Aldehydgruppen einen purpurroten Farbkomplex mit der Schiff Reagenz bilden, erscheinen PAS-positive Substanzen rosa bis violettrot. Bei einer Vorbehandlung der Schnitte mit Amylase wird das Glykogen verdaut, und kann somit bei den folgenden PAS-positiv gefärbten Substanzen ausgeschlossen werden.

Protokoll:

1. 5 min in 0,5 % wässriger Lösung von Perjodsäure
2. Spülen in destilliertem Wasser
3. 15 min in Schiff'sche Reagenz (Fuchsin-schweflige Säure) stellen
4. Drei mal je 2 min in separate Küvetten SO<sub>2</sub>-Wasser stellen
5. 5 min unter fließendem Leitungswasser spülen
6. Kerne 3 - 5 min in Hämalaun färben
7. 15 min unter fließendem Leitungswasser spülen

Protokoll mit Amylasevorbehandlung:

1. Schnitte nach der absteigenden Alkoholreihe in feuchte Kammern legen
2. Mit je 100 µl 0,5%iger Amylase bedecken
3. 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren

### **3.3.4 Alcianblau-Färbung**

Diese Färbung wird mit zwei pH-Werten durchgeführt: bei pH 1 für sulfatierte Mukossubstanzen, bei pH 2,5 für saure Mukossubstanzen. Letztere färben sich nur bei pH 2,5 blau, während die sulfatierten Mukossubstanzen bei beiden Verfahren blau leuchten. Die Kerne stellen sich in dieser Färbung hellrot, der Hintergrund zartrosa dar.

Protokoll bei pH 2,5:

1. 3 min in 3%iger Essigsäure verbringen
2. 30 min in 1 % Alcianblau 8GX in 3%iger Essigsäure mit pH 2,5 stellen
3. Kurz in 3%iger Essigsäure baden
4. In destilliertem Wasser spülen
5. Mit Kernechtrot färben
6. Kurz mit destilliertem Wasser abspülen

Protokoll bei pH 1,0:

1. 3 min in 0,1N Salzsäure verbringen
2. 30 min in 1%iges Alcianblau 8GX in 0,1N Salzsäure, pH 1,0 stellen
3. Kurz in 0,1N Salzsäure baden
4. In destilliertem Wasser spülen
5. Mit Kernechtrot färben
6. Kurz mit destilliertem Wasser abspülen

**3.4 Glykohistochemische Färbungen**

Für die Lektinfärbungen wurden Formol und Bouin fixierte Schnitte verwendet. Die Schnitte wurden in folgender absteigender Alkoholreihe behandelt:

1. zwei mal 30 min Xylol,
2. kurz durchschwenken in Isopropanol zwei mal, Ethanol 96 %, Ethanol 70 %
3. zwei mal 5 min destilliertes Wasser (frisch)
4. drei mal 5 min PBS-Puffer pH 7,5.

Anschließend wurden die Schnitte nach dem jeweiligen Protokoll weiterbehandelt.

Protokoll für die Färbungen mit FITC-markierten Lektinen (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim):

1. Verbringen der Schnitte in eine Feuchtkammer, aufpipettieren von 100 µl der Lektine in der jeweiligen Konzentration
2. 60 min in der abgedunkelten Feuchtkammer lagern
3. Schnitte drei mal 5 min abgedunkelt in PBS spülen

Protokoll für den Lektinnachweis mit Streptavidin-FITC der biotinylierten Lektine (Fa. Vector, Burlingame, USA):

1. Vorsichtiges trocknen der Objektträger nach der absteigenden Alkoholreihe und Spülen in PBS

2. Mit Protein Block Serum Free (Firma Dako, Hamburg) 10 min inkubieren
3. Objektträger wieder vorsichtig trocknen, 100 µl des biotinylierten Lektins in jeweiliger Konzentration aufbringen
4. 60 min abgedunkelt in der Feuchtkammer inkubieren
5. Drei mal 5 min mit PBS abgedunkelt spülen
6. Objektträger nochmals trocknen und mit 100 µl aufgetautem Streptavidin-FITC in der Konzentration 1:500 PBS-Puffer für 30 min Inkubieren
7. Nochmals je 5 min in PBS und destilliertem Wasser waschen

Anschließend wurden alle Proben mit DAPI (Vectashield Mounting Medium for Fluorescence with DAPI H 1200, Vector Laboratories Inc., Burlingame) eingedeckelt und mit Nagellack fixiert. Von jedem Lektin wurde eine Positivkontrolle mit einem Gewebe angefertigt, bei dem das Lektin bekannterweise bindet, sowie eine Negativkontrolle bei der an Stelle des Lektins nur 100 µl PBS-Puffer aufgebracht wurden um eine mögliche Eigenfluoreszenz des Lektins zu erkennen.

*Tabelle 3: Übersicht der verwendeten Lektine*

Lektin	Konzentration	Positivkontrolle
ConA, WGA, WGAs	2 µg/ml	Nebenhoden Hund
LCA, PSA, PHA-L, PHA-E, GSL-I	5 µg/ml	Nebenhoden Hund
PNA, UEA-I	20 µg/ml	Nebenhoden Hund
RCA	5 µg/ml	Hoden Rind
SBA	20 µg/ml	Hoden Rind
SJA*	30 µg/ml	Niere Rind
SNA*, MAA-I*	5 µg/ml	Ovar Rind
DBA	20 µg/ml	Ovar Schwein

\*biotinylierte Lektine

kompetitive Hemmung

Um die Spezifität der Lektine nachzuweisen, wurde bei den positiven Lektinfärbungen folgender Hemmzuckertest durchgeführt:

1. Herstellung einer Lösung mit dem für das Lektin spezifischen Hemmzucker (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim)
2. Herstellung des zu untersuchenden Lektins in der jeweiligen Konzentration
3. Mischung 1:1 der Lösungen Lektin und Hemmzucker, Inkubation bei Raumtemperatur
4. Anschließend wurde das Protokoll wie bei FITC-markierten Lektinen durchgeführt. An Stelle der Lektinlösung wurden 100 µl des Lektin-Hemmzuckergemischs sowie zum Vergleich bei jeweils einer Positivkontrolle 100 µl der Lektinlösung aufgetragen.

*Tabelle 4: Übersicht der verwendeten Hemmzucker*

Lektin-Gruppe: Zucker- spezifität	Lektin	Konzentration	Hemmzucker	Konzentration	Inkubationszeit
Man/Glc	LCA	5 µg/ml	Methyl- $\alpha$ - Mannopyranoside**	84,8 mg / ml	1 Stunde
	PSA	5 µg/ml			
Gal	PNA	20 µg/ml	Methyl- $\alpha$ - Galactopyranosid*	84,8 mg / ml	1 Stunde
	RCA	5 µg/ml			
Gal/GalNAc	SBA	20 µg/ml	N-Acetyl- Galaktosamin*	172,4 mg / ml	1 Stunde
GlcNAc/ NeuNAc	WGAs	2 µg/ml	N-Acetyl- Glukosamin*	36,67 µg / ml	30 min
	WGA				
keine Mono- saccharide als Liganden bekannt	PHA-E	5 µg/ml	Methyl- $\alpha$ - Galactopyranosid***	84,8 mg / ml	1 Stunde
	PHA-L				

Hersteller:

\*Sigma Aldrich, Deisenhofen; \*\* E-Y Labs, San Mateo, USA; \*\*\* Roth, Karlsruhe

Man: D-Mannose, Glc: D-Glucose, Gal: D-Galaktose, GlcNAc: Nacetyl-D-Glucosamin, NeuNAc: N-Acetyl-D-Neuraminsäure, GalNAc: N-Acetyl-D-Galaktosamin

Die gefärbten Schnitte wurden im Kühlschrank aufbewahrt. Die Präparate aller glykohistochemischen Färbungen wurden an einem Auflichtfluoreszenzmikroskop (Dialux 20, Firma Leitz GmbH, Wetzlar) ausgewertet und mit einer angeschlossenen Kamera (Progress®CF cool, Firma Jenoptik, Jena) fotografiert.

Beurteilung:

negativ -, schwach positiv (+), deutlich positiv +, stark positiv ++, sehr stark positiv +++

### 3.5 Immunhistochemische Färbungen

Für die immunhistochemischen Färbungen wurden fast ausschließlich Bouin fixierte Präparate verwendet. Bei diesen wurde die ABC-Methode (Avidin-Biotin-Complex) nach Hsu et al. (1981) angewandt. Das Avidin wurde durch Streptavidin, ein biotechnologisches Produkt aus dem Bakterium *Streptomyces avidinii*, ersetzt.

Der Primär-Antikörper bindet an das gesuchte Antigen. An den Primär-Antikörper bindet ein biotinylierter Sekundär-Antikörper, an diesen wiederum ein Komplex aus einem biotinylierten Marker, der Meerrettich-Peroxidase (HRP, Horseradisch Peroxidase), und Streptavidin. Die Peroxidase spaltet das hinzugegeben Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff. Der Sauerstoff oxidiert das zugegebene 3,3'-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid (DAB-Hydrogenperoxidlösung Fa. Sigma-Adrich, Steinheim) und es entsteht eine Braunfärbung. Positive Reaktionen werden somit (braun) sichtbar (Romeis et al., 2010).

Tabelle 5: Übersicht der verwendeten Antikörper

Primär-AK	AK-liefernde Tierart	Verdünnung und Inkubation	Sekundär-AK	Verdünnung und Inkubation
<b>Cytokeratin 8</b> <b>*nb</b>	Maus	1:500 über Nacht im Kühlschrank 6°C	Anti-Maus IgG biotinyliert vom Kaninchen *d	1:300 30 min bei RT
<b>Cytokeratin 14</b> <b>*p</b>	Guinea Pig	1:100 über Nacht im Kühlschrank 6°C	Anti Guinea Pig IgG biotinyliert aus Ziege *v	1:300 30 min bei RT
<b>Cytokeratin 18</b> <b>*p</b>	Guinea Pig	1:200 über Nacht im Kühlschrank 6°C	Anti Guinea Pig IgG biotinyliert aus Ziege v*	1:300 30 min bei RT
<b>Cytokeratin 19</b> <b>*p</b>	Guinea Pig	1:200 über Nacht im Kühlschrank 6°C	Anti Guinea Pig IgG biotinyliert aus Ziege *v	1:300 30 min bei RT
<b>Pancytokeratin</b> <b>*b</b>	Maus	1:100 über Nacht im Kühlschrank 6°C	Anti-Maus IgG (F(ab') <sub>2</sub> ) biotinyliert vom Kaninchen *d	1:300 30 min bei RT
<b>Vimentin</b> <b>*d</b>	Maus	1:500 über Nacht im Kühlschrank 6°C	Anti-Maus IgG biotinyliert vom Kaninchen *d	1:300 30 min bei RT
<b>Desmin</b> <b>*gt</b>	Maus	1:200 über Nacht im Kühlschrank 6°C	Anti-Maus IgG (F(ab') <sub>2</sub> ) biotinyliert vom Kaninchen *d	1:300 30 min bei RT
<b>α-SMA</b> <b>*d</b>	Maus	1:40 1 Std. bei RT	Anti-Maus IgG biotinyliert vom Kaninchen *d	1:300 30 min bei RT

Hersteller:

\*b Biocarta, Hamburg; \*d Dako, Heidelberg; \*gt Gene Tex, Irvine, California, USA; \*nb Novus Biologicals, Cambridge, UK; \*p Progen, Heidelberg \*v Vector Laboratories, Burlingame, USA

Für die Antikörperfärbungen wurden die Schnitte genau wie bei den glykohistochemischen Färbungen zwei mal je 30 Minuten in Xylol und anschließend in einer absteigenden Alkoholreihe bis Aqua dest. entparaffiniert. Nach dreimaligem waschen für je 5 Minuten in PBS-Puffer bei pH 7,4 erfolgte eine Vorbehandlung bei folgenden Antikörpern:

Zytokeratin 8 und Vimentin:

1. 10 min bei Raumtemperatur mit Protease inkubieren
2. Dreimal je 5 min mit PBS-Puffer waschen

Panzytokeratin

1. Für 20 min bei Raumtemperatur mit Trypsin (Sigma-Aldrich, Steinheim) inkubieren
2. Dreimal je 5 min mit PBS-Puffer waschen

Danach wurde bei allen Antikörperfärbungen folgendes Protokoll verwendet:

1. Hemmung der endogenen Peroxidase: Schnitte 10 min bei Raumtemperatur in 50 ml Hydrogenperoxid gemischt mit 150 ml Aqua dest. baden
2. Unter fließendem Leitungswasser 10 min spülen
3. Waschen in PBS-Puffer dreimal je 5 min
4. Aufbringen von Protein Block Serum-Free (Firma Dako, Hamburg) auf die Schnitte, Inkubation für 10 min bei Raumtemperatur
5. Abgießen, Primär Antikörper in der jeweiligen Verdünnung (siehe Tab. 5) auftragen und über Nacht im Kühlschrank bei 6°Celsius lagern mit Ausnahme von  $\alpha$ -SMA
6. Am nächsten Tag, bzw. bei  $\alpha$ -SMA sofortiges Inkubieren der Proben, eine Stunde bei Raumtemperatur
7. Drei mal je 5 min in PBS-Puffer waschen
8. Mit dem Sekundärantikörper in der Verdünnung 1:300 für 30 min bei Raumtemperatur inkubieren
9. Drei mal je 5 min in PBS-Puffer waschen
10. 30 min bei Raumtemperatur inkubieren mit dem Streptavidin-Biotin Horseradish Peroxidase Complex (Firma Dako, Hamburg)
11. Drei mal je 5 min mit PBS-Puffer waschen

12. Verbringen der Proben abgedunkelt 5 min bei Raumtemperatur (Desmin: 8 min) in einer DAB-Hydrogenperoxidlösung (6 DAB Tabletten aufgelöst in 60 ml Aqua dest. plus 0,4 ml einer Stammlösung aus 5 ml PBS-Puffer und 15 µl dreißigprozentigem Wasserstoffperoxid)
13. in Leitungswasser waschen, Kerne 30 Sekunden mit Hämalaun gegenfärben
14. 10 min unter fließendem Leitungswasser spülen
15. Durchschwenken in einer aufsteigenden Alkoholreihe: 70 % Alkohol, 96 % Alkohol, zwei mal Isopropanol, zwei mal 5 min in Xylol
16. Schnitte mit Eukitt eindeckeln

Von jeder immunhistochemischen Färbung wurde eine Positivkontrolle mit einem Gewebe angefertigt, bei dem der Antikörper bekannterweise bindet, sowie eine Negativkontrolle bei der an Stelle des Primär-Antikörpers nur die Verdünnungslösung (Antibody Diluent, Firma Dako, Hamburg) aufgebracht wurde.

Die Präparate wurden an einem Mikroskop (Aristoplan®) der Firma Leitz, Wetzlar, ausgewertet. An dieses war eine Kamera (Lumenera USB Camera® Release 3.8) der Firma Lumenera Corporations, Ontario, Kanada angeschlossen, mit dem die Präparate fotografiert wurden.

### 3.6 Elektronenmikroskopie

Für die Elektronenmikroskopie wurden von drei Tieren mehrere ca. 1x1x1mm große Stückchen aus allen Nierenlappen entnommen und in Karnovsky-Lösung (10 % Paraformaldehydlösung 20 ml, 0,2M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2) 50ml, Calciumchlorid wasserfrei (Serva, Heidelberg) 0,05g, kurz vor Gebrauch angemischt mit Glutaraldehyd 25 % (Polysciences, Warrington, USA, 1,37ml pro 10ml Stammlösung) fixiert (GAH 960 µl in 1,5 ml Epi zu 7 ml Karnovsky-Puffer).

#### Fixieren der Proben für die Elektronenmikroskopie

1. Fixieren der frischen Proben in Karnovsky-Gebrauchslösung über Nacht bei 4°C
2. Waschen in 0,1 M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2) dreimal je eine Stunde bei 4°C

3. Vorkontrastieren mit 1,5 % Kaliumferrocyanid + 1 % Osmiumtetroxid in 0,1 M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2) für 2 Stunden bei 4°C
4. Wechseln in 0,1 M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2) dreimal je 20 min bei 4°C
5. Dehydrieren in aufsteigender Alkoholreihe auf dem Schüttler bei RT:  
Je 20 min in Ethanol 30 % und 50 %, dann je 30 min in Ethanol 70 % und 90 %, dann Ethanol absolut dreimal je 30 min
6. Propylenoxid zweimal je 15 min auf dem Schüttler bei RT
7. Schrittweise Einbetten in Epon auf dem Schüttler bei RT: Epon-Propylenoxid-Gemisch (Verhältnis 1:2) für eine Stunde, dann Epon-Propylenoxid-Gemisch (Verhältnis 1:1) über Nacht, dann reines Epon für eine Stunde
8. Proben in Flacheinbettungsformen gleichmäßig verteilen
9. Polymerisation ca. 48 Stunden bei 60°C
10. Blöcke vorsichtig aus Flacheinbettungsform lösen

Um die passenden Areale für die Anfertigung von Ultradünnschnitten auszusuchen, wurden zunächst 1 µm Semidünnschnitte an einem Ultramikrotom (Ultracut E, Firma Reichert-Jung, Wien) angefertigt. Diese wurden zur Übersicht mit Methylenblau nach Richardson gefärbt und lichtmikroskopisch beurteilt. Anschließend wurde von geeigneten Bereichen 40 bis 60 nm zarte Ultradünnschnitte (Ultramikrotom Ultracut E, Firma Reichert-Jung, Wien) angefertigt, die auf Kupfergrids (150 mesh, Plano, Wetzlar) gezogen und mit 2%igem Uranylacetat und Bleicitratlösung (Reynolds, 1963) nachkontrastiert wurden. Die Auswertung sowie Fotodokumentation erfolgte an einem Transmissionselektronenmikroskop EM 902 (Firma Zeiss, Oberkochen).

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Lichtmikroskopische Untersuchungen

Die dunkelbraunrote, paarige Niere des Straußes liegt retroperitoneal zwischen Eingeweidebauchfellsack und Einbuchtungen des Synsacrams. Makroskopisch sind drei paarigen Abteilungen voneinander zu unterscheiden, wobei die Divisio renalis caudalis mit einer Länge von 14 bis 19 cm, Breite von 4,5 bis 8 cm und Höhe von 2,5 bis 4,5 cm die größte der Abteilungen darstellt und von dorsal langgezogen oval kuppelförmig aussieht. Die mittlere Divisio mit einer Länge von 6 bis 15 cm, Breite von 1 bis 3,5 cm und Höhe von 0,5 bis 2 cm ist flach und länglich, die kraniale dagegen rund kuppelförmig und weist eine Länge von 6 bis 9 cm, Breite von 3,5 bis 5 cm und Höhe von 1,5 bis 2,5 cm auf. Die Abteilungen sind oft miteinander verwachsen oder undeutlich voneinander abgrenzbar und daher im Seitenvergleich asymmetrisch. Insgesamt hatten die Nieren der untersuchten Tiere ein Gewicht zwischen 444 und 631 Gramm, eine Länge von 30 bis 34,5 cm, Breite von 10 bis 15 cm und Höhe zwischen 1 cm an den niedrigsten bis 4,5 cm an den höchsten Stellen. Die sich zur Oberfläche vorwölbenden Lappchen sind makroskopisch zu erkennen.

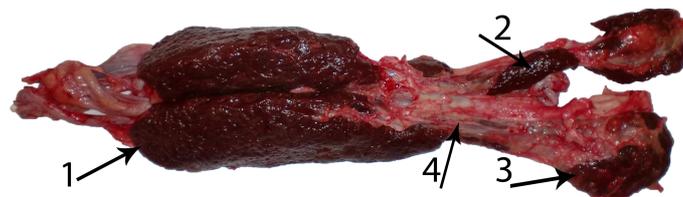


Abbildung 2: Straußenniere, Ansicht von ventral

Die dunkelbraunrote Straußenniere ist paarig. Der langgezogen oval-kuppelförmigen Divisio renalis caudalis (1) folgt die flach-längliche Divisio renalis medius (2) und die rund-kuppelförmige Divisio renalis cranialis (3). Letztere sind teilweise bedeckt von Fett und Bindegewebe (4).

Mikroskopisch bestehen zwischen den verschiedenen Nierenabteilungen keine Unterschiede. Eine Schichtung in äußeren Rinden- und inneren Markbereich ist nicht zu beobachten. Statt dessen umgibt das Rindengewebe mit den kortikalen und medullären Nephronen die bindegewebig umgrenzten Markinseln. In diesen wiederum befinden sich parallel angeordnet Vasa recta der Gefäße, Markschleifen und Sammelrohre, welche zusammenfließen und am Ende des Markkegels über den Ductus colligens, den primären Ureterast, abfließen. In unmittelbarer Nähe

jeder Markinsel befinden sich Arteria und Vena centralis.

Glomerula, vor allem die medullären, sind vorwiegend um die Markinseln herum angeordnet, jedoch ebenfalls in anderen Rindengebieten zu finden.

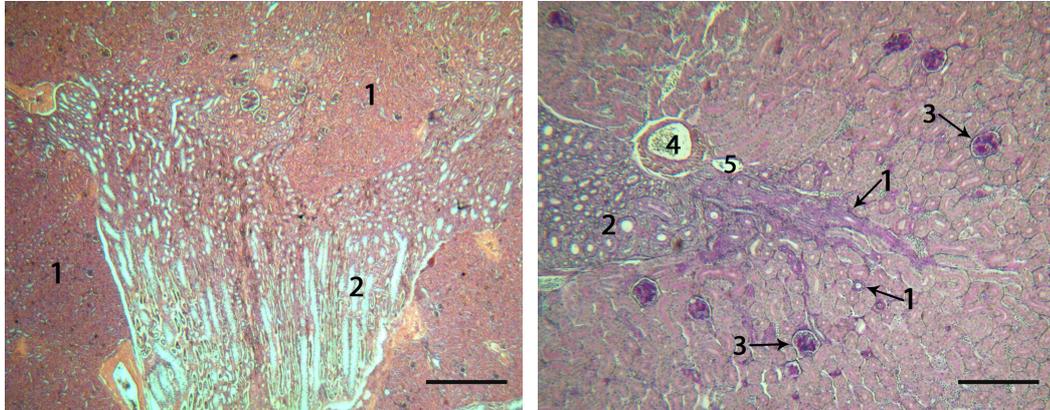


Abbildung 3: Niere, Strauß, Lobus caudalis, Hämatoxylin-Eosin, SB = 550  $\mu$ m

Abbildung 4: Niere, Strauß, Lobus medius, PAS-Färbung, SB = 250  $\mu$ m

Das Rindengewebe (1) mit den kortikalen und medullären Nephronen umgibt die bindegewebig begrenzten Markinseln (2). In diesen wiederum befinden sich parallel angeordnet Vasa recta der Gefäße, Markschleifen und Sammelrohre.

Kortikale Sammelrohre (1) fließen dem Mark (2) zu. Die medullären Glomerula (3) sind vorwiegend in der Nähe der Markinseln angeordnet. In unmittelbarer Nähe jeder Markinsel befinden sich Arteria (4) und Vena (5) centralis.

#### 4.1.1 Nierenkörperchen

Zu Anfang des Nephrons steht das Nierenkörperchen, das aus Bowman-Kapsel und Gefäßknäuel zusammengesetzt und in eine dünne Bindegewebsschicht eingefasst ist. Die Bowman-Kapsel besteht aus einem inneren und einem äußeren Blatt; dazwischen befindet sich der Kapselraum, in den das Ultrafiltrat des Harns gepresst wird. Am Gefäßpol schlägt das äußere Blatt der Bowman-Kapsel, das aus Plattenepithelzellen gebildet wird, in das Innere um, welches den Kapillaren anliegt. Das Kapillarnetz bildet sich aus Arteriolen, die am Gefäßpol eintreten und sich verzweigen. Sie sind in Mesangium aufgehängt, das ebenso am Gefäßpol eintritt. Der distale Tubulus liegt im Bereich des Gefäßpols dem Glomerulum an, eine Macula densa aus dichteren und höheren Zellen mit verlängertem Zellkern ist nicht zu erkennen.

Gegenüber dem Gefäßpol liegt der Harnpol. Hier geht das Plattenepithel des äußeren Blattes der Bowman-Kapsel in isoprismatisches Epithel des proximalen Tubulus über, über den der Primärharn aus dem Nierenkörperchen abfließt.

In allen Abteilungen der Niere sind die verschiedenen Formen der Glomerula vorzufinden. Die größten, mit über 200  $\mu\text{m}$  großen "mammalian-type" Glomerula sind vor allem in Marknähe zu finden und gehören zu den medullären Nephronen. Die kleineren, ca 40 bis 65  $\mu\text{m}$  großen "reptilian-type" Glomerula kommen im gesamten Rindenbereich vor und sind den kortikalen Nephronen zugehörig. Zwischen diesen und den großen komplexen Glomerula gibt es zahlreiche Übergangsformen verschiedener Größen, die ebenso in allen Rindenbereichen vorkommen.

Durch die Goldner-Färbung erhalten das Bindegewebe des Nierenkörperchens und das Mesangium und einen grünen Ton.

PAS-gefärbte Präparate zeigen eine mittelgradige Anfärbung des Bindegewebes und eine kräftige Anfärbung des Mesangiums.

In der Alcianblau-Färbung ist das Nierenkörperchens negativ.

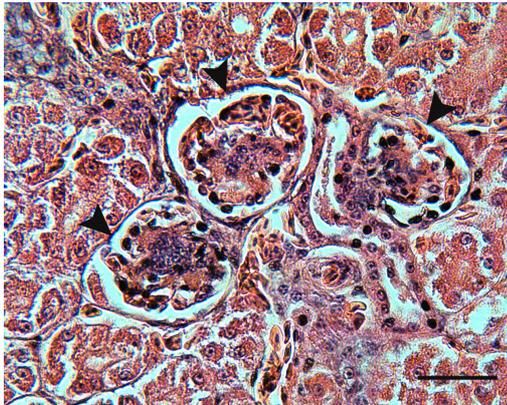


Abbildung 5: Niere, Strauß, Lobus medius  
Hämatoxylin-Eosin, SB = 40  $\mu\text{m}$

Die kleinen, „reptilian-type“ Glomerula (Pfeilspitzen) messen ca. 40 bis 65  $\mu\text{m}$  im Durchmesser.

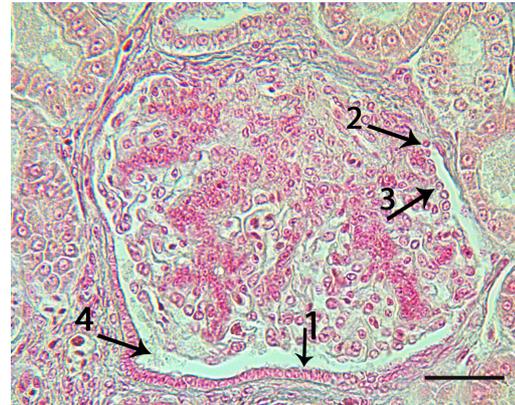


Abbildung 6: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Alcianblau pH 1, SB = 40  $\mu\text{m}$

Die großen, komplexen „mammalian-type“ Glomerula besitzen einen Durchmesser bis ca. 200 $\mu\text{m}$ . In der Alcianblaufärbung zeigen sie keine Anfärbung.

Das äußere Blatt der Bowman-Kapsel besteht aus einer Plattenepithelschicht (1), die am Gefäßpol umschlägt (2) in das innere, viszerale Blatt (3), das den Kapillaren anliegt. Zwischen äußerem und innerem Blatt befindet sich der Kapselraum (4).

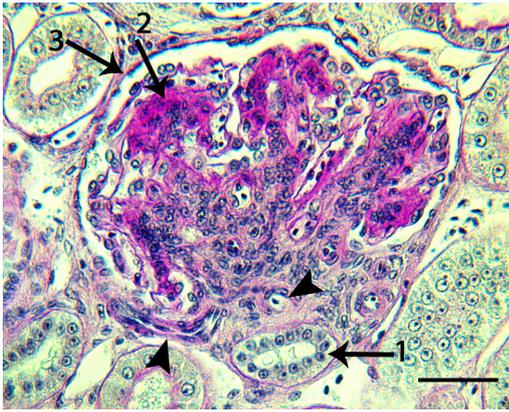


Abbildung 7: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
PAS-Färbung, SB = 40  $\mu$ m

Arteriolen (Pfeilspitzen) treten am Gefäßpol ein und aus, sind aber nicht direkt dem distalen Tubulus (1) anliegend.

Die Mesangialzellen ziehen ins Innere des Nierenkörperchens (2) und bilden eine Aufhängung für die Kapillaren.

Mesangium (2) und das das Nierenkörperchen umgebende Bindegewebe (3) färben sich PAS-positiv an.

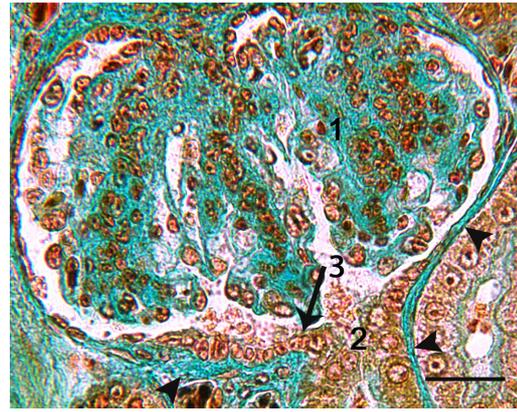


Abbildung 8: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Goldner-Färbung, SB = 25  $\mu$ m

Bindegewebsschicht (Pfeilspitzen) und Mesangium (1) erhalten in der Goldnerfärbung einen grünen Ton.

Am Harnpol (2) entspringt der proximale Tubulus aus dem Plattenepithel des äußeren Blattes der Bowman-Kapsel (3).

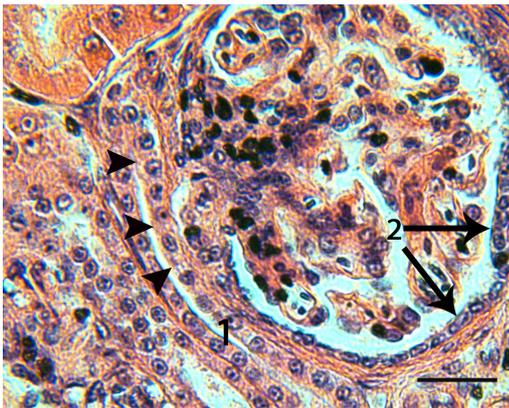


Abbildung 9: Niere, Strauß, Lobus caudalis,  
Hämatoxylin-Eosin, SB= 25 $\mu$ m

Der distale Tubulus (1) liegt im Bereich des Gefäßpols dem Glomerulum an (Pfeilspitzen), eine Macula densa mit dichteren und höheren Zellen mit verlängertem Zellkern ist nicht zu erkennen.

Sehr gut ist hier die einfache Schicht Plattenepithelzellen des äußeren Blattes der Bowman-Kapsel zu erkennen (2).

### 4.1.2 Tubulusapparat

Am Harnpol fließt der Primärharn aus dem Kapselraum des Nierenkörperchens in den proximalen Tubulus ab. Dieser entspringt aus dem Plattenepithel des äußeren Blattes der Bowman-Kapsel, das hier in isoprismatisches Epithel übergeht. Der proximale Tubulus besitzt einen Durchmesser von ca. 40 bis 50  $\mu\text{m}$  und eine Epithelhöhe von ca. 10 bis 15  $\mu\text{m}$ . Sein Epithel ist mit einem Saum aus Mikrovilli ausgestattet.

Der Beginn des distalen Tubulus ist markiert durch die Stelle, an der er sich an sein zugehöriges Glomerulum anschmiegt. Das isoprismatische Epithel hat an dieser Stelle einen Durchmesser von 15 bis 25  $\mu\text{m}$  und eine Höhe von ca. 5 bis 8  $\mu\text{m}$  und besitzt keine Mikrovilli.

Die Zellkerne liegen bei proximalen und distalen Tubuli zentral. Bei den medullären Nephronen liegt zwischen proximalem und distalem Tubulus die Markschleife.

In der HE-Färbung stellen sich die eosinophilen Zellen des proximalen Tubulus und dessen Mikrovilli rötlich, die Zellen des distalen Tubuli bläulich dar.

Durch die PAS-Färbung erhalten die Mikrovilli einen violetten Ton, einzelne Zellen des Tubulus conjugens färben sich dunkelviolett.

Goldner-gefärbte Präparate zeigen eine schwach grüne Anfärbung des Mikrovillisaums der proximalen Tubuli.

In der Alcianblau-Färbung sind distale, proximale Tubuli und deren Mikrovilli negativ.

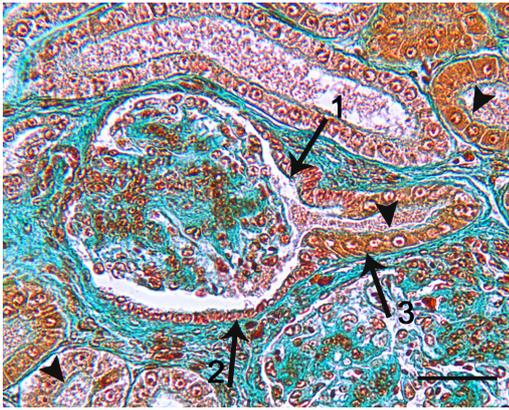


Abbildung 10: Niere, Strauß, Lobus caudalis, Goldner-Färbung, SB = 40  $\mu\text{m}$

Am Harmpol (1) fließt der Primärharn aus dem Kapselraum in den proximalen Tubulus ab. Dieser geht aus dem Plattenepithel des äußeren Blattes der Bowman-Kapsel (2) hervor, das in isoprismatisches Epithel übergeht (3). Die Mikrovilli des proximalen Tubulus zeigen in der Goldnerfärbung einen schwachen Grünton (Pfeilspitzen). Glomerulum vom Übergangstyp, Durchmesser ca. 110  $\mu\text{m}$ .

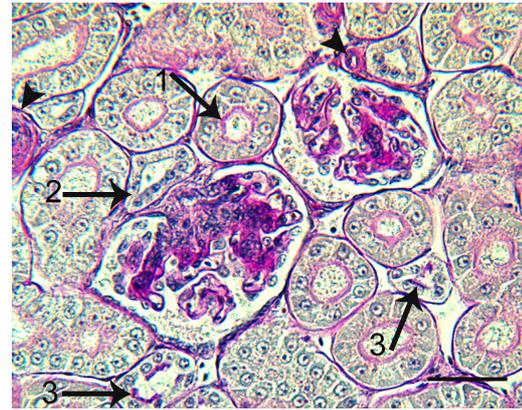


Abbildung 11: Niere, Strauß, Lobus cranialis, PAS-Färbung, SB = 40  $\mu\text{m}$

Am Gefäßpol liegt der Tubulusapparat dem Glomerulum an und markiert den Beginn des distalen Tubulus (2). Sein Epithel färbt sich nicht an, während die Mikrovilli der proximalen Tubuli PAS-positiv sind (1). Auch vereinzelte Zellen des Verbindungsstückes zum Sammelrohr zeigen ein lumenseitig PAS-positives Epithel (3), ebenso wie die Tunica muscularis der Gefäße (Pfeilspitzen).

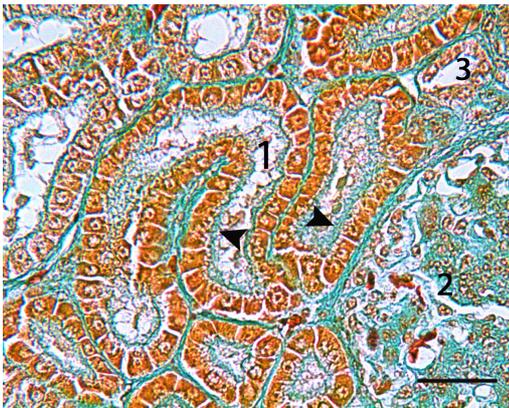


Abbildung 12: Niere, Strauß, Lobus cranialis, Goldner-Färbung, SB = 40  $\mu\text{m}$

Der proximale Tubulus (1) schlängelt sich in der Nähe seines Glomerulums (2). Sein luminaler Saum aus Mikrovilli zeigt in der Goldnerfärbung einen schwachen Grünton (Pfeilspitzen). Das Epithel der distalen Tubuli (3) ist negativ.



Abbildung 13: Niere, Strauß, Lobus medius, Hämatoxylin-Eosin, SB = 10  $\mu\text{m}$

Die Zellen des Tubulus contortus proximalis (2) sind eosinophil und erscheinen deshalb in der HE-Färbung rötlich. Ihr iso- bis leicht hochprismatisches Epithel besitzt zentral gelegene Zellkerne und ist mit einem Saum aus Mikrovilli ausgekleidet (Pfeilspitzen), das den bläulichen Zellen des distalen Tubulus fehlt (3). Sie sind isoprismatisch mit basal gelegenen Zellkernen (1). Ihre Zellen sind mit ca. 10  $\mu\text{m}$  niedriger als die der proximalen mit ca. 17  $\mu\text{m}$ .

### 4.1.3 Nierenmark und Henle-Schleifen

Zwischen proximalem und distalem Tubulus liegt bei den medullären Nephronen die Henle-Schleife (Markschleife). Sie besteht aus einem absteigenden Schenkel der bis zum Umkehrpunkt an Größe abnimmt, und einem aufsteigenden Schenkel, der sich in seinem Verlauf wieder verbreitert. Parallel mit Sammelrohren und Vasa recta der Gefäße verlaufen die Markschleifen ohne erkennbare Anordnung in einem Markkegel, der von einer bindegewebigen Kapsel zum Rindengewebe hin abgegrenzt ist. Der Durchmesser des Markkegels verringert sich, je mehr Sammelrohre zusammenfließen und sich zu größeren Ästen vereinigen. Gleichzeitig nimmt die Zahl der Markschleifen und Gefäße ab und der Bindegewebeanteil zu, bis die Ureteräste schließlich alleine im Bindegewebe verlaufen. Die Markinseln sind im gesamten Nierengewebe verteilt und zusammenführend angeordnet.

Der Durchmesser der absteigenden Schenkel nimmt bis zum Wendepunkt der Schleife stetig ab von ca. 30 auf 15  $\mu\text{m}$ , seine Epithelhöhe von ca. 7,5 auf 3  $\mu\text{m}$ , im aufsteigenden Teil dagegen stetig zu von ca. 25 auf 30  $\mu\text{m}$  Durchmesser und 6 auf 11  $\mu\text{m}$  Epithelhöhe.

In den Goldner-gefärbten Präparaten erhält das Bindegewebe wieder einen deutlichen Grünton und hebt die Markinseln somit gut vom braunen Rindengewebe ab.

PAS-gefärbte Präparate zeigen eine starke Anfärbung des Bindegewebes, das lumenseitige Epithel der Sammelrohre färbt sich schwach PAS-positiv an, während die Markschleifen negativ bleiben.

In der Alcianblau-Färbung färben sich Substanzen im Zytoplasma sowie das luminale Epithel der Sammelrohre bei pH 1 und 2,5 stark an, die Markschleifen bleiben bei beiden pH-Werten negativ.

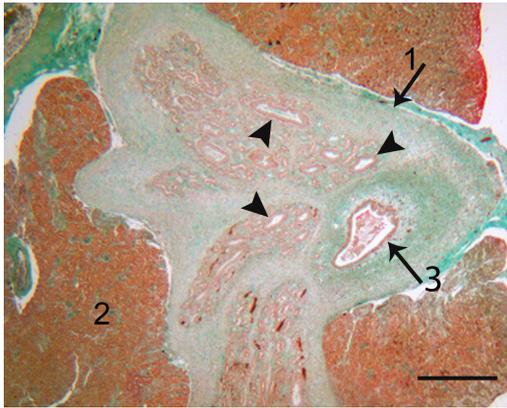


Abbildung 14: Niere, Strauß, Lobus medius, Goldner-Färbung, SB = 550 µm

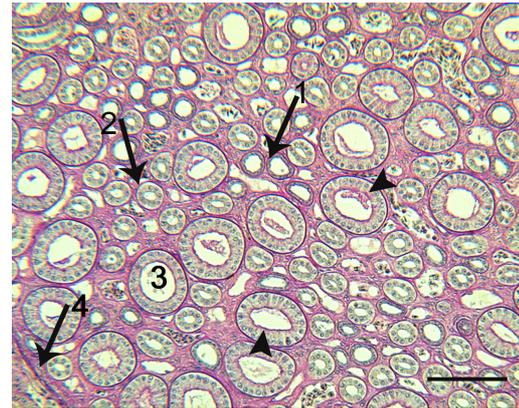


Abbildung 15: Niere, Strauß, Lobus cranialis, PAS-Färbung, SB = 100 µm

Die Markinseln sind bindegewebig (1) vom Rindengewebe (2) abgegrenzt. Mehrere Markbereiche führen zusammen. In den Goldner-gefärbten Präparaten wird die Markkapsel durch die starke Grünfärbung des Bindegewebes deutlich sichtbar. Sammelrohre (Pfeilspitzen) vereinigen sich am Ende eines Markkegels zu einem einzigen Abfluss, dem Primärast (Ductus colligens) (3), der nur noch von Bindegewebe umgeben ist.

Im Markkegel verlaufen absteigende (1) und aufsteigende (2) Henle-Schleifen parallel mit den Sammelrohren (3). Eine spezifische Anordnung der Strukturen ist nicht erkennbar. Durch die PAS-Färbung wird das Bindegewebe (4) stark positiv, und auch das lumenseitige Epithel der Sammelrohre (Pfeilspitzen) zeigt sich positiv. Die Markschleifen hingegen bleiben negativ.

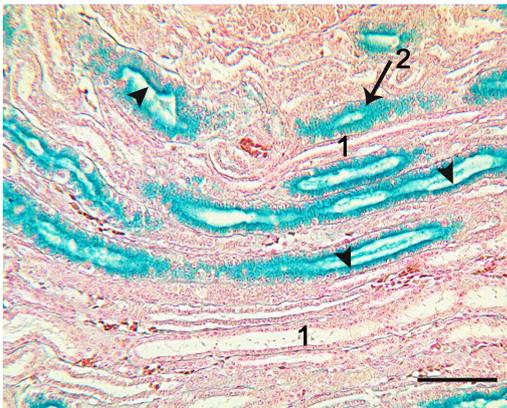


Abbildung 16: Niere, Strauß, Lobus caudalis Alcianblau pH 2,5, SB = 100 µm

Während die Markschleifen (1) negativ bleiben, färben sich in der Alcianblaufärbung Substanzen im Zytoplasma (2) sowie das Epithel (Pfeilspitzen) der Sammelrohre stark an.

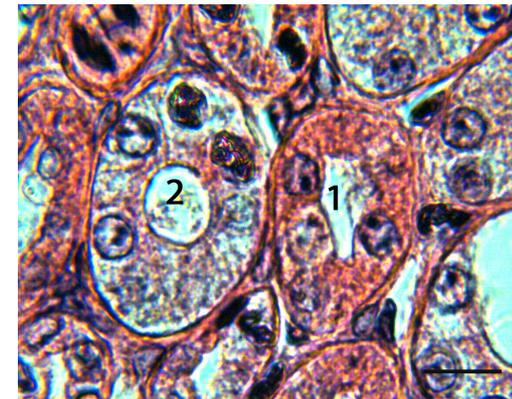


Abbildung 17: Niere, Strauß, Lobus cranialis Hämatoxylin-Eosin SB = 10 µm

Die absteigenden Anteile (1) der Henle-Schleife haben einen geringeren Durchmesser, hier 17,5 µm, und eine geringere Epithelhöhe, hier 7,5 µm als die aufsteigenden (2) mit einem Durchmesser von 22,5 µm und einer Epithelhöhe von 11 µm. Bei beiden sitzen die Zellkerne zentral und sie besitzen einfaches, kubisches Epithel.

#### 4.1.4 Sammelrohre und Ductus colligens

An die Tubulusabschnitte schließt sich ein längsoval bis dreieckiges Verbindungsstück (Tubulus conjugens) an mit ca. 8 bis 10  $\mu\text{m}$  Epithelhöhe und ca. 25 bis 35  $\mu\text{m}$  Durchmesser. Seine Zellen haben isoprismatische Form und zentral oder basal gelegene, runde Kerne. Einige der Zellen besitzen Mikrovilli, die sich in der PAS-Färbung positiv darstellen. Dem Verbindungsstück folgen die runden, extramedullären Sammelrohre mit ca. 5 bis 8  $\mu\text{m}$  Epithelhöhe und ca. 18 bis 37  $\mu\text{m}$  Durchmesser, die dem Markkegel zufließen. Je mehr Sammelgänge zusammenfließen, desto größer wird ihr Durchmesser und desto höher ihr Epithel. Bei den runden bis leicht ovalen intramedullären Sammelgängen steigert sich dieses schließlich von iso- zu leicht hochprismatisch mit bis zu ca. 20  $\mu\text{m}$  Epithelhöhe und ca. 60  $\mu\text{m}$  Durchmesser. Die Größe der Sammelgänge nimmt weiter zu bis zum Übergang in das hochprismatische Epithel der ovalen Ductus colligentes zweiter und schließlich mehrreige Epithel der Primäräste mit einer Zellhöhe bis ca. 65  $\mu\text{m}$ . Sie sind oft nicht mehr rund oder oval und weisen einen Durchmesser von ca. 250  $\mu\text{m}$  an den weitesten Stellen auf. Die Zellen der Ductus colligentes besitzen Schleimvakuolen, die sich dem Lumen zugewandt befinden.

Die lumenseitigen Vakuolen werden durch die Goldnerfärbung mittelgradig grün angefärbt.

Bei den PAS-gefärbten Präparaten zeigen die extra- und intramedullären Sammelgänge ein stark positives Epithel. Bei diesen und den Ductus colligentes färben sich auch die Schleimvakuolen stark an. Auch das Zytoplasma der extramedullären Sammelgänge zeigt sich positiv.

In der Alcianblaufärbung, in der sich Mukossubstanzen blau anfärben, stellen sich das Epithel sowie das Zytoplasma der extra- wie auch intramedullären Sammelgänge kräftig blau dar. Bei den größten Ductus colligentes mit mehrreihigem Säulenepithel erfolgt eine starke positive Anfärbung.

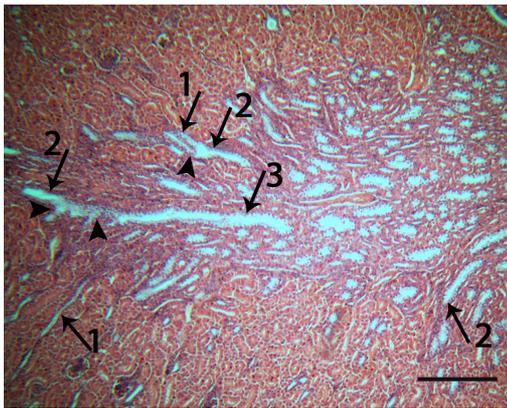


Abbildung 18: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Hämatoxylin-Eosin, SB = 250  $\mu$ m

Die extramedullären Sammelrohre (1) mit einem Durchmesser von ca. 18 bis 20  $\mu$ m führen zu einer Markinsel und vereinigen sich dabei (Pfeilspitzen) zu größeren Sammelgefäßen von 25  $\mu$ m (2) bis zu 37  $\mu$ m (3).

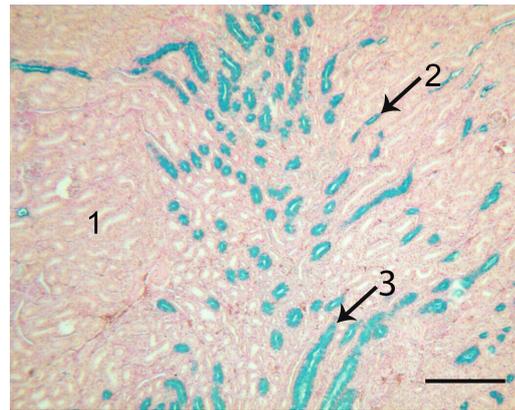


Abbildung 19: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Alcianblau pH 2,5, SB = 250  $\mu$ m

Die proximalen und distalen Tubuli (1) färben sich in der Alcianblaufärbung nicht an, die extramedullären Sammelrohre, die zu den Markinseln führen (2, 3), zeigen dagegen ein stark positives Epithel und Zytoplasma.

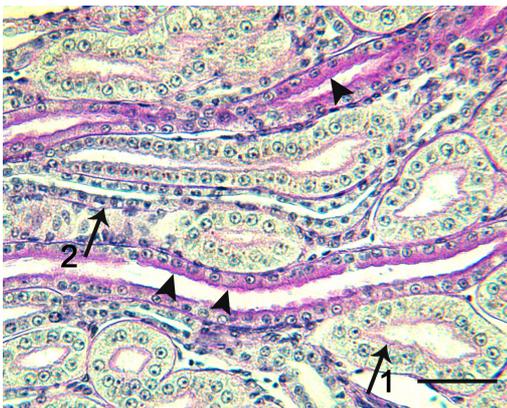


Abbildung 20: Niere, Strauß, Lobus medius  
PAS-Färbung, SB = 40  $\mu$ m

Das Epithel der extramedullären Sammelgänge (Pfeilspitzen), die dem Mark zulaufen, zeigen sich in der PAS-Färbung stark positiv, ihre Epithelhöhe beträgt hier ca. 8  $\mu$ m, ihr Durchmesser ca. 24 bis 30  $\mu$ m. Die Mikrovilli der proximalen Tubuli (1) mit einer Epithelhöhe von ca. 10 bis 15  $\mu$ m färben sich schwächer an. Die distalen Tubuli (2) mit ca. 4 bis 8  $\mu$ m Epithelhöhe zeigen keine Anfärbung mit PAS.

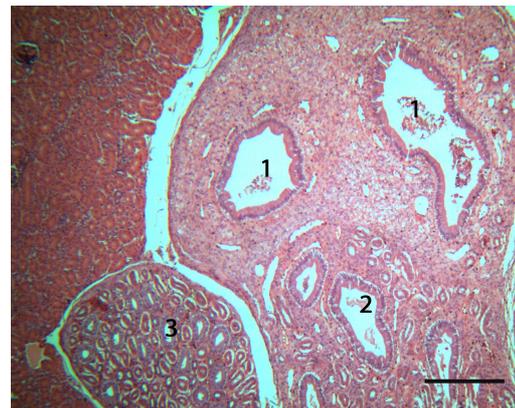


Abbildung 21: Niere Strauß, Lobus medius  
Hämatoxylin-Eosin, SB = 250  $\mu$ m

Anfangs laufen die Markschleifen mit den Sammelrohren parallel im Markkegel (3). Die Sammelrohre besitzen hier einen Durchmesser bis zu 60  $\mu$ m. Sie vereinigen sich und bilden größere Sammelrohre mit einem Durchmesser von ca. 125 bis 160  $\mu$ m (2); gleichzeitig nimmt die Zahl der Henle-Schleifen ab und der bindegewebige Anteil zu, bis schließlich die großen Ductus colligentes (1) mit ca. 250  $\mu$ m mit nur noch wenigen Gefäßen im Bindegewebe der Markkegelspitze abfließen.

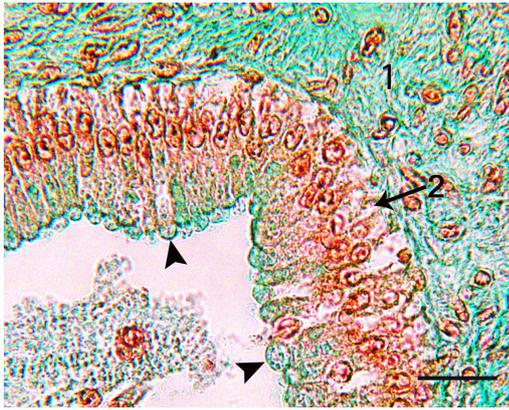


Abbildung 22: Niere, Strauß, Lobus medius  
Goldner-Färbung, SB = 25  $\mu\text{m}$

Intramedullärer Sammelgang mit einer Epithelhöhe von ca. 50  $\mu\text{m}$ . Das den Sammelgang umgebende Bindegewebe (1) färbt sich in der Goldner-Färbung grün, seine Zellen (2) bleiben negativ, lediglich die luminalen Vakuolen (Pfeilspitzen) färben sich grün.

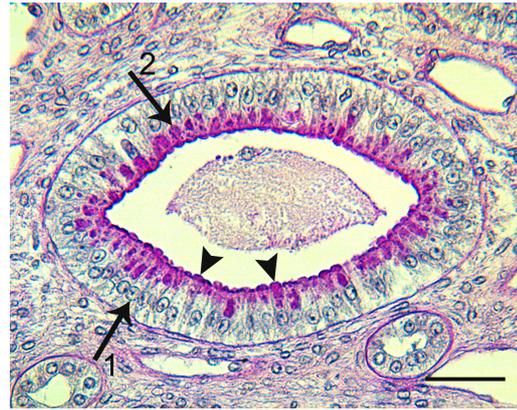


Abbildung 23: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
PAS-Färbung, SB = 40  $\mu\text{m}$

Die Zellkerne liegen in den hochprismatischen Zellen der Sammelgänge basal bis zentral (1). Vakuolen befinden sich luminal (Pfeilspitzen) und färben sich stark PAS-positiv an (2). Der Sammelgang hat eine Epithelhöhe von ca. 35  $\mu\text{m}$  und einen Durchmesser von ca. 140  $\mu\text{m}$ .

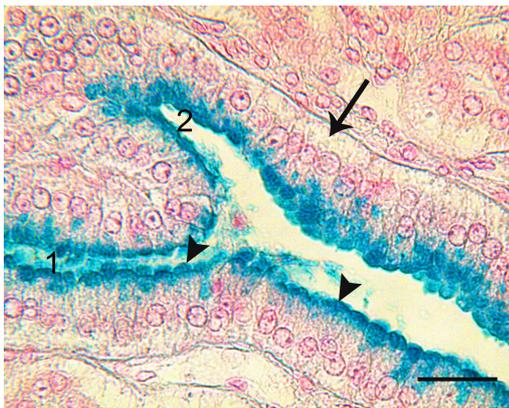


Abbildung 24: Niere, Strauß, Lobus medius  
Alcianblau pH 1, SB = 25  $\mu\text{m}$

Zusammenfließen zweier Sammelrohre (1,2). Der Durchmesser vergrößert sich dabei von ca. 50  $\mu\text{m}$  (2) und 55  $\mu\text{m}$  (1) auf 75  $\mu\text{m}$ . Das Zytoplasma (Pfeil) wird nicht angefärbt, während das Epithel (Pfeilspitzen) mit den muzinhaltigen Vakuolen dagegen stark positiv reagiert.

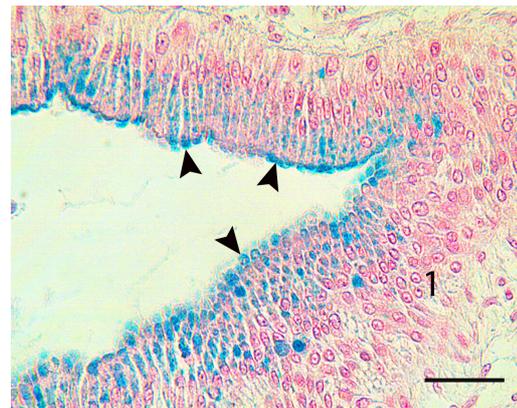


Abbildung 25: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Alcianblau pH1, SB = 40  $\mu\text{m}$

Hochprismatisches, mehrreihiges Epithel (1) des Ureterastes zweiter Ordnung. Die Schleimvakuolen stellen sich hellblau dar (Pfeilspitzen).

## 4.2 Glykohistochemische Untersuchungen

Mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskopes lassen sich Bindungsstellen der FITC-markierten Lektine im Gewebe durch grüne Fluoreszenz und die Zellkerne durch Anfärbung mit DAPI blau darstellen. Gewebe, bei denen keine Anfärbung erfolgt sowie die Gewebe der Negativkontrollen zeigen eine schwach gelbliche Eigenfluoreszenz.

Der Schwerpunkt der Analyse liegt in der Beurteilung von Bindungsstellen von Glomerulum, Tubulusapparat, Markschleifen und Sammelrohren. Die Auswertung der Lektinbindungsstellen erfolgt in tabellarischer Form, wobei die Fluoreszenzstärke in negative (-), schwach positive (+), deutlich positive (++) oder stark positive (+++) Reaktionen eingeteilt wird.

### 4.2.1 Bindungsstellen von *Canavalia ensiformis* Agglutinin (ConA)

ConA zeigte bei den untersuchten Tieren in keinem Abschnitt des Nierengewebes positive Bindungsstellen.

### 4.2.2 Bindungsstellen von *Dolichos biflorus* Agglutinin (DBA)

DBA zeigte bei den untersuchten Tieren in keinem Abschnitt des Nierengewebes positive Bindungsstellen.

### 4.2.3 Bindungsstellen von *Griffonia simplicifolia* Agglutinin I (GSL-I)

GSL-1 zeigte bei den untersuchten Tieren in keinem Abschnitt des Nierengewebes positive Bindungsstellen.

#### 4.2.4 Bindungsstellen von *Lens culinaris* Agglutinin (LCA)

Starke Fluoreszenz ist zu beobachten an den Mikrovilli der proximalen Tubuli, ebenso im Zytoplasma der intramedullären Sammelrohre sowie luminal an Epithel und Schleimvakuolen der Ductus colligentes. Schwach positiv zeigen sich gelegentlich die Mesangialzellen sowie das Zytoplasma von extramedullären Sammelrohren und Ductus colligentes.

Tabelle 6: Bindungsstärke von LCA in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	- bis +
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	-	+++	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	+++	-	-
extramedullär	+	-	-
Ureteräste	+	+++	+++
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

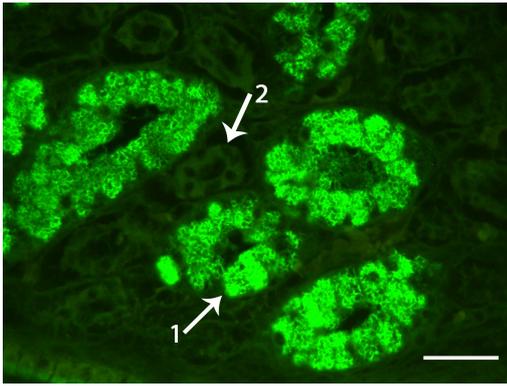


Abbildung 26: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Bindung von *Lens culinaris* Agglutinin - FITC,  
SB = 40  $\mu$ m

Das Zytoplasma der Sammelrohre (1) ist stark positiv für LCA, die Henle-Schleifen (2) dagegen bleiben negativ.

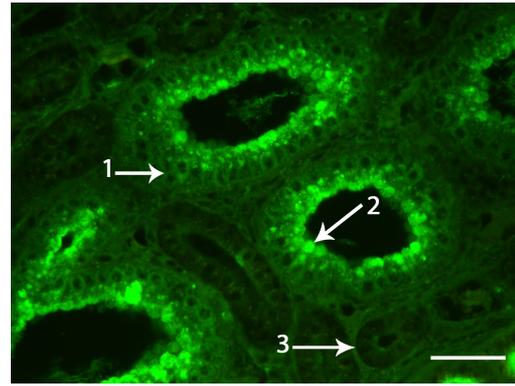


Abbildung 27: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Bindung von *Lens culinaris* Agglutinin - FITC,  
SB = 40  $\mu$ m

Das Zytoplasma der Ductus colligentes (1) zeigt nur eine schwache Reaktion, ihre Schleimvakuolen (2) dagegen eine stark positive Reaktion mit LCA. Henle-Schleifen (3) zeigen keine Bindungsstellen.

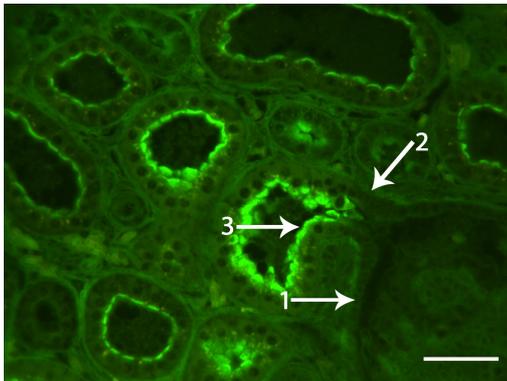


Abbildung 28: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von *Lens culinaris* Agglutinin - FITC,  
SB = 40  $\mu$ m

Das äußere Blatt der Bowman-Kapsel (1) stellt sich negativ dar. Am Harnpol (2) geht das Plattenepithel in das isoprismatische Epithel des proximalen Tubulus über, dessen Mikrovilli (3) stark positiv mit LCA reagieren.

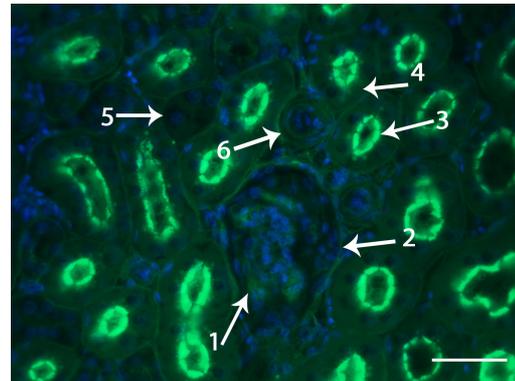


Abbildung 29: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von *Lens culinaris* Agglutinin - FITC,  
Kernfärbung mit DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Die Mesangialzellen (1) reagieren schwach positiv mit LCA, ebenso wie das Bindegewebe (2), welches das Glomerulum umgibt. Während die Mikrovilli (3) der proximalen Tubuli sehr stark positiv reagieren, besitzt ihr Zytoplasma (4) keine Bindungsstellen für LCA, wie auch distale Tubuli (5) und Gefäße (6).

#### 4.2.5 Bindungsstellen von *Maackia amurensis* Agglutinin I (MAA-I)

Eine starke Reaktion zeigt das Epithel der distalen Tubuli, während das Zytoplasma ihrer Zellen nur schwach reagiert. Ebenfalls stark positiv zeigen sich die luminalen Vakuolen der Ureteräste und das Epithel der aufsteigenden Markschleifen, während das der Absteigenden nur schwach reagiert.

Tabelle 7: Bindungsstärke von MAA-I in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	-	-	
distal	+	+++	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	+++
<i>Marschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	+	
aufsteigend	-	+++	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

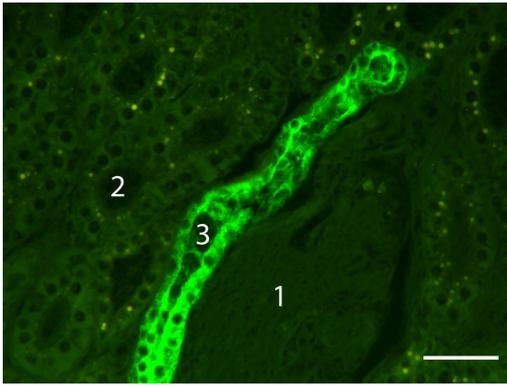


Abbildung 30: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Bindung von *Maackia amurensis* Agglutinin I -  
FITC, SB = 40  $\mu$ m

Glomerulum (1) und proximale Tubuli (2) lassen keine Bindungsstellen erkennen, das Epithel der distalen Tubuli (3) reagiert jedoch stark und auch ihr Zytoplasma deutlich positiv mit MAA-I.

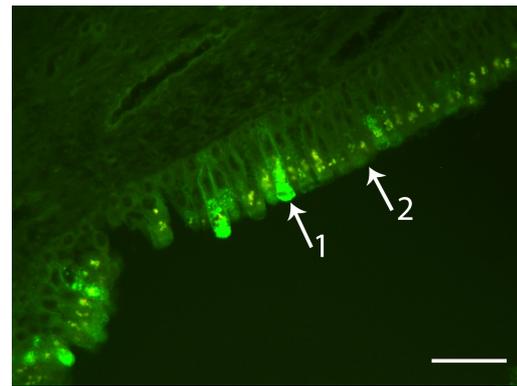


Abbildung 31: Niere, Strauß, Lobus medius  
Bindung von *Maackia amurensis* Agglutinin I -  
FITC, SB = 40  $\mu$ m

Die muzinhaltigen Vakuolen (1) der Zellen des Ductus colligens reagieren positiv mit MAA-I. Zellen ohne Vakuolen zeigen keine Reaktion (2).

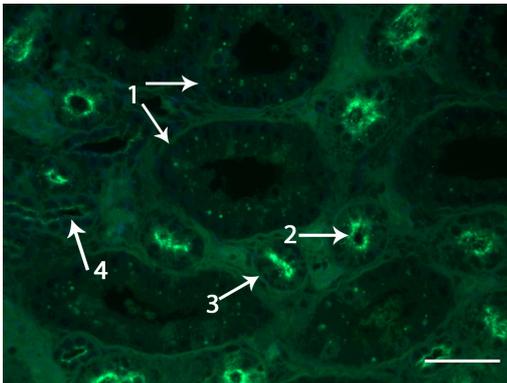


Abbildung 32: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Bindung von *Maackia amurensis* Agglutinin I -  
FITC, SB = 40  $\mu$ m

Die intramedullären Sammelgänge (1) besitzen keine Bindungsstellen, das Epithel der aufsteigenden Henle-Schleifen (2, 3) reagiert stark, das der dünnen, absteigenden (4) schwach positiv mit MAA-I.

#### 4.2.6 Bindungsstellen von *Phaseolus vulgaris* Erythroagglutinin (PHA-E)

Bei PHA-E kann eine starke Fluoreszenz an den Mikrovilli der proximalen Tubuli beobachtet werden, das Zytoplasma ihrer Zellen ist jedoch nur schwach positiv. Die Vakuolen der Ductus colligentes reagieren deutlich positiv, peritubuläres und intramedulläres Bindegewebe zeigen sich schwach positiv.

Tabelle 8: Bindungsstärke von PHA-E in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	+	+++	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	++
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	+	+	+

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

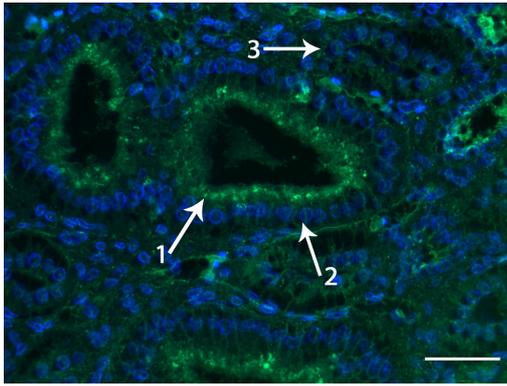


Abbildung 33: Niere, Strauß, Lobus medius  
Bindung von *Phaseolus vulgaris*  
Erythroagglutinin - FITC, Kernfärbung mit  
DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Das Epithel mit Schleimvakuolen der Sammelgänge (1) zeigt sich deutlich positiv für PHA-E, ihr Zytoplasma (2) sowie die Markschleifen (3) hingegen besitzen keine Bindungsstellen.

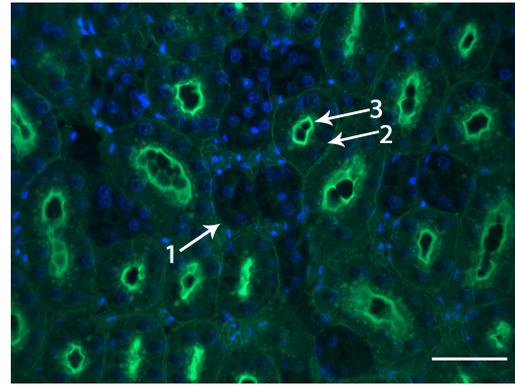


Abbildung 34: Niere, Strauß, Lobus medius  
Bindung von *Phaseolus vulgaris*  
Erythroagglutinin - FITC, Kernfärbung mit  
DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Die distalen Tubuli (1) zeigen keine Bindungsstellen für PHA-E. Das Zytoplasma der proximalen Tubuli (2) reagiert schwach, das peritubuläre Bindegewebe deutlich (2), die Mikrovilli der proximalen Tubuli stark (3).

#### 4.2.7 Bindungsstellen von Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin (PHA-L)

Starke Fluoreszenz kann luminal an Epithel der proximalen Tubuli sowie der absteigenden Henle-Schleifen beobachtet werden. Auch Mesangium der Nierenkörperchen und Zytoplasma der proximalen Tubuli zeigen eine positive Reaktion, die jedoch nur schwach ist.

Tabelle 9: Bindungsstärke von PHA-L in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	+
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	+	+++	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	-
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	+++	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

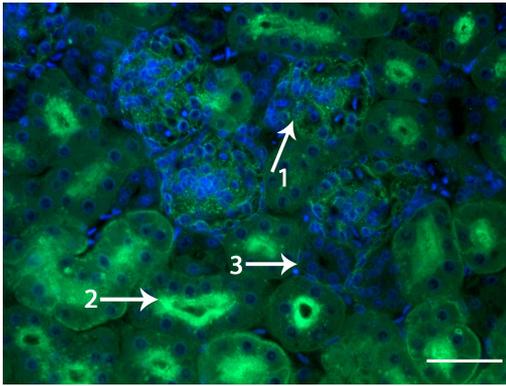


Abbildung 35: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Bindung von *Phaseolus vulgaris*  
Leukoagglutinin - FITC, Kernfärbung mit  
DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Das Mesangium der Nierenkörperchen (1) zeigt sich schwach positiv für PHA-L, ebenso das Zytoplasma der proximalen Tubuli. Deren Mikrovilli (2) reagieren stark positiv, die distalen Tubuli (3) hingegen negativ.

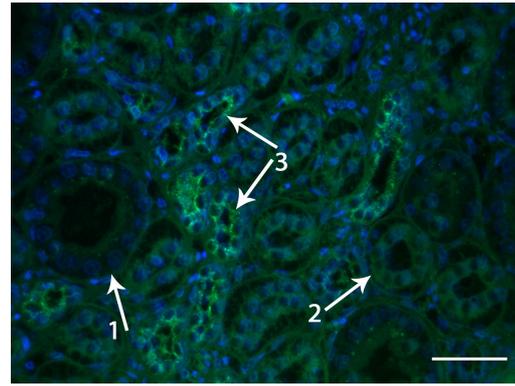


Abbildung 36: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Bindung von *Phaseolus vulgaris*  
Leukoagglutinin - FITC, Kernfärbung mit  
DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Die Sammelgänge (1) und aufsteigenden Teile der Henle-Schleifen (2) besitzen keine Bindungsstellen für PHA-L. Im Nierenmark zeigt sich nur das Epithel der absteigenden Anteile der Henle-Schleifen luminal (3) stark positiv.

#### 4.2.8 Bindungsstellen von Peanut Agglutinin (PNA)

Bei PNA ist eine starke Fluoreszenz des Endothels der Gefäße sowie der Kapillaren des Nierenkörperchens auffällig. Auch die Mikrovilli der proximalen Tubuli zeigen eine stark positive Reaktion, ebenso das peritubuläre Bindegewebe und die Bindegewbshülle des Markkegels.

*Tabelle 10: Bindungsstärke von PNA in der Straußenniere*

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	+++	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	-	+++	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	-
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	+++	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	+++	-	+++

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

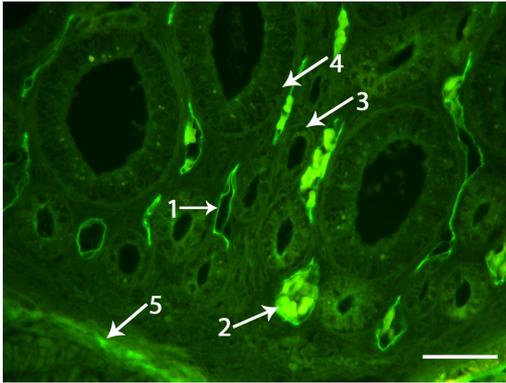


Abbildung 37: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Bindung von Peanut Agglutinin - FITC,  
SB = 40  $\mu$ m

Das Endothel (1) der Vasa recta und ihre Erythrozyten (2) reagieren stark positiv mit PNA, ebenso die bindegewebige Hülle der Markinsel (5). Markschleifen (3) und Sammelgänge (4) besitzen dagegen keine Bindungsstellen.

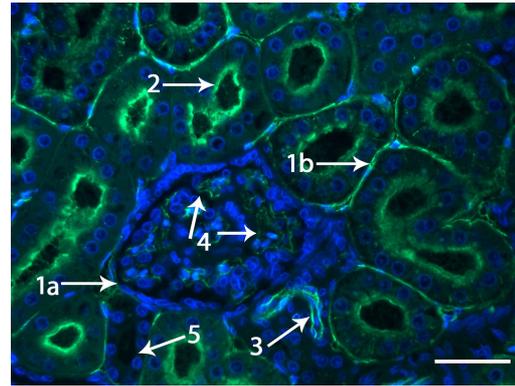


Abbildung 38: Niere, Strauß, Lobus medius  
Bindung von Peanut Agglutinin - FITC,  
Kernfärbung mit DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Das peritubuläre Bindegewebe (1a, 1b) reagiert stark positiv mit PNA, ebenso die Mikrovilli (2) der proximalen Tubuli, das Endothel der Gefäße (3) und der glomerulären Kapillaren (4). Die distalen Tubuli dagegen sind reaktionslos (5).

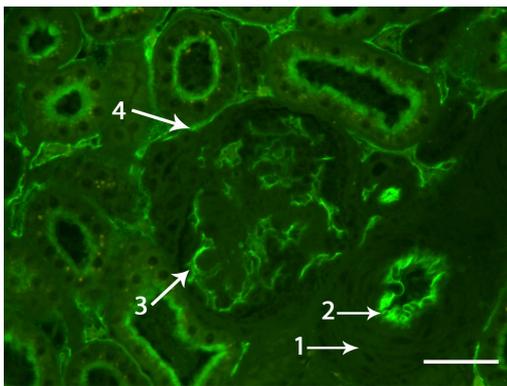


Abbildung 39: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von Peanut Agglutinin - FITC,  
SB = 40  $\mu$ m

Während die Tunica muscularis der Gefäße (1) keine Bindungsstellen für PNA zeigt, reagiert ihr Endothel (2) stark positiv. Auch die Kapillaren des Nierenkörperchens (3) und dessen Bindegewebe (4) sind stark positiv.

#### 4.2.9 Bindungsstellen von *Pisum sativum* Agglutinin (PSA)

Starke Fluoreszenz ist am luminalen Bürstensaum der proximalen Tubuli sowie den Vakuolen der Sammelgänge und Ureteräste zu beobachten. Deren Epithel zeigt sich deutlich positiv, während das Zytoplasma der extra- und intramedullären Sammelrohre nur schwach positiv reagiert und das der Ureteräste negativ bleibt.

Tabelle 11: Bindungsstärke von PSA in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	+
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	-	+++	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	+	++	+++
extramedullär	+	++	+++
Ureteräste	-	++	+++
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	+	-	-

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

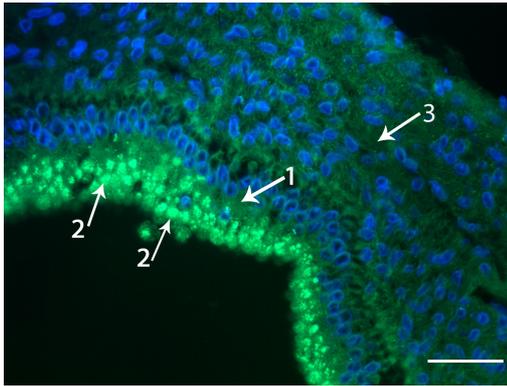


Abbildung 40: Niere Strauß, Lobus medius  
Bindung von *Pisum sativum* Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Das Zytoplasma der Sammelgänge (1) zeigt sich schwach positiv für PSA, ihre Schleimvakuolen (2) stark positiv. Das umgebende Bindegewebe (3) besitzt keine Bindungsstellen für PSA.

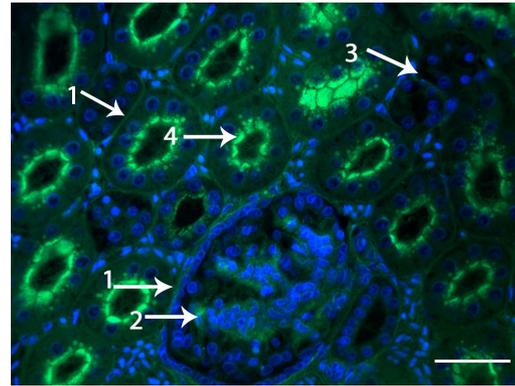


Abbildung 41: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von *Pisum sativum* Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Bindegewebe (1) und Mesangium der Nierenkörperchen (2) sind schwach positiv für PSA. Distale Tubuli (3) besitzen keine Bindungsstellen, die Mikrovilli (4) der proximalen Tubuli reagieren dagegen stark positiv mit PSA.

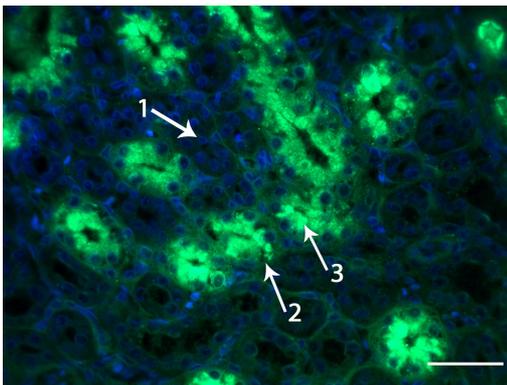


Abbildung 42: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Bindung von *Pisum sativum* Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Im Nierenmark zeigt das Zytoplasma der Henle-Schleifen (1) keine Bindungsstellen für PSA, das Zytoplasma der intramedullären Sammelgänge (2) reagiert schwach positiv und ihre luminale Oberfläche mit den Vakuolen (3) stark positiv.

#### 4.2.10 Bindungsstellen Ricinus communis Agglutinin (RCA)

Die einzige Struktur mit Bindungsstellen für RCA sind die Mikrovilli der proximalen Tubuli, die eine starke Reaktion zeigen.

Tabelle 12: Bindungsstärke von RCA in der Straußenniere

Glomerulum	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
Tubuli	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	-	+++	
distal	-	-	
Sammelrohre	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	-
Marschleifen	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
Gefäße	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
Bindegewebe	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

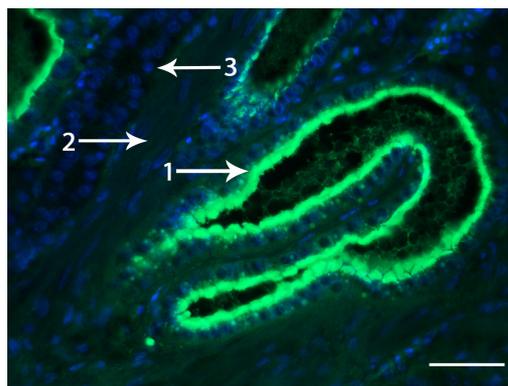


Abbildung 43: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von Ricinus communis Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm

Sehr stark positive Reaktion der Mikrovilli der proximalen Tubuli (1) mit RCA. Bindegewebe (2) und distale Tubuli (3) hingegen zeigen keine Bindungsstellen.

#### 4.2.11 Bindungsstellen von Soybean Agglutinin (SBA)

Bei SBA ist lediglich eine starke Reaktion der Mikrovilli der proximalen Tubuli und eine schwache Reaktion des luminalen Epithels der intramedullären Sammelgänge zu beobachten.

Tabelle 13: Bindungsstärke von SBA in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	-	+++	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	+	+
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	-
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

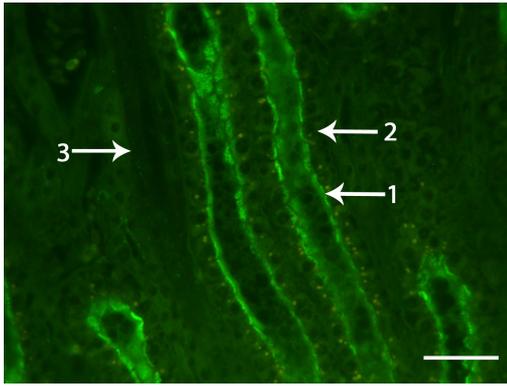


Abbildung 44: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von Soybean Agglutinin - FITC,  
SB = 40  $\mu$ m

Stark positive Reaktion der Mikrovilli der proximalen Tubuli (1) mit SBA. Ihr Zytoplasma (2) und die distalen Tubuli (3) hingegen zeigen keine Bindungsstellen (3).

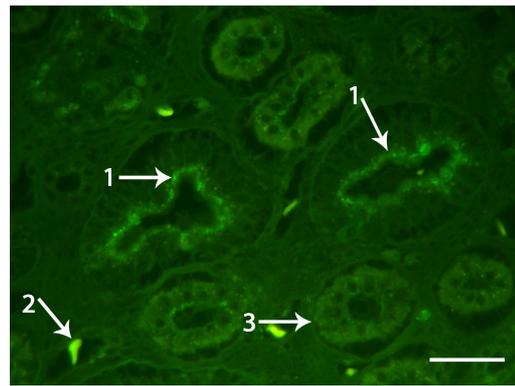


Abbildung 45: Niere, Strauß, Lobus medius  
Bindung von Soybean Agglutinin - FITC,  
SB = 40  $\mu$ m

Im Nierenmark stellt sich nur das luminal Epithel der Sammelgänge mit dessen Vakuolen (1) schwach positiv dar. Gefäße (2) und Henle-Schleifen (3) zeigen keine Reaktion mit SBA.

#### 4.2.12 Bindungsstellen von *Sophora japonica* Agglutinin (SJA)

Eine starke Reaktion ist zu beobachten an Zytoplasma und Mikrovilli der proximalen Tubuli. Auch die die Vakuolen der intramedullären Sammelgänge und Ureteräste zeigen eine starke Fluoreszenz.

Tabelle 14: Bindungsstärke von SJA in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	+++	+++	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	+++
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	+++
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

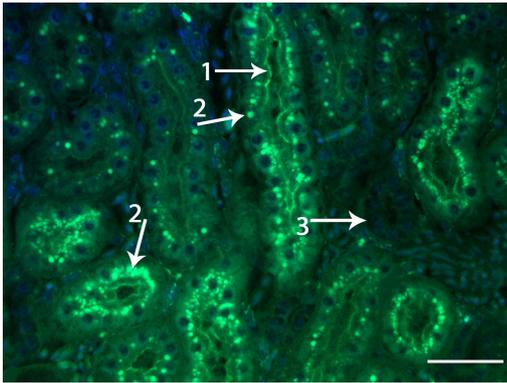


Abbildung 46: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Bindung von *Sophora japonica* Agglutinin -  
FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Epithel (1) und Zytoplasma (2) der proximalen Tubuli zeigen sich stark positiv, distale Tubuli besitzen keine Bindungsstellen (3) für SJA.

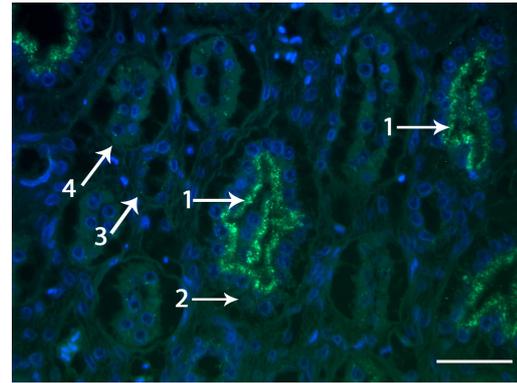


Abbildung 47: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von *Sophora japonica* Agglutinin -  
FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Lediglich die Vakuolen der Sammelgänge (1) stellen sich im Nierenmark stark positiv für SJA dar. Ihr Zytoplasma (2) und auch die Henle-Schleifen (3,4) zeigen keine Reaktion.

#### 4.2.13 Bindungsstellen von *Sambucus nigra* Agglutinin (SNA)

SNA zeigte bei den untersuchten Tieren in keinem Abschnitt des Nierengewebes positive Bindungsstellen.

#### 4.2.14 Bindungsstellen von *Ulex europaeus* Agglutinin I (UEA-I)

UEA zeigte bei den untersuchten Tieren in keinem Abschnitt des Nierengewebes positive Bindungsstellen.

#### 4.2.15 Bindungsstellen von Wheat germ Agglutinin (WGA)

Das peritubuläre Bindegewebe zeigt sich stark positiv, ebenso der luminale Mikrovillibesatz der proximalen Tubuli. Auch die luminale Oberfläche der distalen Tubuli reagiert deutlich positiv. Eine starke Fluoreszenz zeigen Zytoplasma, Vakuolen und Epithel der extramedullären Sammelgänge. Bei den intramedullären Sammelgängen und Ureterästen reagieren lumenales Epithel und Vakuolen stark positiv. Des Weiteren zeigen die Kapillaren des Glomerulums eine deutliche Fluoreszenz.

Tabelle 15: Bindungsstärke von WGA in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	++	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	-	+++	
distal	-	++	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	+++	+++
extramedullär	+++	+++	+++
Ureteräste	-	+++	+++
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	+++	-	-

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

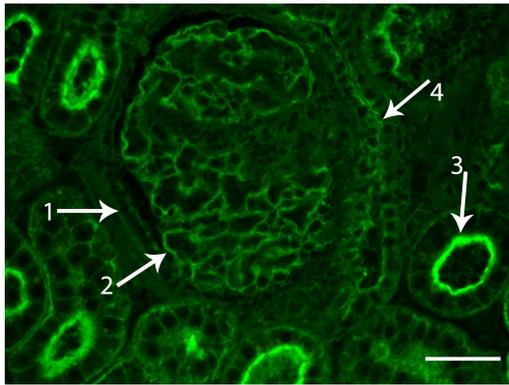


Abbildung 48: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Bindung von Wheat germ Agglutinin - FITC,  
SB = 40  $\mu$ m

Die Bowman-Kapsel (1) stellt sich negativ dar, die Kapillarwände der glomerulären Arteriolen (2) reagieren jedoch deutlich positiv mit WGA. Während sich die Mikrovilli der proximalen Tubuli (3) stark positiv zeigen, fluoresziert das Epithel der distalen Tubuli (4) nur deutlich.

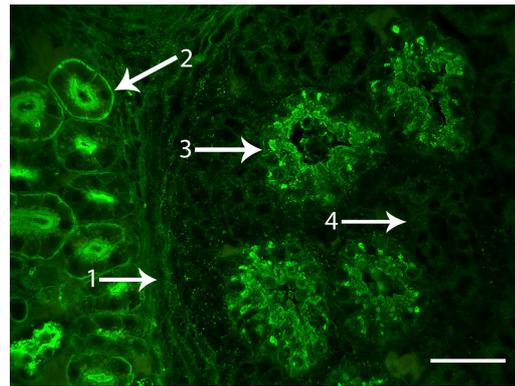


Abbildung 49: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von Wheat germ Agglutinin - FITC,  
SB = 40  $\mu$ m

Die bindegewebige Umgrenzung der Markinseln (1) besitzt keine Bindungsstellen für WGA, das peritubuläre Bindegewebe (2) hingegen ist stark positiv. Im Mark zeigen sich nur Epithel und Vakuolen der Sammelgänge stark positiv (3), die auf- und absteigenden Henle-Schleifen (4) bleiben negativ.

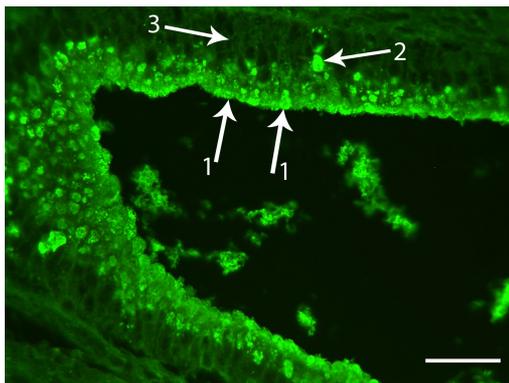


Abbildung 50: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von Wheat germ Agglutinin - FITC,  
SB = 40  $\mu$ m

Die Schleimvakuolen des Ductus colligens zeigen sich luminal (1) und im Zytoplasma (2) stark positiv, das Zytoplasma selbst (3) besitzt keine Bindungsstellen für WGA.

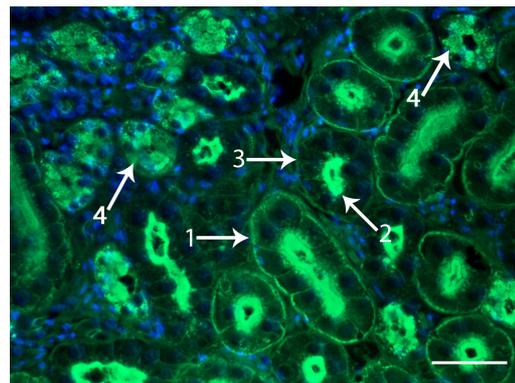


Abbildung 51: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von Wheat germ Agglutinin - FITC,  
Kernfärbung mit DAPI; SB = 40  $\mu$ m

Das Interstitium (1) ist stark positiv für WGA, ebenso der luminaire Mikrovillibesatz der proximalen Tubuli (2). Ihr Zytoplasma ist jedoch negativ (3) während bei den extramedullären Sammelgängen (4) Zytoplasma und Epithel stark positiv reagieren.

#### 4.2.16 Bindungsstellen von Wheat germ Agglutinin succinyliert (WGAs)

Die Bowman-Kapsel stellt sich negativ dar, während die Kapillaren des Glomerulums deutlich positiv sind. Das Endothel der Gefäße in Mark und Rinde hingegen besitzt keine Bindungsstellen. Die Mikrovilli der proximalen Tubuli reagieren stark positiv, das Epithel der distalen Tubuli an der luminalen Oberfläche schwach. Starke Bindung zeigen Epithel und Vakuolen der extra-, intramedullären Sammelgänge und Ureteräste. Bis auf eine schwach bis deutliche Reaktion des Epithels der aufsteigenden Henle-Schleifen zeigen die Markschleifen keine Bindungsstellen.

Tabelle 16: Bindungsstärke von WGAs in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	++	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	-	+++	
distal	-	+	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	+	+++	+++
extramedullär	-	+++	+++
Ureteräste	-	+++	+++
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	+ bis ++	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Fluoreszenzstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++) , stark positiv (+++)

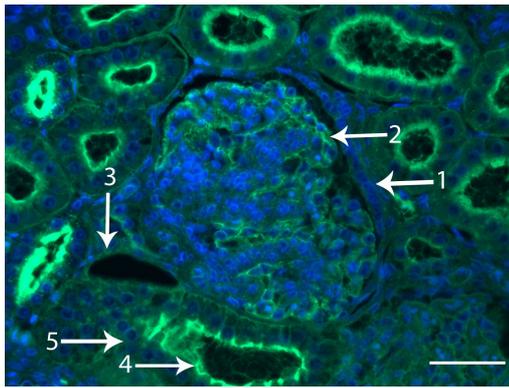


Abbildung 52: Niere Strauß, Lobus medius  
Bindung von Wheat germ Agglutinin  
succinyliert - FITC, Kernfärbung mit DAPI;  
SB = 40  $\mu\text{m}$

Die Bowman-Kapsel (1) stellt sich negativ dar, während die Kapillaren des Glomerulums (2) deutlich positiv für WGAs reagieren. Das Endothel der Gefäße hingegen (3) besitzt keine Bindungsstellen. Die Mikrovilli der proximalen Tubuli (4) sind stark positiv, ihr Zytoplasma (5) jedoch bleibt negativ.

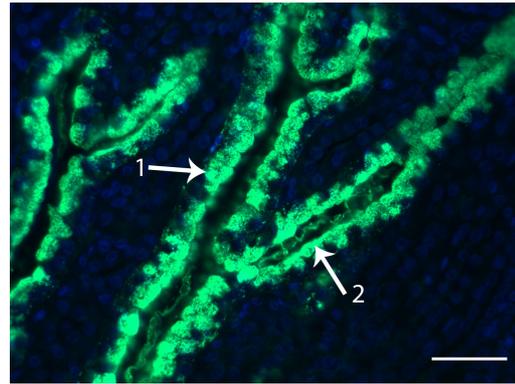


Abbildung 53: Niere Strauß, Lobus caudalis  
Bindung von Wheat germ Agglutinin  
succinyliert - FITC, Kernfärbung mit DAPI;  
SB = 40  $\mu\text{m}$

Muzinhaltige Vakuolen (1) und luminaler Oberfläche (2) der extramedullären Sammelgänge reagieren stark positiv mit WGAs.

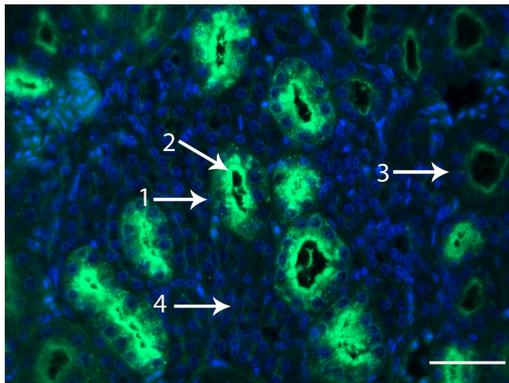


Abbildung 54: Niere Strauß, Lobus medius  
Bindung von Wheat germ Agglutinin  
succinyliert - FITC, Kernfärbung mit DAPI;  
SB = 40  $\mu\text{m}$

Im Nierenmark reagiert das Zytoplasma (1) der Sammelgänge schwach, ihr Epithel (2) stark positiv. Die aufsteigenden Henle-Schleifen dagegen zeigen nur eine schwach bis deutliche Fluoreszenz des Epithels und ein negatives Zytoplasma (3). Die absteigenden Henle-Schleifen besitzen keine Bindungsstellen (4) für WGAs.

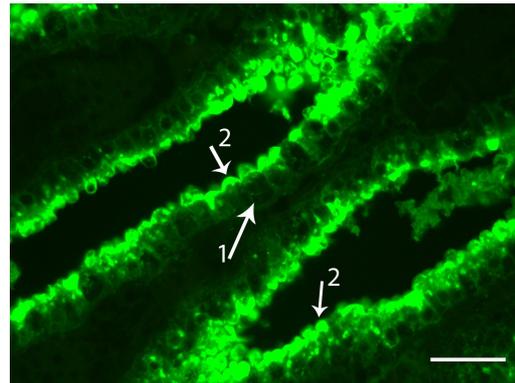


Abbildung 55: Niere Strauß, Lobus medius  
Bindung von Wheat germ Agglutinin  
succinyliert - FITC, SB = 40  $\mu\text{m}$

Die Ductus colligentes zeigen keine Fluoreszenz des Zytoplasmas (1), ihre Schleimvakuolen (2) reagieren aber stark positiv.

### 4.3 Immunhistochemische Untersuchungen

Die Bindungsstellen der verwendeten Antikörper werden durch eine Braunfärbung im Gewebe lichtmikroskopisch erkennbar. Es wurde ein indirekter Nachweis durchgeführt, bei dem ein biotinylierter Marker (Meerrettich-Peroxidase und Streptavidin-Biotin Komplex) an einen Primär- und Sekundär-Antikörperkomplex bindet.

Die Expressionsstärke wurde in negative (-), schwach positive (+), deutlich positive (++) und stark positive (+++) Reaktionen eingeteilt.

### 4.3.1 Immunhistochemischer Nachweis von Zytokeratin 8

Ausser einer deutlich immunpositiven Reaktion des Zytoplasmas der proximalen Tubuli ist für Zytokeratin 8 keine Expression in der Straußenniere zu beobachten.

Tabelle 17: Bindungsstärke von CK 8 in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	++	-	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	-
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Expressionsstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

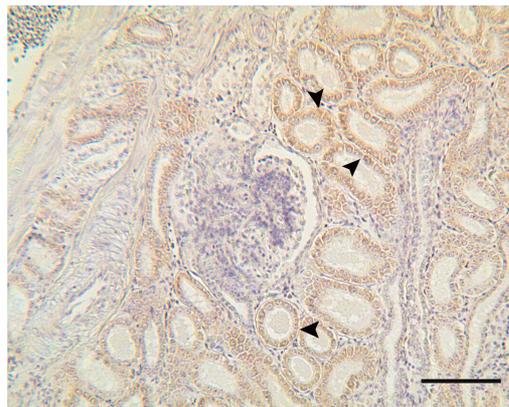


Abbildung 56: Niere, Strauß, Lobus medius  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Zytokeratin 8, SB = 100 µm

Ausser dem deutlich positiven Zytoplasma der proximalen Tubuli (Pfeilspitzen) ist keine weitere Struktur der Niere immunpositiv für Zytokeratin 8.

### 4.3.2 Immunhistochemischer Nachweis von Zytokeratin 14

Eine starke Expression zeigen die Tunica muscularis der Gefäße und das Bindegewebe der Markinseln. Das Zytoplasma der proximalen Tubuli reagiert schwach positiv, das der ab- und aufsteigenden Markschleifen schwach bis deutlich positiv.

*Tabelle 18: Bindungsstärke von CK 14 in der Straußenniere*

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	+	-	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	-
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	+ bis ++	-	
aufsteigend	+ bis ++	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	+++	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	+++

Expressionsstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++) , stark positiv (+++)

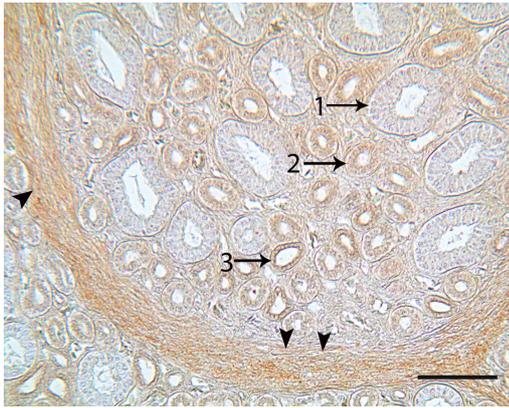


Abbildung 57: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Zytokeratin 14, SB = 100  $\mu$ m

Während bei den intramedullären Sammelgängen (1) keine Expression von Zytokeratin 14 zu erkennen ist, zeigt das Zytoplasma der aufsteigenden (2) und absteigenden Markschleifen (3) eine schwache bis deutliche Reaktion, die bindegewebige Hülle der Markinsel (Pfeilspitzen) ist stark positiv.

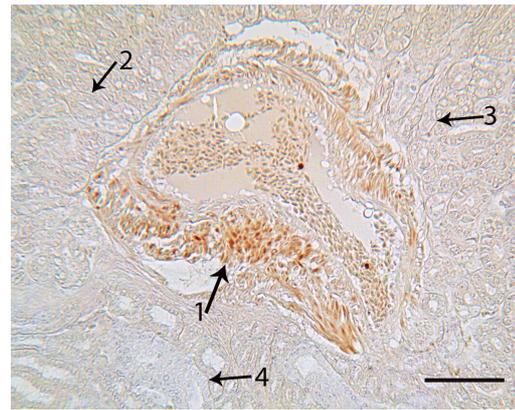


Abbildung 58: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Zytokeratin 14, SB = 100  $\mu$ m

Die Tunica muscularis der Gefäße (1) zeigt eine stark positive Reaktion. Die Zellen von proximalen Tubuli (2) sind schwach positiv, die distalen Tubuli (3) und extramedullären Sammelgänge (4) immunnegativ.

### 4.3.3 Immunhistochemischer Nachweis von Zytokeratin 18

Zytoplasma der ab- und aufsteigenden Markschleifen sowie der proximalen Tubuli und deren Mikrovilli reagieren schwach immunpositiv.

Tabelle 19: Bindungsstärke von CK 18 in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	+	+	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	-
<i>Marschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	+	-	
aufsteigend	+	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Expressionsstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)



Abbildung 59: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Zytokeratin 18, SB = 40  $\mu$ m

Bei den intramedullären Sammelgängen (1) ist keine Expression von Zytokeratin 18 zu erkennen. Das Zytoplasma der absteigenden Tubuli (2) und aufsteigenden (3) Markschleifen reagiert schwach positiv.

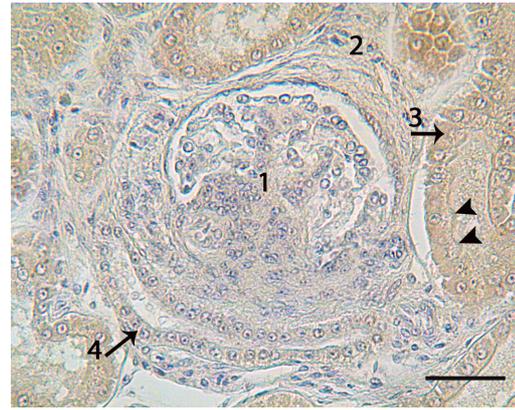


Abbildung 60: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Zytokeratin 18; SB = 40  $\mu$ m

Alle Strukturen des Glomerulums (1) zeigen sich immunnegativ, ebenso die der distalen Tubuli (4) und das peritubuläre Bindegewebe (2). Lediglich bei Zytoplasma der proximalen Tubuli (3) und deren Mikrovillibesatz (Pfeilspitzen) ist eine schwache Expression von Zytokeratin 18 zu erkennen.

#### 4.3.4 Immunnhistochemischer Nachweis von Zytokeratin 19

Eine deutliche Immunexpression ist an Zellen der großen Äste der Ductus colligentes, ab- und aufsteigenden Markschleifen sowie proximalen Tubuli zu beobachten. Auch deren Mikrovilli zeigen eine schwache Reaktion.

Tabelle 20: Bindungsstärke von CK 19 in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	++	+	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	++	-	-
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	++	-	
aufsteigend	++	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Expressionsstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

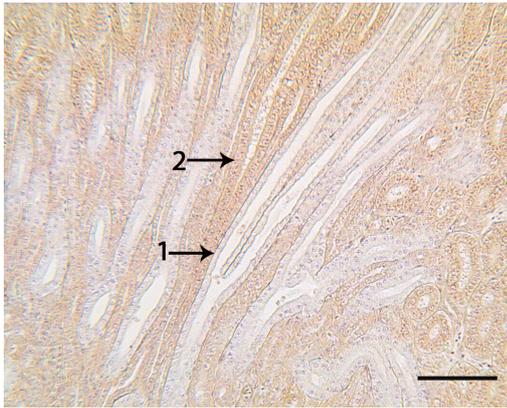


Abbildung 61: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Zytokeratin 19, SB = 100  $\mu\text{m}$

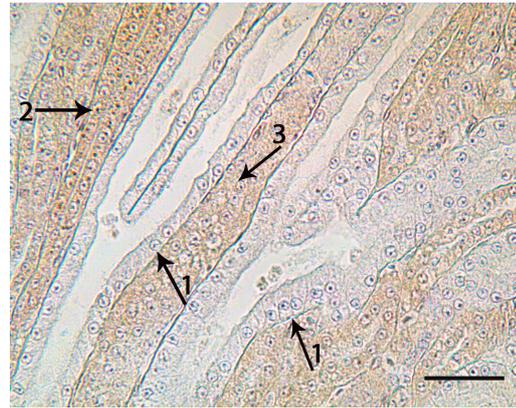


Abbildung 62: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Zytokeratin 19, SB = 40  $\mu\text{m}$

Die intramedullär zusammenfließenden Sammelgänge (1), zeigen keine Immunexpression für Zytokeratin 19, die parallel verlaufenden ab- und aufsteigenden Markschleifen (2,3) hingegen sind deutlich positiv.



Abbildung 63: Niere Strauß, Lobus caudalis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Zytokeratin 19, SB = 40  $\mu\text{m}$

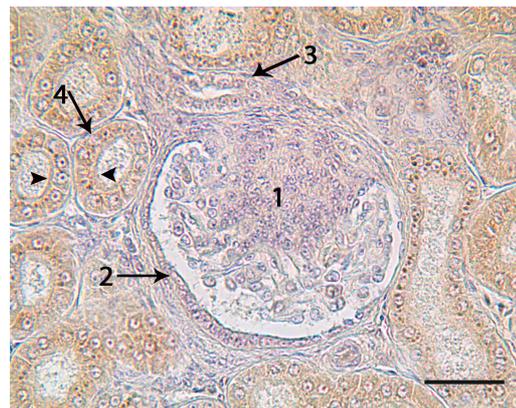


Abbildung 64: Niere Strauß, Lobus cranialis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Zytokeratin 19, SB = 40  $\mu\text{m}$

Die Ductus colligentes im verjüngten Teil des Markkegels zeigen großteils ein deutlich positives Zytoplasma (1), einige Zellen hingegen reagieren nicht (2). Auch die Schleimvakuolen (Pfeilspitzen) besitzen keine Bindungsstellen für Zytokeratin 19.

Während Glomerulum (1) inklusive Bowman-Kapsel (2) sowie distale Tubuli (3) keine Expression für Zytokeratin 19 zeigen, ist an Zytoplasma der proximalen Tubuli (4) eine deutliche Expression zu erkennen und auch ihre Mikrovilli sind schwach positiv (Pfeilspitzen).

### 4.3.5 Immunhistochemischer Nachweis von Desmin

Außer der Muskelschicht der Gefäße ist bei Desmin keine Immunexpression in der Straußenniere zu beobachten.

Tabelle 21: Bindungsstärke von Desmin in der Straußenniere

Glomerulum	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
Tubuli	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	-	-	
distal	-	-	
Sammelrohre	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	-
Markschleifen	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
Gefäße	Endothel	Tunica muscularis	
	-	+++	
Bindegewebe	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	-

Expressionsstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

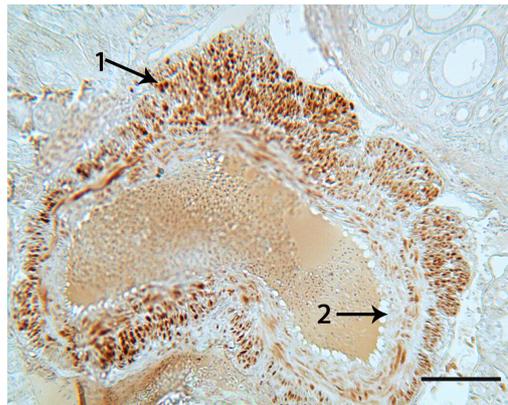


Abbildung 65: Niere Strauß, Lobus cranialis  
Immunhistochemischer Nachweis von Desmin,  
SB = 100 µm

Die Tunica muscularis der Gefäße reagiert stark positiv (1), das Endothel (2) jedoch zeigt keine Immunexpression für Desmin, ebenso wie sämtliche Gewebsstrukturen der Niere.

### 4.3.6 Immunhistochemischer Nachweis von Panzytokeratin

Bindungsstellen für Panzytokeratin zeigen eine starke Reaktion an der Bindegewebskapsel der Markinsel, während das peritubuläres und intramedulläres Bindegewebe negativ bleiben. Die Epithelzellen der intramedullären Sammelrohre zeigen eine schwache Immunexpression in ihrem Zytoplasma, während ihre luminale Oberfläche stark mit Panzytokeratin reagiert. Auch das Zytoplasma der großen Äste der Ductus colligentes ist immunpositiv, wobei einige Zellen keine Expression zeigen. Ebenso bleiben dessen Epithel luminal und ihre Schleimvakuolen negativ.

Auch in der Rinde sind Bindungsstellen für Panzytokeratin vorhanden. Das äußere Blatt der Bowman-Kapsel zeigt deutlich positive Zellen ebenso wie vereinzelte Mesangialzellen, das Zytoplasma der proximalen Tubuli schwache, ihre Mikrovilli starke Reaktionen.

Tabelle 22: Bindungsstärke von Panzytokeratin in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	++	-	++
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	+	+++	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	+	+++	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	+++	-	-
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	-	-	+++

Expressionsstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++) , stark positiv (+++)

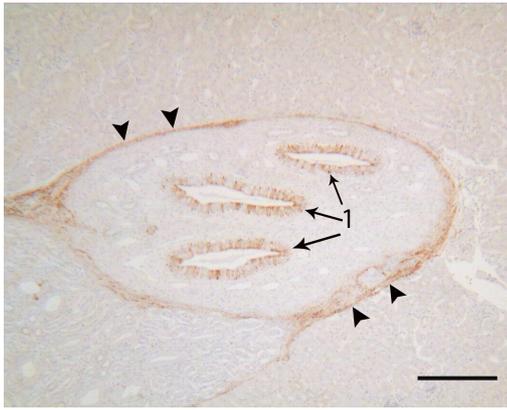


Abbildung 66: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Panzytokeratin, SB = 250 µm

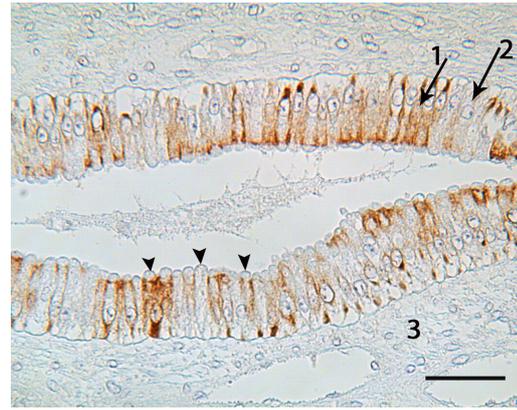


Abbildung 67: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Panzytokeratin, SB = 40 µm

Im verjüngten Teil der Markinsel ist bei den Zellen der großen Ductus colligentes (1) eine starke Reaktion mit Panzytokeratin zu sehen, ebenso stellt sich die Bindegewebshülle der Markinsel (Pfeilspitzen) stark positiv dar.

Die meisten Zellen des Ductus colligens zeigen ein stark positives Zytoplasma (1), bei einigen Zellen (2) ist jedoch keine Expression zu beobachten. Das luminale Epithel und die Schleimvakuolen (Pfeilspitzen) sind negativ, ebenso das intramedulläre Bindegewebe (3).

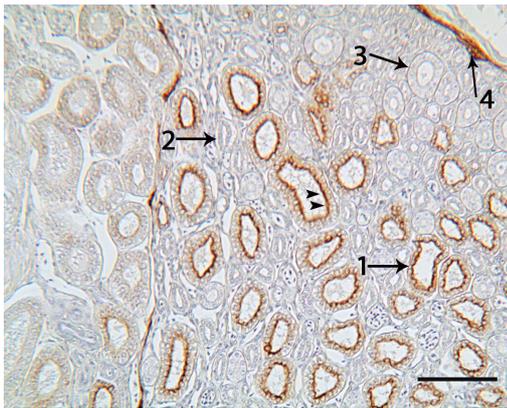


Abbildung 68: Niere, Strauß, Lobus medius  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Panzytokeratin, SB = 100 µm

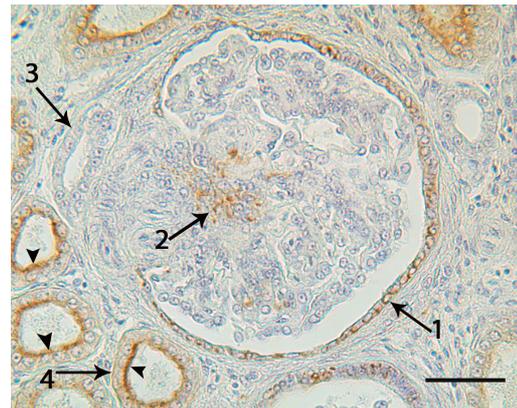


Abbildung 69: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Panzytokeratin, SB = 40 µm

Eine schwache Reaktion des Zytoplasmas (1) und eine starke Reaktion des luminalen Epithels (Pfeilspitzen) ist bei den intramedullären Sammelgängen (1) zu sehen. Während die Henle-Schleifen (2,3) keine Immunexpression zeigen, reagiert die Bindegewebshülle der Markinsel (4) stark positiv mit Panzytokeratin.

Die meisten Plattenepithelzellen der Bowman-Kapsel (1) zeigen eine deutliche Expression, ebenso vereinzelt Mesangialzellen (2). Während sich die distalen Tubuli (3) negativ darstellen, ist bei den proximalen Tubuli eine schwache Reaktion des Zytoplasmas (4) und eine starke Reaktion ihrer Mikrovilli (Pfeilspitzen) mit Panzytokeratin zu beobachten.

### 4.3.7 Immunhistochemischer Nachweis von „ $\alpha$ -smooth muscle actin“ ( $\alpha$ -SMA)

Das Nierengewebe selbst zeigt keine Bindungsstellen für  $\alpha$ -SMA, jedoch ist in der glatten Muskulatur der Gefäße sowie der Arteriolen des Nierenkörperchens und in sämtlichen Bindegewebesstrukturen eine starke Immunreaktion zu sehen.

Tabelle 23: Bindungsstärke von  $\alpha$ -SMA in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	-	-	-
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	-	-	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	-
<i>Marschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	-	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	-	+++	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	+++	+++	+++

Expressionsstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++), stark positiv (+++)

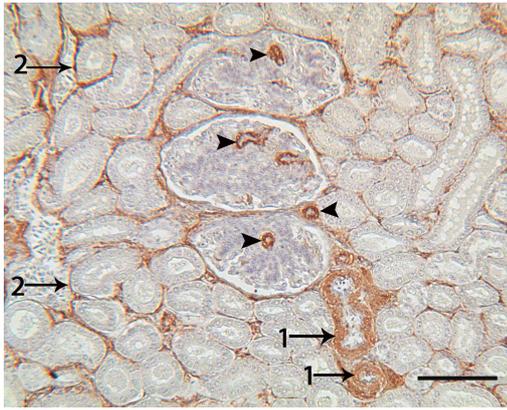


Abbildung 70: Niere, Strauß, Lobus medius  
Immunhistochemischer Nachweis von  $\alpha$ -SMA,  
SB = 100  $\mu$ m

Die glatte Muskulatur der Arterien (1) und Venen (2) stellt sich beim Nachweis von  $\alpha$ -SMA stark positiv dar. Auch die das Glomerulum versorgenden Arteriolen (Pfeilspitzen) fallen durch starke Expression auf.

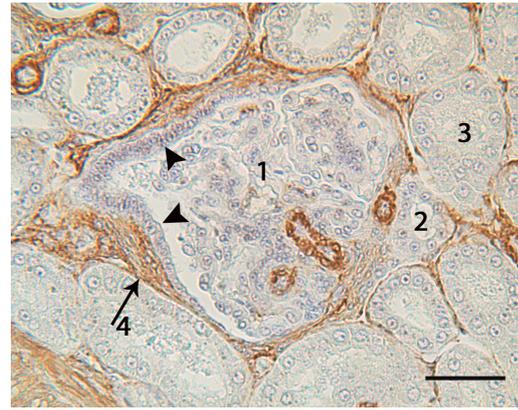


Abbildung 71: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Immunhistochemischer Nachweis von  $\alpha$ -SMA,  
SB = 40  $\mu$ m

In Glomerulum (1) und Bowman-Kapsel ist  $\alpha$ -SMA nicht zu finden, ebenso in distalen (2) und proximalen (3) Tubuli. Nur das peritubuläre Bindegewebe (4) zeigt sich stark positiv.



Abbildung 72: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Immunhistochemischer Nachweis von  $\alpha$ -SMA,  
SB = 250  $\mu$ m

Das Bindegewebe der Markinsel (1) sowie ihrer Hülle (2) reagiert stark immunpositiv mit  $\alpha$ -SMA. Nierenstrukturen (Markschleifen, Sammelrohre (3) und die großen Ductus colligentes (4)) selbst zeigen keine Expression.

#### 4.3.8 Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin

Bindungsstellen für Vimentin sind an äußerem und innerem Blatt der Bowman-Kapsel und den Kapillaren des Nierenkörperchens mit starken Reaktionen zu sehen, auch das Mesangium zeigt sich deutlich immunpositiv. Im Mark fällt eine starke Reaktion der absteigenden Henle-Schleifen auf, während aufsteigende Henle-Schleifen und Sammelgänge negativ bleiben.

Das Endothel der Gefäße und sämtliche Bindegewebsstrukturen reagieren stark immunpositiv auf Vimentin. Bei Formalin fixierten Proben ist abweichend von den Bouin fixierten Gewebeschnitten eine schwach positive Reaktion des Zytoplasmas der proximalen Tubuli zu beobachten, während Mesangium und Bindegewebe keine Reaktion zeigen.

Tabelle 24: Bindungsstärke von Vimentin in der Straußenniere

<i>Glomerulum</i>	Bowman-Kapsel	Kapillaren	Mesangium
	+++	+++	++ (F-)
<i>Tubuli</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
proximal	- (F +)	-	
distal	-	-	
<i>Sammelrohre</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	Vakuolen
intramedullär	-	-	-
extramedullär	-	-	-
Ureteräste	-	-	-
<i>Markschleifen</i>	Zytoplasma	luminale Oberfläche	
absteigend	+++	-	
aufsteigend	-	-	
<i>Gefäße</i>	Endothel	Tunica muscularis	
	+++	-	
<i>Bindegewebe</i>	peritubulär	intramedullär	Markkegel
	+++ (F-)	+++ (F-)	+++ (F-)

F= Formalin Fixierung, abweichende Anfärbung

Expressionsstärke: negativ (-), schwach positiv (+), deutlich positiv (++) , stark positiv (+++)

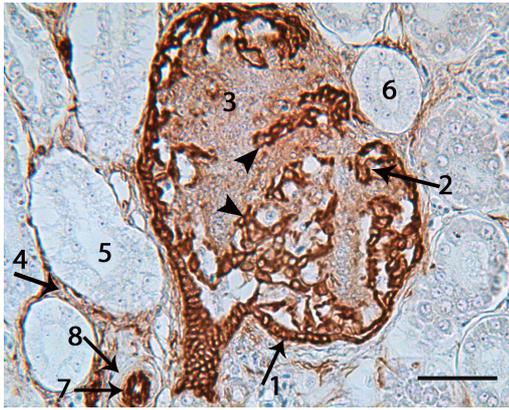


Abbildung 73: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Vimentin, SB = 40 µm

Äußeres (1) und inneres (2) Blatt der Bowman-Kapsel reagieren stark positiv mit Vimentin, das Mesangium zeigt eine deutliche Reaktion (3) ebenso das peritubuläre Bindegewebe (4). Bei den proximalen (5) und distalen Tubuli (6) ist keine Expression zu erkennen, jedoch zeigt sich das Endothel der glomerulären Arteriolen (Pfeilspitzen) und Gefäße (7) stark immunpositiv, die Muskelschicht (8) hingegen negativ.

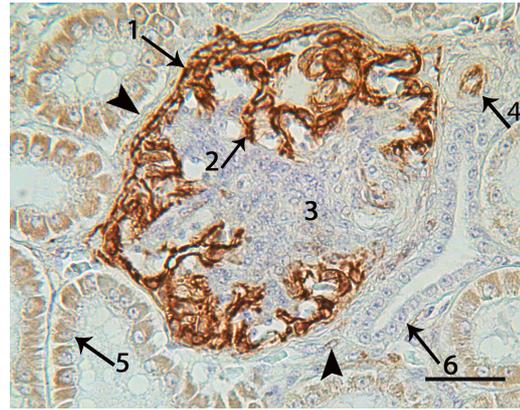


Abbildung 74: Niere, Strauß, Lobus cranialis,  
Fixierung in Formalin, Immunhistochemischer  
Nachweis von Vimentin, SB = 40 µm

Auch bei Proben in der Formolfixierung ist eine starke Expression des äußeren (1) und inneren (2) Blattes der Bowman-Kapsel sowie am Endothel der Gefäße (4) zu beobachten. Mesangialzellen zeigen in dieser Fixierung hingegen keine Expression für Vimentin. Auch das peritubuläre Bindegewebe (Pfeilspitzen) bleibt negativ. Jedoch zeigt das Zytoplasma der proximalen Tubuli (5) eine deutliche Reaktion, während die distalen Tubuli (6) auch in Formalin fixierten Proben negativ bleiben.

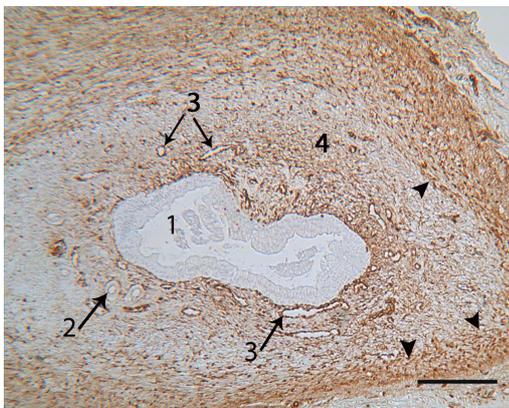


Abbildung 75: Niere, Strauß, Lobus cranialis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Vimentin, SB = 250 µm

Ductus colligans (1) und Markschleifen (2) zeigen keine Reaktion, in den Vasa recta (3) ist jedoch eine starke Expression von Vimentin zu erkennen. Auch das intramedulläre Bindegewebe (4) und die Hülle des Markkegels (Pfeilspitzen) reagieren mit Vimentin.

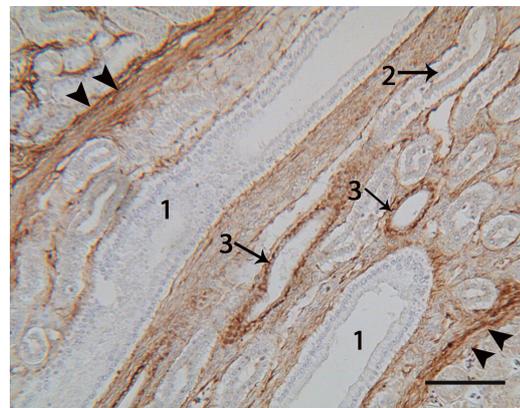


Abbildung 76: Niere, Strauß, Lobus caudalis  
Immunhistochemischer Nachweis von  
Vimentin, SB = 40 µm

Während Sammelgänge (1) und aufsteigende Markschleifen (2) negativ erscheinen, zeigt das Zytoplasma der absteigenden Markschleifen (3) eine starke Reaktion mit Vimentin, ebenso die Bindegewebshülle des Markkegels (Pfeilspitzen).

## 4.4 Ultrastrukturelle Untersuchungen

### 4.4.1 Ultrastruktur des Glomerulum

Das äußere, parietale Blatt der Bowman-Kapsel besteht aus abgeflachten Plattenepithelzellen mit langgezogenen Zellkernen. Zwischen äußerem und innerem Blatt liegt der Kapselraum. Das innere, viszerale Blatt der Bowman-Kapsel liegt den Kapillarschlingen unvollständig an und besteht aus zu Podozyten differenzierten Epithelzellen. Von ihren Zellkörpern gehen Zytoplasmafortsätze aus, die sich in Sekundärfortsätze aufspalten, der Basalmembran der Kapillaren außen unmittelbar anliegen und sich füßchenartig an den Kontaktstellen verbreitern. Zwischen jeweils zwei benachbarten Podozytenfortsätzen entstehen kleine Öffnungen.

Das Endothel der Kapillaren ist sehr dünn mit vielen kleinen runden Poren von etwa 50 bis 75 Nanometer Breite. Der Kapillarwand liegt die Basalmembran als Grenz- und Filterschicht an. Sie ist aufgebaut aus der Lamina rara interna innen, der Lamina densa als mechanischer Filter, und der Lamina rara externa außen. Kapillarendothel, Basalmembran der Kapillaren und das viszerale Blatt der Bowman-Kapsel mit den Poren der Podozytenfortsätze bilden den Filtrationsapparat des Nierenkörperchens.

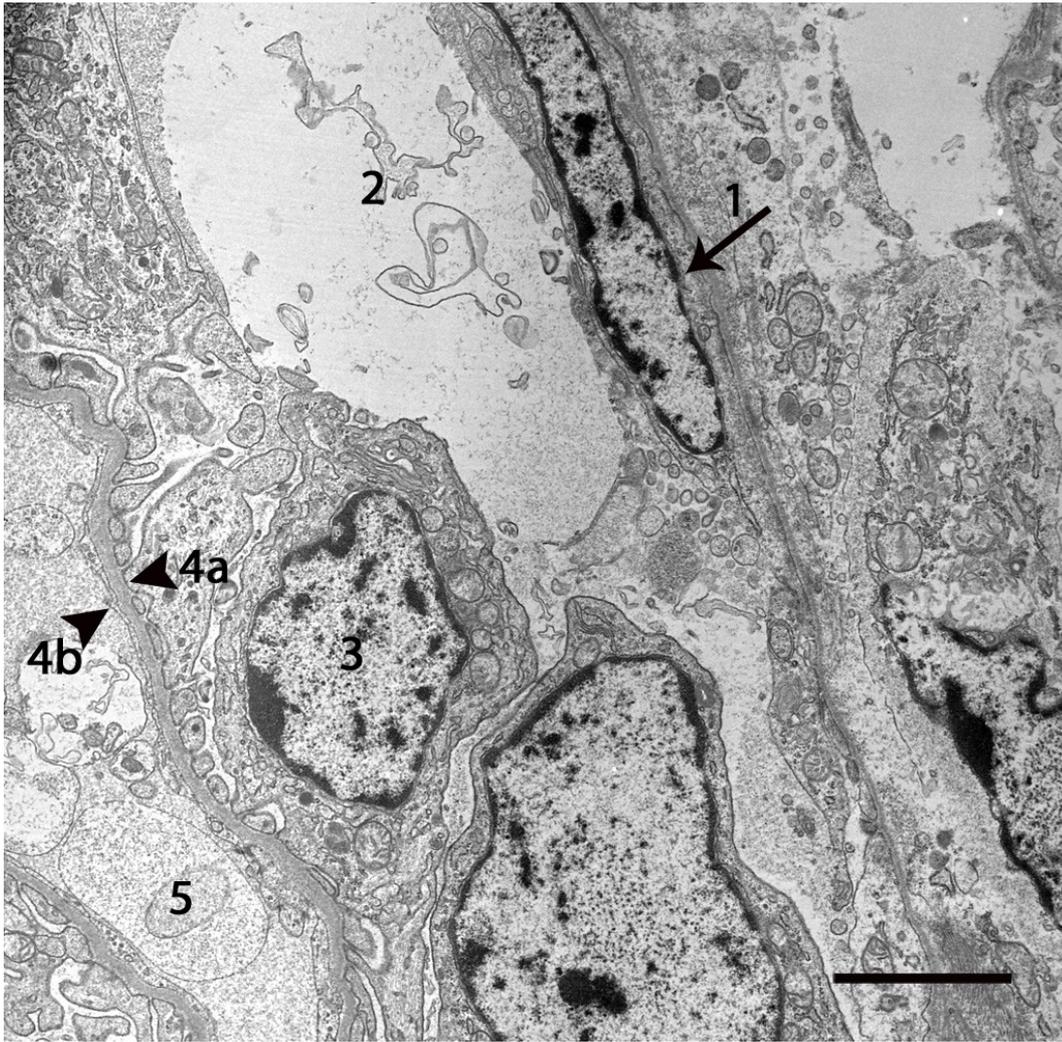


Abbildung 77: Niere Strauß, Lobus medius, Glomerulum

Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5  $\mu\text{m}$

1= äußeres, parietales Blatt der Bowman-Kapsel, 2= Lumen capsulae, 3 = Podozyt (Zellkern), 4 = Podozytenfortsatz, der Basalmembran aussen aufliegend, 4b = Kapillarendothel, der Basalmembran innen anliegend, 5 = Kapillarlumen mit Erythrozyt

Das äußere, parietale Blatt der Bowman-Kapsel besteht aus abgeflachten Plattenepithelzellen mit langgezogenen Zellkernen (1). Zwischen äußerem und innerem Blatt liegt der Kapselraum (2). Das innere, viszerale Blatt der Bowman-Kapsel besteht aus Podozyten, von deren Zellkörpern (3) Zytoplasmafortsätze ausgehen, die sich füschenartig verzweigen (4a) und der Basalmembran aufsitzen. Diese liegt zwischen den Verzahnungen der Podozyten und dem Endothel der Kapillaren (4b).

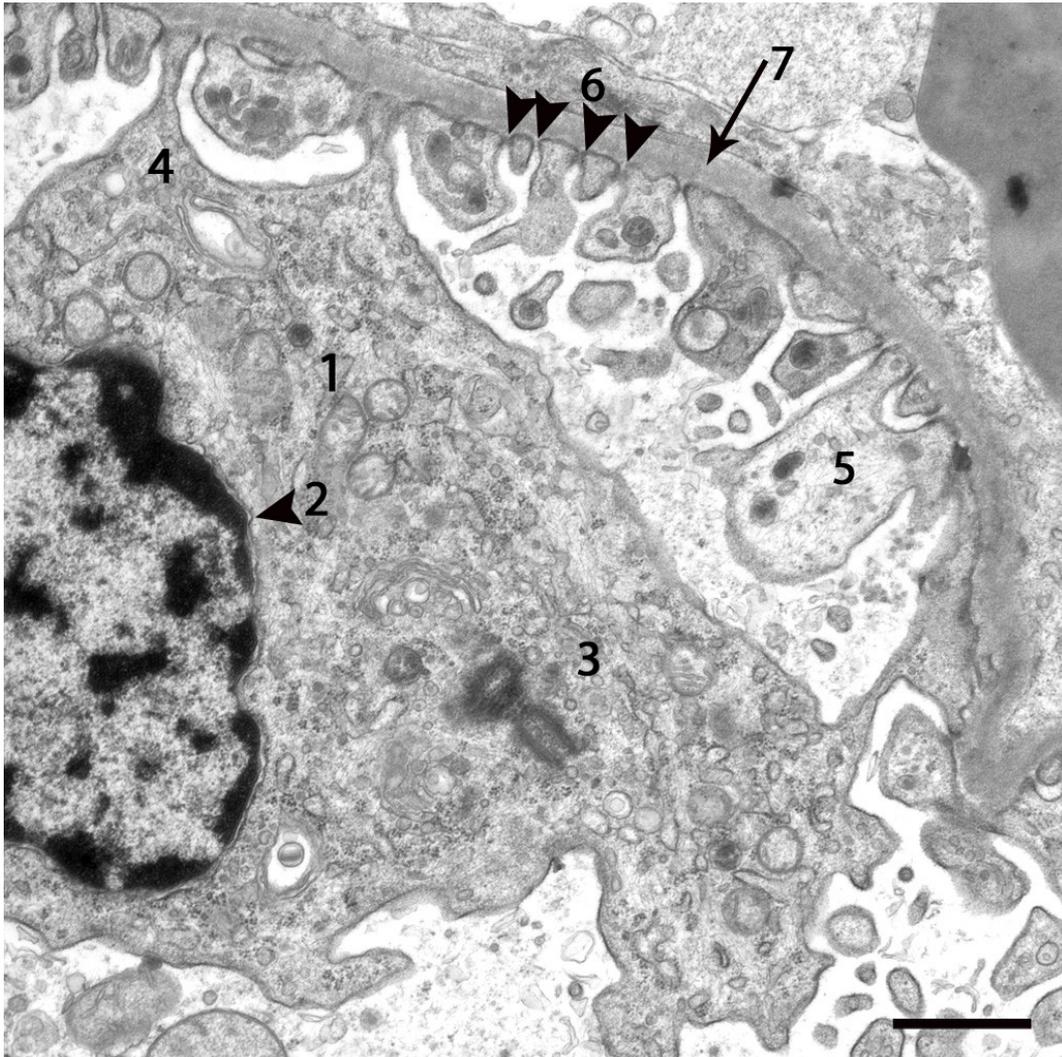


Abbildung 78: Niere Strauß, Lobus cranialis, Glomerulum

Transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 1  $\mu$ m

1 = Podozyt, 2 = Zellkern, 3 = organellenreiches Zytoplasma, 4 = Podozytenfortsätze primär, 5 = Podozytenfortsätze sekundär, 6 = Schlitzporen zwischen Podozytenfortsätzen, 7 = Basalmembran

Die zu Podozyten differenzierten Epithelzellen (1) besitzen primäre Zytoplasmafortsätze (4), die sich in Sekundärfortsätze (5) aufspalten und sich fußchenartig an den Kontaktstellen zur Basalmembran (7) verbreitern. Die Zwischenräume der nebeneinander liegenden Podozytenfortsätze bilden Öffnungen, die sogenannten Schlitzporen (6).

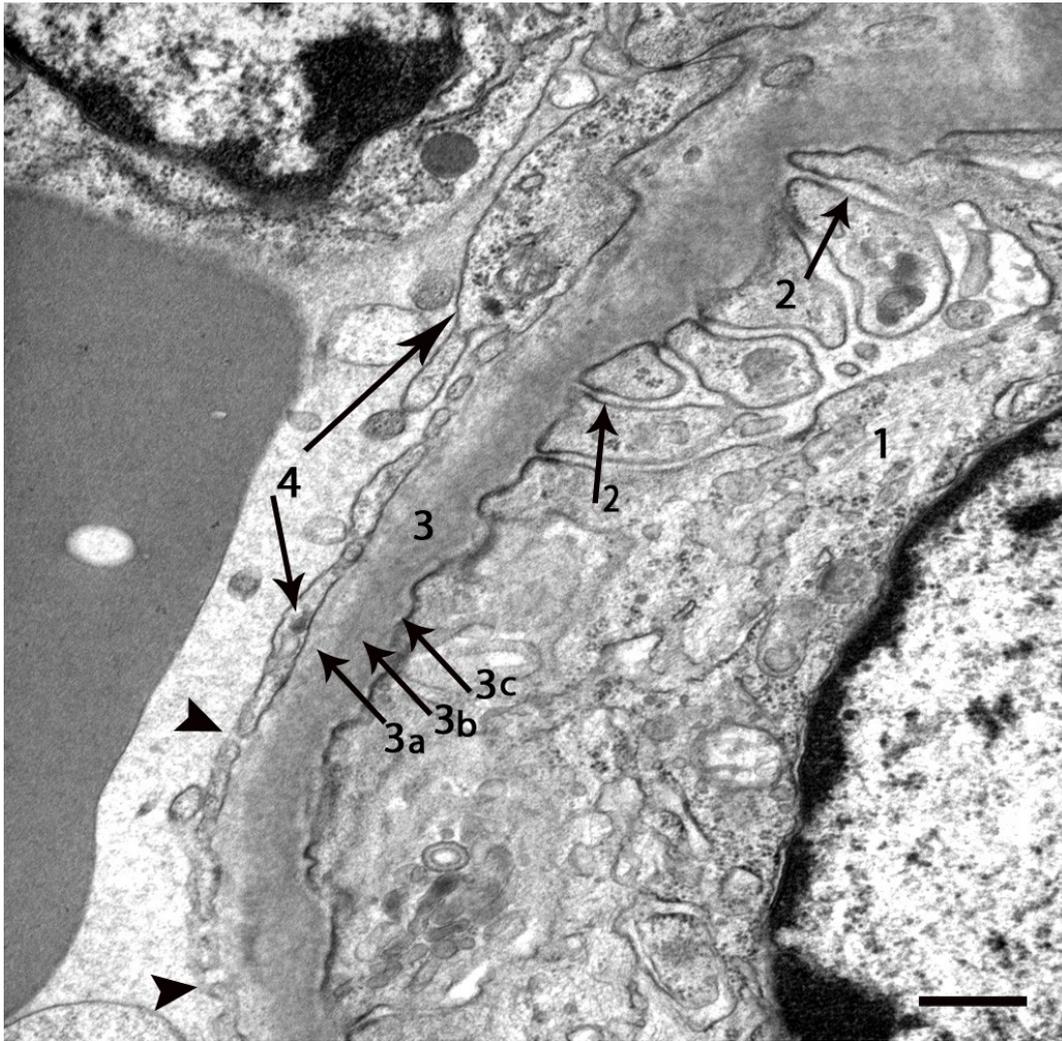


Abbildung 79: Niere Strauß, Lobus cranialis, Glomerulum, Filtrationsbarriere; Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 0,5  $\mu\text{m}$

1 = Podozyt mit Fortsätzen, 2 = Schlitzporen nebeneinander liegender Podozytenfortsätze, 3 = Basalmembran, Lamina rara interna (3a), Lamina densa (3b), Lamina rara externa (3c) 4 = fenestriertes Kapillarendothel, Poren (Pfeilspitzen)

Das Endothel der Kapillaren (4) ist dünn mit vielen kleinen runden Poren (Pfeilspitzen) von etwa 50 bis 75 Nanometer Breite. Der Kapillarwand liegt die Basalmembran (3) als Grenz- und Filterschicht an. Sie ist aufgebaut aus der Lamina rara interna (3a), Lamina densa (3b) und der Lamina rara externa (3c). Zusammen mit den Schlitzporen der nebeneinander liegenden Podozytenfortsätze (2) bilden diese Strukturen den Filtrationsapparat des Nierenkörperchens. Über ihn wird der Primärharn in den Kapselraum (Lumen capsulae) gepresst.

#### 4.4.2 Ultrastruktur des Tubulusapparates

Der proximale Tubulus (Abb. 80) besteht aus iso- bis leicht hochprismatischem Epithel mit runden, zentralen Zellkernen. Apikal befindet sich ein ca. 1-2  $\mu\text{m}$  hoher Bürstensaum aus Mikrovilli. Viele kleine, ovale und wenige längliche Mitochondrien sind in der Zelle verteilt statt regelmäßig angeordnet, deshalb tritt keine basale Streifung auf.

Zwischen den Zellen treten apikal und lateral deutliche Verbindungskomplexe mit "tight junctions" und Desmosomen auf. Basal ist jeder Tubulus umgrenzt von einer Basalmembran, die im proximalen Tubulus keine Einfaltungen aufweist.

Das isoprismatische Epithel des distalen Tubulus (Abb. 81) besitzt runde, zentral liegende Zellkerne. Mitochondrien, die größer und länglicher, dafür aber weniger sind als im proximalen Tubulus, sind längs angeordnet und besitzen dichte Cristae. Apikal befinden sich keine Mikrovilli, die Zellmembran erscheint etwas zum Lumen hin vorgewölbt und ist unregelmäßig zu diesem abgegrenzt. Die basale Membran besitzt prominente Einfaltungen.

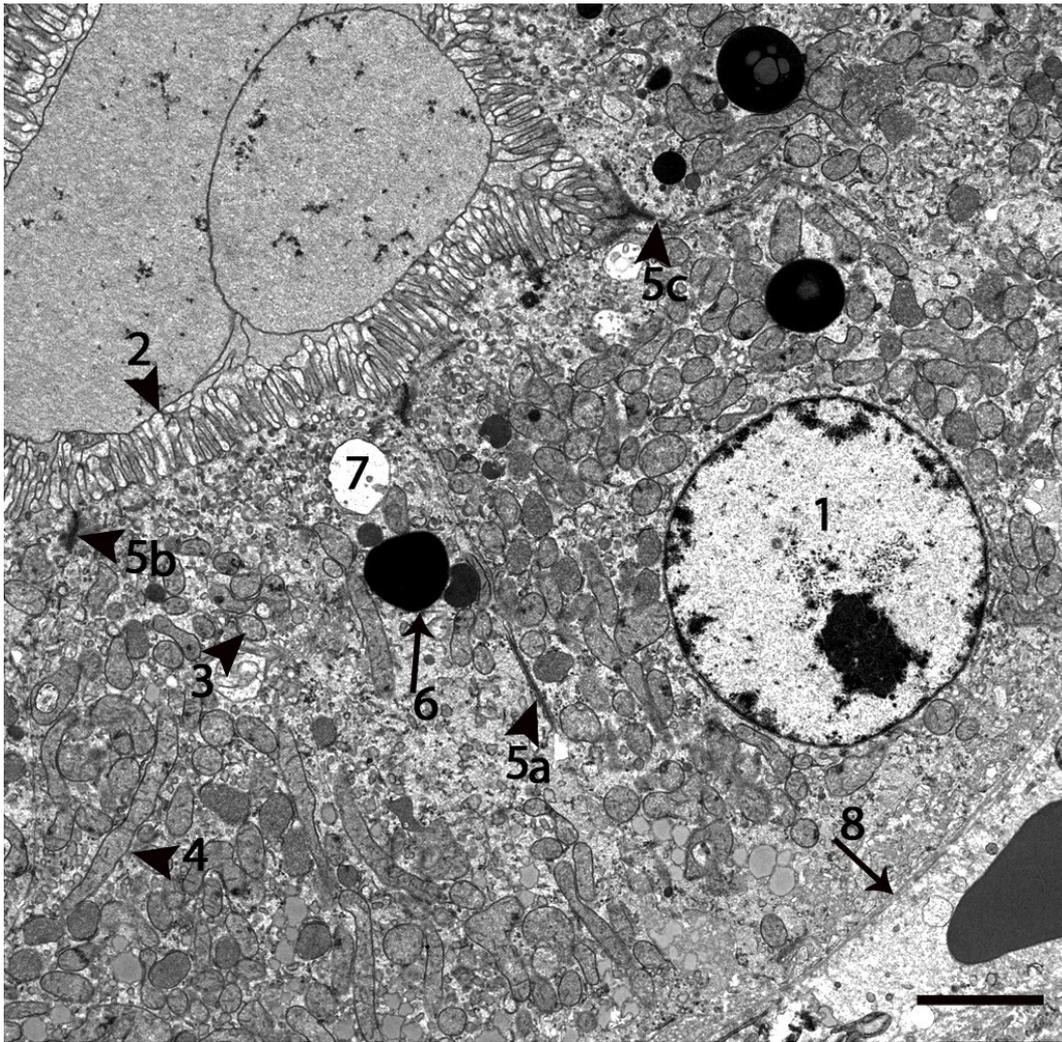


Abbildung 80: Niere Strauß, Lobus cranialis, proximaler Tubulus; Transmissions-  
elektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5  $\mu\text{m}$

1= Zellkern, 2 = Mikrovilli, 3 = kleine, ovale Mitochondrien, 4 = längliche Mitochondrien, 5 =  
Verbindungskomplexe: „tight junction“ (5a), Desmosom (5b), gap junction (5c); 6 = Lysosom, 7  
= apikale Vakuole 8 = Basalmembran

Der proximale Tubulus besteht aus iso- bis leicht hochprismatischem Epithel mit runden, zentralen Zellkernen (1). Apikal befindet sich ein 1-2  $\mu\text{m}$  breiter Bürstensaum aus Mikrovilli (2). Viele kleine, ovale (3) und wenige längliche Mitochondrien (4) sind in der Zelle verteilt statt regelmäßig angeordnet, deshalb tritt keine basale Streifung auf.

Apikal und lateral treten Verbindungskomplexe mit „tight junctions“ (5a), Desmosomen (5b) und gap junctions (5c) auf. Basal ist der Tubulus umgrenzt von einer Basalmembran, die im proximalen Tubulus keine Einfaltungen aufweist (8).

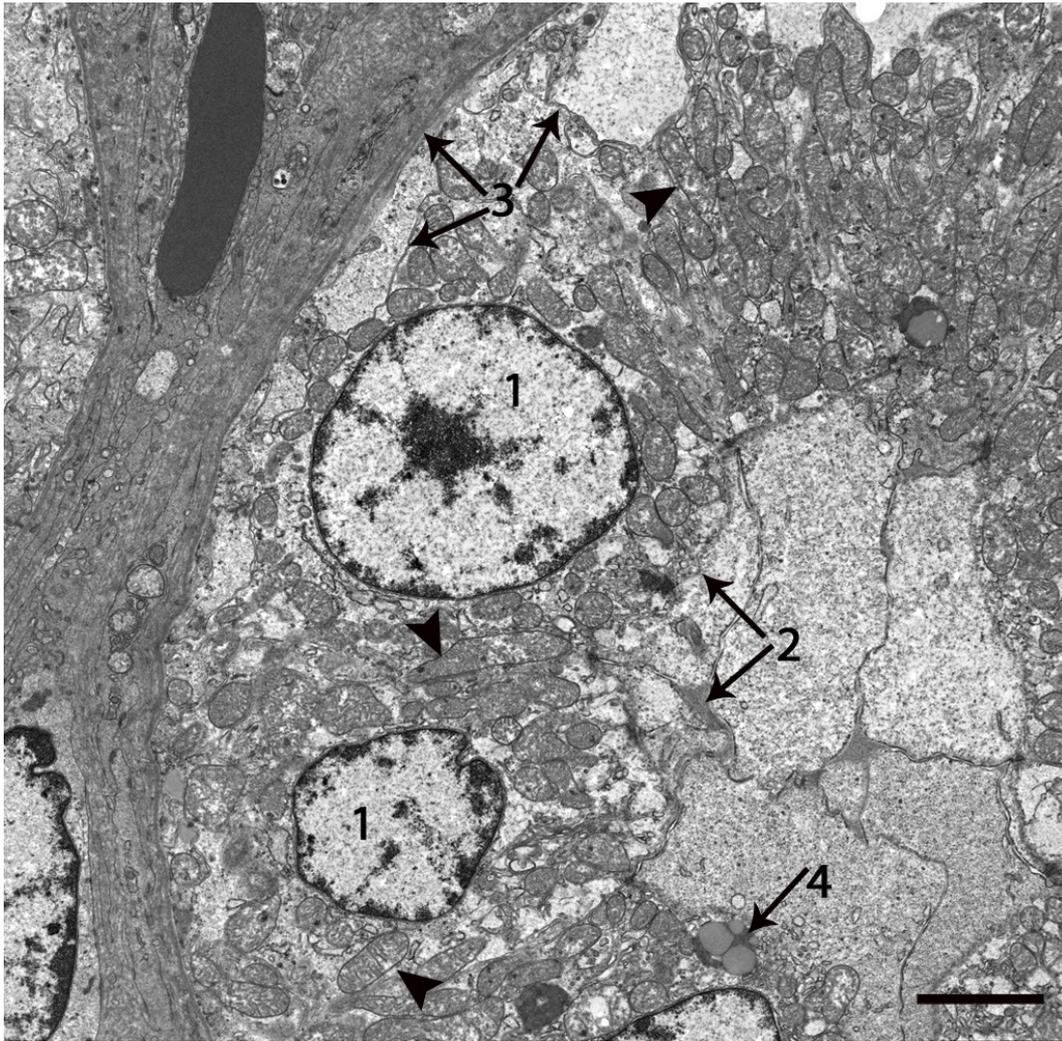


Abbildung 81: Niere Strauß, Lobus cranialis, distaler Tubulus; Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5  $\mu\text{m}$

1 = Zellkerne, 2 = lumenseitige Ausstülpungen, kein Mikrovillibesatz, unregelmäßige Abgrenzung, 3 = Ausstülpungen der Membran, 4 = Fetttropfchen

Das isoprismatische Epithel des distalen Tubulus besitzt runde, zentral liegende Zellkerne (1). Mitochondrien (Pfeilspitzen), die größer und länglicher, dafür aber weniger sind als im proximalen Tubulus, sind längs angeordnet und besitzen dichte Cristae. Apikal befinden sich keine Mikrovilli, die Zellmembran erscheint etwas zum Lumen hin vorgewölbt und ist unregelmäßig zu diesem abgegrenzt (2). Die basale Membran besitzt prominente Einfaltungen (3).

## 4.4.3 Ultrastruktur der Henle-Schleife

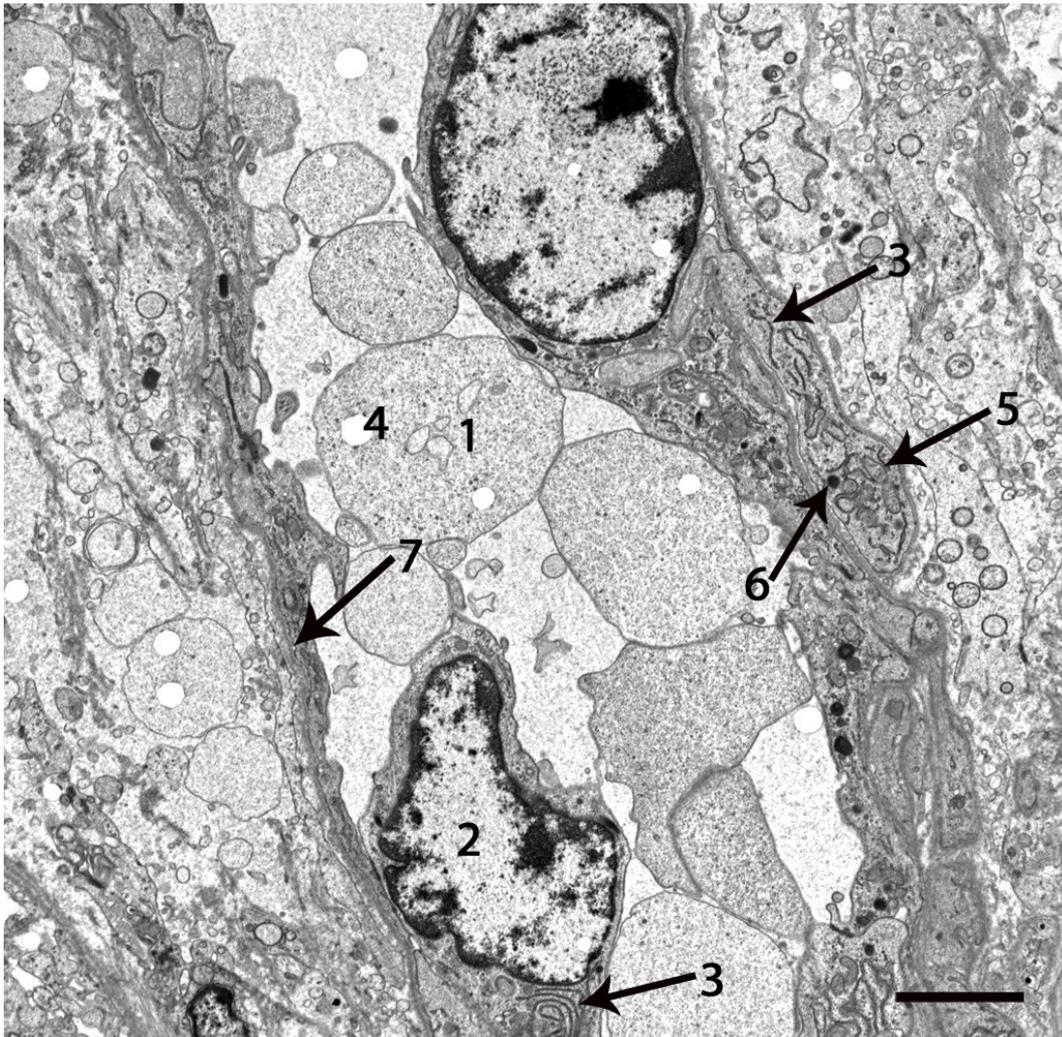


Abbildung 82: Niere, Strauß, Lobus caudalis, absteigende Henle-Schleife, Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5  $\mu$ m

1 = Lumen der Henle-Schleife, 2 = Zellkern, 3 = raues endoplasmatisches Retikulum, 4 = Vakuolen, 5 = Mitochondrien, 6 = Peroxisomen, 7 = Basalmembran

Der dünne, absteigende Teil der Henle-Schleife (Pars descendens ansae) besitzt abgeflachte Zellen mit geringer Epithelhöhe und unregelmäßigen Zellkerne (2), die ins Lumen hineinragen. Im Zytoplasma befindet sich zahlreich raues endoplasmatisches Retikulum mit Ribosomen (3) sowie viele kleine Vakuolen (4), die auch im Lumen der Markschleifen vorkommen. Mikrovilli oder Zellfortsätze kommen nicht vor und Mitochondrien sind kaum zu finden und nur relativ klein (5).

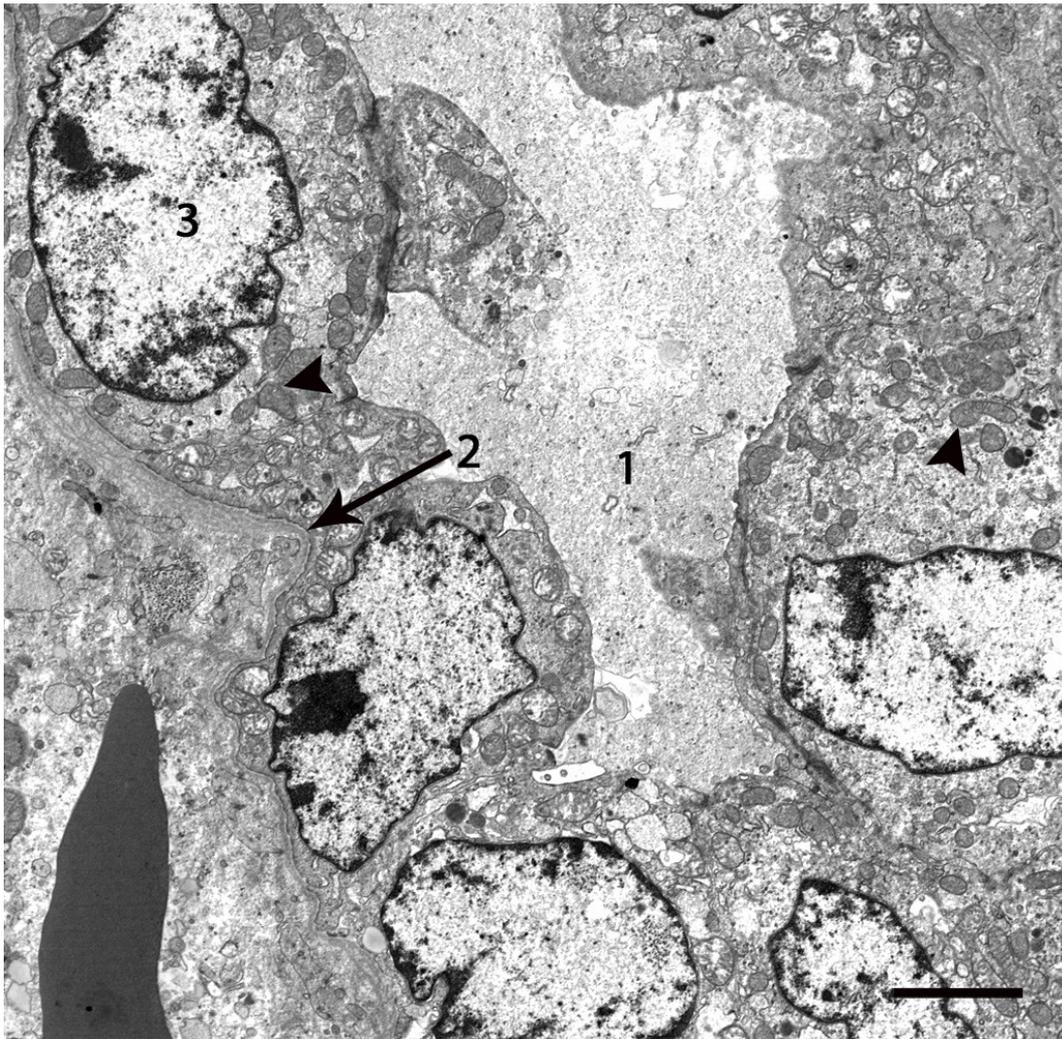


Abbildung 83: Niere, Strauß, Lobus cranialis, aufsteigende Henle-Schleife, Transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5  $\mu$ m

1 = Lumen der Henle-Schleifen, 2 = Basalmembran, 3= unregelmäßige Zellkerne; Pfeilspitzen = Mitochondrien

Im dicken, aufsteigenden Teil der Henle-Schleife nimmt die Anzahl der Mitochondrien (Pfeilspitzen) ebenso wie die Epithelhöhe nimmt wieder zu. Die Zellkerne (3) besitzen auch hier eine unregelmäßige Form.

#### 4.4.4 Ultrastruktur des Sammelrohres

Die Zellen des kortikalen Sammelrohres haben isoprismatische Form und zentral oder basal gelegene, runde Zellkerne. Die Mitochondrien treten rundlicher und kleiner auf als im distalen Tubulus. Es sind zwei Hauptzelltypen vorhanden: absorbierend oder Schleim sezernierend. Die absorbierenden Zellen haben kleine, runde Mitochondrien, Mikrovilli, wenige Sekretvesikel und Vakuolen. Sie sind wegen der großen Anzahl an Mitochondrien sehr elektronendicht und werden deshalb auch als „dark cells“ bezeichnet.

Die sezernierenden Zellen oder Schleimzellen besitzen apikale Ansammlungen von Schleimtröpfchen. Die Zellgrenzen zwischen den verschiedenen Zelltypen sind deutlich. Zwischen den Schalt- und Schleimzellen befinden sich zwischengeschaltete Zellen.

Am Übergang in die medullären Sammelrohre verschwinden die "dark cells". Das sehr helle, zunächst einschichtiges Epithel des Sammelrohrs besitzt nur wenige kleine, längliche Mitochondrien mit dichten Cristae. Die Epithelzellen besitzen zahlreiche verschieden große Vakuolen, die vor allem subapikal und lateral, aber nicht ausschließlich membrangebunden zu finden sind. Sie entstammen dem Golgi Apparat. Die basale Zellmembran besitzt Einfaltungen, die ein basales Labyrinth bilden. Zwischen den Zellen bestehen apikal weite Interzellularräume die tief bis zwischen die Zellen reichen, während lateral enge Verbindungskomplexe mit "tight junctions" bestehen.

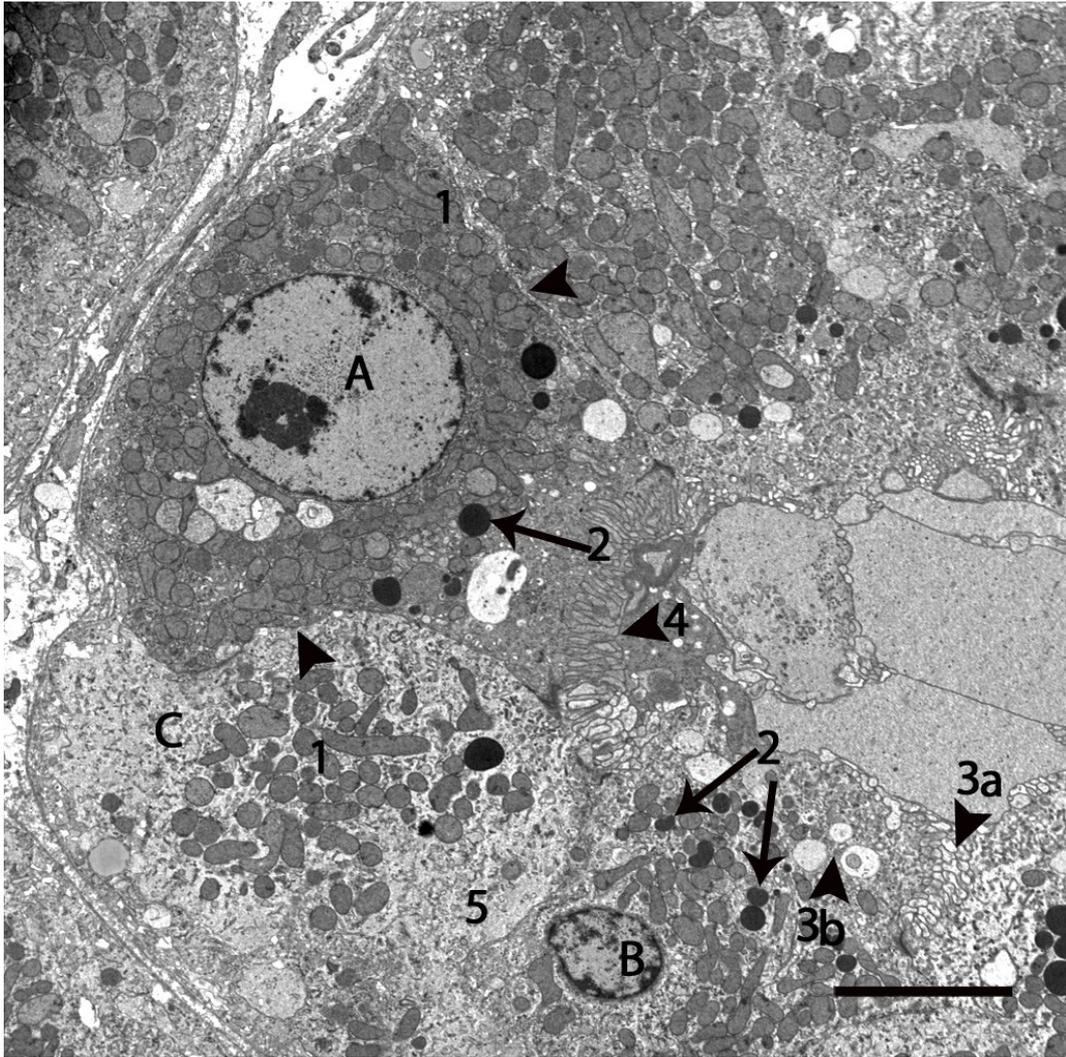


Abbildung 84: Niere, Strauß, Lobus cranialis, kortikales Sammelrohr; Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 5µm

A = Schaltzelle ("dark cell"), B = Schleimzelle, C = Zwischengeschaltete Zelle, 1 = Mitochondrien, 2 = sekretorische Vesikel, 3 = Vakuolen, 4 = Mikrovilli, 5 = Ribosomen

Die Zellen des kortikalen Sammelrohres haben isoprismatische Form und zentral oder basal gelegene, runde Zellkerne. Die Mitochondrien treten rundlicher und kleiner auf als im distalen Tubulus (1). Es sind zwei Hauptzelltypen vorhanden: absorbierend (A) oder Schleim sezernierend (B). Die absorbierenden Zellen (A) haben kleine, runde Mitochondrien (1a), Mikrovilli (4), wenige Sekretvesikel (2) und Vakuolen. Sie sind wegen der großen Anzahl an Mitochondrien sehr elektronendicht und werden deshalb auch als „dark cells“ bezeichnet.

Die sezernierenden Zellen oder Schleimzellen (B) besitzen apikale Ansammlungen von Schleimtröpfchen (3a) und Vakuolen (3b). Die Zellgrenzen sind deutlich (Pfeilspitze). Zwischen den Schalt- und Schleimzellen befinden sich zwischengeschaltete Zellen (C).

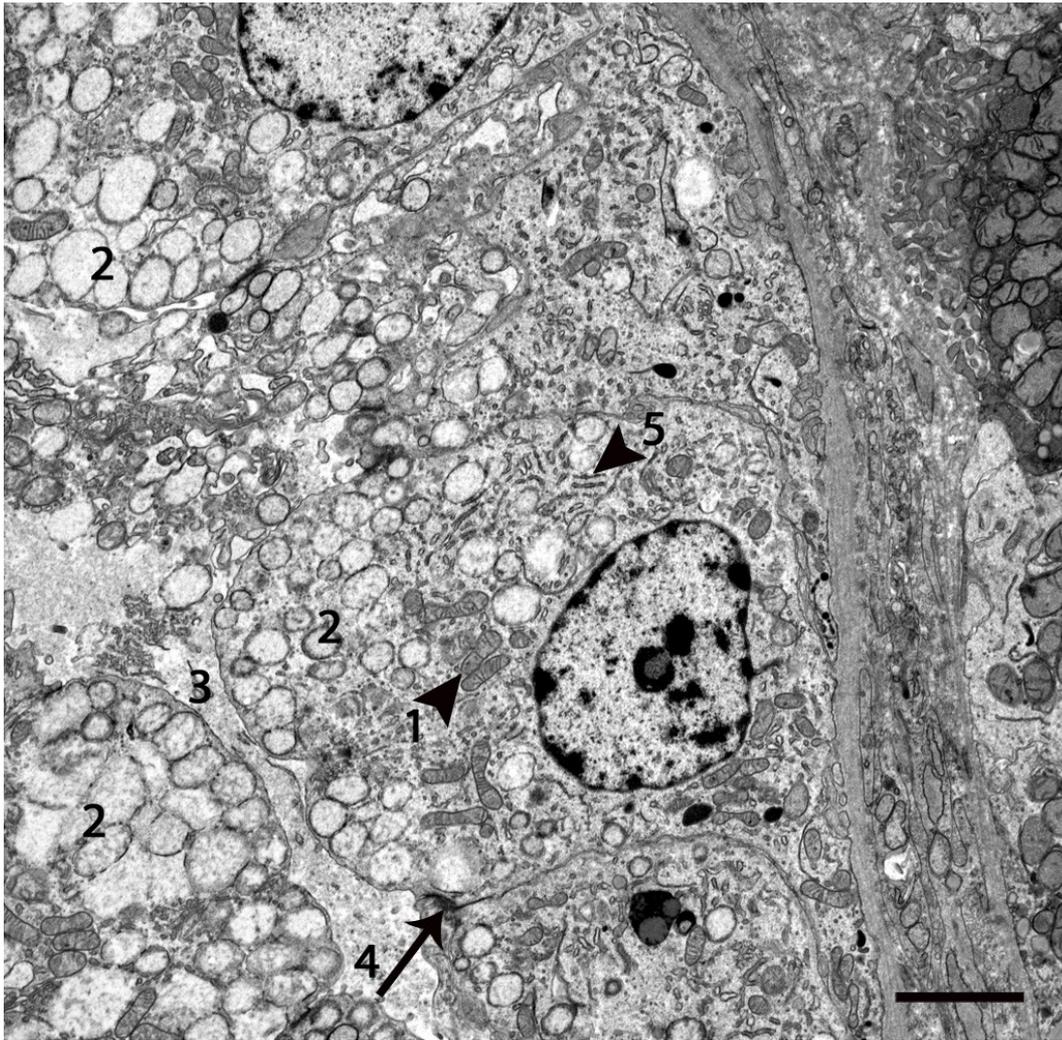


Abbildung 85: Niere Strauß, Lobus medius, medulläres Sammelrohr, Transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5  $\mu$ m

1 = Mitochondrien, wenige mit dichten Cristae; 2 = Vakuolen, variable Größen, 3 = weiter, tiefer Interzellularraum, 4 = „tight junction“, 5 = Golgi Apparat

In den medullären Sammelrohren sind keine "dark cells" mehr zu finden. Das sehr helle, zunächst einschichtige Epithel des Sammelrohrs besitzt nur wenige kleine, längliche Mitochondrien mit dichten Cristae (1). Die Epithelzellen besitzen zahlreiche verschieden große Vakuolen, die vor allem subapikal und lateral membrangebunden, aber auch im Zytoplasma zu finden sind. Sie entstammen dem Golgi Apparat (5).

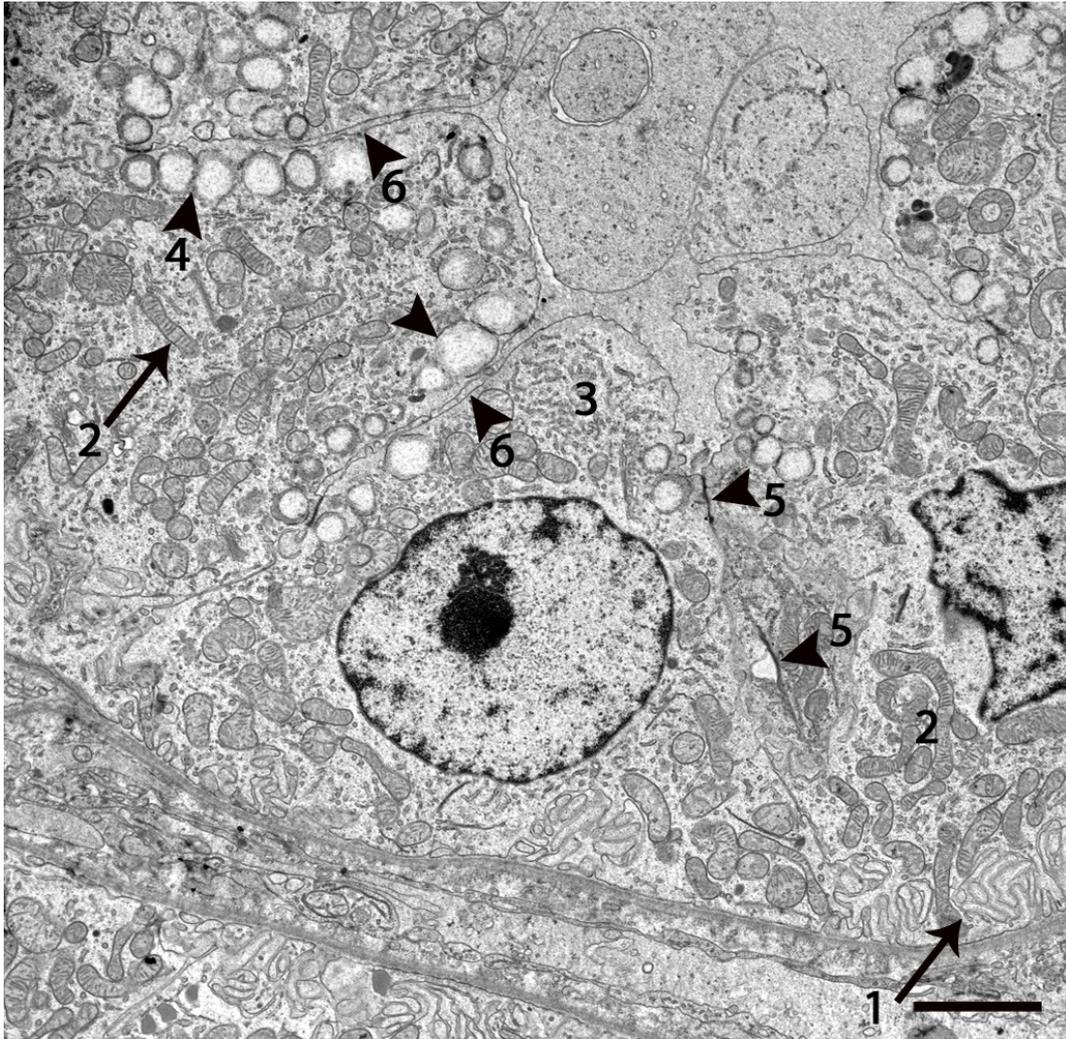


Abbildung 86: Niere Strauß, Lobus cranialis, medulläres Sammelrohr; Transmissions-  
elektronenmikroskopische Aufnahme SB = 2,5  $\mu$ m

1 = basales Labyrinth, 2 = Mitochondrien mit dichten Cristae (2b), 3 = Golgi Apparat, 4 =  
Vakuolen, 5 = "tight junctions", 6 = weite Interzellularräume

Die basale Zellmembran besitzt Einfaltungen, die ein basales Labyrinth (1) bilden. Wenige kleine, längliche Mitochondrien mit dichten Cristae (2) sind in der Zelle verteilt. Die Epithelzellen besitzen viele verschieden große Vakuolen, die meist an die apikale und laterale Membran gebunden sind (4). Zwischen den Zellen bestehen apikal weite Interzellularräume, die tief bis zwischen die Zellen reichen (6), während lateral enge Verbindungskomplexe mit "tight junctions" (5) bestehen.

## 5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden der histologische und ultrastrukturelle Aufbau sowie die Glyko- und Immunhistochemie der Niere des Straußes (*Struthio camelus*) untersucht. Dazu wurden Präparate von 13 Tieren im Alter von ca. 16 Monaten aus kommerzieller Haltung verwendet.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen dieser Arbeit beschreibt Dingle (1999) beim Strauß eine schokoladenbraune Niere von granulärer Beschaffenheit, die in den Einbuchtungen des Beckens liegt und der anderer Vögel gleicht. Die Straußenniere lässt sich in drei paarige Abteilungen unterteilen: Divisio renalis cranialis, medius und caudalis. Diese sind jedoch sehr oft nicht klar abgrenzbar, da sie an den Übergangsstellen oberflächlich miteinander verwachsen sind, wie auch Hummel (2000) und Nickel et al. (2004) beschreiben. Entsprechend den Beobachtungen bei Eule, Felsen- und Türkentaube (Nabipour et al., 2009), stellt sich beim Strauß die kaudale Abteilung als die Größte, die Mittlere als die Kleinste und die kraniale Abteilung etwas größer als die Mittlere dar. Übereinstimmend mit den Beschreibungen von Liebich (2010) besteht auch die Straußenniere aus Läppchen, die sich sichtbar zur Oberfläche hin vorwölben.

Robinson Hughes (1970) berichtet beim Strauß von einem Anteil der Niere von 0,8 % am gesamten Körpergewicht, bei den untersuchten Tieren nimmt sie mit 444 bis 631 Gramm bei einem Schlachtgewicht von ca. 80 bis 100 Kilogramm ca. 0,6 % des Körpergewichtes ein. Dies ist ein eher geringer Prozentsatz im Vergleich zu anderen Vogelarten, deren relativer Anteil der Niere an der Körpermasse von 0,6 – 1,5 % reicht (Robinson Hughes, 1970; Goldstein, 1989).

Mikroskopisch bestehen beim Strauß keine signifikanten Unterschiede zwischen linker und rechter Niere oder zwischen kranialer, medialer und kaudaler Abteilung. Ähnliches beschrieben Wideman et al. (1992) bezüglich Anzahl und Gesamtvolumen der Glomerula beim Huhn, die daraus schließen, dass die drei Abteilungen der Niere in ihrer Struktur und vermutlich auch in ihrer Funktion homolog sind.

Eine Schichtung in äußeren Rinden- und inneren Markbereich ist nicht zu beobachten. Statt dessen besteht die Straußenniere im Schnittbild - wie im Literaturteil beschrieben (King et al., 1978; Nishimura et al., 1986; Nickel et al., 2004; Liebich, 2010) - aus Rindengewebe mit kortikalen und medullären

Nephronen, welches die bindegewebig begrenzten Markinseln mit Henle-Schleifen, Vasa recta der Gefäße und den Sammelrohren umgibt. Letztere vereinigen sich zu immer größeren Sammelrohren und fließen am Ende des Markkegels über einen einzigen Ast, den Primärast, ab und dem Harnleiter zu.

Die Rinde nimmt auch beim Strauß den größeren Anteil des Nierengewebes ein. Warui (1989) ermittelte beim Strauß einen Markanteil von 14,83 % am Nierengewebe.

Zu Beginn eines jeden Nephrons steht das Nierenkörperchen, dessen Aufbau dem anderer Vögel gleicht (Hummel, 2000; Nickel et al., 2004; König & Liebich, 2009; Liebich, 2010). In allen Abteilungen der Straußenniere sind verschieden große Glomerula zu finden. Die größten, "mammalian-type" Glomerula mit komplex verzweigten Kapillarschlingen, gehören zu den medullären Nephronen. Die Kapillarschlingen der einfacheren "reptilian-type" Glomerula der kortikalen Nephronen dagegen verzweigen sich kaum. Ähnliches beobachten Casotti et al. (2000) bei der Helmwachtel. Die medullären Glomerula befinden sich vorwiegend in Marknähe, während die kortikalen Glomerula in der Rinde vorkommen. Diese Verteilung besteht auch bei Eule, Felsen- und Türkentaube (Nabipour et al., 2009). Wie von Boykin & Braun (1993) beschrieben, waren zahlreiche Zwischenformen von Glomerula in der Straußenniere vorhanden.

Mit einer Größe von ca 40 bis 65 µm der "reptilian-type" und bis über 200 µm der "mammalian-type" Glomerula liegen die Nierenkörperchen des Straußes weit über der Größe anderer Vogelarten (Nickel et al., 2004). Beim Sperling beispielsweise werden Durchmesser von 20 bis 48 µm (Casotti & Braun, 2002) angegeben, bei der Helmwachtel 28 bis 54 µm für kortikale und 90 bis 120 µm für medulläre Glomerula (Nickel et al., 2004).

Der distale Tubulus liegt im Bereich des Gefäßpols zwar dem Glomerulum an, eine Macula densa mit dichteren und höheren Zellen und verlängertem Zellkern wie beim Säuger läßt sich beim Strauß nicht erkennen. Auch in Untersuchungen bei der Japanwachtel und beim Huhn waren keine spezialisierten Macula densa Zellen zu finden (Ogawa & Sokabe, 1971; Wideman et al., 1981; Nishimura et al., 1986), im Gegensatz zu anderen Angaben in der Literatur (Nickel et al., 2004).

Der Aufbau des Tubulusapparates des Straußes, der am Harnpol des Glomerulums entspringt, stimmt mit den Beschreibungen in der Literatur überein (Hummel, 2000; Nickel et al., 2004; König & Liebich, 2009; Liebich, 2010). Der proximale

Tubulus besitzt beim Strauß einen Durchmesser von ca. 40 bis 50  $\mu\text{m}$  und eine Epithelhöhe von ca. 10 bis 15  $\mu\text{m}$  und ist somit etwas größer als beispielsweise bei der Japanwachtel mit 25 - 35  $\mu\text{m}$  bei kortikalen Nephronen und 28 - 38  $\mu\text{m}$  bei medullären Nephronen (Nishimura et al., 1986). Die Epithelzellen des proximalen Tubulus sind auch beim Strauß mit einem Saum aus Mikrovilli ausgestattet, wie es bei anderen Vogelarten beschrieben wurde (Hummel, 2000; Nickel et al., 2004; König & Liebich, 2009; Liebich, 2010). Sie besitzen eine kubische Form, während bei der Japanwachtel (Nishimura et al., 1986) und beim Huhn (Wideman et al., 1981) säulenförmige Zellen beschrieben wurden. In der vorliegenden Arbeit kann im mikroskopischen Schnittbild kein Zwischenstück der kortikalen Nephronen zwischen proximalem und distalem Tubulus unterschieden werden. Ähnliches beschreiben Wideman et al. (1981) beim Huhn und Nishimura et al. (Nishimura et al., 1986) bei der Japanwachtel. Daher ist die Definition des distalen Tubulusanfangs durch seine anatomische Nähe zum Glomerulum (Nishimura et al., 1986; Nickel et al., 2004) auch beim Strauß zutreffend. Das isoprismatische Epithel hat beim Strauß eine Höhe von ca. 5 bis 8  $\mu\text{m}$  und besitzt keine Mikrovilli. Er misst im Durchmesser ca. 15 bis 25  $\mu\text{m}$ , das entspricht in etwa den Beobachtungen bei der Japanwachtel mit 18 - 23  $\mu\text{m}$  bei kortikalen und 18 - 28  $\mu\text{m}$  bei medullären Nephronen. Wideman et al. (1981) berichten, dass weder proximaler noch distaler Tubulus in ihrem Verlauf Epithelhöhe und Durchmesser ändern. Ob dies auch beim Strauß der Fall ist oder die verschiedenen Ergebnisse der Epithel- und Tubulusgröße von unterschiedlichen Nephronen stammen, konnte in dieser Arbeit nicht festgestellt werden.

Zwischen proximalem und distalem Tubulus liegt bei den medullären Nephronen des Straußes die Henle-Schleife (Markschleife). Sie besteht beim Strauß, wie bei den meisten Vogelarten (Nishimura et al., 1986; Braun & Reimer, 1988; Nishimura et al., 1989), aus einem absteigenden Schenkel, der bis zum Umkehrpunkt an Größe abnimmt, und einem aufsteigenden Schenkel, der sich in seinem Verlauf wieder verbreitert. Parallel mit Sammelrohren und Vasa recta der Gefäße verlaufen die Markschleifen beim Strauß, ähnlich wie bei der Helmwachtel (Casotti et al., 2000), ohne erkennbare Anordnung in einem Markkegel. Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen von Johnson & Mugaas (1970) überein, die bei Nicht-Sperlingsvögeln eine einfache oder keine Anordnung beschreiben, während bei Sperlingsvögeln und anderen Vogelarten das

Mark mit absteigenden Henle-Schleifen zentral, getrennt von den aufsteigenden Schleifen außen durch einen Ring von Sammelrohren vorliegt (Casotti & Braun, 2002; Nabipour et al., 2009).

Der Markkegel des Straußes besitzt eine ovale Form und ist in seinem Verlauf von einer immer breiter werdende Bindegewebshülle umgeben, die bei Eintritt der Sammelrohre noch nicht vollständig ist. Dies entspricht den Beschreibungen der Niere beim Sperling (Johnson & Mugaas, 1970).

Der Durchmesser der absteigenden Schenkel nimmt bis zum Wendepunkt der Schleife stetig ab von ca. 30 auf 15  $\mu\text{m}$ , seine Epithelhöhe von ca. 7,5 auf 3  $\mu\text{m}$ , im aufsteigenden Teil dagegen stetig zu von ca. 25 auf 30  $\mu\text{m}$  Durchmesser und 6 auf 11  $\mu\text{m}$  Epithelhöhe. Damit ist die Größe der Henle Schleifen in etwa im Größenbereich anderer Vögel einzuordnen (Nishimura et al., 1986; Johnson & Mugaas, 1970) und bestätigt die Beobachtungen von Johnson & Mugaas (1970), die die Henle-Schleifen unabhängig von der Nierengröße relativ gleich groß beschreiben. Die Henle-Schleifen besitzen einfaches, kubisches Epithel, wie bei Taube, Eule (Nabipour et al., 2009) und Wachtel (Nishimura et al., 1986).

Der Markkegel verjüngt sich in seinem Durchmesser in dem Maße, wie die Zahl der Markschleifen und Gefäße abnimmt und die Sammelrohre zusammenfließen und sich schließlich zu Tertiär- und Sekundärästen vereinigen, bis an der Basis des Kegels nur noch ein großer Ductus colligens bleibt. Diese Ergebnisse gleichen denen von Sperling (Johnson & Mugaas, 1970) und Wachtel (Casotti et al., 2000). Die Markinseln sind beim Strauß über das gesamte Nierengewebe verteilt.

An die Tubulusabschnitte schließt sich beim Strauß ein Verbindungsstück (Tubulus conjugens) mit ca. 8 bis 10  $\mu\text{m}$  Epithelhöhe und längsoval bis dreieckiger Form von ca. 25 bis 35  $\mu\text{m}$  Durchmesser an. Auch Wideman et al. (1981) beschreiben beim Huhn gelegentlich einen Abschnitt zwischen distalem Tubulus und Sammelrohr. Sie beobachten einen deutlichen Übergang der Zellhöhe in den letzten 25 - 30  $\mu\text{m}$  des distalen Tubulus, der nach Huber (1917) Verbindungstubulus bzw. nach Johnson (1979) Sammeltubulus genannt wird.

Dem Verbindungsstück folgen die runden, extramedullären (kortikalen) Sammelrohre, die dem Markkegel zufließen. Nach Johnson & Mugaas (1970) sind sie von den distalen Tubuli unterscheidbar durch einen größeren Durchmesser, wie es in dieser Arbeit auch beim Strauß vorzufinden war. Die kortikalen

Sammelrohre mit bis zu 37  $\mu\text{m}$  im Durchmesser sind etwas größer als die distalen Tubuli mit ca. 15 bis 25  $\mu\text{m}$ . Je mehr Sammelgänge zusammenfließen, desto größer werden ihre Durchmesser und ihr Epithel höher. Nishimura et al. (1986) beschreiben bei der Japanwachtel einen Durchmesser des initialen Sammelrohres von 30 bis 40  $\mu\text{m}$ , ähnlich dem des Straußes.

Die kortikalen Sammelrohre ziehen zum Mark hin und setzen sich in die runden bis leicht ovalen, medullären Sammelrohre fort. Ihr Epithel wächst von iso- bis leicht hochprismatisch mit ca. 20  $\mu\text{m}$  und einem Durchmesser bis ca. 60  $\mu\text{m}$ . Auch Nicholson (1982) beschreibt beim Star nur hohe, säulenförmige, muzinsezernierende Zellen der intramedullären Sammelgänge, deren Durchmesser je nach Lage im Markkegel jedoch nur 12 bis 28  $\mu\text{m}$  betragen.

Die Sammelrohre der Straußenniere vereinigen sich bis zu den ovalen Ductus colligentes zweiter Ordnung mit hochprismatischem Epithel und schließlich mehrreigen Epithel der Primäräste mit einer Zellhöhe bis ca. 65  $\mu\text{m}$ . Sie sind oft unregelmäßig geformt und weisen einen Durchmesser von ca. 250  $\mu\text{m}$  an den weitesten Stellen auf. Die Zellen der Ductus colligentes besitzen Schleimvakuolen, die sich dem Lumen zugewandt befinden.

Neben den Übersichtsfärbungen wurden die Proben auch mit substrathistochemischen Färbungen bearbeitet. In der PAS-Reaktion nach McManus zeigen sich die Basalmembran sowie die Mesangialzellen der Nierenkörperchen stark positiv. Auch der Bürstensaum der proximalen Tubuli und einzelne Zellen des Tubulus conjugens färben sich apikal an. Gleiches berichtet Nicholson (1982) beim Star. Ebenfalls positiv reagieren die muzinhaltigen Vakuolen in kortikalen und medullären Sammelrohren sowie deren Substrate im Lumen. Die stark positive Reaktion mit der Perjodsäure-Schiff-Reagenz lässt auf einen hohen Anteil an Mukopolysacchariden und Glykoproteinen in diesen Zellen bzw. auf den Inhalt ihrer Vakuolen schließen. Da die Vorbehandlung mit Amylase, die Glykogen löst, zu keinen Veränderungen führte, kann davon ausgegangen werden, dass keine größeren, gespeicherten Mengen an Glykogen in den Nierenzellen des Straußes vorhanden sind.

Mit Hilfe der Alcianblau 8 GX Färbung können saure Muzine von sulfatierten Glykoproteinen unterschieden werden (Romeis et al., 2010). Während Alcianblau 8 GX bei pH 2,5 an Carboxyl- und Sulfatgruppen bindet und saure sowie

sulfatierte Muzine nachweist, färben sich bei pH 1 durch die Unterdrückung der Carboxylgruppen nur stark sulfatierte Muzine an. Während Nickel et al. (2004) beim Vogel nur saure Mukopolysaccharide in den Sammelrohren beschreiben, zeigen die kortikalen und medullären Sammelrohre der Straußenniere bei beiden pH-Werten eine starke Anfärbung von Schleimvakuolen im Zytoplasma sowie im Lumen. Dies ist mit der Sekretion von sulfatierten Muzinen zu erklären. Ähnliche Ergebnisse fanden Nicholson (1982) beim Star und Nabipour et al. (2009) bei Taube und Eule.

Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen dienten zur Untersuchung von Feinstrukturen der Zellen in der Straußenniere. Die Ultrastruktur des Nierenkörperchens entspricht den Angaben in der Literatur (Nickel et al., 2004; Hees & Sinowatz, 2006; König & Liebich, 2009). Das äußere, parietale Blatt der Bowman-Kapsel besteht aus abgeflachten Plattenepithelzellen mit langgezogenen Zellkernen. Zwischen äußerem und innerem Blatt liegt der Kapselraum. Das innere, viszerale Blatt der Bowman-Kapsel liegt den Kapillarschlingen unvollständig an und besteht aus zu Podozyten differenzierten Epithelzellen. Von ihren Zellkörpern gehen Zytoplasmafortsätze aus, die sich in Sekundärfortsätze aufspalten, der Basalmembran der Kapillaren außen unmittelbar anliegen und sich füßchenartig an den Kontaktstellen verbreitern. Die Öffnungen zwischen den benachbarten Fortsätzen bilden zusammen mit der Basalmembran der Kapillaren und den Poren in deren Epithel den Filtrationsapparat des Nierenkörperchens. Die Poren im Kapillarendothel sind mit 50 bis 75 nm Breite etwas kleiner als von Weyrauch (2009) beschrieben.

Das Kennzeichen des proximalen Tubulus ist der apikale, ca. 1 - 2  $\mu\text{m}$  hohe Bürstensaum aus Mikrovilli. Die runden Zellkerne befinden sich wie bei der Pekingente (Snelgrove-Hobson et al., 1988) basal bis zentral, während Casotti & Braun (2000) beim Sperling einen apikalen Zellkern beschreiben. Zellgrenzen mit lateralem und basalem Labyrinth wie bei der Pekingente (Snelgrove-Hobson et al., 1988) können beim Strauß nicht beobachtet werden, jedoch apikale und laterale Verbindungskomplexe mit "tight junctions" und Desmosomen. Eine basale Streifung wie beim Säugetier tritt, wie auch bei anderen Vogelarten (Nickel et al., 2004), durch die unregelmäßige Verteilung der Mitochondrien in der Zelle nicht auf. Im distalen Tubulus sind weniger Mitochondrien zu finden, diese dafür

größer und länger als im proximalen Tubulus und basal bis mittig in Spalten angeordnet, die durch die hier vorhandenen basalen und lateralen Einfaltungen der Basalmembran entstehen. Dies entspricht den Beobachtungen von Nicholson (1982) beim Star und Snelgrove-Hobson et al. (1988) bei der Pekingente.

Der dünne, absteigende Teil der Henle-Schleife des Straußes besitzt abgeflachte Zellen mit einer Epithelhöhe von maximal 5 - 6  $\mu\text{m}$  an Stellen, an denen die unregelmäßigen Zellkerne ins Lumen ragen. Im Zytoplasma befindet sich zahlreich raues endoplasmatisches Retikulum mit Ribosomen. Mikrovilli oder Zellfortsätze kommen nicht vor und Mitochondrien sind kaum zu finden und nur relativ klein. Dies entspricht den Beschreibungen bei der Wachtel und anderen Vogelarten (Nishimura et al., 1986; Braun & Reimer, 1988; Casotti & Richardson, 1993). Wie bei der Wachtel (Braun & Reimer, 1988), sind im aufsteigenden Teil der Henle-Schleife wieder mehr Mitochondrien zu finden, jedoch sind basolaterale Membraneinfaltungen, wie sie Braun & Reimer (1988) beschreiben, nicht zu beobachten. Auch hier sind die Zellkerne, wie im absteigenden Teil, von unregelmäßiger Form und Größe.

Die Zellen des kortikalen Sammelrohres haben eine isoprismatische Form und zentral oder basal gelegene, runde Zellkerne. Die Mitochondrien treten rundlicher und kleiner auf als im distalen Tubulus. Es sind zwei Hauptzelltypen vorhanden: absorbierend oder Schleim sezernierend. Die absorbierenden Zellen haben wenige Sekretvesikel, Vakuolen und einen Saum aus Mikrovilli. Bei Star (Nicholson, 1982) und Pekingente (Snelgrove-Hobson et al., 1988) hingegen werden nur wenige, kleine Mikrovilli beschrieben. Wegen ihrer großen Anzahl an Mitochondrien sind die Zellen sehr elektronendicht und werden deshalb auch als „dark cells“ bezeichnet (Nickel et al., 2004). Auch beim Strauß sind sie als dunklere Zellen zu erkennen.

Die sezernierenden Zellen oder Schleimzellen besitzen apikale Ansammlungen von Schleimtröpfchen und Vakuolen. Die Zellgrenzen zwischen den verschiedenen Zelltypen sind deutlich, wie auch beim Star beschrieben (Nicholson, 1982). Zwischen den Schalt- und Schleimzellen befinden sich zusätzlich zwischengeschaltete Zellen.

Am Übergang in die medullären Sammelrohre verschwinden die "dark cells". Das sehr helle, zunächst einschichtige Epithel des Sammelrohrs besitzt nur wenige

kleine, längliche Mitochondrien mit dichten Cristae. Stattdessen treten zahlreiche, verschieden große Vakuolen auf, die insbesondere subapikal und lateral membrangebunden zu finden sind und dem Golgi Apparat entstammen. Ähnliche Ergebnisse fand Nicholson (1982) beim Star. Die basale Zellmembran besitzt Einfaltungen, die ein basales Labyrinth bilden. Zwischen den Zellen bestehen apikal weite Interzellularräume, die tief bis zwischen die Zellen reichen, während lateral enge Verbindungskomplexe mit "tight junctions" bestehen.

Mit glykohistochemischen Techniken wurden die Zuckerstrukturen auf den Zellen der Straußenniere genauer analysiert. Dazu wurden sowohl FITC-konjugierte als auch biotinylierte Lektine verwendet. Für die Untersuchungen mit FITC-konjugierten Lektinen kamen *Canavalia ensiformis* Agglutinin (ConA), *Dolichos biflorus* Agglutinin (DBA), *Griffonia simplicifolia* Lektin I (GSL-I), *Lens culinaris* Agglutinin (LCA), *Phaseolus vulgaris* Erythroagglutinin (PHA-E) und *Phaseolus vulgaris* Leukoagglutinin (PHA-L), Peanut Agglutinin (PNA), *Pisum sativum* Agglutinin (PSA), *Ricinus communis* Agglutinin (RCA), Soybean Agglutinin (SBA), *Ulex europaeus* Agglutinin I (UEA-I), Wheat germ Agglutinin (WGA) und succinyliertes Wheat germ Agglutinin (WGAs) zum Einsatz. Als biotinylierte Lektine wurden *Sophora japonica* Agglutinin (SJA), *Sambucus nigra* Agglutinin (SNA) und *Maackia amurensis* Agglutinin I (MAA-I) verwendet.

Bei der Interpretation der Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass das Bindungsverhalten der Lektine von verschiedenen Faktoren abhängt. Die Affinität eines Lektins zu einem Liganden wird beispielsweise von der Art der Bindung, elektrostatischen und hydrophoben Wechselwirkungen beeinflusst (Roth, 2011). Trotz derselben Zuckerspezifität kann deshalb das Bindungsverhalten unterschiedlich sein. Des Weiteren ist durch die subjektive Einschätzung der Fluoreszenz die Bewertung der Reaktionsstärke der Lektine semiquantitativ einzustufen.

In dieser Arbeit können Bindungsstellen für die Lektine LCA, MAA-I, PHA-E, PHA-L, PNA, PSA, RCA, SBA, SJA, WGA und WGAs ermittelt werden. Für ConA, DBA, GSL-I, SNA, UEA-I sind keine Bindungsstellen in den untersuchten Straußennieren festzustellen. Alle Lektine mit Bindungsstellen zeigten deutlich bis stark positive Reaktionen an den Mikrovilli der proximalen Tubuli. Dies lässt auf das Vorkommen von Glykoproteinen mit einer sehr spezifischen Ausstattung an Kohlehydraten schließen. Ähnliches trifft für die muzinhaltigen Vakuolen der

Sammelrohre zu, die für viele Lektine Bindungsstellen aufweisen (LCA, PHA-E, PSA, SBA, SJA, WGA und WGAs).

UEA-I, mit seiner Spezifität für L-Fucose ist als Marker für Gefäßendothel beim Menschen bekannt, zeigt in der Straußenniere jedoch ebenso wie in einer Studie von Holthöfer (1983) bei verschiedenen Tierarten keine positiven Reaktionen für Endothel. In allen Geweben der untersuchten Straußennieren können keine Bindungsstellen für UEA-I nachgewiesen werden.

Aus der Gruppe der N-Acetyl-D-Galaktosamin bindenden Lektine DBA, GSL-I, SBA und SJA finden sich in der Straußenniere nur Bindungsstellen für SBA und SJA. Diese sind für beide Lektine im proximalen Tubulus, v.a. im Bereich der Mikrovilli, sowie den Vakuolen der Sammelgänge zu beobachten. Auch bei Huhn und Wachtel, ebenso wie bei Mensch, Schwein und Ratte, zeigt SBA eine starke Affinität zum proximalen Tubulus, während bei anderen Spezies Bindungsstellen vor allem im distalen Tubulus vorkommen (Holthöfer, 1983).

Für die Lektine ConA, LCA und PSA, die eine Spezifität für D-Mannose und D-Glukose besitzen, können keine Bindungsstellen für ConA ermittelt werden. LCA und PSA dagegen besitzen Bindungsstellen an den Mikrovilli der proximalen Tubuli sowie dem Zytoplasma der Sammelgänge, vor allem der Intramedullären, und den Vakuolen der Ureteräste vor. Dies könnte trotz ähnlicher Bindungseigenschaften darauf zurückzuführen sein, dass das Vorkommen von D-Glukose in diesen Strukturen höher ist, da ConA eine höhere Spezifität für D-Mannose besitzt (Hardman & Ainsworth, 1976).

Zu den D-Galaktose bindenden Lektinen gehören PNA und RCA. RCA zeigt lediglich Bindungsstellen für die Mikrovilli der proximalen Tubuli. Für PNA können zusätzlich Reaktionen am Endothel der Gefäße und glomerulären Kapillaren sowie im interstitiellem Bindegewebe nachgewiesen werden. Auch Holthöfer (1983) fand beim Huhn Bindungsstellen für PNA an Endothelien und Kapillaren, bei der Wachtel dagegen keine.

WGA und WGAs unterscheiden sich dadurch, dass WGAs bei physiologischem pH-Wert negativ geladen ist, im Gegensatz zu dem positiv geladenen WGA. WGAs bindet nicht an Glykokonjugate, die N-Acetyl-D-Neuraminsäure enthalten,

bindet aber an N-Acetyl-D-Glukosamin enthaltende Glykokonjugate. Somit kann der N-Acetyl-D-Neuraminsäuregehalt ermittelt werden (Monsigny et al., 1980). Gemeinsame Bindungsstelle für WGA und WGAs sind für folgende Strukturen vorhanden: glomeruläre Kapillaren, Mikrovilli der proximalen Tubuli, luminale Oberfläche der distalen Tubuli, sowie luminale Oberfläche und Vakuolen der Sammelrohre. In diesen Bereichen sind N-Acetyl-D-Glukosamin-Reste vorhanden. Bindungsstellen nur für WGA sind im Zytoplasma der extramedullären Sammelgänge und im peritubulären Bindegewebe vorhanden und zeigen hier ein Vorkommen von N-Acetyl-D-Neuraminsäure an. Holthöfer (1983) fand ebenfalls bei Huhn und Wachtel eine starke Fluoreszenz der glomerulären Kapillarwände für WGA, jedoch auch eine schwache Reaktion der Mesangialzellen, die beim Strauß nicht beobachtet werden kann. Im Gegensatz zum Strauß können bei verschiedenen Säugetieren auch in der Bowman-Kapsel N-Acetyl-D-Galaktosamin und N-Acetyl-D-Neuraminsäure nachgewiesen werden (Aguirre et al., 1993, Yabuki et al., 2012). Bei der Ratte sind sogar für alle Zellen des Glomerulums positive Reaktionen für WGA zu finden (Hir & Dubach, 1982). Wie beim Strauß zeigt WGA auch im distalen Tubulus des Huhnes nur schwache Fluoreszenz, insbesondere jedoch im Bereich der Basalmembran, während bei der Wachtel keine Bindungsstellen vorkommen (Holthöfer, 1983).

Beim Nachweis von Oligosaccharid-bindenden Lektine PHA-E, PHA-L und MAA-I zeigen sich unterschiedliche Bindungsverhalten. PHA-E ist im Bereich der Mikrovilli der proximalen Tubuli, Vakuolen der Ureteräste und schwach im Bindegewebe zu finden.

PHA-L ist ebenfalls im proximalen Tubulus im Bereich der Mikrovilli, ansonsten aber nur in der luminalen Oberfläche der absteigenden Markschleifen zu beobachten. MAA-I dagegen zeigt Bindungsstellen an der luminalen Oberfläche der distalen Tubuli, des weiteren im Bereich der Vakuolen der Ureteräste und an der luminalen Oberfläche der Henle-Schleifen, v.a. der aufsteigende Markschleifen.

Um zytoskelettale Elemente in der Niere des Straußes zu untersuchen, wurden immunhistochemischen Methoden verwendet. Hierbei wurde mit Hilfe spezifischer Antikörper die Lokalisation von Vimentin, Panzytokeratin, Desmin, alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) sowie der Zytokeratine (CK) 8, CK 14, CK

18 und CK 19 bestimmt.

Zytokeratine gehören zur Klasse der Keratinfilamente. Als Teil des Zytoskeletts bilden sie die größte Familie der Intermediärfilamente. Es werden zwei Arten Zytokeratine unterschieden, der saure Typ I (Zytokeratine 9-23) und der basische Typ II (Zytokeratine 1-8). Sie kommen in allen Epithelzellen vor (Liebich, 2010). Der Panzytokeratin-Antikörper ist sowohl gegen basische als auch saure Keratine gerichtet. Aus der Reihe der basischen Zytokeratine wurde Zytokeratin 8 untersucht. Abgesehen von einer schwachen immunpositiven Reaktion des Zytoplasmas der proximalen Tubuli ist jedoch keine Expression in der Straußenniere zu beobachten. Als Zytokeratine vom sauren Typ wurden CK 14, 18 und 19 bestimmt. Eine starke Expression zeigen Tunica muscularis und Bindegewebe der Markinseln für CK 14, während das Zytoplasma der proximalen Tubuli nur schwach positiv, das der ab- und aufsteigenden Markschleifen schwach bis deutlich positiv reagiert. Für CK 18 zeigt das Zytoplasma der ab- und aufsteigenden Markschleifen sowie der proximalen Tubuli und deren Mikrovilli eine schwach immunpositive Reaktion in der Straußenniere. Bei CK 19 hingegen ist eine deutliche Immunexpression der Ductus colligentes, ab- und aufsteigenden Markschleifen sowie der proximalen Tubuli zu beobachten. Auch deren Mikrovilli zeigen eine schwache Reaktion für CK 19.

Insgesamt fällt auf, dass alle untersuchten Zytokeratine (CK8, CK14, CK18, CK19) eine schwache Immunreaktion der proximalen Tubuli zeigen und hier auf eine höhere Stabilität der Zellen als im restlichen Nierengewebe hinweisen. Dies entspricht den Beobachtungen von Yaoita et al. (1999) beim Huhn, die positive Reaktionen von Anti-Zytokeratin-Antikörpern in den Zellen des proximalen Tubulus vorfanden. Beham et al. (1992) dagegen fanden in humanem Nierengewebe auch eine Anfärbung der parietalen Zellen der Bowman-Kapsel für Zytokeratine, die am Harnpol in die positiven Epithelzellen des proximalen Tubulus übergeht. Ebenfalls fanden sie eine intensive Anfärbung der Sammelgangepithelzellen vor, welche beim Strauß nur bei Zytokeratin 19 beobachtet werden konnte (Beham et al., 1992).

Bindungsstellen für Panzytokeratin zeigen sich mit einer starken Reaktion der Bindegewebskapsel der Markinsel, während das restliche Bindegewebe negativ

bleibt. Die Epithelzellen der intramedullären Sammelrohre zeigen eine schwache Immunexpression, während ihre luminale Oberfläche stark mit Panzytokeratin reagiert. Auch das Zytoplasma der großen Tertiäräste der Ductus colligentes ist immunpositiv, wobei bei einige Zellen keine Expression besteht. Ebenso bleiben dessen Epithel und Schleimvakuolen negativ.

Die Straußenniere weist auch in der Rinde Bindungsstellen für Panzytokeratin auf. Das äußere Blatt der Bowman-Kapsel besitzt deutlich positive Zellen ebenso wie vereinzelt Mesangialzellen, das Zytoplasma der proximalen Tubuli zeigt schwache, deren Mikrovilli starke Reaktionen.

Desmin, das zur Klasse II der vimentinhaltigen Filamente gehört, ist in Muskelzellen zu finden (Liebich, 2010). Wie beim Huhn (Yaoita et al., 1999) reagiert auch in der Straußenniere keine der epithelialen Zellen mit Antikörpern gegen Desmin. Lediglich die Tunica muscularis der Gefäße zeigt sich stark positiv. Auch in humanen Nieren existiert für Desmin keine Expression in sämtlichen Entwicklungs- oder proliferativen Krankheitsstadien (Gonlusen et al., 2001).

Ebenfalls zur Klasse II der Intermediärfilamente zählt das Vimentin. Es kommt vorwiegend im Zytoskelett mesenchymaler Zellen vor (Hees & Sinowatz, 2006), ist aber auch in Endothelzellen und Myofibroblasten zu finden (Liebich, 2010).

In der Straußenniere sind Bindungsstellen für Vimentin in allen Bereichen des Glomerulums zu sehen. Äußeres und inneres Blatt der Bowman-Kapsel sowie die Kapillaren des Nierenkörperchens besitzen stark positive Reaktionen, und auch das Mesangium reagiert deutlich immunpositiv. Ähnliches berichten Yaoita et al. (1999) beim Huhn, die eine intensive Färbung der Podozyten mit Vimentin, jedoch nur eine schwachen Reaktion der parietalen Zellen beobachteten. Auch in humanen Nieren zeigt Vimentin eine positive Anfärbung der Glomerula, während das Interstitium negativ blieb (Gonlusen et al., 2001). Im Mark fällt beim Strauß eine starke Reaktion der absteigenden Henle-Schleifen auf, die aufsteigenden Henle-Schleifen und Sammelgänge bleiben dagegen negativ.

Das Endothel der Gefäße und sämtliche Bindegewebsstrukturen reagieren stark immunpositiv auf Vimentin. Tubuluszellen zeigen bei Vimentin-Antikörpern keine Reaktion auf Bouin fixierten Proben - dies entspricht den Beobachtungen beim

Huhn (Yaoita et al., 1999). Bei Formalin fixierten Proben kann jedoch eine schwache Anfärbung im Zytoplasma der proximalen Tubuloi beobachtet werden, ähnlich wie in humanem Nierengewebe, wo Vimentin jedoch in proximalen und distalen Tubulusepithelzellen gefunden werden kann (Beham et al., 1992).

Das Protein  $\alpha$ -SMA, „alpha-smooth muscle actin“, ist spezifisch für die glatte Muskulatur (Lazarides, 1980). Als Isoform des Aktins, das vor allem in kontraktilen Zellen vorkommt, wird es als Marker zur Differenzierung normaler und pathologischer glatter Muskelzellen verwendet (Skalli et al., 1989). Auch beim Strauß ist eine starke Immunexpression der Muskelschicht der Gefäße inklusive Arteriolen des Nierenkörperchens sowie von sämtlichen Bindegewebesstrukturen zu sehen. Das Nierengewebe selbst jedoch zeigt keine Bindungsstellen, was darauf hindeuten könnte dass hier keine Zellen mit besonderer kontraktiler Aktivität vorhanden sind.

Ähnliche Ergebnisse fanden Gonlusen et al. (2001) beim Menschen. Während alpha-SMA peritubulär in fetalen und adulten Nieren eine positive Expression zeigt, reagieren die glomerulären Mesangialzellen nur in fetalem Nierengewebe und Säuglingsnieren positiv. Lediglich bei proliferativen Glomerulonephritiden war eine positive glomeruläre Anfärbung in adulten Nieren zu sehen und könnte deshalb als Marker für proliferative Geschehen genutzt werden (Gonlusen et al., 2001).

## 6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der histologischen, ultrastrukturellen, glyko- sowie immunhistochemischen Analyse der Niere des Straußes (*Struthio camelus*). Die Organe wurden hierzu von dreizehn klinisch gesunden Tieren aus kommerzieller Haltung entnommen und untersucht. Ein Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Tieren war dabei nicht feststellbar. Überwiegend - jedoch mit einigen Besonderheiten - stimmen die in dieser Arbeit erhaltenen Untersuchungsergebnisse über den Aufbau und die mikroskopische Struktur der Straußenniere mit denen anderer Vogelarten überein.

Die paarige Niere liegt im Synsakrum eingebettet und ist beidseits in drei Abteilungen unterteilt, die oft oberflächlich verwachsen sind. Zwischen linker und rechter Niere sowie zwischen den Abteilungen bestanden keine signifikanten Unterschiede. Der Anteil der Straußenniere am Gesamtkörpergewicht ist mit 0,6 % relativ gering, im Vergleich zu vielen anderen Vogelarten. Die lichtmikroskopischen Untersuchungen zeigen ein Schnittbild aus größtenteils Rindengewebe mit kortikalen und medullären Nephronen, die in der gesamten Niere inselartig verteilte, bindegewebig begrenzte Markbereiche umgeben. Diese enthalten Henle-Schleifen, Vasa recta und Sammelrohre, eine spezifische Anordnung dieser Strukturen im Markkegel war in den untersuchten Präparaten jedoch nicht vorhanden. Glomerula kamen in verschiedenen Größen von ca. 40 µm bei kortikalen bis zu ca. 200 µm Durchmesser bei medullären Nephronen vor. Spezialisierte Macula densa-Zellen des distalen Tubulus im Bereich des glomerulären Gefäßpols konnten in der Straußenniere nicht dargestellt werden. Eine positive PAS-Reaktion war insbesondere in den Mesangialzellen des Nierenkörperchens, dem Bürstensaum der proximalen Tubuli und den muzinhaltigen Vakuolen der Sammelrohre vorhanden. Letztere reagierten auch stark positiv mit Alcianblau. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen der Straußenniere führten mit vorangegangenen Untersuchungen anderer Vogelarten zu vergleichbaren Ergebnissen.

In den durchgeführten glykohistochemischen Untersuchungen - zur genaueren Analyse von Zuckerstrukturen auf den Zellen der Straußenniere - zeigte sich eine besonders starke Affinität der Lektine zu den Mikrovilli der proximalen Tubuli. Alle Lektine mit Bindungsstellen in der Straußenniere, LCA, MAA-I, PHA-E, PHA-L, PNA, PSA, RCA, SBA, SJA, WGA und WGAs, zeigten hier deutlich bis

stark positive Reaktionen. Auch in den muzinhaltigen Vakuolen der Sammelrohre waren Bindungsstellen für die meisten Lektine vorhanden (LCA, PHA-E, PSA, SBA, SJA, WGA und WGAs). Für ConA, DBA, GSL-I, SNA und UEA-I konnten keine Bindungsstellen in den untersuchten Straußennieren festgestellt werden.

Mit Hilfe immunhistochemischer Methoden wurden zytoskelettale Elemente in der Niere des Straußes untersucht. Die Intermediärfilamente Zytokeratin 8, 14, 18, 19, Panzytokeratin, Vimentin und Desmin, sowie das Protein "alpha-smooth muscle actin" ( $\alpha$ -SMA), wurden dabei nachgewiesen. Während Desmin und  $\alpha$ -SMA nur in Muskel- und Bindegewebszellen der untersuchten Tiere vorgefunden werden konnten, wurden Zytokeratine und Vimentin auch im Nierengewebe nachgewiesen. Während sich Zytokeratine vorwiegend im Zytoplasma der proximalen Tubuli und teilweise auch der Henle-Schleifen fanden, fiel Vimentin vor allem durch die starke Bindung an glomerulären Strukturen auf.

## 7 Summary

### **Histological, ultrastructural, glyco- and immunohistochemical studies of the ostrich kidney (*Struthio camelus*)**

In the present thesis, the kidney of the ostrich was examined histologically, ultrastructurally, as well as with glyco- and immunohistochemical methods. The kidneys of thirteen clinically healthy animals were taken and examined. A difference between male and female animals could not be detected. Generally, with some special features, the results of the macro - and microscopic structure of the ostrich kidney were consistent with preceding studies of other avian species. The paired kidneys are located under the synsacrum and divided into three lobes, which are often superficially coalesced. No significant difference between left and right kidney or in between the lobes was detected. With 0,6 % of the whole body weight, the volume of the ostrich kidney is rather low compared to other avian species. The light microscopic studies showed a large cortex part with cortical and medullary nephrons, surrounding medullary islands coated with a connective tissue sheath. The medulla contained loops of Henle, vasa recta and collecting tubules, which showed no specific order in the examined samples.

Glomerula could be seen in different sizes from approximately 40 µm of cortical to 200 µm of medullary nephrons. Specialized macula densa-cells on the site of the distal tubule attached to the glomerular vascular pole could not be displayed. A positive PAS-reaction occurred in mesangial cells of the corpusculum, microvilli of proximal tubules, and the mucus containing vacuoles of the collecting tubules. These showed also strong reactions with alcian blue staining.

Ultrastructural studies of the ostrich kidney led to comparable results with the cell structure of previously examined avian species. Glycohistochemical studies, for a closer analysis of sugar structures on ostrich kidney cells, showed a particularly strong affinity of lectins towards the microvilli brush border of proximal tubules. All examined lectins with binding sites in the ostrich kidney (LCA, MAA-I, PHA-E, PHA-L, PNA, PSA, RCA, SBA, SJA, WGA and WGAs) showed distinct to strong reactions on this site. For most lectins there were also binding sites in the vacuoles of the collecting tubules (LCA, PHA-E, PSA, SBA, SJA, WGA and WGAs); for ConA, DBA, GSL-I, SNA and UEA-I no reactions could be noticed in the studied ostrich kidneys.

Immunohistochemical methods were used to examine cytoskeletal elements of ostrich kidney cells. The intermediate filaments Cytokeratin 8, 14, 18, 19, Pancytokeratin, Vimentin and Desmin and the protein alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) were verified in this study. While Desmin and  $\alpha$ -SMA were detected only in muscle and connective tissue cells, Cytokeratins could be found mainly in the cytoplasm of proximal tubules and to some extent also in the cytoplasm of Henle loops, while Vimentin binding sites appeared in all parts of the glomerulus of ostrich kidney cells.

## 8 Verzeichnisse

### 8.1 Literaturverzeichnis

Aguirre, J.I.; Han, J.S.; Itagaki, S.; Doi, K. (1993) Lectin histochemical study on the kidney of normal and streptozotocin-induced diabetic hamsters. *Journal of Histology and Histopathology* 8 (2), S. 273–278.

Baumhoer, D.; Steinbrück, I.; Götz, W. (2003) *Histologie: Kurzlehrbuch zum Gegenstandskatalog [GK 1]*, Urban und Fischer Verlag, München.

Beham, A.; Ratschek, M.; Zatloukal, K.; Schmid, C.; Denk, H. (1992) Distribution of cytokeratins, vimentin and desmoplakins in normal renal tissue, renal cell carcinomas and oncocytoma as revealed by immunofluorescence microscopy. *Virchows Archiv: A Pathological Anatomy and Histopathology* 421 (3), S. 209–215.

Berg, J.M.; Stryer, L.; Tymoczko, J.L. (2007) *Biochemie*, 6th ed., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

Boyd, W.C.; Shapleigh, E. (1954) Specific Precipitating Activity of Plant Agglutinins (Lectins). *Science* 119 (3091), S. 419.

Boykin, S.L.B.; Braun, E.J. (1993) Entry of nephrons into the collecting duct network of the avian kidney: A comparison of chickens and desert quail. *Journal of Morphology* 216 (3), S. 259–269.

Braun, E.J. (1978), Renal response of the starling (*Sturnus vulgaris*) to an intravenous salt load. *The American Journal of Physiology* 234 (4), S. 270–278.

Braun, E.J.; Dantzler, W.H. (1972) Function of mammalian-type and reptilian-type nephrons in kidney of desert quail. *The American Journal of Physiology* 222 (3), S. 617–629.

- Braun, E.J.; Reimer, P.R. (1988) Structure of avian loop of Henle as related to countercurrent multiplier system. *The American Journal of Physiology* 255 (3 Teil 2), S. 500-12.
- Casotti, G.; Beuchat, C.; Braun, E. (1998) Morphology of the kidney in a nectarivorous bird, the Anna's hummingbird *Calypte anna*. *Journal of Zoology* 244 (2), S. 175–184.
- Casotti, G.; Braun, E.J. (2000) Renal anatomy in sparrows from different environments. *Journal of Morphology* 243 (3), S. 283–291.
- Casotti, G.; Lindberg, K.K.; Braun, E.J. (2000) Functional morphology of the avian medullary cone. *American Journal of Physiology* 279 (5), S. 1722-30.
- Casotti, G.; Richardson, K.C. (1993) A qualitative analysis of the kidney structure of Meliphagid honeyeaters from wet and arid environments. *Journal of Anatomy*, 182 (2), S. 239–247.
- Cooper, R.G.; Mahrose, K.M.A.; Horbańczuk, J.O.; Villegas-Vizcaíno, R.; Kennou Sebei, S.; Faki Mohammed, A.E. (2009) The wild ostrich (*Struthio camelus*): a review. *Tropical Animal Health and Production* 41 (8), S. 1669–1678.
- Deeming, D.C. (1999) *The ostrich: Biology, production, and health*. CABI Pub., Wallingford, Oxon, UK, New York, NY, USA.
- Dingle, J. (1999) *Ostrich Production Systems*. Teile 1-2, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Animal Production and Health Paper 144.
- Doll, A.; Aust, G.; Aumüller, G. (2010) *Duale Reihe Anatomie*. Thieme Verlag, Stuttgart.
- Engelhardt, W. von; Aurich, C. (2009) *Physiologie der Haustiere*. Enke Verlag, Stuttgart.

- Franz, H. (1990) 100 Jahre Lektinforschung - eine Bilanz. Die Naturwissenschaften 77 (3), S. 103–109.
- Gabius, H.J. (2009) The sugar code: Fundamentals of glycosciences. ed. by Hans-Joachim Gabius. Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- 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 (6), S. 298–313.
- Gabius, H.J.; Rüdiger, H. (2009) Plant lectins. In: The sugar code: Fundamentals of glycosciences. ed. by Hans-Joachim Gabius. Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- Gallagher, J.T. (1984) Carbohydrate-binding properties of lectins: a possible approach to lectin nomenclature and classification. Review. Bioscience Reports, 4 (8), S. 621–632.
- Goldstein, D. L.; Braun, E.J. (1989) Structure and concentrating ability in the avian kidney. American Journal of Physiology 256 (2 Teil 2), S. 501-9.
- Goldstein I.J.; Poretz R. D. (1986) Isolation, physiochemical characterization and carbohydrate binding specificity of lectins In: The lectins: Properties, functions and applications in biology and medicine (Ed.: Liener, I. E.; Sharon, N.; Goldstein, I.J.). Academic Press, Orlando.
- Goldstein, I.J.; Hughes, R.C.; Monsigny, M.; Osawa, T.; Sharon, N. (1980) What should be called a lectin? Nature 285 (5760), S. 66.
- Gonlusen, G.; Ergin, M.; Paydas, S.; Tunali, N. (2001) The expression of cytoskeletal proteins (alpha-SMA, vimentin, desmin) in kidney tissue: a comparison of fetal, normal kidneys, and glomerulonephritis. International Urology and Nephrology 33 (2), S. 299–305.

- Hardman, K.D.; Ainsworth, C.F. (1976) Structure of the concanavalin A-methyl alpha-D-mannopyranoside complex at 6-A resolution. *Biochemistry* 15 (5), S. 1120–1128.
- Hees, H.; Sinowatz, F. (2006) *Histologie. Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie*. 4. ed., Deutscher Ärzte-Verlag, Köln.
- Hir, M.; Dubach, U.C. (1982) The cellular specificity of lectin binding in the kidney. *Histochemistry* 74 (4), S. 521–530.
- Holthöfer, H. (1983) Lectin binding sites in kidney. A comparative study of 14 animal species. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 31 (4), S. 531–537.
- Hsu, S.M.; Raine, L.; Fanger, H. (1981) Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 29 (4), S. 577–580.
- Huber, G.C. (1917) On the morphology of the renal tubules of vertebrates. *The Anatomical Record* 13 (6), S. 305–339.
- Hummel, G. (2000) *Anatomie und Physiologie der Vögel: Kompendium für Studium und Praxis*. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.
- Johnson, O.J. (1979) Urinary Organs. In: King, A.S.; McLelland, J. (eds): *Form and Function in Birds*. Academic Press, London, S. 183 -235.
- Johnson, O.W.; Mugaas, J.N. (1970) Some histological features of avian kidneys. *American Journal of Anatomy* 127 (4), S. 423–435.
- King, A.S.; MacLelland, J.; Loeffler, K. (1978) *Anatomie der Vögel: Grundzüge und vergleichende Aspekte*, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.
- König, H.; Liebich, H.-G. (2009) *Anatomie der Vögel*, 2.th ed., Schattauer Verlag, Stuttgart.

- Lazarides, E. (1980) Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space. *Nature* 283 (5744), S. 249–256.
- Liebich, H.-G. (2010) Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. 5. Aufl., Schattauer Verlag, Stuttgart.
- Monsigny, M.; Roche, A.C.; Sene, C.; Maget-Dana, R.; Delmotte, F. (1980) Sugar-Lectin Interactions: How Does Wheat-Germ Agglutinin Bind Sialoglycoconjugates? *European Journal of Biochemistry* 104 (1), S. 147–153.
- Nabipour, A.; Alishahi, E.; Asadian, M. (2009) Some Histological and Physiological Features of Avian Kidney. *Journal of Applied Animal Research*, 36 (2), S. 195–198.
- Nelson, D.L.; Cox, M.M.; Lehninger, A.L. (2011) *Lehninger Biochemie*. 4., vollst. überarb. und erw. Aufl., Übers. der 5. amerikanischen Aufl., korr. Nachdr., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Nicholson, J.K. (1982) The microanatomy of the distal tubules, collecting tubules and collecting ducts of the starling kidney. *Journal of Anatomy* 134 (1), S. 11–23.
- Nickel, R.; Schummer, A.; Seiferle, E.; Augsburger, H.; Vollmerhaus, B. (2004) *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*. 3rd ed., Parey, Berlin.
- Nishimura, H.; Imai, M.; Ogawa, M. (1986) Diluting segment in avian kidney. I. Characterization of transepithelial voltages. *The American journal of physiology* 250 (3 Teil 2), S. 333-40.
- Nishimura, H.; Koseki, C.; Imai, M.; Braun, E.J. (1989) Sodium chloride and water transport in the thin descending limb of Henle of the quail. *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 257 (6), S. 994–1002.

- Ogawa, M.; Sokabe, H. (1971) The macula densa site of avian kidney. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 3. IX. Volume 120 (1), S. 29-36.
- Pavelka, M.; Ellinger, A. (1989) Affinity cytochemical differentiation of glycoconjugates of small intestinal absorptive cells using *Pisum sativum* and *Lens culinaris* lectins. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 37 (6), S. 877–884.
- Peumans, W.J.; van Damme, E.J. (1995) Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiology* 109 (2), S. 347–352.
- Rassow, J.; Deutzmann, R.; Netzker, R.; Hauser, K. (2012) *Duale Reihe Biochemie*. Thieme Verlag, Stuttgart.
- Reynolds, E.S. (1963) The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *The Journal of Cell Biology* 17, S. 208–212.
- Robinson Hughes, M. (1970) Relative Kidney Size in Nonpasserine Birds with Functional Salt Glands. *The Condor* 72 (2), S. 164–168.
- Romeis, B.; Mulisch, M.; Welsch, U. (2010) *Romeis Mikroskopische Technik*. 18th ed., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Roth, J. (2011) Lectins for histochemical demonstration of glycans. *Histochemistry and Cell Biology* 136 (2), S. 117–130.
- Rüdiger, H. (1981) Lectine: Vorkommen, Anwendung und Funktion. *Chemie in unserer Zeit* 15 (5), S. 155–162.
- Rüdiger, H. (1982) Phythemagglutinins. *Planta Medica* 46 (1), S. 3–9.
- Rüdiger, H. (1998) Plant lectins - more than just tools for glycoscientists: occurrence, structure, and possible functions of plant lectins. *Acta Anatomica*, 161 (1-4), S. 130–152.

- Rüdiger, H.; Gabius, H.J. (2001) Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconjugate Journal* 18 (8), S. 589–613.
- Smalian, K. (2013) *Grundzüge Der Tierkunde: Wirbeltiere*. Salzwasser-Verlag GmbH, Paderborn.
- Sharon, N. (2004) History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology* 14 (11), S. 53R.
- Skalli, O.; Pelte, M.F.; Peclet, M.C.; Gabbiani, G.; Gugliotta, P.; Bussolati, G.; Ravazzola, M.; Orci, L. (1989) Alpha-smooth muscle actin, a differentiation marker of smooth muscle cells, is present in microfilamentous bundles of pericytes. *The journal of Histochemistry and Cytochemistry* 37 (3), S. 315–321.
- Snelgrove-Hobson, S.M.; Rao, P.V.; Bhatnagar, M.K. (1988) Ultrastructural alterations in the kidneys of Pekin ducks fed methylmercury. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Vétérinaire* 52 (1), S. 89–98.
- Warui, C.N. (1989) Light microscopic morphometry of the kidneys of fourteen avian species. *Journal of Anatomy* 1989 (162), S. 19–31.
- Westheide, W.; Rieger, G.; Rieger, R. (2014) *Spezielle Zoologie. Teil 2: Wirbel- oder Schädeltiere*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Weyrauch (2009) *Histologie-Kurs für Veterinärmediziner*. 2nd ed., Enke Verlag, Stuttgart.
- Whittow, G. (1999) *Sturkie's Avian Physiology*. Elsevier Science, München.
- Wideman, R.F.; Braun, E.J.; Anderson, G.L. (1981) Microanatomy of the renal cortex in the domestic fowl. *Journal of Morphology* 168 (3), S. 249–267.

- Yabuki, A., Mitani, S., Mizukami, K. and Yamato, O. (2012) Nephron segment identification in the normal canine kidney by using lectin histochemistry. *Research in Veterinary Science* 93 (2), S. 560–564.
- Yaoita, E.; Franke, W.W.; Yamamoto, T.; Kawasaki, K.; Kihara, I. (1999) Identification of renal podocytes in multiple species: higher vertebrates are vimentin positive/lower vertebrates are desmin positive. *Histochemistry and Cell Biology* 111 (2), S. 107–115.

## 8.2 Abbildungsverzeichnis

### Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Afrikanischer Strauß, Krüger Nationalpark, Südafrika.....	1
Abbildung 2: Straußenniere, Ansicht von ventral.....	32
Abbildung 3: Niere, Strauß, Lobus caudalis, Hämatoxylin-Eosin, SB = 550 µm	33
Abbildung 4: Niere, Strauß, Lobus medius, PAS-Färbung, SB = 250 µm.....	33
Abbildung 5: Niere, Strauß, Lobus medius Hämatoxylin-Eosin, SB = 40 µm.....	34
Abbildung 6: Niere, Strauß, Lobus cranialis Alcianblau pH 1, SB = 40 µm.....	34
Abbildung 7: Niere, Strauß, Lobus caudalis PAS-Färbung, SB = 40 µm.....	35
Abbildung 8: Niere, Strauß, Lobus caudalis Goldner-Färbung, SB = 25 µm.....	35
Abbildung 9: Niere, Strauß, Lobus caudalis, Hämatoxylin-Eosin, SB= 25µm.....	35
Abbildung 10: Niere, Strauß, Lobus caudalis, Goldner-Färbung, SB = 40 µm.....	37
Abbildung 11: Niere, Strauß, Lobus cranialis, PAS-Färbung, SB = 40 µm.....	37
Abbildung 12: Niere, Strauß, Lobus cranialis, Goldner-Färbung, SB = 40 µm.....	37
Abbildung 13: Niere, Strauß, Lobus medius, Hämatoxylin-Eosin, SB = 10 µm...37	37
Abbildung 14: Niere, Strauß, Lobus medius, Goldner-Färbung, SB = 550 µm.....	39
Abbildung 15: Niere, Strauß, Lobus cranialis, PAS-Färbung, SB = 100 µm.....	39
Abbildung 16: Niere, Strauß, Lobus caudalis Alcianblau pH 2,5, SB = 100 µm..39	39
Abbildung 17: Niere, Strauß, Lobus cranialis Hämatoxylin-Eosin SB = 10 µm...39	39
Abbildung 18: Niere, Strauß, Lobus cranialis Hämatoxylin-Eosin, SB = 250 µm	41
Abbildung 19: Niere, Strauß, Lobus cranialis Alcianblau pH 2,5, SB = 250 µm. 41	41
Abbildung 20: Niere, Strauß, Lobus medius PAS-Färbung, SB = 40 µm.....	41
Abbildung 21: Niere Strauß, Lobus medius Hämatoxylin-Eosin, SB = 250 µm...41	41
Abbildung 22: Niere, Strauß, Lobus medius Goldner-Färbung, SB = 25 µm.....	42
Abbildung 23: Niere, Strauß, Lobus caudalis PAS-Färbung, SB = 40 µm.....	42
Abbildung 24: Niere, Strauß, Lobus medius Alcianblau pH 1, SB = 25 µm.....	42
Abbildung 25: Niere, Strauß, Lobus cranialis Alcianblau pH1, SB = 40 µm.....	42
Abbildung 26: Niere, Strauß, Lobus cranialis Bindung von Lens culinaris Agglutinin - FITC, SB = 40 µm.....	45
Abbildung 27: Niere, Strauß, Lobus cranialis Bindung von Lens culinaris Agglutinin - FITC, SB = 40 µm.....	45
Abbildung 28: Niere, Strauß, Lobus caudalis Bindung von Lens culinaris Agglutinin - FITC, SB = 40 µm.....	45

Abbildung 29: Niere, Strauß, Lobus caudalis Bindung von Lens culinaris Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	45
Abbildung 30: Niere, Strauß, Lobus cranialis Bindung von Maackia amurensis Agglutinin I - FITC, SB = 40 µm.....	47
Abbildung 31: Niere, Strauß, Lobus medius Bindung von Maackia amurensis Agglutinin I - FITC, SB = 40 µm.....	47
Abbildung 32: Niere, Strauß, Lobus cranialis Bindung von Maackia amurensis Agglutinin I - FITC, SB = 40 µm.....	47
Abbildung 33: Niere, Strauß, Lobus medius Bindung von Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	49
Abbildung 34: Niere, Strauß, Lobus medius Bindung von Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	49
Abbildung 35: Niere, Strauß, Lobus cranialis Bindungs von Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	51
Abbildung 36: Niere, Strauß, Lobus cranialis Bindung von Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	51
Abbildung 37: Niere, Strauß, Lobus cranialis Bindung von Peanut Agglutinin - FITC, SB = 40 µm.....	53
Abbildung 38: Niere, Strauß, Lobus medius Bindung von Peanut Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	53
Abbildung 39: Niere, Strauß, Lobus caudalis Bindung von Peanut Agglutinin - FITC, SB = 40 µm.....	53
Abbildung 40: Niere Strauß, Lobus medius Bindung von Pisum sativum Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	55
Abbildung 41: Niere, Strauß, Lobus caudalis Bindung von Pisum sativum Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	55
Abbildung 42: Niere, Strauß, Lobus cranialis Bindung von Pisum sativum Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	55
Abbildung 43: Niere, Strauß, Lobus caudalis Bindung von Ricinus communis Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	56
Abbildung 44: Niere, Strauß, Lobus caudalis Bindung von Soybean Agglutinin - FITC, SB = 40 µm .....	58
Abbildung 45: Niere, Strauß, Lobus medius Bindung von Soybean Agglutinin - FITC, SB = 40 µm .....	58
Abbildung 46: Niere, Strauß, Lobus cranialis Bindung von Sophora japonica	

Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	60
Abbildung 47: Niere, Strauß, Lobus caudalis Bindung von Sophora japonica	
Agglutinin - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	60
Abbildung 48: Niere, Strauß, Lobus cranialis Bindung von Wheat germ	
Agglutinin - FITC, SB = 40 µm.....	62
Abbildung 49: Niere, Strauß, Lobus caudalis Bindung von Wheat germ Agglutinin	
- FITC, SB = 40 µm.....	62
Abbildung 50: Niere, Strauß, Lobus caudalis Bindung von Wheat germ Agglutinin	
- FITC, SB = 40 µm.....	62
Abbildung 51: Niere, Strauß, Lobus caudalis Bindung von Wheat germ Agglutinin	
- FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	62
Abbildung 52: Niere Strauß, Lobus medius Bindung von Wheat germ Agglutinin	
succinyliert - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	64
Abbildung 53: Niere Strauß, Lobus caudalis Bindung von Wheat germ Agglutinin	
succinyliert - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	64
Abbildung 54: Niere Strauß, Lobus medius Bindung von Wheat germ Agglutinin	
succinyliert - FITC, Kernfärbung mit DAPI; SB = 40 µm.....	64
Abbildung 55: Niere Strauß, Lobus medius Bindung von Wheat germ Agglutinin	
succinyliert - FITC, SB = 40 µm.....	64
Abbildung 56: Niere, Strauß, Lobus medius Immunhistochemischer Nachweis	
von Zytokeratin 8, SB = 100 µm.....	66
Abbildung 57: Niere, Strauß, Lobus cranialis Immunhistochemischer Nachweis	
von Zytokeratin 14, SB = 100 µm.....	68
Abbildung 58: Niere, Strauß, Lobus cranialis Immunhistochemischer Nachweis	
von Zytokeratin 14, SB = 100 µm.....	68
Abbildung 59: Niere, Strauß, Lobus cranialis Immunhistochemischer Nachweis	
von Zytokeratin 18, SB = 40 µm.....	70
Abbildung 60: Niere, Strauß, Lobus cranialis Immunhistochemischer Nachweis	
von Zytokeratin 18; SB = 40 µm.....	70
Abbildung 61: Niere, Strauß, Lobus caudalis Immunhistochemischer Nachweis	
von Zytokeratin 19, SB = 100 µm.....	72
Abbildung 62: Niere, Strauß, Lobus caudalis Immunhistochemischer Nachweis	
von Zytokeratin 19, SB = 40 µm.....	72
Abbildung 63: Niere Strauß, Lobus caudalis Immunhistochemischer Nachweis	
von Zytokeratin 19, SB = 40 µm.....	72

Abbildung 64: Niere Strauß, Lobus cranialis Immunhistochemischer Nachweis von Zytokeratin 19, SB = 40 µm.....	72
Abbildung 65: Niere Strauß, Lobus cranialis Immunhistochemischer Nachweis von Desmin, SB = 100 µm.....	73
Abbildung 66: Niere, Strauß, Lobus caudalis Immunhistochemischer Nachweis von Panzytokeratin, SB = 250 µm.....	75
Abbildung 67: Niere, Strauß, Lobus caudalis Immunhistochemischer Nachweis von Panzytokeratin, SB = 40 µm.....	75
Abbildung 68: Niere, Strauß, Lobus medius Immunhistochemischer Nachweis von Panzytokeratin, SB = 100 µm.....	75
Abbildung 69: Niere, Strauß, Lobus caudalis Immunhistochemischer Nachweis von Panzytokeratin, SB = 40 µm.....	75
Abbildung 70: Niere, Strauß, Lobus medius Immunhistochemischer Nachweis von $\alpha$ -SMA, SB = 100 µm.....	77
Abbildung 71: Niere, Strauß, Lobus cranialis Immunhistochemischer Nachweis von $\alpha$ -SMA, SB = 40 µm.....	77
Abbildung 72: Niere, Strauß, Lobus caudalis Immunhistochemischer Nachweis von $\alpha$ -SMA, SB= 250 µm.....	77
Abbildung 73: Niere, Strauß, Lobus cranialis Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin, SB = 40 µm.....	79
Abbildung 74: Niere, Strauß, Lobus cranialis, Fixierung in Formalin, Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin, SB = 40 µm.....	79
Abbildung 75: Niere, Strauß, Lobus cranialis Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin, SB = 250 µm.....	79
Abbildung 76: Niere, Strauß, Lobus caudalis Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin, SB = 40 µm.....	79
Abbildung 77: Niere Strauß, Lobus medius, Glomerulum Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5 µm.....	81
Abbildung 78: Niere Strauß, Lobus cranialis, Glomerulum, Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 1 µm.....	82
Abbildung 79: Niere Strauß, Lobus cranialis, Glomerulum, Filtrationsbarriere; Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 0,5 µm.....	83
Abbildung 80: Niere Strauß, Lobus cranialis, proximaler Tubulus; Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5 µm.....	85
Abbildung 81: Niere Strauß, Lobus cranialis, distaler Tubulus; Transmissions-	

---

elektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5 µm.....	86
Abbildung 82: Niere, Strauß, Lobus caudalis, absteigende Henle-Schleife, Transmissions- elektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5 µm.....	87
Abbildung 83: Niere, Strauß, Lobus cranialis, aufsteigende Henle-Schleife, Transmissions- elektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5 µm.....	88
Abbildung 84: Niere, Strauß, Lobus cranialis, kortikales Sammelrohr, Transmissions- elektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 5µm.....	90
Abbildung 85: Niere Strauß, Lobus medius, medulläres Sammelrohr, Transmissions- elektronenmikroskopische Aufnahme, SB = 2,5 µm.....	91
Abbildung 86: Niere Strauß, Lobus cranialis, medulläres Sammelrohr, Transmissions- elektronenmikroskopische Aufnahme SB = 2,5 µm .....	92

### 8.3 Tabellenverzeichnis

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der in dieser Arbeit verwendeten Lektine (Goldstein & Poretz, 1986; Rüdiger & Gabius, 2009; Gabius et al., 2011) .....	15
Tabelle 2: Übersicht der verwendeten Strauße.....	19
Tabelle 3: Übersicht der verwendeten Lektine.....	24
Tabelle 4: Übersicht der verwendeten Hemmzucker.....	25
Tabelle 5: Übersicht der verwendeten Antikörper.....	28
Tabelle 6: Bindungsstärke von LCA in der Straußenniere.....	44
Tabelle 7: Bindungsstärke von MAA-I in der Straußenniere.....	46
Tabelle 8: Bindungsstärke von PHA-E in der Straußenniere.....	48
Tabelle 9: Bindungsstärke von PHA-L in der Straußenniere.....	50
Tabelle 10: Bindungsstärke von PNA in der Straußenniere.....	52
Tabelle 11: Bindungsstärke von PSA in der Straußenniere.....	54
Tabelle 12: Bindungsstärke von RCA in der Straußenniere.....	56
Tabelle 13: Bindungsstärke von SBA in der Straußenniere.....	57
Tabelle 14: Bindungsstärke von SJA in der Straußenniere.....	59
Tabelle 15: Bindungsstärke von WGA in der Straußenniere.....	61
Tabelle 16: Bindungsstärke von WGAs in der Straußenniere.....	63
Tabelle 17: Bindungsstärke von CK 8 in der Straußenniere.....	66
Tabelle 18: Bindungsstärke von CK 14 in der Straußenniere.....	67
Tabelle 19: Bindungsstärke von CK 18 in der Straußenniere.....	69
Tabelle 20: Bindungsstärke von CK 19 in der Straußenniere.....	71
Tabelle 21: Bindungsstärke von Desmin in der Straußenniere.....	73
Tabelle 22: Bindungsstärke von Panzytokeratin in der Straußenniere.....	74
Tabelle 23: Bindungsstärke von $\alpha$ -SMA in der Straußenniere.....	76
Tabelle 24: Bindungsstärke von Vimentin in der Straußenniere.....	78

## 9 Anhang

### 9.1 Gebrauchslösungen für die Lichtmikroskopie

#### 9.1.1 Fixantien

##### *Bouin-Lösung*

750 ml gesättigte wässrige Pikrinsäure (Merck, Darmstadt)

250 ml Formaldehyd 37 % (Merck, Darmstadt)

50 ml Eisessig (Merck, Darmstadt)

##### *Formalin*

Formaldehyd 37 % im Verhältnis 1 : 10 mit PBS Puffer verdünnen

#### 9.1.2 Puffer

##### *PBS Puffer pH 7,4*

42,50 g Natriumchlorid (Merck, Darmstadt)

6,35 g Di-Na-hydrogenphosphat-dihydrat (Merck, Darmstadt)

1,95 g Na-dihydrogenphosphat-1-hydrat (Merck, Darmstadt)

Aqua dest. ad 5 L

#### 9.1.3 Lösungen

##### *Hämalaun*

2,0 g Hämatoxylin

0,4 g Natriumjodat

100 g Aluminiumkaliumsulfat

100 g Chloralhydrat

2 g kristalline Zitronensäure

Aqua dest. ad 2 L

##### *Eosin*

Stammlösung: 2,0 g Eosin

198 ml Aqua dest.

Einige Tropfen Formol

Gebrauchslösung: 60 ml Stammlösung

8 Tropfen Eisessig

600 ml Aqua dest.

*Eisenhämatoxylin nach Weigert*

Lösung A: 1 g Hämatoxylin

100 ml 96 % Alkohol

Lösung B: 2,48 g Eisen(III)chlorid

100 ml Aqua dest

1 ml konzentrierte Salzsäure

Gebrauchslösung: Lösung A und Lösung B im Verhältnis 1 : 1 mischen

*Azophloxin*

0,5 g Azophloxin

100 ml Aqua dest.

0,2 ml Eisessig

*Phosphormolybdänsäure-Orange*

3-5 g Phosphormolybdänsäure oder Phosphorwolframsäure

100 ml Aqua dest.

2 g Orange G

*Lichtgrün*

0,1-0,2 g Lichtgrün

100 ml Aqua dest.

0,2 ml Eisessig

*1 % / 3 % Essigsäure*

10 ml / 30 ml Eisessig

Aqua dest. ad 1 L

*Alcianblau pH 1,0*

1 g Alcianblau 8 GX (Merck, Darmstadt)

100 ml 0,1 N Salzsäure

Thymolkristall

*Alcianblau pH 2,5*

1 g Alcianblau 8 GX (Merck, Darmstadt)

100 ml 3 % Essigsäure

Thymolkristall

*0,5 % wässrige Perjodsäure*

0,5 g Perjodsäure

100 ml Aqua dest.

*Schwefeldioxid-Wasser*

200 ml Leitungswasser

10 ml 10 % Natrium- oder Kaliumpyrosulfit-Lösung

10 ml n-Salzsäure

*0,1 n-Salzsäure- Methanol (absolut)-Lösung*

n-Salzsäure und Methanol im Verhältnis 1 : 10 mischen

*DAB (3,3-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid)-Hydrogenperoxid-Lösung*

Stammlösung: 5 ml PBS-Puffer

15 µl 30 % Wasserstoffperoxid

Gebrauchslösung: 6 DAB-Tabletten (Dako, Hamburg)

60 ml Aqua dest.

400 µl Stammlösung

## 9.2 Gebrauchslösungen für die Elektronenmikroskopie

### 9.2.1 Fixantien

#### *Fixierungslösung nach Karnovsky*

10 % Paraformaldehyd-Lösung:

10 g Paraformaldehyd (Merck, Darmstadt)

100 ml Aqua dest.

1-2 Tropfen 1N Natronlauge (Carl Roth, Karlsruhe)

Stammlösung: 20 ml 10 % Paraformaldehyd-Lösung

50 ml 0,2 M-Cacodylat-Puffer

0,05 g Calciumchlorid (Merck, Darmstadt)

Gebrauchslösung: 10 ml Stammlösung

1,37 ml 25 % Glutaraldehyd (Polysciences Inc., Warrington, USA)

### 9.2.2 Puffer

#### *Cacodylat-Puffer*

Stammlösung: 8,56 g Natriumcacodylat (Polysciences Inc., Warrington, USA)

200 ml Aqua dest.

0,2M-Lösung: 50 ml Stammlösung

0,2 M Salzsäure (pH 7,2 tropfenweise einstellen)

Aqua dest. ad 100 ml

0,1M-Lösung: 50 ml 0,2 M-Lösung

50 ml Aqua dest.

### 9.2.3 Kontrastierungslösungen

#### *2 % Osmiumtetroxid-Lösung*

2 ml 4 % Osmiumtetroxid (Polysciences Inc., Warrington, USA)

2 ml 0,1 M Cacodylat-Puffer

#### *3 % Kaliumferrocyanid-Lösung*

0,3 g Kaliumferrocyanid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim)

0,1 M Cacodylat-Puffer ad 10 ml

1 % Osmiumtetroxid – 1,5 % Kaliumferrocyanid in 0,1 M Cacodylat-Puffer

4 ml 2 % Osmiumtetroxid-Lösung

4 ml 3 % Kaliumferrocyanid-Lösung

#### 9.2.4 Einbettmedien

*Epon*

20 ml 1,2,3-Propanetriol, polymer with (Chloromethyl) oxirane (Grübler, Stuttgart-Untertürkheim)

16 ml Dodecyl Succinic Anhydride (Grübler, Stuttgart-Untertürkheim)

10 ml Nadic Methyl Anhydride (Grübler, Stuttgart-Untertürkheim)

1,4 ml N,N-Benzyl-dimethylamine (Grübler, Stuttgart-Untertürkheim)

#### 9.2.5 Färbelösungen

*Methylenblau nach Richardson*

Lösung A: 1 g Methylenblau (Fluka Chemie GmbH, Steinheim)

100 ml 1 % Natriumtetraboraldehyd-Lösung

(Polysciences Inc., Warrington, USA)

Lösung B: 1 g Azur II (Polysciences Inc., Warrington, USA)

100 ml Aqua dest

Gebrauchslösung: Lösung A und Lösung B im Verhältnis 1 : 1 mischen

#### 9.2.6 Nachkontrastierungsmedien

*Uranylacetat*

Uranylacetat (Scientific LTD, Stansted, UK)

Aqua dest. bis zur gesättigten Lösung

*Bleicitrat-Lösung nach Reynolds*

0,266 g Bleinitrat (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim)

0,352 g Natriumcitrat (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim)

6 ml Aqua dest.

Ca. 1,6 ml 1 N Natronlauge (tropfenweise zugeben bis pH 12)

## **10 Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz bedanken für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, die stets freundliche Betreuung bei der Erstellung dieser Arbeit und die Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Frau Rußmeier, Frau Settles und Herrn Gök danke ich für die Einarbeitung und Hilfe bei den lichtmikroskopischen, glykohistochemischen und immunhistochemischen Arbeiten im Labor. Bei Frau Scholz möchte ich mich für ihren engagierten Einsatz bei den elektronenmikroskopischen Untersuchungen bedanken. Herrn Habermann danke ich für die Unterstützung beim Mikroskopieren.

Ich danke meinen Eltern und all meinen Freunden, die mich immer unterstützt haben, insbesondere Dr. Franz Beck für sein Verständnis, Michi für seine Leerzeichen, Urml für ihre unendliche Motivation und Conny, ohne die ich irgendwann aufgegeben hätte. Ich widme diese Arbeit allen Yogis und Laris, die die Welt zu einem schöneren Ort machen!