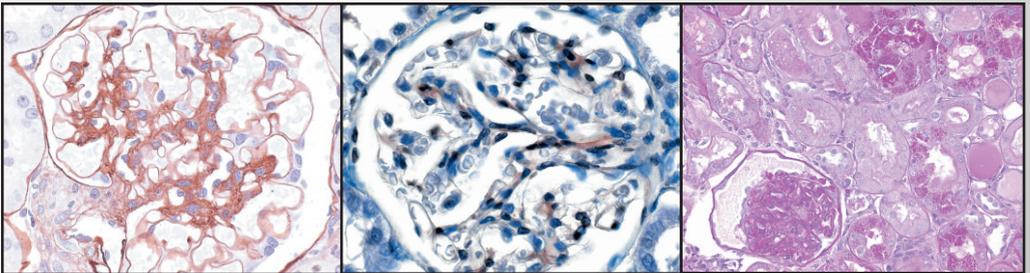


Tierärztliche Hochschule Hannover

Nierenveränderungen bei Weißbüschelaffen
(*Callithrix jacchus*)
mit Wasting Marmoset Syndrom

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Grades einer Doktorin der
Veterinärmedizin
- Doctor medicinae veterinariae -
(Dr. med. vet.)

vorgelegt von
Julia Marie Winkelmann
Northeim



Hannover 2010

Bibliografische Informationen der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen
Nationalbibliografie;
Detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Auflage 2010

© 2010 by Verlag: **Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH**,
Gießen
Printed in Germany

ISBN 978-3-86345-001-4

Verlag: DVG Service GmbH
Friedrichstraße 17
35392 Gießen
0641/24466
geschaeftsstelle@dvg.net
www.dvg.net

Tierärztliche Hochschule Hannover

**Nierenveränderungen bei Weißbüschelaffen
(*Callithrix jacchus*) mit Wasting Marmoset Syndrom**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Grades einer Doktorin der Veterinärmedizin

- Doctor medicinae veterinariae -

(Dr. med. vet.)

vorgelegt von

Julia Marie Winkelmann

Northeim

Hannover 2010

Wissenschaftliche Betreuung:

Univ.-Prof. Dr. F.-J. Kaup

Deutsches Primatenzentrum, Göttingen,

Abteilung Infektionspathologie

1. Gutachter:

Univ.-Prof. Dr. F.-J. Kaup

Tierärztliche Hochschule Hannover,

Deutsches Primatenzentrum, Göttingen

2. Gutachter:

Apl. Prof. Dr. M. Böer

Serengeti-Park, Hodenhagen

Tag der mündlichen Prüfung:

23.11.2010

Meinem Vater, meiner Mutter

und Stefan

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	13
2	LITERATURÜBERSICHT.....	15
2.1	Der Weißbüschelaffe (<i>Callithrix jacchus</i>).....	15
2.1.1	Taxonomie der Krallenaffen.....	15
2.1.2	Herkunft und Erscheinungsbild.....	16
2.1.3	Sozialstruktur und Paarungssystem.....	16
2.1.4	Ernährung und Fütterung.....	18
2.1.5	Weißbüschelaffen in der Forschung.....	18
2.2	Das Wasting Marmoset Syndrom.....	19
2.2.1	Definition.....	19
2.2.2	Klinische Veränderungen und Laborwerte.....	21
2.2.3	Pathologie.....	22
2.2.4	Ätiologie und Pathogenese.....	24
2.3	Nierenveränderungen bei Weißbüschelaffen.....	28
2.4	IgA-Nephropathie des Menschen.....	30
2.4.1	Ätiologie der primären IgAN.....	31
2.4.2	Pathogenese der primären IgAN.....	32
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN:.....	35
3.1	Material und Methoden.....	35
3.1.1	Tiere einschließlich Haltungsbedingungen.....	35
3.1.2	Narkosetechnik, Blutentnahme und Euthanasie.....	40

3.1.3	Sektion und Probengewinnung	40
3.1.4	Mikrobiologische und parasitologische Untersuchung	41
3.1.5	Urinuntersuchung	42
3.1.6	Blut- und Serumuntersuchung	42
3.1.7	Kunststoffeinbettung und Herstellung der histologischen Schnitte	43
3.1.8	Paraffineinbettung und Herstellung der histologischen Schnitte	45
3.1.9	Histochemische Verfahren und Färbungen	46
3.1.9.1	Kunststoffschnitte	46
3.1.9.2	Paraffinschnitte	47
3.1.10	Immunhistochemische Färbungen	47
3.1.11	Einbettung und Schnittheerstellung zur ultrastrukturellen Untersuchung	50
3.1.12	Histopathologische und immunhistologische Auswertung	51
3.1.12.1	Allgemeine histologische Auswertung	51
3.1.12.2	Auswertung und Graduierung der Glomerulopathien	54
3.1.12.3	Auswertung der immunhistochemischen Färbungen	55
3.1.13	Fotodokumentation	56
3.1.14	Statistische Auswertung	56
3.2	Ergebnisse	59
3.2.1	Pathologisch-anatomische Untersuchung	59
3.2.2	Altersverteilung und Einteilung in Alterskategorien	61
3.2.3	Ernährungszustand und Körpergewicht	62
3.2.4	Histopathologie	63
3.2.4.1	Histopathologie des Darmtrakts	63
3.2.5	Pathomorphologische Veränderungen an der Niere	65

3.2.5.1	Lichtmikroskopische Veränderungen an den Nieren	65
3.2.5.2	Lichtmikroskopische Veränderungen an den Nierenglomerula	73
3.2.5.3	Ultrastrukturelle Veränderungen an ausgewählten Nierenglomerula	86
3.2.6	Sonstige histopathologische Befunde	89
3.2.7	Ergebnisse der bakteriologischen und parasitologischen Untersuchungen.....	89
3.2.7.1	Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen	89
3.2.7.1.1	Bakteriennachweis in den Nieren	89
3.2.7.1.2	Nachweis potentiell pathogener Bakterien in Dün- und Dickdarm.....	90
3.2.7.2	Ergebnisse der parasitologischen Untersuchungen.....	91
3.2.8	Ergebnisse der Urinuntersuchungen	91
3.2.9	Ergebnisse der Blutuntersuchungen.....	93
3.2.9.1	Ergebnisse der hämatologischen Untersuchungen.....	93
3.2.9.2	Ergebnisse der serologischen Untersuchungen.....	95
3.2.9.3	Zusammenfassung der wichtigsten veränderten Blutparameter in Bezug auf die Nierenpathologie.....	97
3.3	Bedeutung der morphologischen Veränderungen im Hinblick auf das WMS.....	98
3.4	Fallberichte der K-Nummern 2086 und 2096	101
4	DISKUSSION.....	108
4.1	Histopathologie des Darmtrakts und Diagnoseabsicherung des WMS	109
4.2	Altersstruktur der Untersuchungsgruppen I und II und der Kontrollgruppe.....	111
4.3	Nierenpathologie und Graduierung der histopathologischen Befunde.....	112
4.3.1	Pathogenetische Bedeutung der Immunglobuline A und M	120
4.3.2	Interpretation der Ergebnisse der laboranalytischen Untersuchungen.....	123

4.4	Diskussion der Fallberichte der K-Nummern 2086 und 2096	129
4.5	Überlegungen zur Pathogenese der IgM/IgA-Nephropathie der Callitrichiden und Schlussfolgerungen.....	131
5	ZUSAMMENFASSUNG	134
6	SUMMARY	137
7	LITERATURVERZEICHNIS	139
8	ANHANG	149
8.1	Anhangstabellen	149
8.1.1	Tiermaterial	149
8.1.2	Histopathologische Befunde Darm und sonstige Organsysteme.....	151
8.1.3	Bakteriologische und parasitologische Ergebnisse.....	153
8.1.4	Histopathologische Befunde Niere	156
8.1.5	Ergebnisse des Combur®-Tests.....	159
8.1.6	Differentialblutbilder.....	160
8.1.7	Klinische Chemie.....	163
8.1.8	Tabelle Statistik	168
8.1.8.1	Ergebnisse des Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests	168
8.1.8.2	Ergebnisse des Spearman Rangkorrelationstests	169
8.2	Rezept für Quarkbrei	170
8.3	Protokolle für die Histologie.....	170
8.3.1	Hypercenter XP-Protokoll.....	170
8.3.2	Phosphatpuffer.....	171
8.3.3	Fixierlösungen	171

8.3.4	Protokoll der Kunststoffeinbettung.....	172
8.3.5	Histologische Färbungen an Kunststoff- und Paraffinschnitten.....	173
8.3.5.1	Movat-Versilberung für nicht entplastete Kunststoffsnitte.....	173
8.3.5.2	Hämalaun und Eosin-Färbung:	174
8.3.5.3	Periodic-Acid-Schiff-Reaktion	176
8.3.5.4	Berliner-Blau-Reaktion (Eisen-III-Nachweis):.....	177
8.3.5.5	von Kossa-Versilberung	178
8.3.5.6	Trichromfärbung nach Masson-Goldner	180
8.3.5.7	Amyloid-Färbung mit Kongorot	182
8.4	Protokolle für die Immunhistochemie	183
8.4.1	Zitratpuffer.....	183
8.4.2	Immunhistochemisches Protokoll IgA, IgM und C3c.....	184
8.4.3	Immunhistochemisches Protokoll α -sma	186
8.5	Protokolle für die Transmissionselektronenmikroskopie	189
8.5.1	Eponmischung nach LUFT (1961)	189
8.5.2	Eponeinbettung	189
8.5.3	Methylenblaufärbung nach RICHARDSON et al. (1960).....	190
8.6	Protokolle der mikrobiologischen Untersuchungen	191
8.6.1	Protokolle für die Bakteriologie	191
8.6.1.1	Blutagar-Platte	191
8.6.1.2	MacConkey-Agar.....	191
8.6.1.3	Salmonellen-Platte	192
8.6.1.4	Campylobacter-Platte	192
8.6.1.5	Salmonellenanreicherungsbouillon.....	192

8.6.2	Protokolle für die Parasitologie	193
8.6.2.1	Lugolsche Lösung	193
8.6.2.2	Methylenblaufärbung	193
8.6.2.3	Modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung (Kinyoun-Färbung).....	193
8.7	Göttinger Mischung	194

Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin-Amino-Transferase (=GPT)
AP	alkalische Phosphatase
<i>Aqua bidest.</i>	doppelt destilliertes Wasser
<i>Aqua dest.</i>	destilliertes Wasser
AST	Serumspartat-Amino-Transferase (= GOT)
BUN	blood urea nitrogen (Harnstoff im Blut)
Ca-EDTA	Kalzium-Ethylendiamintetraazetat
CK	Kreatinkinase
Cl	Chlor
DAB	Diaminobenzidin
DPZ	Deutsches Primatenzentrum
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
et al.	und Mitarbeiter
Fa.	Firma
ggr.	geringgradig
GALT	gut associated lymphoid tissue (Darmschleimhautimmunsystem)
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin
hgr.	hochgradig
IKGN	Immunkomplex-Glomerulonephritis
i. m.	intramuskulär
Ig	Immunglobulin

IgAN	IgA-Nephropathie
K	Kalium
KGW	Körpergewicht
<i>Kleb.</i>	<i>Klebsiella</i>
LDH	Laktatdehydrogenase
MCH	mean corpuscular hemoglobin (mittlerer Hämoglobingehalt des einzelnen Erythrozyten)
MCV	mean corpuscular volume (mittleres Volumen des einzelnen Erythrozyten)
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration (mittlere Hämoglobinkonzentration)
mgr.	mittelgradig
Na	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
n.u.	nicht untersucht
o.b.B.	ohne besonderen Befund
PBS	phosphate buffered saline (Phosphatpuffer)
SABC	Streptavidin-Biotin-Komplex
<i>sp.</i>	Spezies
<i>Strep.</i>	<i>Streptococcus</i>
VKH	Verkalkungsherde
WMS	Wasting Marmoset Syndrom

1 Einleitung

Das Wasting Marmoset Syndrom (WMS) ist eine Erkrankung, die bei Krallenaffen, insbesondere bei Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*), in menschlicher Obhut auftritt und primär durch einen dramatischen Gewichtsverlust bei normaler Futteraufnahme und weitgehender Therapieresistenz gekennzeichnet ist. In Versuchs- und Zootierhaltungen stellt es aufgrund einer relativ hohen Prävalenz und Mortalität ein nicht zu unterschätzendes Problem dar. Neben einer als zentralen Befund zu betrachtenden chronischen bis chronisch-aktiven Enteritis werden bei erkrankten aber auch bei klinisch gesunden Weißbüschelaffen regelmäßig auftretende Nierenveränderungen in Form von mesangioproliferativen Glomerulonephritiden und chronischen interstitiellen Nephritiden beschrieben. Aufgrund des Nachweises von Immunkomplexablagerungen im Bereich betroffener Mesangien bei primärer Beteiligung der Immunglobulinklassen M und A wurde die Erkrankung in Analogie an das pathomorphologisch ähnliche Bild der IgA-Nephropathie des Menschen als IgM/IgA- bzw. IgA-Nephropathie der Callitrichiden bezeichnet. Obwohl vorliegende Studienergebnisse auf eine gewisse Korrelation zwischen diesen Immunkomplex-Glomerulonephritiden und dem WMS hinweisen, konnten Bestehen und Ausmaß eines kausalen Zusammenhangs beider Krankheitsbilder bisher nicht abschließend geklärt werden.

Schwerpunkt des vorliegenden Dissertationsvorhabens ist die ausführliche pathomorphologische Untersuchung und Beschreibung der Nieren von 47 am WMS erkrankten, aus dem Deutschen Primatenzentrum und einer externen Kolonie stammenden Weißbüschelaffen. Der Fokus ist hierbei auf histopathologische und immunhistologische Untersuchungen gerichtet. Parallel durchgeführte labordiagnostische Verfahren sollen zudem

Hinweis auf die klinische Relevanz der bestehenden histopathologischen Alterationen geben. Anhand des Vergleiches zu elf klinisch gesunden Kontrolltieren wird abschließend eine mögliche Korrelation zwischen den beobachteten Nierenalterationen und dem WMS untersucht und diskutiert.

2 Literaturübersicht

2.1 Der Weißbüschelaffe (*Callithrix jacchus*)

2.1.1 Taxonomie der Krallenaffen

Der Weißbüschelaffe, *Callithrix jacchus*, zählt als Vertreter der Familie der Krallenaffen, *Callithrichidae*, zu den vom südamerikanischen Kontinent stammenden Neuweltaffen, *Platyrrhini*. Die Familie der Krallenaffen, deren Vertreter sich durch die typische namengebende Ausbildung von Krallen an allen Zehen mit Ausnahme der Großzehe auszeichnen (WOLTERS 1988), kann in sechs Gattungen unterteilt werden (NEUSSER et al. 2001; BRANDON-JONES u. GROVES 2002). Unter dem Begriff der Marmosetten werden hierbei die Gattungen *Cebuella*, *Mico* und *Callithrix* zusammengefasst, wobei der Weißbüschelaffe letzterer zugeordnet ist. Als besonderes Merkmal der Marmosetten gelten die einzigartig vergrößerten Incisivi und die verkürzten Canini, wodurch alle Zähne im Vordergebiss ungefähr gleich hoch sind (GEISSMANN 2003).

Den Marmosetten stehen die Gattungen der Tamarine, *Saguinus*, und Löwenäffchen, *Leontopithecus*, gegenüber, bei denen die Canini, wie bei anderen echten Affen, deutlich länger als die Schneidezähne ausgebildet sind. Gemeinsam ist Marmosetten, Tamarinen und Löwenäffchen die Reduktion der Molaren von drei zu zwei. Da sich aufgrund unterschiedlicher wissenschaftlicher Gesichtspunkte und stetig neuer Erkenntnisse keine einheitliche Taxonomie für Krallenaffen in der Literatur findet, sei darauf hingewiesen, dass es sich bei der hier aufgeführten lediglich um eine der zurzeit gängigsten und gebräuchlichsten handelt.

2.1.2 Herkunft und Erscheinungsbild

Weißbüschelaffen sind ursprünglich im Nordosten Brasiliens beheimatet, von wo aus sie durch den Menschen auch in die atlantischen Regenwälder im Südosten Brasiliens eingebracht wurden. Aufgrund ihrer hohen Anpassungsfähigkeit, die ihre Ansiedlung selbst in Stadtparks und Plantagen ermöglicht hat, gehören sie trotz der fortschreitenden Dezimierung ihrer ursprünglichen Habitate zu den wenigen nicht vom Aussterben bedrohten Krallenaffenarten und können somit als hemerophile Spezies eingestuft werden.

Morphologisch zeichnen sich Weißbüschelaffen durch die typischen abstehenden weißen Ohrbüschel und den weißen Stirnleck bei meist dunkelbraunem Kopffell aus. Das graubraune Rückenfell zeigt eine helle Querbänderung, die sich bis in den Bereich des Schwanzes fortsetzt und dort besonders auffällig ist (WOLTERS 1988). Die Körpergröße eines Weißbüschelaffen beträgt durchschnittlich etwa 25 cm bei einem Körpergewicht von 300 g bis 450 g. Die Schwanzlänge wird mit durchschnittlichen 28 cm angegeben (STEVENSON u. RYLANDS 1988). Callitrichiden zeigen keinen erkennbaren Geschlechtsdimorphismus bzgl. Körpergröße, Gewicht oder Erscheinungsbild, obwohl die nichtträchtigen adulten Weibchen in Gefangenschaft bisweilen etwas schwerer sind als die Männchen (RICHTER 1984).

2.1.3 Sozialstruktur und Paarungssystem

Der baumbewohnende tagaktive Weißbüschelaffe lebt in Familienverbänden bzw. sozialen Gruppen von drei bis fünfzehn Tieren (ROWE 1996) bei sehr variabler, dabei aber relativ stabiler Sozialstruktur. Die Paarungssysteme reichen von monogam über polygyn bis hin zu promiskuitiv. Zudem werden auch Paarungen außerhalb der eigenen Gruppe beobachtet

(DIGBY 1999). In menschlicher Obhut sind Krallenaaffen aufgrund innerartlicher Aggression oft nur in monogamen Familiengruppen zu halten (GEISSMANN 2003).

Gewöhnlich züchtet lediglich das ranghöchste Weibchen. Über verschiedene, nicht vollständig verstandene Mechanismen, kommt es zur Unterdrückung der Ovulation aufgrund einer verminderten Plasmakonzentration des chorionischen Gonadotropins bei rangniederen Weibchen. Hierbei spielen sowohl selbstregulative Prozesse der rangniederen Weibchen als auch Einwirkungen seitens des dominanten Weibchens eine Rolle (SALTZMAN et al. 2009). Die polyöstrischen Weißbüschelaffen haben einen Zyklus von 13 bis 15 Tagen ohne Menstruation und eine Tragezeit von etwa 148 Tagen (ROWE 1996). Ihre Geschlechtsreife erlangen sie mit ca. 18 Monaten (MANSFIELD 2003). In der Regel werden Zwillinge geboren, bei denen es sich aufgrund vaskulärer Anastomosen zwischen den Plazenten und einer geteilten Chorionhülle ab dem 30. Tag der Trächtigkeit um natürliche hämatopoetische Chimären handelt (ABBOTT et al. 2003). Die Jungtiere werden kooperativ von der gesamten Tiergruppe aufgezogen. Dies hat unter anderem den Vorteil, dass das von der Trächtigkeit und der Geburt geschwächte Muttertier entlastet wird (FALK 2000). Bei einem Geburtsintervall von 5,1 Monaten kann ein Weibchen jährlich bis zu zweimal werfen (ROWE 1996).

Die Größe des Streifgebiets einer Gruppe beträgt gewöhnlich zwischen 0,5 und 6,5 Hektar (ROWE 1996). Streifgebiete unterschiedlicher Gruppen können sich überschneiden, wobei es nicht selten zu Auseinandersetzungen zwischen den Gruppen kommt (RICHTER 1984). Auf der Suche nach Futter legen die Gruppen am Tag zwischen 500 m bis 1000 m zurück (ROWE 1996).

2.1.4 Ernährung und Fütterung

Aufgrund ihres wenig günstigen Oberfläche/Volumen-Verhältnisses haben Weißbüschelaffen einen hohen Energiebedarf (LAYNE u. POWER 2003). In freier Wildbahn besteht ihre Nahrung in erster Linie aus Früchten, Insekten, Spinnen, kleinen Wirbeltieren, Eiern und Baumexsudaten von Gummi- und Kautschukbäumen. Die besondere Gebissstruktur der Weißbüschelaffen ist beim Benagen der Rinden von großem Vorteil. Wegen dieser morphologischen Spezialisierung und der Tatsache, dass Baumexsudate mit 15 % einen deutlich höheren Anteil der Gesamtdiät ausmachen als bei anderen Callitrichiden (ROWE 1996), werden Weißbüschelaffen zusammen mit den Zwerggesichtsseidenäffchen als obligate Gummivore eingestuft (HARRISON u. TARDIF 1994). Um diesen besonderen Ansprüchen gerecht zu werden, hat sich in den letzten Jahren das Ergänzungsfuttermittel *Gummi arabicum* bei der Fütterung von Weißbüschelaffen in menschlicher Obhut durchgesetzt. Hierbei handelt es sich um ein komplexes Polysaccharid, dass von Akazien gewonnen wird und neben unterschiedlichen Zuckern wichtige Mineralien wie Kalzium, Magnesium und Kalium enthält (POWER 1991).

2.1.5 Weißbüschelaffen in der Forschung

Weißbüschelaffen haben sich in den letzten Jahren weltweit als Labortiere etabliert. Zu den Vorteilen dieser Primatenspezies zählt ihre hohe Anpassungsfähigkeit, die verwandtschaftliche Nähe zum Menschen, das niedrige zoonotische Potential ihres Erregerspektrums, die wenig kostenintensive Haltung im Vergleich zu anderen non-humanen Primaten und die relativ hohe Reproduktionsrate. Weißbüschelaffen werden im Bereich der Neurowissenschaften, der Reproduktionsbiologie, der Infektionsforschung, der Verhaltensforschung und im Rahmen von Medikamentenstudien eingesetzt (MANSFIELD

2003). Wegen ihres natürlichen Blutchimärismus finden sie in jüngerer Zeit auch in der immunologischen Forschung Verwendung (BOX 1995; HERNANDEZ u. GARCIA 2001). Nicht zu vergessen ist die tiermedizinische Forschung zur Untersuchung bestimmter Krankheitsbilder, der auch die vorliegende Arbeit zuzuordnen ist, sowie die Grundlagenforschung der Primatenbiologie im Rahmen von Freilandstudien (KAUP 2007). Mittlerweile gibt es aufgrund zahlreicher Studien umfangreiche Informationen und Daten zu der Biologie und Physiologie von Weißbüschelaffen. Jedoch bereiten einige, nicht vollständig verstandene Krankheitskomplexe wie das Wasting Marmoset Syndrom, auf das im Folgenden näher eingegangen werden soll, immer wieder Probleme bei der Haltung und Zucht dieser Tiere.

2.2 Das Wasting Marmoset Syndrom

2.2.1 Definition

Das Wasting Marmoset Syndrom (WMS) stellt eine bei Callitrichiden in menschlicher Obhut auftretende Erkrankung dar, die in Zoo- und Versuchstiereinrichtungen erhebliche Probleme verursacht (ZOELLER et al. 2006). Betroffen sind in erster Linie Tiere im Alter zwischen fünf und sieben Jahren bei einer altersabhängigen schwankenden Prävalenz von vier bis sechs Prozent (QUOHS 2003). Während einige Autoren von einer Geschlechtsdisposition für Weibchen ausgehen (BRACK u. ROTHE 1980; QUOHS 2003), wird in einem Großteil der veröffentlichten Studien von einem ausgeglichenen Geschlechterverhältnis berichtet (SHIMWELL et al. 1979; MURGATROYD u. CHALMERS 1980; ZÖLLER 2005). Erstmals beschrieben wurde das WMS 1976 von KING (1976), der es als einen Zustand allgemeiner Entkräftung und Abmagerung mit einhergehendem Mobilitätsverlust bei ungeklärter Ursache in einer hohen Anzahl von Callitrichiden (hauptsächlich *Callithrix*

jacchus) charakterisierte. Zwei Jahre später beschrieb TRIBE (1978) ein Syndrom, welches durch eine Myopathie gekennzeichnet ist, bei der die Skelettmuskulatur, insbesondere die Becken- und Schenkelmuskulatur, auf dramatische Weise atrophiert. Aufgrund gewisser Ähnlichkeiten zu der einheimischen Sprue des Menschen bezeichnete er das Krankheitsbild auch als „sprue-like disease“. Obwohl primär bei Krallenaffen beobachtet, wurde das Vorkommen vergleichbarer Krankheitsbilder auch bei anderen Primatenspezies wie *Saimiri sciureus* (Totenkopffäffchen), *Macaca mulatta* (Rhesusaffen), *Macaca fascicularis* (Javaneraffen), *Macaca arctoides* (Bärenmakaken), *Papio sp.* (Pavianen) und *Cercopithecus aethiops* (Grünen Meerkatzen) beschrieben. Das breite Spektrum von Krankheitszeichen, die sich in der Literatur finden, spiegelt die Komplexität des WMS wider. Zudem wird eine klare und einheitliche Definition durch eine bisher nicht vollständig geklärte Ätiologie erschwert. Als Leitsymptome lassen sich jedoch ein Gewichtsverlust zwischen 30 % und 50 % des ursprünglichen Körpergewichts bzw. ein Abfall des Körpergewichts eines adulten Tieres unter 300 g, Alopezie, vor allem im Bereich der Schwanzbasis, chronische Diarrhoe, Muskelatrophie, chronische Kolitiden und Anämien zusammenfassen (KING 1976; SHIMWELL et al. 1979; MORIN 1983; BARNARD et al. 1988). Zudem kommt der postmortalen Untersuchung eine große Bedeutung zu. ZÖLLER (2005) konnte zeigen, dass entzündliche, chronische bzw. chronisch-aktive, in der Regel erst postmortem histopathologisch nachweisbare Darmveränderungen als obligate pathomorphologische Charakteristika einer WMS-Erkrankung angesehen werden müssen. Aus diesem Grund kann die Diagnose des WMS abschließend immer erst postmortal in Anbetracht aller klinischen und pathomorphologischen Befunde und nach Ausschluss anderer Krankheitsursachen gestellt werden.

2.2.2 Klinische Veränderungen und Laborwerte

Neben den bereits genannten klinischen Leitsymptomen (dramatischer Gewichtsverlust, Alopezie vor allem im Bereich der Schwanzbasis, chronische Diarrhoe, Skelettmuskelatrophie und Anämie) zeigen am WMS erkrankte Krallenaffen infolge des Gewichtsverlustes regelmäßig ein stark gestörtes Allgemeinbefinden bis hin zu komatösen Zuständen. Zudem führt das chronische Krankheitsgeschehen zu einer erhöhten Disposition für Sekundärinfektionen (LEWIS et al. 1987; PFISTER et al. 1990). Die Skelettmuskelatrophie äußert sich in Koordinationsstörungen und steifen Bewegungen, die bis hin zu einer vollständigen Lähmung der Hintergliedmaßen führen können (BRACK u. ROTHE 1980; BEGLINGER et al. 1988).

Alopezieren finden sich hauptsächlich im Bereich der Schwanzbasis und des Schwanzes, können aber auch an Kopf und Rücken auftreten (POTKAY 1992; LOGAN u. KHAN 1996). Zudem erscheint das Haarkleid häufig fettig und weist ein stacheliges ungepflegtes Aussehen auf (KING 1976; SHIMWELL et al. 1979; MORIN 1983; POTKAY 1992; SAINSBURY et al. 1992).

Die chronische Diarrhoe tritt meist intermittierend auf, wobei die Faeces in der Regel gelblich gefärbt sind und eine schaumige Konsistenz aufweisen (KING 1976; BEGLINGER et al. 1988; POTKAY 1992). Zudem fällt bei betroffenen Tiere häufig ein aufgebläht wirkendes Abdomen ins Auge (LOGAN u. KHAN 1996).

Klinische Anzeichen der im Zusammenhang mit dem WMS beobachteten Anämie sind makroskopisch blasse Schleimhäute in Verbindung mit einer reduzierten kapillären Rückfüllungszeit (LOGAN u. KHAN 1996). Viele der betroffenen Tiere zeigen bei einer

hämatologischen Untersuchung einen stark erniedrigten Hämatokrit (BEGLINGER et al. 1988; PFISTER et al. 1990; PRITZKER u. KESSLER 1998). Häufig lassen sich eosinophile Einschlüsse, so genannte Heinz-Bodies, in den Erythrozyten nachweisen.

2.2.3 Pathologie

Pathomorphologisch stehen bei am WMS erkrankten Weißbüschelaffen, im Folgenden nur erkrankte Weißbüschelaffen bzw. Tiere genannt, entzündliche chronische bzw. chronisch-aktive Darmveränderungen im Vordergrund. Während ein Großteil der Autoren diesbezüglich in erster Linie von chronischen Kolitiden berichtet (CHALIFOUX et al. 1982; SAINSBURY et al. 1987; IALEGGIO u. BAKER 1995; QUOHS 2003), ergaben jüngere Studien, dass regelmäßig alle Darmabschnitte betroffen sind, wobei sogar eine deutliche Akzentuierung des Schweregrads in den vorderen Darmabschnitten beschrieben wird (ZÖLLER 2005). Histopathologisch zeigen sich mononukleäre Entzündungszellinfiltrate in der *Lamina propria*, die im Falle eines chronisch-aktiven Verlaufs von polymorphkernigen Granulozyten und bisweilen von Kryptabszessen begleitet werden. Zudem liegen regelmäßig Enterozytenatypien und eine Hyperplasie des GALT-Systems als Zeichen einer immunologischen Sekundärreaktion vor.

Neben den intestinalen pathomorphologischen Alterationen werden bei erkrankten Weißbüschelaffen makroskopisch und histologisch häufig weitere pathologische Veränderungen in anderen Organsystemen beschrieben. An erster Stelle sind hierbei regelmäßig auftretende Läsionen im Bereich der Leber und der Nieren zu nennen. Auf die Nierenveränderungen, die den zentralen Bestandteil der vorliegenden Arbeit darstellen, wird an späterer Stelle ausführlich und separat eingegangen.

Zu den Veränderungen im Bereich der Leber, die makroskopisch zumeist nicht erkennbar sind, zählen gemischtzellige entzündliche Infiltrate in den Gefäßwänden und im Interstitium, geringgradige, periportale mononukleäre Entzündungszellinfiltrate, sowie eine Hämosiderose mit diffusen Pigmentablagerungen in den Hepatozyten und Kupfferschen Sternzellen (QUOHS 2003; ZÖLLER 2005). Seltener wird zudem auch von extramedullären Hämatoepoeseherden, fokalen Nekrosen, fettiger Degeneration und Gallengangshyperplasie in der Leber berichtet (CHALIFOUX et al. 1982; TUCKER 1984; QUOHS 2003; ZÖLLER 2005).

Die Skelettmuskelatrophie, die in erster Linie im Bereich des Beckens und der Hintergliedmaßen beobachtet wird, betrifft ausschließlich die Typ 2-Muskelfasern. Histologisch wird sie von fokalen Nekrosen, Fibrosen, geringgradigen Entzündungszellinfiltraten und einer hyalinen Degeneration vom Typ der Zenkerschen Degeneration begleitet (BRACK u. ROTHE 1980; MURGATROYD u. CHALMERS 1980; TUCKER 1984; PRITZKER u. KESSLER 1998). Die Muskelatrophie selbst halten MURGATROYD u. CHALMERS (1980) hierbei für eine sekundäre Inaktivitätsatrophie infolge von Myodegeneration und Fibrose.

Im Bereich des exokrinen Pankreas wird im Zusammenhang mit dem WMS von fortgeschrittenen Pankreatitiden, Pankreasnekrosen und Zymogengranulaverlust berichtet, die sich makroskopisch in einer Verfestigung und Vergrößerung des Gewebes widerspiegeln (BRACK u. ROTHE 1980; POTKAY 1992).

Vereinzelt werden Hyperplasien der Nebennieren mit einhergehenden mononukleären Entzündungszellinfiltraten und extramedullärer Hämatopoese erwähnt (QUOHS 2003). Zudem vermuten einige Autoren einen Zusammenhang zwischen dem WMS und selten auftretenden chronischen Thyreoiditiden, verschiedenen Stadien der Follikeldestruktion im Bereich der Schilddrüsen (BRACK u. ROTHE 1980; TUCKER 1984) sowie gelegentlichen chronischen Gastritiden und geringgradigen Myokarditiden (TUCKER 1984).

2.2.4 Ätiologie und Pathogenese

Bislang durchgeführte Studien erbrachten keine Hinweise auf eine monokausale Ätiologie für das WMS, weshalb man mittlerweile von einem multifaktoriellen Geschehen ausgeht (POTKAY 1992; SAINSBURY et al. 1992; IALEGGIO u. BAKER 1995; QUOHS 2003; ZÖLLER 2005).

Eine zentrale Rolle in der Pathogenese des WMS wird nutritiv bedingten Mangelercheinungen zugeschrieben (KING 1976; BRACK u. ROTHE 1980; BARNARD et al. 1988). Ein Großteil der Autoren betrachtet hierbei eine Hypoproteinämie als primären ätiologischen Faktor, wobei die Frage, ob es sich um einen primären oder sekundären Mangel handelt, nicht abschließend geklärt wird. Als Unterstützung dieser Hypothese können die Ergebnisse einer experimentellen Protein-Mangelernährung („Kwashiorkor“) bei non-humanen Primaten gewertet werden, die ein dem WMS sehr ähnliches Krankheitsbild hervorriefen (BRACK u. ROTHE 1980). Ein rein diätetisch bedingtes primäres Proteindefizit, wie es von einigen Autoren (TRIBE 1978; SHIMWELL et al. 1979; TUCKER 1984) vermutet wird, wurde in verschiedenen Weißbüschelaffenhaltungen durch eine Erhöhung des Proteinanteils im Futter und eine Verbesserung der fütterungstechnischen Aspekte

auszugleichen versucht. Als Folge wird von einer reduzierten Prävalenz des WMS in den einzelnen Kolonien berichtet, wohingegen bereits erkrankte Tiere keine symptomatische Verbesserung im Zuge einer solchen Diät zeigten (BRACK u. ROTHE 1980; BARNARD et al. 1988).

Als Ursache für einen sekundären Proteinmangel wird in erster Linie eine verminderte intestinale Eiweißresorption infolge von Schleimhautalterationen diskutiert. Hierdurch kommt es zu einem Malabsorptionssyndrom, welches von Resorptionsstörungen, chronisch-persistenten Durchfällen und eventuellen Sekundärinfektionen begleitet wird (TUCKER 1984; BARNARD et al. 1988). ZÖLLER (2005) stellt diese Schleimhautalterationen in Form von chronischen und chronisch-aktiven Enteritiden mit einer daraus resultierenden Maldigestion und Malabsorption in das Zentrum ihrer pathogenetischen Überlegungen.

Unter dem Malabsorptionssyndrom versteht man einen chronisch krankhaften Zustand, bei dem die Absorption zuvor aufgespalteter Nahrungsbestandteile durch die Darmwand in die Lymph- oder Blutbahn vermindert ist (PSCHYREMBEL et al. 2010). Eine weitere, in der veterinärmedizinischen Literatur zu findende Definition fasst unter diesem Begriff infolge von Laktoseintoleranz und Glutenallergie auftretende Sprue-artige Durchfälle mit Fettausscheidung, Ödemen, Körpermasseverlusten und Albuminämie zusammen, welche zu einer Zottenatrophie im Jejunum führen und vor allem bei Makaken, Orang-Utans, Gorillas, Gibbons und seltener bei anderen Primatenspezies beobachtet werden (WIESNER u. RIBBECK 2000). Dem Protein Gliadin, einem wirksamen Bestandteil des in verschiedenen Getreidesorten vorkommenden Kleberproteins Gluten, wird hierbei ein zentrales allergenes Potential, das auch für Krallenaffen zu bestehen scheint, zugeschrieben. SCHRÖDER et al. (1999) vermuten zudem einen pathogenetischen Zusammenhang zwischen zirkulierenden anti-Gliadin-Antikörpern und den im Fokus der vorliegenden Arbeit stehenden

Nierenveränderungen.

Auch Hypovitaminosen, in erster Linie die Vitamine E und C sowie den Vitamin B-Komplex betreffend, finden als möglicher ätiologischer Aspekt des WMS Erwähnung in der Literatur (KING 1976; TRIBE 1978; SHIMWELL et al. 1979). Zudem werden Vitamin D3-Hypovitaminosen infolge eines inadäquaten Lichtspektrums künstlicher Lichtquellen diskutiert (IALEGGIO u. BAKER 1995). Dies steht im Widerspruch zu einer These von KING (1976), welche besagt, dass eine Vitamin D3-Hypervitaminose in Verbindung mit einer Futtersupplementierung das WMS auslösen kann.

Primär virale und bakterielle Ursachen für das WMS können aufgrund des im Großteil der Fälle fehlgeschlagenen spezifischen Erregernachweises weitestgehend ausgeschlossen werden (BRACK u. ROTHE 1980; CHALIFOUX et al. 1982; TUCKER 1984; ZÖLLER 2005). Allerdings zeigen die im Rahmen einer Studie gewonnenen Daten eine deutliche Verschiebung der intestinalen Mikroflora zugunsten anaerober Bakterien bei an WMS erkrankten Tieren im Vergleich zu gesunden Tieren (LEWIS et al. 1987). Diese Verschiebungen des Keimspektrums dürften einen begünstigenden Einfluss auf die Pathogenese des WMS haben.

Von einigen Autoren wird eine Assoziation zwischen dem WMS und parasitären Infektionen diskutiert. Genannt werden in erster Linie Infektionen mit Nematoden der Spezies *Trichospirura leptospoma* (BEGLINGER et al. 1988; PFISTER et al. 1990; POTKAY 1992). Ein Befall des Pankreas mit *Trichospirura leptospoma* führt zu einer Destruktion des Pankreasgewebe mit resultierender Pankreashypofunktion, wodurch es zu einem dem WMS ähnlichen Krankheitsbild kommt. Bisweilen können auch Protozoen der Spezies *Giardia*

lamblia im Kot von erkrankten Weißbüschelaffen nachgewiesen werden. Hierbei handelt es sich um einen pathogenen Erreger mit zoonotischem Potential, der schwere Enteriden hervorrufen kann (QUOHS 2003; ZÖLLER 2005).

Auch ethologischen Faktoren wird ein gewisser disponierender Einfluss in Bezug auf die Pathogenese des WMS zugeschrieben. Vor allem sind hier der Geburtsstress bei züchtenden weiblichen Tieren, der so genannte „intergroup stress“ infolge einer zu hohen Populationsdichte (IALEGGIO u. BAKER 1995) und der Stress infolge von Dominanzverhalten und Mobbing (BARNARD et al. 1988) zu nennen. Auch der durch nicht artgerechte Haltung (zu kleine Käfige und fehlende Käfigeinrichtung) erzeugte Stress ist als disponierender Faktor für das WMS zu betrachten (TRIBE 1978; POTKAY 1992).

Hinweise auf eine genetische Komponente des WMS konnte lediglich KING (1976) bei der Untersuchung seiner Krallenaffenkolonie erkennen. Die Ergebnisse anderer Studien zeigten keine Anhaltspunkte für eine familiäre Häufung des Auftretens dieser Krankheit (BRACK u. ROTHE 1980; MURGATROYD u. CHALMERS 1980; ZÖLLER 2005). Aufgrund der Tatsache, dass es sich um eine Einzeltierkrankung handelt, geht MORIN (1983) jedoch von einer Beteiligung genetischer Faktoren aus.

2.3 Nierenveränderungen bei Weißbüschelaffen

Im Rahmen postmortaler Untersuchungen werden bei Weißbüschelaffen mit, aber auch ohne WMS regelmäßig bilateral gleichartig auftretende Nierenveränderungen im Sinne von progressiven Nephropathien beschrieben (BRACK et al. 1999). Makroskopisch treten diese nur in ausgeprägten Fällen in Form einer blassen Färbung des Parenchyms und einer unregelmäßigen, granulierten Oberfläche in Erscheinung (BRACK u. ROTHE 1981).

Die in der Literatur beschriebenen histopathologischen Befunde lassen sich in interstitielle, tubuläre und glomeruläre Alterationen einteilen. Vor allem im kortikomedullären Bereich finden sich häufig interstitielle Nephritiden, welche durch mononukleäre bis gemischtzellige, interstitielle Entzündungszellinfiltrate gekennzeichnet sind. Teilweise werden diese auch von fokalen Verkalkungsherden und interstitieller Fibrose begleitet. Parallel können im Bereich des tubulären Systems dilatative Prozesse, Proteinzylinder sowie geringgradige entzündliche Infiltrate beobachtet werden (BRACK u. ROTHE 1981; TUCKER 1984; BEGLINGER et al. 1988; POTKAY 1992; SAINSBURY et al. 1992). Liegen entsprechende Veränderungen gleichzeitig im Bereich des Interstitiums und der Tubuli vor, so kann von einer tubulointerstitiellen Nephritis gesprochen werden.

Bei einer hohen Zahl von Weißbüschelaffen weisen die Glomerula eine von entzündlichen Prozessen begleitete Proliferation des Mesangiums im Sinne mesangioproliferativer Glomerulonephritiden auf. Diese äußert sich in Form eines vermehrten, fokalen bis diffusen und segmentalen bis globalen Nachweises mesangialer Matrix, der in der Regel mit einer Hyperplasie der Mesangiumszellen (mesangiale Hyperzellularität) einhergeht. Hierbei ist

anzumerken, dass für die vorliegende Arbeit die in der Humanmedizin gängige Terminologie zur histopathologischen Beschreibung glomerulärer Strukturen verwendet wird. Im Folgenden steht der Begriff fokal somit für Veränderungen, die weniger als 50 %, der Begriff diffus für Veränderungen, die mehr als 50 % aller Glomerula betreffen. Global meint, dass innerhalb eines einzelnen Glomerulums alle Kapillarschlingen und segmental, dass nur einzelne Schlingen betroffen sind (ZHOU et al. 2009). Demgegenüber wird in der veterinärmedizinischen Literatur der Begriff diffus synonym für global verwendet und steht für Alterationen, die alle Kapillarschlingen eines einzelnen Glomerulums betreffen. Sind alle Glomerula bis zu einem gewissen Grad verändert, wird hier von einer generalisierten Form gesprochen (MAXIE u. NEWMAN 2007). Die Entscheidung für die humanmedizinische Definition erscheint aufgrund einer besseren Vergleichbarkeit histopathologischer Befundbeschreibungen sinnvoll.

Bei fortgeschrittenen mesangioproliferativen Glomerulonephritiden lassen sich zusätzlich zu der mesangialen Hyperplasie vermehrt Verwachsungen der Kapillarschlingen mit der Bowman Kapsel (so genannte Synechien) und global sklerotische, in diesem Stadium hypozelluläre Glomerula mit einer partiellen bis vollständigen Obliteration der Kapillaren beobachten (BRACK et al. 1999).

Mit Hilfe von immunohistochemischen Untersuchungen konnten in vorangegangenen Studien Immunkomplexablagerungen im Bereich proliferativ veränderter Mesangien nachgewiesen werden. Hierbei waren in erster Linie die Immunglobulinklassen IgM und IgA vertreten, wobei IgM-Ablagerungen laut BRACK et al. (1999) einen signifikant höheren Anteil ausmachen. SCHRÖDER (SCHRÖDER et al. 1999) vermutete aufgrund einer relativ geringen Kreuzreaktivität zur Verfügung stehender humaner anti-IgA Antikörper mit dem

Nierengewebe von Krallenaffen eine weit höhere Beteiligung von IgA und konnte darstellen, dass die Prävalenz von Proteinurie und Hämoglobinurie bei Tieren mit mesangialen IgA-Ablagerungen höher war als bei solchen ohne. Des Weiteren wurden regelmäßig parallel auftretende mesangiale Ablagerungen des Komplementsfaktors C3 und von einigen Autoren eine Hyperplasie glatter Muskelfasern in den Mesangien beschrieben (EITNER et al. 2001). Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten bei betroffenen Tieren umschriebene, elektronendichte Areale im Bereich proliferativ veränderter Mesangien, welche den Immunkomplexablagerungen entsprechen.

Aufgrund deutlicher Übereinstimmungen mit dem Krankheitsbild der IgA-Nephropathie des Menschen, auf die im Folgenden näher eingegangen werden soll, wurde die Erkrankung als eine IgA-Nephropathie (EITNER et al. 2001) bzw. eine IgA/IgM-Nephropathie (BRACK et al. 1999) eingestuft.

2.4 IgA-Nephropathie des Menschen

Die IgA-Nephropathie des Menschen (IgAN) ist durch IgA-Ablagerungen im Bereich der glomerulären Mesangien definiert, welche von einer mesangioproliferativen Glomerulonephritis begleitet werden. In Ländern, in denen Nierenbiopsien ein gängiges diagnostisches Verfahren sind, stellt sie die häufigste Form primärer Glomerulonephritiden dar (BARRATT u. FEEHALLY 2005). Das klinische Erscheinungsbild der IgAN ist sehr variabel und spiegelt in Bezug auf den zeitlichen Verlauf und den Schweregrad die Ausprägung der histopathologischen Schädigungen wider. So resultiert die IgAN bei 15 % bis 20 % aller betroffenen Patienten in einer chronischen Niereninsuffizienz, die sich

typischerweise langsam über einen Zeitraum von etwa zehn Jahren entwickelt und im Endstadium eine Nierentransplantation nötig macht (D'AMICO 2004).

2.4.1 Ätiologie der primären IgAN

Die Ätiologie der IgAN ist bis heute zu großen Teilen unklar. Es scheint eine Assoziation des Ausbruches dieser Erkrankung mit vorangegangenen Pharyngitiden, Gastroenteritiden und Pneumonien zu existieren, was einen kausalen Zusammenhang mit verschiedenen Infektionserregern vermuten lässt. Diskutiert werden sowohl virale (z.B. Cytomegalievirus, Adenovirus, *Herpes simplex*-Virus etc.) als auch bakterielle Erreger (z.B. *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus parainfluenza* etc.). Die Seren betroffener Patienten weisen häufig entsprechende positive Antikörpertiter auf, eine klare kausale Verbindung der IgAN insbesondere zu Virusinfektionen ist jedoch inkonstant und wird kontrovers diskutiert (ZHOU et al. 2009). Regelmäßigere Übereinstimmungen finden sich bezüglich des Nachweises sowohl serologischer als auch glomerulärer bakterieller Antigene und der Ausbildung der IgAN. So konnte gezeigt werden, dass bei etwa 70 % aller Patienten gleichzeitig glomeruläre Ablagerungen von *Staphylococcus aureus*-Antigenen und IgA vorliegen (KOYAMA et al. 2004).

Ähnlich wie bei dem WMS werden bezüglich der Ätiologie der IgAN auch diätetische Auslöser diskutiert. In erster Linie ist auch hier eine Unverträglichkeit des bereits zuvor erwähnten getreideassoziierten Proteins Gliadin zu nennen. So werden Anti-Gliadin-Antikörper gelegentlich bei IgAN-Patienten nachgewiesen, was für einen gewissen ätiologischen Einfluß der Glutenintoleranz, Zöliakie, bei der IgAN sprechen könnte (ZHOU et al. 2009).

Die IgAN des Menschen weist ein gehäuftes Auftreten innerhalb verschiedener ethnologischer Bevölkerungsgruppen auf, weshalb von einer genetischen Komponente bezüglich ihrer Ätiologie auszugehen ist. Es wird vermutet, dass ein autosomal dominanter Erbgang mit unvollständiger Ausprägung vorliegt. Ein einzelnes verantwortliches Gen konnte jedoch nicht identifiziert werden, so dass von einem komplexen, polygenen Geschehen auszugehen ist (ZHOU et al. 2009).

2.4.2 Pathogenese der primären IgAN

Die pathophysiologischen Mechanismen der IgAN sind ebenfalls bis zum heutigen Tag nicht vollständig geklärt. Es handelt sich um extrem komplexe Abläufe, die zu großen Teilen spekulativ sind. Die im Folgenden beschriebenen Prozesse stellen die Zusammenfassung vorliegender Studien durch ZHOU et al. (2009) dar und sind der Versuch einer plausiblen und wahrscheinlichen Erklärung der pathogenetischen Prozesse der IgAN.

Das humane IgA wird in zwei Subklassen unterteilt, das IgA1 und IgA2. Beide Klassen kommen sowohl in monomerer als auch polymerer (Verbindung von zwei oder mehr monomeren IgA über J Ketten) Form vor. IgA1 ist im Gegensatz zu IgA2 ausgeprägt glykosyliert und besteht zu ungefähr 8 % aus Kohlenhydraten.

Zudem unterscheidet man in der Darmschleimhaut gebildetes, mukosales IgA von primär im Knochenmark gebildetem, systemischem IgA. Bei dem von mukosalen Plasmazellen gebildeten IgA handelt es sich fast ausschließlich um polymeres, bei dem systemischen IgA fast ausschließlich um monomeres IgA1 und IgA2. Die Produktion mukosalen IgA wird maßgeblich durch die Sekretion des Zytokins TGF- β durch spezielle T-Zellen ($\gamma\delta$ T-Zellen) reguliert. Normalerweise existiert eine komplexe Verbindung der immunologischen Prozesse

zwischen der Darmschleimhaut und den anderen immunologischen Kompartimenten des Körpers, die einen informativen Austausch und somit die Ausbildung einer oralen Toleranz ermöglicht. Mukosale Antigen spezifische T-Zellen wandern hierfür in Milz, Lymphknoten und tonsillares Gewebe ein und unterdrücken dort eine mögliche systemische Immunantwort gegen entsprechende mukosale Antigene. Auf diese Weise wird eine systemische Reaktion gegen nutritive Antigene und Antigene bakterieller Darmkommensalen verhindert.

Es wird vermutet, dass dieser Informationsaustausch zwischen mukosalem und systemischem Immunsystem bei an IgAN erkrankten, genetisch prädisponierten Patienten gestört ist. Infolge einer gestörten mukosalen Permeabilität und Immunität könnte es zu einer abnormalen Einwanderung von mukosal aktivierten CD4-Zellen in das Knochenmark kommen, welche dort lokalisierte naive B-Zellen zu einem IgA-Klassenwechsel stimulieren. Parallel wird bei IgAN-Patienten eine deutliche Proliferation zirkulierender, normalerweise schleimhautspezifischer $\gamma\delta$ T-Zellen mit resultierenden erhöhten TGF- β -Spiegeln beschrieben, welche ihrerseits einen IgA-Klassenwechsel von B-Zellen des Knochenmarks stimulieren können (TOYABE et al. 2001). Dies könnte zu einer Proliferation von Plasmazellen, die polymeres IgA1 (pIgA1) sezernieren, und somit zu erhöhten Spiegeln von zirkulierendem, überwiegend aberrant glykosyliertem pIgA1 führen. Infolge der gestörten Glykosylation neigen zirkulierende pIgA1 zur Selbstaggregation und fungieren ihrerseits als so genannte Neoantigene, wodurch es zu der Entstehung von zirkulierenden Makromolekülen mit herabgesetzter Clearance kommt. Diese Makromoleküle können die glomerulären Endothelien und Basalmembranen durchdringen und werden über spezielle IgA-Bindungsrezeptoren von Mesangiumszellen phagozytiert. Verschiedene Faktoren wie eine reduzierte anionische elektrostatische Ladung, die Molekülgröße und eine erhöhte Affinität der mesangialen IgA-Rezeptoren für aberrant glykosyliertes pIgA1 unterstützen diesen

Prozess. Die Mesangiumszellen werden aktiviert und reagieren mit einer vermehrten Produktion mesangialer Matrix und zellulärer Proliferation. Durch die Aktivierung des Komplementsystems auf dem alternativen- und/oder dem Lektinweg (seltener auch dem klassischen Weg) und der Freisetzung leukotaktischer Faktoren kommt es zu der Ausbildung einer Glomerulonephritis mit Schädigung der glomerulären Basalmembranen und einer daraus resultierenden gestörten glomerulären Permeabilität. Im weiteren zeitlichen Verlauf können sekundäre Alterationen wie tubuläre Atrophie und interstitielle, fibrosierende Nephritiden beobachtet werden (BARRATT et al. 2007).

Für eine ausführlichere Beschreibung diskutierter pathophysiologischer Prozesse der IgAN sei auf die angegebenen Literaturstellen verwiesen.

3 Eigene Untersuchungen:

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Tiere einschließlich Haltungsbedingungen

Zur pathologischen Untersuchung kamen 47 Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*), welche zuvor die klinisch charakteristische Symptomatik des WMS gezeigt hatten und aufgrund infauster Prognose aus tierschutzrelevanten Gründen euthanasiert wurden. Die Tiere entstammten zum einen der Kolonie des Deutschen Primatenzentrums, zum anderen einer externen Einrichtung, die im Folgenden aus datenschutzrechtlichen Gründen nur „externe Kolonie“ wird. Aufgrund der unterschiedlichen Herkunft und damit möglicherweise verbundener abweichender Haltungsbedingungen erfolgte eine Gruppierung der Tiere in die Untersuchungsgruppe I (n=24), welche die aus dem DPZ stammenden Weißbüschelaffen umfasst, und eine Untersuchungsgruppe II (n=23), bestehend aus den Tieren aus der externen Kolonie. Einen Überblick über die verschiedenen Tiergruppen bietet die Tabelle 11 im Anhang unter 8.1.1.

Der Identifizierung von erkrankten Tieren aus der Weißbüschelaffenkolonie des DPZ dienten die regelmäßig von geschultem Fachpersonal durchgeführten Gesundheitsscreenings, welche neben der Erfassung anderer klinischer Parameter die Durchführung und Dokumentation von Gewichtskontrollen beinhalten. Auf diese Weise lagen für jedes in dieser Studie verwendete Tier genaue Daten zu den individuellen Gewichtsverläufen vor. Bei deutlichen Gewichtsverlusten über einen längeren Zeitraum bzw. dramatischen Gewichtsverlusten innerhalb weniger Tage wurde in den meisten Fällen eine Therapie eingeleitet. Diese

umfasste die Verabreichung von hochkalorischem Extrafutter wie Nutri-Cal® (Fa. Albrecht, Aulendorf) und/oder Ensure® (Fa. Abbott Laboratories, Illinois, USA), Amynin® Infusionslösung (Fa. Merial GmbH, Hallbergmoos, 0,5 ml/Tier), Catosal® 100/0,05 mg/ml Injektionslösung (Fa. Bayer AG, Leverkusen, 0,5 ml/Tier), androgenen Steroiden (Deka-Durabolin® 200 mg, Fa. Organon GmbH, Oberschleißheim, 0,05 ml/Tier) und Glucocorticoiden (Prednisolon 1 % Injektionssuspension, Fa. CP-Pharma®, Burgdorf, 0,1 ml/Tier). Bei wässrigem oder flüssigem Durchfall erfolgte zudem eine gezielte Antibiose entsprechend der Resistenzlage mit Enrofloxacin (Baytril® 2,5 %, Fa. Bayer AG, Leverkusen, 0,1 ml/Tier), Marbofloxacin (Marbocyl® 2%, Fa. Vetoquinol®, Ravensburg, 0,1 ml/Tier) oder Cefquinom (Cobactan® 2,5% Injektionssuspension, Fa. Intervet, Unterschleißheim, 0,1 ml/Tier). Einer vergleichbaren regelmäßigen adspektorischen Kontrolle unterlagen auch die Weißbüschelaffen der externen Kolonie. Die klinische Verdachtsdiagnose WMS wurde ausgesprochen, wenn folgende Kriterien erfüllt waren:

- Adulte Tiere zeigen einen Gewichtsverlust von mehr als 50 g innerhalb weniger Tage, bzw. einen stetigen Gewichtsverlust über einen längeren Zeitraum bis hin zu einem Finalgewicht von unter 300 g bei unveränderter Futteraufnahme;

oder

- Juvenile und subadulte Tiere zeigen deutliche Entwicklungsstörungen und eine mangelhafte Gewichtsentwicklung;

und

- Es liegt eine vollständige Therapieresistenz vor bzw. nach kurzfristigen therapeutischen Besserungen treten Rezidive auf (ZÖLLER 2005).

Die Diagnose des WMS galt als bestätigt, wenn bei der pathologisch-anatomischen und der histopathologischen Untersuchung bis auf chronisch entzündliche Alterationen im Bereich des Darmtrakts und eventuellen glomerulären und interstitiellen Veränderungen im Bereich der Nieren kein weiteres prägnantes Krankheitsgeschehen festgestellt werden konnte.

Die 24 aus der Kolonie des DPZ stammenden erkrankten Weißbüschelaffen waren in einem Alter zwischen einem und neun Jahren. Bei 16 dieser Weißbüschelaffen handelt es sich um retrospektive Fallaufarbeitungen aus den Jahren 2003 und 2005, welche bereits Teil einer Studie zur pathomorphologischen Untersuchung des WMS waren. Weitere acht Tiere kamen im Zeitraum von 2006 bis Anfang 2007 zur Sektion.

Die Euthanasie und vollständige pathologische Untersuchung von 23 erkrankten Tieren aus der externen Kolonie im Alter zwischen 0,8 und sechs Jahren erfolgte ebenfalls am DPZ. Bei fünf dieser Tiere handelt es sich wiederum um retrospektive Fallaufarbeitungen aus dem Jahr 2004. Die restlichen 21 Tiere wurden im Sommer 2006 im Rahmen der vorliegenden Studie am DPZ untersucht.

Als Kontrollgruppe dienten elf als klinisch und pathologisch-anatomisch unauffällig eingestufte Weißbüschelaffen im Alter zwischen 0,7 und 8 Jahren. Sieben dieser Tiere stammten aus der Kolonie des DPZ, vier aus der externen Kolonie. Die Euthanasie erfolgte im Rahmen von umfangreichen Organentnahmen für unterschiedliche wissenschaftliche Untersuchungen, wobei die exenterierten Nieren für das vorliegende Projekt zur Verfügung gestellt wurden.

Zusätzlich wurden die Nieren von zwei weiteren Weißbüschelaffen aus dem DPZ, welche im Zeitraum von 2007 bis 2009 euthanasiert wurden, untersucht. Beide Tiere hatten zum Zeitpunkt der Euthanasie ein fortgeschrittenes Alter von zehn (K 2086) und elf (K 2096) (siehe Tabelle 12 im Anhang) Jahren erreicht und zeigten ausgeprägte klinische und pathologisch-anatomische Nierenbefunde, wobei das jeweilige Krankheitsbild nicht eindeutig dem WMS zugeordnet werden konnte. Im Rahmen dieses Dissertationsvorhabens werden sie deshalb als separate Fallberichte behandelt und sind aus der statistischen Datenanalyse ausgeschlossen.

Die aus der Zuchtkolonie des DPZ stammenden Weißbüschelaffen sind in einem innenräumigen Haltungssystem untergebracht. Hier werden sie in Familiengruppen mit einem züchtenden Paar und dem jeweiligen Nachwuchs gehalten. Innerhalb eines Raumes befinden sich bis zu zehn begehbare Käfige (Maße: 1 m Tiefe x 1 m Breite x 2,5 m Höhe). Die Haltungseinrichtungen, welchen eine Futterküche, ein Vorratsraum und ein Raum zur tierärztlichen Betreuung angeschlossen sind, sind ausschließlich über ein Schleusensystem mit strikter Trennung von reiner und unreiner Seite betretbar.

Jungtiere verbleiben nach der Geburt etwa drei Monate bei ihren Elterntieren, um dann in eine Jungtiergruppe umgesiedelt zu werden. Für diese Jungtiergruppen stehen Raumkäfige mit einer Grundfläche von 6 m² zur Verfügung. Die Weißbüschelaffen aus den Versuchstierkolonien des DPZ werden paarweise in Innenkäfigen mit einer Größe von 81 x 53 x 130 cm oder 70 x 50 x 125 cm gehalten.

Alle Käfigtypen sind mit als Klettereinrichtung installierten Baumstämmen und Ästen ausgestattet. Die Imitation von Tageslicht erfolgt mit Hilfe von UV-Lampen, die von morgens 6:30 Uhr bis abends 19:30 Uhr in Betrieb sind. Das Klima ist mit einer konstanten Temperatur von 26°C Grad und einer Luftfeuchtigkeit von 60 % den natürlichen Umweltbedingungen der Weißbüschelaffen angepasst.

Die Fütterung erfolgt, abgesehen von Sonntagen, an denen lediglich einmal gefüttert wird, zweimal täglich morgens um 07:00 Uhr und mittags um 12:00 Uhr. Bei der morgendlichen Fütterung erhalten die Tiere einen aus *Gummi arabicum*, Früchten, Mineralstoffmischungen, verschiedenen Vitaminen, Getreidesorten und Ölen zusammengesetzten und jeweils frisch angemischten Brei (genaues Rezept siehe Anhang 8.2). Der mittägliche Futterplan besteht aus täglich variierenden Zusammensetzungen von Bananen, anderen Früchten, Gemüse, Zwieback, Hühnerfleisch, Katzenfutter, Reis, Nudeln und Eiern. Samstags erfolgt zudem eine Fütterung von Krallenaffenpellets (Alleinfutter für Marmosetten, Fa. Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest) zusammen mit einer Körnermischung und Brot. Wasser bzw. Tee sind zu jederzeit *ad libitum* verfügbar.

Die Haltungsbedingungen in der externen Kolonie zeigen im Vergleich zu denen im DPZ keine bedeutenden Unterschiede. Anzumerken ist jedoch, dass die Ernährung der Weißbüschelaffen vorwiegend auf einer *ad libitum*-Fütterung von Krallenaffenpellets basiert, welche durch Früchte, mit *Gummi arabicum* und Enteroferment angereichertem Brei, Hühnerfleisch und Zwieback ergänzt wird. Zusätzlich erhalten alle Tiere einmal wöchentlich einen 1 cm langen Streifen Nutri-Cal® (Fa. Albrecht, Aulendorf).

3.1.2 Narkosetechnik, Blutentnahme und Euthanasie

Die in die vorliegende Studie aufgenommenen erkrankten Weißbüschelaffen aus dem DPZ und der externen Kolonie wurden aufgrund infauster Prognose im Rahmen einer Sektion euthanasiert. Dafür wurden sie zunächst mit der „Göttinger Mischung II“ (0,1 mg/kg KGW i.m.; genaue Zusammensetzung siehe Anhang 8.7) narkotisiert. Der Tod wurde mit einer überdosierten intrakardialen Injektion von Pentobarbital-Natrium (Narcoren®, ca. 150 mg/kg KGW) herbeigeführt. Parallel zur Euthanasie erfolgte bei einem Großteil der Tiere eine intrakardiale Blutentnahme mit Hilfe des BD Vacutainer® Systems (Fa. BD Diagnostics, Franklin Lakes, USA). Bei den Kontrolltieren mit der G-Nummer 7531 und 7532 wurde das gleiche Protokoll eingehalten.

3.1.3 Sektion und Probengewinnung

Der Euthanasie und Blutentnahme folgte ein standardisierter Sektionsgang, welcher die detaillierte Beschreibung aller makroskopischen Befunde sowie deren Dokumentation in einem Sektionsprotokoll umfasste. Zudem wurde ein umfangreiches Organspektrum in Form von repräsentativen Gewebeproben zur weiterführenden histopathologischen Untersuchung entnommen und in 10 %igem, neutral gepuffertem Formalin fixiert.

Von den exenterierten Nieren wurden die Bindegewebskapseln abgezogen, wobei insbesondere auf einen möglichen Substanzverlust, der auf bestehende Adhäsionen und Fibrosierungen hindeutet, geachtet wurde. Es erfolgte eine Halbierung der Nieren mit longitudinaler Schnittführung über die Konvexität und Eröffnung des Nierenbeckens. Zwei Nierenhälften wurden zusammen mit den anderen Proben in 10 %igem neutral gepuffertem Formalin fixiert. Das restliche Nierengewebe wurde gleichmäßig aufgeteilt und die einzelnen

Anteile wurden in 4 %igem gepuffertem Formalin für weiterführende immunhistochemische Untersuchungen und in 2,5 %igem gepuffertem Glutaraldehyd zur transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchung fixiert (Protokolle der Fixierlösungen siehe Anhang 8.3.3). Die in Glutaraldehyd verbrachten Proben wurden zwecks schnellerer Fixierung zuvor auf eine Kantenlänge von maximal 3 x 3 mm zerkleinert und bis zu ihrer weiteren Verwendung nach höchstens einer Woche bei 4°C im Kühlschrank gelagert. Ein Nierenviertel wurde zudem in flüssigem Stickstoff eingefroren und darauf bei – 80°C kryokonserviert.

3.1.4 Mikrobiologische und parasitologische Untersuchung

Zur Erfassung möglicherweise am Krankheitsgeschehen beteiligter Infektionserreger erfolgte im Rahmen der Sektionen eine mikrobiologische und parasitologische Untersuchung.

Für die mikrobiologische Untersuchung wurden unmittelbar nach Eröffnung des Tierkörpers mit sterilem, zuvor abgeflamtem Sektionsbesteck Inzisionen in Leber, Milz, Nieren, Herz, Lunge sowie in Dünn- und Dickdarm gesetzt. Jeder Inzision folgte unmittelbar ein Abstrich des eröffneten Parenchyms mit Hilfe einer sterilen Impfkantüle. Dieser wurde auf einer Blutagarplatte ausgestrichen. Zur Erfassung eines möglichst breiten intestinalen Keimspektrums wurden zudem Salmonellen-, Campylobacter- und Mac Conkey-Agar-Platten sowie eine Salmonellen-Anreicherungsbouillon mit Abstrichen aus Dünn- und Dickdarm beimpft (Rezepte zum Ansetzen der Nährmedien siehe Anhang 8.6.1).

Für den Nachweis einer eventuellen parasitären Infektion wurden Nativpräparate in Form kleiner Mengen Dünn- bzw. Dickdarmkots, die mit einem Tropfen Wasser vermischt und auf

Objektträger verbracht wurden, lichtmikroskopisch untersucht. Lag der Nachweis von protozoären oder amöboiden Erregerstrukturen vor, so wurden Färbungen mit Methylblau und Lugolscher Lösung (Protokolle siehe Anhang 8.6.2) zur besseren morphologischen Beurteilung und Identifizierung der jeweiligen Erreger angefertigt. Bei Verdacht auf das Vorhandensein von Amöben und/oder Kryptosporidien wurden in einzelnen Fällen ELISAs zum spezifischen Nachweis von *Entamoeba histolytica* und *Cryptosporidium sp.* nach Angaben des Herstellers (ProSpecT® Cryptosporidium Microplate Assay, ProSpecT® Entamoeba histolytica Microplate Assay, Fa. Alexon-Trend, Minnesota, USA) durchgeführt.

3.1.5 Urinuntersuchung

Bei 13 der untersuchten Weißbüschelaffen wurden im Rahmen der Sektion Urinproben durch Punktion der Harnblase *in situ* gewonnen. Teile des Urins wurden mit Hilfe eines Combur®-Teststreifens (Combur®-Test Produkt Linie, Fa Roche) nach Angaben des Herstellers untersucht, beurteilt und dokumentiert. Da in der Literatur keine Urinreferenzwerte für Weißbüschelaffen vorliegen, wurde sich hierbei auf die vom Hersteller angegebenen humanen Referenzwerte bezogen. Eine weitere in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß aufgefangene Urinprobe wurde in flüssigem Stickstoff gefroren und bei -80°C kryokonserviert. Die eingefrorenen Proben der Weißbüschelaffen mit den G-Nummern 7415, 7390 und 7433 wurden später für eine weiterführende quantitative Analyse der Gehalte von Gesamtprotein, Kreatinin und Albumin an das Zentrallabor der Universitätsklinikums Göttingen gesandt.

3.1.6 Blut- und Serumuntersuchung

Die gewonnenen Blutproben wurden zu einem Teil für die Erstellung eines Differentialblutbildes in mit Kalzium-Ethylendiamintetraazetat (Ca-EDTA) als Antikoagulanzen

versetzte Röhrchen aufgefangen. Das restliche Blut wurde möglichst bald nach der Entnahme zentrifugiert und das so gewonnene Serum daraufhin auf diverse klinisch-chemische Parameter hin untersucht. Die hämatologische und serologische Untersuchung erfolgte ebenfalls im Zentrallabor des Göttinger Universitätsklinikums. Bei den retrospektiven Fallaufarbeitungen wurden die Differentialblutbilder teilweise auch mit Hilfe einer Neubauer-Zählkammer im DPZ erstellt. Als Referenzwerte der Differentialblutbilder und der klinischen Chemie dienen die von PRYCE et al. (1997) und FORTMAN et al. (2001) veröffentlichten Werte für Weißbüschelaffen in menschlicher Obhut.

3.1.7 Kunststoffeinbettung und Herstellung der histologischen Schnitte

Um die im Rahmen des vorliegenden Projekts mit besonderem Fokus untersuchten Nierenglomerula besser beurteilen zu können, erfolgte eine Kunststoffeinbettung von den in 10 %igem, neutral gepuffertem Formalin fixierten Nierengewebeproben. Der Vorteil der Kunststoffeinbettung gegenüber der ansonsten üblichen Paraffineinbettung besteht in der besonderen Härte und Beschaffenheit des eingebetteten Materials, welches die Herstellung von Schnitten mit einer Dicke von ein bis zwei Mikrometer erlaubt. Somit findet sich auf den Gewebeschnitten lediglich eine Zelllage, und ungewollte Überlagerungseffekte werden vermieden.

Für dieses Dissertationsvorhaben wurde das im Vergleich zu älteren Systemen weniger giftige Polymerisationssystem Technovit 7100® der Firma Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, verwendet. Es handelt sich hierbei um den Kunststoff 2-Hydroxyethyl-Methacrylat (GMA), dessen Polymerisation mit Hilfe eines Barbitursäurederivates in Kombination mit Chloridionen und Benzoylperoxid eingeleitet wird. Die Einbettung erfolgte streng nach dem

vom Hersteller vorgegebenen Protokoll (siehe Anhang 8.3.4). Lediglich auf die normalerweise der Entwässerung folgende Präinfiltration und die Aushärtung der Blöcke im Wärmeschrank wurde aufgrund des Hinweises eines Mitarbeiters der Firma Heraeus Kulzer GmbH verzichtet.

Alle Gewebeproben wurden zugeschnitten, in Einbettkassetten verbracht und in einer dreistufigen, aufsteigenden Ethanolreihe entwässert. Hierauf folgte die Infiltration in einem aus drei Komponenten zusammengesetzten Medium über Nacht. Im Anschluss daran wurden die Proben aus den Einbettkassetten herausgenommen und in eine teflonbeschichtete Einbettform (Histoform S®, Fa. Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim), in die zuvor etwa 1 ml der aus dem Infiltrationsmedium und dem Technovit 7100 Härter II bestehenden Einbettflüssigkeit pipettiert wurde, verbracht. Die Polymerisation erfolgte für mindestens zwei Stunden bei Raumtemperatur. Nach Ablauf der Polymerisation wurden die eingebetteten Proben mit Hilfe von speziellen Kunststoffblockhaltern, welche in die Aussparungen der Einbettform gelegt und mit dem Zweikomponentenkleber Technovit 3040® (Fa. Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim) aufgefüllt wurden, aufgeblockt. Die nach drei bis fünf Minuten durch eine Copolymerisation fest verbundenen Kunststoffblöcke und Blockhalter wurden aus den Formen gelöst. Mit Hilfe eines Rotationsmikrotoms Typ 1516 (Fa. Leitz GmbH, Wetzlar) und eines D-Messers wurden ein bis zwei Mikrometer dicke Schnitte hergestellt. Die Schnitte wurden mit einer Pinzette abgenommen, in einem Wasserbad gestreckt, mit Silan beschichteten Objektträgern (HistoBond®, Fa. Paul Marienfeld GmbH, Lauda-Königshofen) aufgenommen und anschließend für mehrere Stunden zur Trocknung in einen 37°C-Wärmeschrank verbracht. Die Lagerung der getrockneten ungefärbten Schnitte erfolgte bei Raumtemperatur.

Da bei dem Tier mit der K-Nummer 2086 kein Formalin-fixiertes Nierengewebe als Nassmaterial vorlag, wurde hier eine Entparaffinierung des vorhandenen Paraffinblocks vorgenommen. Hierfür wurde der Block in einem 60°C warmen Paraffinbad aufgelöst und das entnommene Nierengewebe in eine aufsteigende Alkoholreihe (1 Stunde Isopropanol, 45 min Isopropanol, jeweils 15 min Ethanol 100 %, 96 %, 80 %, 70 % und 50 %) verbracht. Das auf diese Weise weitestgehend entparaffinierte Nierengewebe wurde entsprechend des oben erläuterten Polymerisationssystems eingebettet.

3.1.8 Paraffineinbettung und Herstellung der histologischen Schnitte

Die im Rahmen der Sektion gewonnenen und in 10 bzw. 4 %iges, neutral gepuffertes Formalin verbrachten Gewebeproben wurden nach einer minimalen Fixationszeit von 24 Stunden zugeschnitten und in Einbettkassetten gelegt. Die Einbettung selbst erfolgte mit Hilfe eines Einbettautomaten (Shandon Excelsior ES, Fa. Thermo Scientific, Walldorf) nach laborüblichem Protokoll (siehe Anhang 8.3.1). Darauf wurden die Proben unter Verwendung einer Paraffinausgießstation (EC 350-1, Fa. Microm international GmbH, Walldorf) ausgegossen und in passenden Stahlblechformen aufgeblockt. Die ausgehärteten Blöcke wurden aus den Formen gelöst und auf Eis gelegt. Anschließend wurden an einem Schlittenmikrotom ca. 3 µm dicke Schnitte angefertigt. Diese wurden mit Hilfe eines zuvor in Eiswasser gelagerten Streifens Durchschlagpapier abgenommen, zur faltenfreien Ausdehnung in ein 40°C warmes Wasserbad überführt und mit Standardobjektträgern aufgenommen.

Bei den für die immunhistochemischen Färbungen in 4 %igem Formalin fixierten Gewebeschnitten wurden ebenfalls Objektträger mit silanisierter Oberfläche verwendet. Die Trocknung der Schnitte erfolgte über mehrere Stunden in einem Wärmeschrank bei 37°C.

Hierauf wurden die Paraffinschnitte bis zu ihrer weiteren Nutzung bei Raumtemperatur gelagert.

Für die retrospektiven Falluntersuchungen wurde auf archiviertes Formalin-, Paraffin- und Schnittmaterial zurückgegriffen. Aus den entsprechenden, auch andere Organteile enthaltenden Paraffinblöcken wurden die Nieren herausgelöst, separat aufgeblickt, und es wurden nach dem oben beschriebenen Verfahren histologische Schnitte angefertigt.

3.1.9 Histochemische Verfahren und Färbungen

3.1.9.1 Kunststoffschnitte

Zur Darstellung der Basalmembranen der Nieren und der mesangialen Matrix der Glomerula wurden die nach dem oben geschilderten Verfahren angefertigten Kunststoffschnitte einer Versilberung unterzogen. Hierbei wurde das für nicht-entplastete Kunststoffschnitte modifizierte Protokoll der Movat-Versilberung angewandt (siehe Anhang 8.3.5.1). Kritischer Punkt bei diesem Verfahren ist der eigentliche Schritt der Versilberung, der in einem Wärmeschrank bei 60°C in einer frisch angemischten Lösung aus Silbernitrat, Methenamin und Natriumtetraborat erfolgt. Eine erste Kontrolle des Reaktionsstatus erfolgte nach 20 Minuten, weitere Kontrollen jeweils je nach einer bis fünf Minuten. Sobald eine minimale Trübung der Lösung zu beobachten war, wurde die Reaktion sofort durch Verbringung der Kunststoffschnitte in *Aqua dest.* gestoppt und den weiteren Schritten entsprechend des Protokolls zugeführt. Nach der abschließenden Entwässerung im Färbeautomaten (Varistain Gemini, Fa. Thermo Shandon, Frankfurt am Main) wurden die Schnitte mit Eukitt® (Fa. Kindler, Freiburg) eingedeckt.

3.1.9.2 Paraffinschnitte

Die angefertigten Paraffinschnitte der untersuchten Nieren und, soweit vorhanden, der gewonnenen Organspektren, wurden im Färbeautomaten (Varistain Gemini, Fa. Thermo Shandon, Frankfurt am Main) nach dem unter 8.3.5.2 in Anhang zu findenden Protokoll der Hämatoxilin-Eosin-Färbung gefärbt. Ebenfalls im Automaten wurden alle Nierenschnitte einer Periodic-Acid-Schiff (PAS)-Reaktion unterzogen (Anhang 8.3.5.3.).

Weiterführende histochemische Verfahren wurden per Hand nach den laborüblichen Protokollen durchgeführt. Zum Nachweis von dreiwertigen Eisenionen erfolgte eine Berliner-Blau-Reaktion nach Perls (Anhang 8.3.5.4), dem Nachweis der Ablagerungen von Kalzium und Kalziumsalzen diente die von Kossa-Versilberung (Anhang 8.3.5.5). Des Weiteren wurden zur besseren Darstellung der mesenchymalen Gewebestrukturen eine Trichromfärbung nach Masson-Goldner (Anhang 8.3.5.6) sowie eine Kongorot-Färbung zum Nachweis möglicher Amyloidablagerungen (Anhang 8.3.5.7) angefertigt. Für die Berliner-Blau-Reaktion, Kossa-Versilberung und Kongorot-Färbung wurden jeweils entsprechende Positivkontrollen mitgeführt.

3.1.10 Immunhistochemische Färbungen

Für die Darstellung von glomerulären Immunkomplex- und Komplementfaktorablagerungen erfolgte eine immunhistochemische Untersuchung mit den polyklonalen Primärantikörpern Rabbit Anti-Human IgA (Fa. DakoCytomation, Dänemark), Rabbit Anti-Human IgM (Fa. DakoCytomation, Dänemark) und Rabbit Anti-Human C3c Complement (Fa. DakoCytomation, Dänemark). C3c-Komplement ist das stabile Umwandlungsprodukt des Komplementfaktors C3. Unter Verwendung der indirekten SABC (Streptavidin-Biotin-

Komplex)-Methode und DAB (3,3'-Diaminobenzidin) als Chromogen wurden hierfür in 4 %igem, neutral gepuffertem Formalin fixierte Paraffinschnitte verwendet. Die Sekundäntikörper wurden nach den Angaben des Herstellers ausgesucht. Für die retrospektiven Fälle musste auf in 10 %igem, neutral gepuffertem Formalin fixiertes Gewebe zurückgegriffen werden. Mögliche hierdurch bedingte Artefakte wurden bei der Auswertung berücksichtigt.

Um ein bestmögliches Reaktions- und Färbeergebnis zu erreichen, wurden zuerst an ausgewählten entparaffinierten und dehydrierten Nierenschnitten unterschiedliche Vorbehandlungen zur Antigendemaskierung sowie Antikörperverdünnungsreihen getestet. Für alle drei Antikörper wurden folgende Vorbehandlungen evaluiert:

- eine Minute Hitzevorbehandlung in Zitratpuffer (siehe Anhang 8.4.1) mit Hilfe eines Schnellkochtopfes
- fünf Minuten Hitzevorbehandlung
- eine Minute Hitze- und Proteasevorbehandlung
- fünf Minuten Hitze- und Proteasevorbehandlung
- nur Proteasevorbehandlung
- keine Vorbehandlung

Während die Hitzebehandlung im Schnellkochtopf manuell durchgeführt wurde, erfolgte die Proteasevorbehandlung nach dem Einspannen der Schnitte durch Auswahl des entsprechenden Protokolls in dem NexES-IHC Färbemodul (Fa. VENTANA, Illkirch, Frankreich). In diesem Färbemodul fanden auch die restlichen Reaktionen in automatisierter Form statt. Einzig die Titration der Antikörper wurde manuell ausgeführt. Ausführliche Beschreibungen der einzelnen Reaktionsschritte finden sich im Anhang unter 8.4. Die oben aufgeführten Antikörper wurden testweise in Verdünnungen von 1:100, 1:200, 1:300 1:500, 1:1000, 1:2000 und 1:3000 aufgetragen. Um das Auftreten unspezifischer Bindungen

auszuschließen, wurden in jedem durchgeführten Färbelauf eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitgeführt. Bei der Negativkontrolle wurde statt des Primärantikörpers Phosphatpuffer (PHS) eingesetzt. Als Positivkontrolle für die beiden Immunglobulin-Antikörper diente von Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) stammendes Lymphknotengewebe, für den Anti-C3c Complement Antikörper wurde ebenfalls vom Weißbüschelaffen stammendes entzündlich alteriertes Nierengewebe verwendet. Nach vollständig abgelaufenem Färbelauf wurden die Schnitte in eine aufsteigende Alkoholreihe im Färbeautomaten verbracht, mit Eukitt® (Fa. Kindler, Freiburg) eingedeckt und mit Hilfe eines Lichtmikroskops (Axioplan 2 Imaging, Fa. Zeiss, Oberkochen) ausgewertet.

Aufgrund der Ergebnisse dieser Auswertung wurde für die Anti-Immunglobulinantikörper eine optimale, kombinierte einminütige Hitze- und Proteasevorbehandlung sowie eine Antikörperverdünnung von 1:2000 festgelegt. Da die in 10 %igem Formalin fixierten Schnitte teilweise einen ausgeprägteren unspezifischen Hintergrund aufwiesen, wurde im Einzelfall zusätzlich auch auf eine Verdünnung von 1:3000 zurückgegriffen. Für den Anti-C3c Complement Antikörper wurde dieselbe Vorbehandlung bei einer Verdünnung von 1:3000 festgelegt. Anschließend wurden die Nierenschnitte aller zu untersuchenden Tiere anhand des jeweiligen Protokolls mit jeweils 18 Schnitten und zwei Kontrollschnitten pro Lauf immunhistochemisch gefärbt.

Eine weitere immunhistochemische Färbung erfolgte mit dem monoklonalen Maus Anti-Human Smooth Muscle Actin-Antikörper (α -sma) (Clone 1A4, Fa. DakoCytomation, Dänemark). Der Nachweis von α -Aktin-Protein im Bereich des Mesangiums und Interstitiums spiegelt die Anbildung glatter Muskelfasern wider. Für diesen Antikörper wurde,

entsprechend des Laborstandards, eine einminütige Hitzevorbehandlung im Schnellkochtopf durchgeführt und eine Antikörperverdünnung von 1:200 unter Verwendung des oben genannten Färbemoduls angewandt (genaues Protokoll siehe Anhang 8.4.3).

3.1.11 Einbettung und Schnittherstellung zur ultrastrukturellen Untersuchung

Um die Ultrastruktur der Nierenglomerula und mögliche elektronendichte Immunglobulinablagerungen darstellen zu können, erfolgte bei den Weißbüschelaffen mit den G-Nummern 7389, 7415, 7514 und der K-Nummer 1981 eine transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung. Hierfür wurden die in 2,5 %igem Glutaraldehyd bei 4°C fixierten Nierengewebeproben zuerst entsprechend ihres anatomischen Aufbaus in Nierenrinde, Nierenmark und Nierenpapille zerteilt. Die so gewonnenen Gewebestücke wurden in jeweils fünf ein mm³ große Proben zugeschnitten und anschließend in unterteilten Einbettungskassetten in einem Epon-Gemisch nach LUFT (1961) in dem Lynx-Einbettautomaten (Fa. Leica, Bensheim) anhand des laborüblichen Protokolls (siehe Anhang 8.5.1 und 8.5.2) eingebettet. Die Polymerisation des Epoxidharzes erfolgte nach Verbringung der Proben in Silikonflacheinbettungsformen bei 60°C über einen Zeitraum von 24 Stunden. Nach der erfolgreichen vollständigen Polymerisation wurden die Epon-Blöcke mit einer Fräse (Reichert Ultratrimm, Fa. Leica, Bensheim) auf den Umfang der Probe getrimmt. Die Anfertigung von ca. 0,5 µm dicken Semidünnschnitten erfolgte unter Verwendung eines Diamantmessers (Fa. Diatome, Bienne, Schweiz) am Ultramikrotom (Reichert, Ultracut S, Fa. Leica, Bensheim). Nach dem Aufziehen der Schnitte auf Silan beschichtete Objektträger (HistoBond®, Fa. Paul Marienfeld GmbH, Lauda-Königshofen) wurden diese auf einer Wärmebank einer Methylenblaufärbung nach RICHARDSON et al. (1960) unterzogen (siehe Anhang 8.5.3), mit Eukitt® (Fa. Kindler, Freiburg) eingedeckt und anschließend

lichtmikroskopisch untersucht. Nach Auswertung und photographischer Dokumentation wurden ausgewählte Bereiche für die Anfertigung von Ultradünnschnitten festgelegt und zeichnerisch dargestellt. Hierauf erfolgte eine der Zeichnung entsprechende erneute Trimmung der Blöcke und anschließend die Herstellung von 60 nm bis 80 nm dicken Ultradünnschnitten an dem oben genannten Ultramikrotom, ebenfalls unter Verwendung eines Diamantmessers. Die Ultradünnschnitte wurden auf Kupferobjektträgernetze bzw. Lochblenden (single slot 1 x 2, Fa. Plano, Wetzlar) gezogen und von Hand mit Uranylacetat und Bleizitrat kontrastiert.

Die transmissionselektronenmikroskopische Analyse erfolgte an dem Elektronenmikroskop EM 10C der Firma Zeiss, Oberkochen. Der Fotodokumentation diente eine integrierte Digitalkamera (Slow-scan CCD-Camera for TEM, Fa. Zeiss, Oberkochen) in Kombination mit dem Bildverarbeitungsprogramm iTEM 5.0® (Fa. Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Münster)

3.1.12 Histopathologische und immunhistologische Auswertung

3.1.12.1 Allgemeine histologische Auswertung

Von allen im Rahmen der vorliegenden Studie seziierten Tieren wurden die routinemäßig gewonnenen Organspektren lichtmikroskopisch ausgewertet und die erhobenen Befunde in ein Standarduntersuchungsprotokoll eingetragen. Der Nachweis chronischer und chronisch-aktiver Enteritiden als Hauptbefund diente hierbei der abschließenden Diagnosestellung des WMS.

Die im Fokus der vorliegenden Studie stehenden Nierenveränderungen wurden anhand aller oben aufgeführten histochemischen und immunhistochemischen Färbungen evaluiert. Neben

der HE-Färbung bildeten die paraffineingebetteten PAS-Schnitte und die aus der Kunststoffeinbettung gewonnenen und nach Movat versilberten 1 µm bis 2 µm dicken Schnitte die Basis der histopathologischen Auswertung. Beide Methoden bieten die Möglichkeit einer guten Einschätzung der Verbreiterung von Basalmembranen und der Vermehrung mesangialer Matrix. Die aufgrund ihrer geringen Dicke in der Regel nur aus einer Zellschicht bestehenden Kunststoffschnitte ermöglichen zudem eine klarere Darstellung einzelner Zellstrukturen und somit eindeutiger Aussagen hinsichtlich einer mesangialen bzw. endothelialen Hyperzellularität. Für die Beurteilung von interstitiellen Fibrosen sowie Hämosiderin-, Kalk- und Amyloidablagerungen wurden die unter Punkt 3.1.8 aufgeführten Spezialfärbungen zurate gezogen.

Mit Hilfe des Softwareprogrammes Microsoft® Word 2004 Mac wurde für jedes Tier eine Befundtabelle mit folgenden Parametern erstellt:

- mononukleäre Zellinfiltrate
- polymorphnukleäre Zellinfiltrate
- Pigmentablagerungen
- Atrophie/Degeneration
- Verkalkungsherde
- Hyperämie
- Zunahme der mesangialen Matrix (Sklerose)/Fibrose
- Hyperzellularität
- Proteineinlagerungen
- Synechien (Verwachsungen der Kapillarschlingen mit der Bowman-Kapsel)
- verdickte Basalmembranen
- Dilatation
- weitere Befunde

Diese Parameter wurden für jede der renalen anatomisch-histologischen Strukturen (Interstitium, Tubulussystem, Glomerula und Nierenbecken) einzeln erfasst. Die Auswertung erfolgte semiquantitativ in Graden von null (= negativ) bis vier (= hochgradig). Anhand der auf diese Weise für jedes Tier vorliegenden Befunde erfolgte eine Zuordnung der entsprechenden histopathologischen Diagnosen. Hierbei wurde zwischen interstitieller Nephritis, tubulärer Atrophie, Verkalkungen, interstitieller Fibrose, Hämosiderose und glomerulären mesangioproliferativen Veränderungen unterschieden. Diese Diagnosen wurden zusätzlich einzeln in mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft® Excel® 2004 Mac erstellten Tabellen dokumentiert.

Die Einteilung der interstitiellen Nephritiden erfolgte nach dem in Tabelle 1 dargestellten Bewertungsschema. Der zeitliche Verlauf wurde neben der Beteiligung granulozytärer Entzündungszellen anhand des Vorliegens interstitieller Fibrosen bzw. Ödemen eingestuft.

Tabelle 1: Bewertungsschema zur semiquantitativen Beurteilung interstitieller Nephritiden

Grad	mononukleäre, interstitielle Entzündungszellen	polymorphnukleäre, interstitielle Entzündungszellen	interstitielle/s Fibrose/Ödem
0 = negativ	keine oder vereinzelt	keine	kein/e
1 = minimal	oligofokale Infiltrate mit geringer Zellzahl	keine bis vereinzelte	kein/e bis minimal
2 = geringgradig	multifokale Infiltrate mit geringer bis moderater Zellzahl	keine bis geringe Zellzahl	kein/e bis geringgradig
3 = mittelgradig	multifokale Infiltrate mit moderater Zellzahl	keine bis moderate Zellzahl	minimal bis mittelgradig
4 = hochgradig	multifokale bis diffuse Infiltrate mit hoher Zellzahl	geringe bis hohe Zellzahl	mittel- bis hochgradig

3.1.12.2 Auswertung und Graduierung der Glomerulopathien

Für die Graduierung der Glomerulonephritiden wurde ebenfalls eine separate Excel® Tabelle erstellt. Die Einstufung erfolgte nach der Klassifikation der IgA-Nephropathie des Menschen von HAAS (1997) in Klassen von I bis V anhand folgender Kriterien:

Tabelle 2: Klassifikation der IgA-Nephropathie von HAAS (1997)

	Histopathologische Veränderungen:
Klasse I: Minimale histologische Läsionen	Glomerula zeigen nicht mehr als eine minimale Zunahme der mesangialen Zellularität; ohne segmentale Sklerose, Nekrose oder Halbmondbildung.
Klasse II: Wie Fokal-Segmentale Glomerulosklerose (FSGS)	Glomerula zeigen fokale und segmentale Sklerose (mit oder ohne Hyalinose), wie bei primärer FSGS, bei wenigstens minimaler mesangialer Hyperzellularität und fehlender Halbmondbildung oder Nekrose.
Klasse III: Fokal proliferative Glomerulonephritis	50% oder weniger der Glomerula (ausgeschlossen global sklerotische Glomerula) sind hyperzellulär (segmental oder global). Die Hyperzellularität kann auf das Mesangium beschränkt sein, oder eine endokapilläre Hyperzellularität, Halbmondbildung und Nekrose mit einschließen.
Klasse IV: Diffuse proliferative Glomerulonephritis	Mehr als 50 % aller Glomerula (exkl. global sklerotische Glomerula) sind hyperzellulär. Die Hyperzellularität kann sich auf das Mesangium beschränken oder eine endotheliale Hyperzellularität, Halbmondbildung und Nekrose mit einschließen.
Klasse V: Fortgeschrittene chronische Glomerulonephritis	40 % aller Glomerula oder mehr sind global sklerotisch und/oder es liegt eine mehr als 40 %ige tubuläre Atrophie oder ein Tubulusverlust im Bereich des Kortex vor.

Bei einem internationalen Treffen zur Festlegung eines Konsens bezüglich der pathologischen Klassifikation der IgA-Nephropathie des Menschen, welches im September 2005 in Oxford, Groß Britannien, stattfand, wurden für den Begriff der mesangialen Hyperzellularität wenigsten vier Mesangiumszellen innerhalb eines, nicht im Bereich des Hilus gelegenen,

Glomerulumabschnittes in einem 3 µm dicken Paraffinschnitt als Definition festgelegt (JENNETTE et al. 2007). Da die für dieses Projekt vorliegenden Kunststoffschritte jedoch lediglich eine Dicke von 1 bis 2 µm aufweisen, wurden hier bereits drei Mesangiumszellen pro Glomerulumabschnitt als mesangiale Hyperzellularität eingestuft. Zusätzlich zu den oben aufgeführten Graden wurde ein negativer Befund dem Grad Null zugeordnet.

3.1.12.3 Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Die Auswertung der immunhistochemischen Färbungen erfolgte ebenfalls semiquantitativ in Graden von null bis vier nach den in Tabelle 3 zusammengefassten Kriterien.

Tabelle 3: Graduierung der untersuchten glomerulären Antigenablagerungen

detektierte Antigene	Grad 0	Grad 1	Grad 2	Grad 3	Grad 4
IgA, IgM, C3c, α-sma	kein Nachweis	nur einzelne Glomerula segmental positiv; sehr dünnes, unterbrochenes granuläres Ablagerungsmuster	1-40 % aller Glomerula segmental bis global positiv; wenig dichtes, granuläres Ablagerungsmuster	41-80 % aller Glomerula segmental bis global positiv; relativ dichtes, granuläres Ablagerungsmuster	≥ 81 % aller Glomerula überwiegend global positiv; teilweise sehr dichtes granuläres Ablagerungsmuster

Glomerula, bei denen der Verdacht auf unspezifische Reaktionen vorlag, wurden bei der Auswertung außer Acht gelassen. Mit den Anti-Immunglobulinantikörpern positiv reagierende, interstitiell lokalisierte Lymphozyten sowie ebenfalls angefärbtes, hyalines, proteinreiches Material im Bereich der Nierentubuli und Sammelrohre in Form von Proteinzyllindern und hyalintropfiger Rückresorption dienten als interne Kontrolle, wobei

insbesondere die hyaline Rückresorption zusätzlich als Zeichen einer bestehenden Proteinurie interpretiert werden kann (HAAS 2007).

3.1.13 Fotodokumentation

Die bildliche Dokumentation repräsentativer histopathologischer Veränderungen erfolgte mit Hilfe einer in das Lichtmikroskop Axioplan 2 imaging (Fa. Zeiss, Oberkochen) integrierten Digitalkamera (Axiocam HRc, Fa. Zeiss, Oberkochen) unter Verwendung der Software AxioVision 40 (Version 4.8.0.0, Fa. Carl Zeiss Imaging Solutions GmbH, München). Eine gegebenenfalls erforderliche Bildbearbeitung wurde entweder ebenfalls mit AxioVision oder dem Bildbearbeitungsprogramm Adobe Photoshop® CS (Version 8.0.1, Fa. Adobe Systems Incorporated, USA) durchgeführt.

3.1.14 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurden die Weißbüschelaffen aus den Untersuchungsgruppen I und II sowie die Kontrolltiere berücksichtigt. Die Basis der statistischen Untersuchung bildeten einfache, mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft® Excel® 2004 Mac erstellte Analysen der Geschlechts- und Altersstruktur innerhalb der Gruppen und der Verteilung und Ausprägung bestimmter pathologischer Parameter in absoluter und prozentualer Angabe. Um eine mögliche geschlechts- oder herkunftsbedingte Prädisposition zu untersuchen, wurde ein Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (auch: „Mann-Whitney-U-Test“, „U-Test“, „Wilcoxon-Rangsummentest“) mit Hilfe des Statistikprogrammes Statistica® (Fa. StatSoft (Europe) GmbH, Hamburg) durchgeführt. Bei diesem Test handelt es sich um ein parameterfreies trennscharfes Prüfverfahren für den Vergleich zweier Mittelwerte aus unabhängigen Stichproben bei kontinuierlich verteilten Merkmalen. Nichtparametrisch heißt, dass die zugrunde liegenden Daten nicht normalverteilt sind, so wie es aufgrund der

semiquantitativen pathologischen Auswertung in der vorliegenden Arbeit der Fall ist. Den $n + m$ Messwerten aus beiden Stichproben werden die Rangzahlen Eins bis $(n + m)$ zugeordnet und die Rangsummen für jede Stichprobe werden getrennt berechnet (WIESNER u. RIBBECK 2000).

Der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test wurde auch zur Untersuchung möglicher signifikanter Unterschiede in der Verteilung des Grades der Glomerulonephritiden nach HAAS (1997) und verschiedener histo- und immunhistopathologische Parameter (glomeruläre IgA-, IgM-, C3c- und α -sma-Ablagerungen, sowie interstitielle Nephritis, tubuläre Atrophie, Verkalkungen und Fibrose) innerhalb der verschiedenen Tiergruppen angewandt. Hierbei wurde zum einen die Untersuchungsgruppe I mit der Untersuchungsgruppe II, zum anderen die beiden als eine Gruppe zusammengefassten Untersuchungsgruppen mit der Kontrollgruppe verglichen.

Um eventuelle Korrelationen zwischen der Ausprägung der Glomerulonephritiden und ausgewählten histo- und immunhistopathologischen Parametern (glomeruläre IgA-, IgM-, C3c- und α -sma-Ablagerungen sowie interstitielle Nephritis und tubuläre Atrophie) innerhalb des gesamten untersuchten Tiermaterials und der einzelnen Gruppen nachzuweisen, wurde, ebenfalls mit dem Programm Statistica®, ein Spearman-Rangkorrelationstest durchgeführt. Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman (r_s) ist ein wiederum parameterfreies Maß, mit Hilfe dessen der stochastische Zusammenhang nicht normalverteilter Variablen ausgedrückt werden kann. Die Berechnung erfolgt auf Basis der Rangzahlen, die den ursprünglichen Messwerten zugeordnet sind, bzw. aus den Rangsummen. Die Werte von r_s liegen zwischen minus Eins und plus Eins. Bei $r = 0$ besteht keine Abhängigkeit, bei $r_s = 1$ bzw. $r_s = -1$ hingegen vollständig positive bzw. negative Korrelation (WIESNER u. RIBBECK 2000). Mit Hilfe dieses Tests wurde zudem untersucht, ob eine Korrelation

zwischen der Ausprägung der Glomerulonephritiden und dem der diagnostizierten Enteritiden in den Untersuchungsgruppen I und II besteht.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Pathologisch-anatomische Untersuchung

Bei den aus den Untersuchungsgruppen I (DPZ Tiere) und II (externe Kolonie) stammenden Weißbüschelaffen, die im Zeitraum von 2006 bis 2007 zur Sektion kamen, erfolgte eine umfassende pathologisch-anatomische Untersuchung mit anschließender Dokumentation der Befunde in ein Standardsektionsprotokoll. Für die retrospektiven Fallaufarbeitungen wurde auf die im Archiv verwahrten Sektionsberichte zurückgegriffen.

Als Hauptkriterium für die endgültige postmortale Diagnose des WMS diene der Nachweis chronischer und chronisch-aktiver entzündlicher Darmveränderungen bei deutlichem Gewichtsverlust und ansonsten weitgehend fehlenden klinisch relevanten Befunden.

Bei einem Großteil der Weißbüschelaffen mit der vorberichtlichen Verdachtsdiagnose WMS fielen bereits makroskopisch häufig auftretende gleichartige Befunde im Bereich des Magen-Darmtrakts ins Auge. Diese stellten sich in Form von Hyperämien der Schleimhäute, Infarzierungen der Darmwand sowie einer Aufgasung und Dilatation der Darmschlingen und teilweise auch des Magens dar. Des Weiteren fanden sich lymphatische Hyperplasien der mesenterialen Lymphknoten, Schleimhauthyperplasien und vereinzelt auch Ulzera im Bereich der Schleimhäute in unterschiedlichen Ausprägungsformen. Das Dünndarmlumen war häufig vollständig leer oder enthielt geringe Mengen zumeist dünnflüssigen Inhalts. Bei der Eröffnung des Dickdarms stellte sich der Darminhalt in vielen Fällen dünnbreiig bis breiig dar. Zudem fiel bei einigen Tieren ein von der Ingesta ausgehender, beißender und unangenehmer Geruch auf. Der Perinealbereich war des Öfteren kotverschmiert und es ließen

sich vereinzelt haarlose Areale im Bereich der Schwanzbasis erkennen.

Makroskopische Nierenveränderungen wurden lediglich bei sechs der 47 aus den Untersuchungsgruppen I und II stammenden seziierten Tieren beschrieben. Das Spektrum der Befunde umfasste eine bilaterale, helle, diffuse, kortikale Streifung, eine unregelmäßige, granuläre Oberfläche, geringgradige diffuse Hyperämien, vereinzelte petechiale Blutungen sowie eine zumeist moderate Schwellung und Blässe des gesamten Organs. Bei dem Tier mit der G-Nummer 6931 fielen zudem eine unregelmäßige Oberfläche mit multifokalen Parenchymeinziehungen und geringgradige multifokale Kapseladhäsionen ins Auge. Der Weißbüschelaffe mit der G-Nummer 7439 zeigte eine linksseitige Nierenhypoplasie mit einer im Anschnitt ca. 1 cm großen, flüssigkeitsgefüllten Zyste.

Weitere klinisch relevante makroskopische Befunde fanden sich im Bereich des Blutgefäßsystems und des Skeletts. Eine ausgeprägte Induration und ein Verlust der Wandelastizität großer arterieller Gefäße, welche als vaskuläre Verkalkungen interpretiert wurden, zeigten sich bei drei der untersuchten Weißbüschelaffen (G-Nummer 6694, 6795 und 6869). Bei fünf Tieren wies das knöcherne System, insbesondere im Bereich der Schädelkalotte, eine brüchige, hyperelastische Konsistenz sowie einen reduzierten Durchmesser auf und es fanden sich teilweise rosenkranzartige Aufreibungen der Rippenfugen. Die als Kontrolltiere verwendeten Weißbüschelaffen zeigten keine pathomorphologischen Hauptbefunde.

3.2.2 Altersverteilung und Einteilung in Alterskategorien

Um die Altersstruktur der Untersuchungsgruppen zu analysieren und mögliche altersbedingte Einflüsse auf das Krankheitsgeschehen im Bereich der Nieren untersuchen zu können, wurden die Weißbüschelaffen der Untersuchungsgruppen I und II und der Kontrollgruppe in vier Alterskategorien eingeteilt. Die erste Kategorie umfasst juvenile und subadulte Tiere, die zum Zeitpunkt der Sektion jünger als eineinhalb Jahre waren, Kategorie zwei erfasst eineinhalb bis vier Jahre alte jungadulte Tiere, in der Kategorie drei finden sich adulte Tiere im Alter von fünf bis acht Jahren. Tiere hohen Alters von neun und über neun Jahren wurden der vierten Kategorie zugeordnet. Einen Überblick über die Altersverteilung der einzelnen Gruppen gibt Abbildung 1.

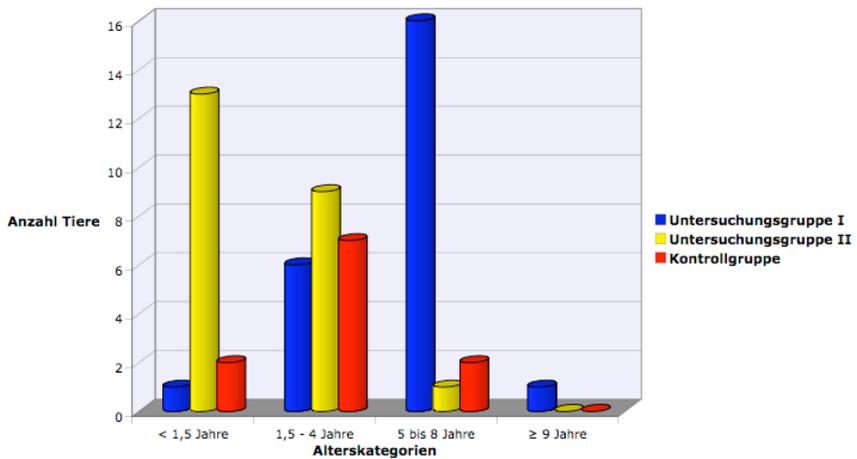


Abbildung 1: Altersstruktur der beiden Untersuchungsgruppen und der Kontrollgruppe im Vergleich.

Die Weißbüschelaffen der Untersuchungsgruppe II waren mit einem überwiegenden Anteil von Jungtieren unter eineinhalb Jahren im Schnitt deutlich jünger als die der

Untersuchungsgruppe I, in der sich hauptsächlich Tiere im Alter von fünf bis acht Jahren fanden. Bei der Kontrollgruppe lag das durchschnittliche Alter im Bereich von eineinhalb bis vier Jahren. Lediglich ein erkrankter Weißbüschelaffe hatte zum Zeitpunkt der Sektion bereits ein Alter von über neun Jahren erreicht (siehe Abb. 1).

3.2.3 Ernährungszustand und Körpergewicht

Alle Weißbüschelaffen, bei denen vorberichtlich der Verdacht auf das WMS bestand, befanden sich zum Zeitpunkt der Sektion in einem mäßigen oder schlechten bis kachektischen Ernährungszustand. Die Körpergewichte lagen zwischen 202 g bis 330 g bei adulten und 180 g und 244 g bei juvenilen und subadulten Tieren. Dem gegenüber zeigten die adulten Kontrolltiere Körpergewichte von 360 g bis 448 g. Die beiden subadulten Tiere dieser Gruppe im Alter von einem dreiviertel Jahr und einem Jahr wiesen Sektionsgewichte von 280 g (K 1981) und 335 g (K 1984) auf.

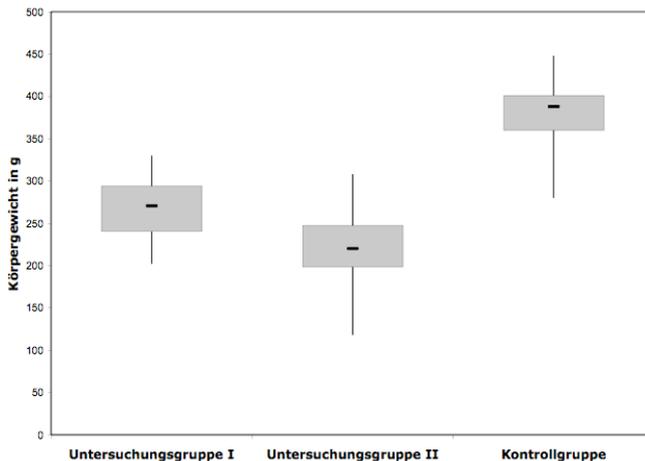


Abbildung 2: Graphische Darstellung der Körpergewichte zum Zeitpunkt der Sektion bei den einzelnen Untersuchungsgruppen und der Kontrollgruppe.

Wie in Abbildung 2 zu erkennen zeigen die Kontrolltiere im Schnitt deutlich höhere Körpergewichte als die erkrankten Tiere aus Untersuchungsgruppe I und II. Das niedrigere durchschnittliche Körpergewicht der Untersuchungsgruppe II gegenüber der Untersuchungsgruppe I erklärt sich durch den höheren Anteil juveniler und subadulter Weißbüschelaffen.

3.2.4 Histopathologie

Soweit vorliegend erfolgte bei allen Weißbüschelaffen eine vollständige histopathologische Untersuchung des bei der Sektion gewonnenen Organspektrums. Neben den im Fokus dieser Arbeit stehenden Nierenveränderungen fanden sich hierbei klinisch relevante Hauptbefunde hauptsächlich im Bereich des Digestionstrakts. Zudem lagen regelmäßig Veränderungen von klinisch untergeordneter Relevanz in anderen Organsystemen vor, so dass im Folgenden lediglich histopathologische Veränderungen des Darmtrakts und der Nieren ausführlich beschrieben werden.

3.2.4.1 Histopathologie des Darmtrakts

Alle Weißbüschelaffen der Untersuchungsgruppen I und II zeigten chronische bis chronisch-aktive, entzündliche Alterationen unterschiedlichen Ausprägungsgrades in Dünn- und Dickdarm. Diese stellten sich als überwiegend mononukleäre, multifokale bis diffuse, von GALT-Hyperplasien begleitete Entzündungszellinfiltrate in der *Lamina propria* dar. Der chronisch-aktive Charakter spiegelte sich in einer höheren Beteiligung von neutrophilen und eosinophilen Granulozyten sowie Kryptabszessen wider. Die Weißbüschelaffen der Kolonie des DPZ zeigten etwas schwerere Verlaufsformen als die der beiden externen Kolonien. Während die Dickdarmabschnitte in allen Fällen entzündlich verändert waren, wurden die untersuchten Dünndarmabschnitte von fünf Tieren der externen Kolonien und einem Tier aus

dem DPZ als gesund eingestuft.

Zusammenfassend können die Veränderungen der meisten erkrankten Weißbüschelaffen als geringgradige, chronische oder chronisch-aktive Enteritis mit variabler Ausbreitung in Dün- und Dickdarm eingestuft werden (siehe Abbildung 3).

In der Kontrollgruppe lagen lediglich von den Weißbüschelaffen mit den G-Nummern 7531 und 7532 vollständige Organspektren vor. Diese Tiere zeigten mit einer geringgradigen chronischen Enteritis im Dün- und Dickdarmbereich ähnliche Befunde wie die erkrankten Weißbüschelaffen aus den Untersuchungsgruppen I und II, ohne dass Gewichtsverluste vorlagen.

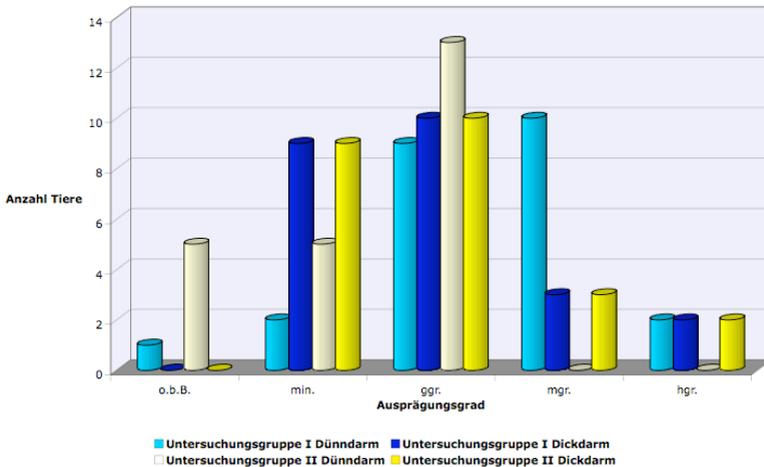


Abbildung 3: Ausprägungen der Enteritiden in Dün- und Dickdarm bei den Untersuchungsgruppen I und II.

3.2.5 Pathomorphologische Veränderungen an der Niere

3.2.5.1 Lichtmikroskopische Veränderungen an den Nieren

Die Nieren aller Weißbüschelaffen wurden einer umfangreichen und detaillierten histopathologischen Untersuchung unterzogen. Hierfür wurden zuerst die histologisch-anatomischen Nierenanteile (Glomerula, Tubulussystem, Interstitium und Nierenbecken) separat bewertet. Um Strukturen und Veränderungen, welche in der standardmäßig angefertigten HE-Färbung nicht oder nicht ausreichend darstellbar sind, beurteilen zu können, wurden neben einer Movat-Methenaminversilberung und einer PAS-Reaktion verschiedene andere Spezialfärbungen angefertigt (siehe Material und Methoden 3.1.9).

Die gesamte Auswertung erfolgte semiquantitativ. Interstitielle Nephritis und Fibrose, tubuläre Atrophie, Verkalkung und Hämosiderose wurden in Graden bzw. Klassen von null bis vier (null = negativ, 1 = minimale, 2 = geringgradig, 3 = mittelgradig, 4 = hochgradig) eingeteilt. Die Einteilung der glomerulären Veränderungen erfolgte aufgrund der großen Ähnlichkeit des pathomorphologischen Bildes nach der Klassifizierung der humanen IgA-Nephropathie von HAAS (1997).

In allen drei Untersuchungsgruppen zeigte ein Großteil der Weißbüschelaffen chronische interstitielle Nephritiden, welche sich in Form von multifokalen, häufig perivaskulären, mononukleären bis gemischtzelligen Entzündungszellinfiltraten darstellten. Häufig wurden diese von milden tubulären Entzündungsprozessen begleitet und konnten somit als tubulointerstitielle Nephritiden eingeordnet werden. Die Beteiligung polymorphnukleärer Zellen war in den meisten Fällen gering bis moderat, wobei eosinophile und neutrophile Granulozyten vertreten waren. Zumeist wurden solche interstitiellen Entzündungen von einer

durch vermehrte extrazelluläre Ablagerung kollagenhaltiger Matrix und durch fibrozytäre Hyperplasie gekennzeichneten Fibrosierung und von tubulärer Atrophie begleitet (siehe Abbildungen 8 und 9). Letztere äußerte sich in abgeflachten Epithelzellen, die mit einem Verlust des Bürstensaums der proximalen Tubuli einhergingen und verdickten Basalmembranen, im Bereich derer sich zudem häufig Ablagerungen von Kalziumsalzen nachweisen ließen. Vereinzelt ließen sich auch Karyorrhexis, Karyolyse und Kernpyknose von Tubuluszellen als Zeichen milder tubulärer Nekrosen, sowie tubuläre Regenerate in Form von abgeflachten basophilen Tubuluszellverbänden ohne Bürstensaum und mit erhöhter mitotischer Aktivität erkennen. Ein weiterer häufiger Befund bestand in PAS-positiven intratubulären Proteinzyklindern. Bei den G-Nummern 6931 und 7415 lag zudem eine ausgeprägte hyalintropfige Proteinrückresorption vor (siehe Abbildung 10). In einigen Fällen fehlten die für fortgeschrittene, chronische interstitielle Nephritiden typischen Fibrosierungen, weshalb hier eine Einstufung in ein subakutes bis frühes chronisches Stadium erfolgte. Akute Stadien, die durch ein primär polymorphnukleäres Entzündungsbild und eine Ödematisierung des Interstitiums gekennzeichnet wären, konnten nicht beobachtet werden.

Wie aus Abbildung 4 ersichtlich wird, wurden bei den meisten Weißbüschelaffen die beschriebenen Alterationen im Interstitium als minimale bis geringgradige, subakute bis chronische, interstitielle Nephritiden eingestuft. Fünf Tiere der Untersuchungsgruppe I (21 %), vier Tiere der Untersuchungsgruppe II (15 %) sowie ein Kontrolltier (9%) zeigten keinerlei oder lediglich minimale mononukleäre Entzündungszellinfiltrate.

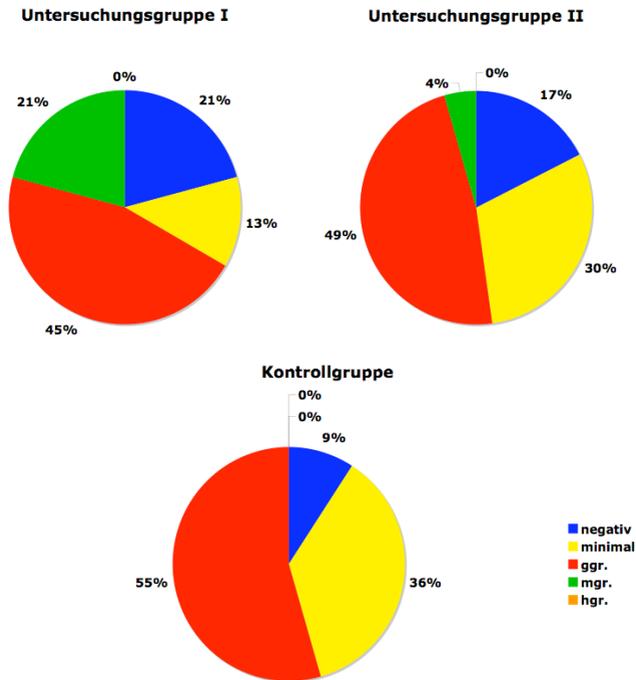


Abbildung 4: Verteilung und Graduierung interstitieller Nephritiden in den Untersuchungsgruppen I und II und der Kontrollgruppe.

Bei zwei Drittel der Tiere aus Untersuchungsgruppe I, rund der Hälfte der Tiere aus Untersuchungsgruppe II und über 80 % der Kontrolltiere lag eine Atrophie des Tubulussystems vor (siehe Abbildung 5). Diese wurde jedoch zu überwiegenden Teilen als minimal oder geringgradig eingestuft. Lediglich bei knapp einem Fünftel der Weißbüschelaffen aus Untersuchungsgruppe I fanden sich auch mittelgradige Veränderungen.

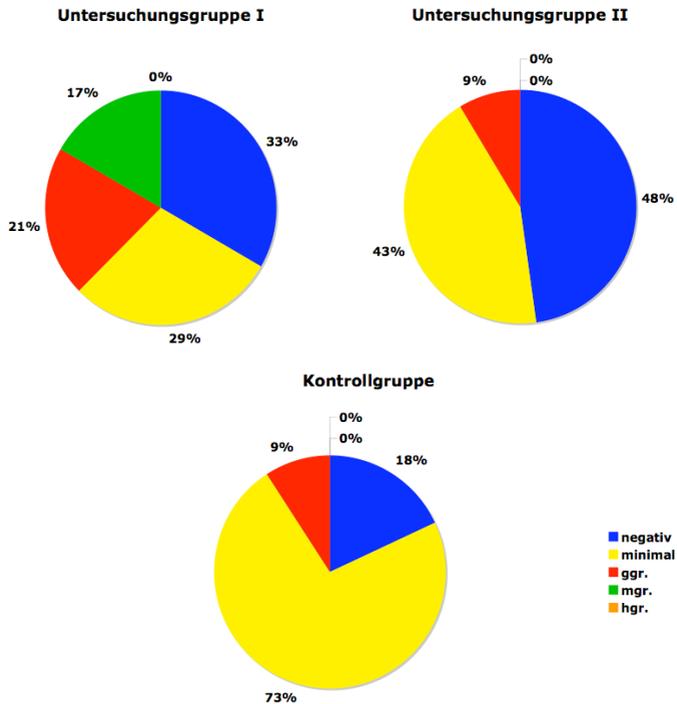


Abbildung 5: Verteilung und Ausprägung der tubulären Atrophie in den Untersuchungsgruppen.

Im Bereich des Tubulus- und des Gefäßsystems konnten bei deutlich über der Hälfte (69%) aller untersuchten Weißbüschelaffen zumeist von den Basalmembranen ausgehende, von Kossa-positive Verkalkungen nachgewiesen werden. Besonders ausgeprägt waren diese bei den im Zeitraum zwischen 2004 und 2005 seziierten Weißbüschelaffen aus der Untersuchungsgruppe I, wo sie sich teilweise auch als intravaskuläre kristalline Strukturen darstellten. Die in den Jahren 2006 und 2007 seziierten Tiere aus dem DPZ und die Weißbüschelaffen aus den anderen beiden Untersuchungsgruppen zeigten zumeist nur milde oder keine derartigen Kalziumablagerungen. Abbildung 6 gibt einen Überblick über die

Verteilung und Graduierung der Verkalkungen innerhalb der beiden Untersuchungsgruppen und der Kontrollgruppe.

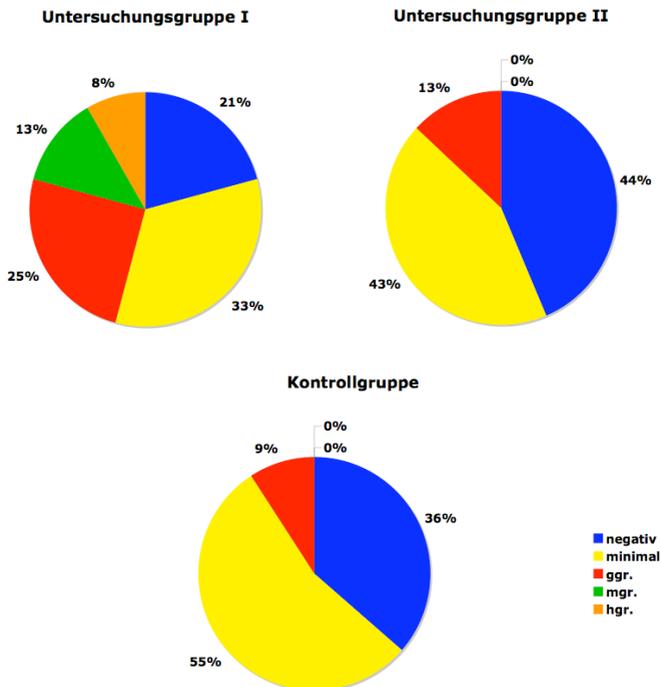


Abbildung 6: Verteilung und Graduierung tubulärer und vaskulärer Verkalkungen in den Untersuchungsgruppen I und II und der Kontrollgruppe.

Bei gut zwei Dritteln aller untersuchten Tiere lagen Pigmentablagerungen im Bereich der Tubulusepithelien vor. Diese stellten sich als multifokale, fein- bis grobgranuläre, goldbraune bis goldgelbe intrazytoplasmatische Strukturen dar. Ähnliche Ablagerungen fanden sich zum Teil auch im Zytoplasma histiozytärer Zellen im Bereich von interstitiellen Entzündungszellinfiltraten. Zumeist konnte dieses Pigment mit Hilfe der Berliner-Blau-Reaktion als Hämosiderin identifiziert werden (siehe Abbildung 11). Negativ reagierende

Pigmentablagerungen wurden aufgrund ihres teils schwach PAS-positiven Verhaltens als Lipofuszin- bzw. Zeroidpigment interpretiert. Abbildung 7 zeigt die Verteilung und Graduierung der tubulären und interstitiellen Hämosiderinablagerungen.

Im Bereich des Nierenbeckens waren neben milden, überwiegend mononukleären Entzündungszellinfiltraten, die selten auch mit einer minimalen Exozytose (Infiltration des Epithels mit Entzündungszellen) einhergingen, keine besonderen Befunde zu beobachten. Kongorot-positive Amyloidablagerungen konnten bei keinem der untersuchten Tiere nachgewiesen werden.

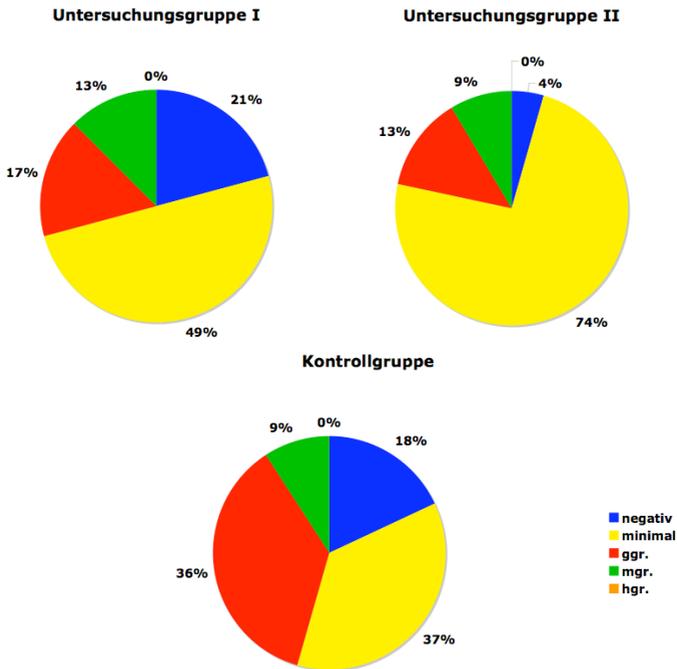


Abbildung 7: Verteilung und Ausprägung der tubulären und interstitiellen Hämosiderose in den Untersuchungsgruppen.

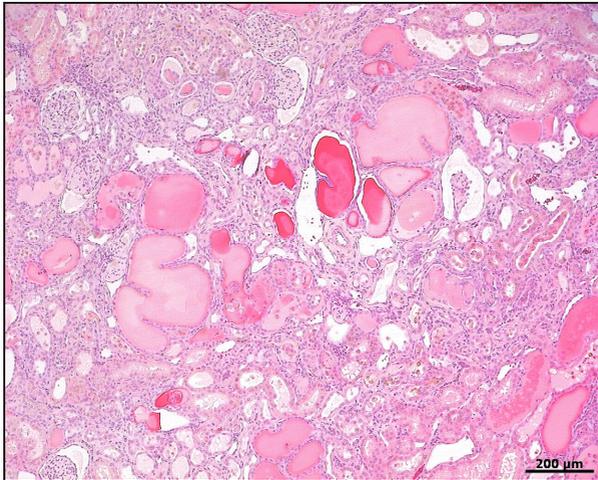


Abbildung 8: Niere eines Weißbüschelaffens mit einer Klasse V Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) mit global sklerotischen Glomerula, intratubulären Proteinzylindern, interstitiellen Entzündungszellinfiltraten, Fibrose und tubulärer Atrophie (G 6931, Paraffinschnitt, HE).

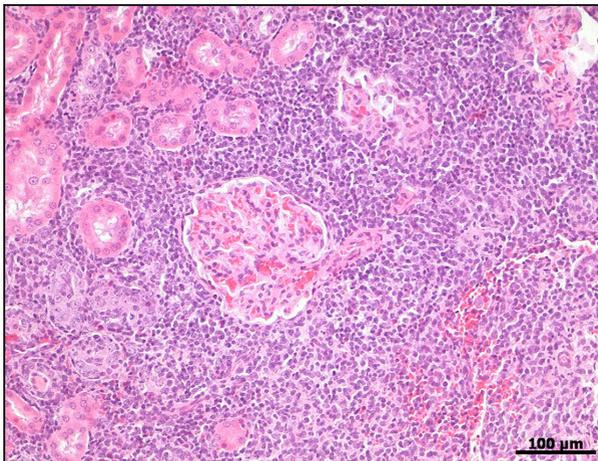


Abbildung 9: Mittelgradige, chronische interstitielle Nephritis mit tubulärer und glomerulärer Atrophie sowie fokaler Blutung bei einem Weißbüschelaffens mit einer Klasse II Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) (G 6859, Paraffinschnitt, HE).

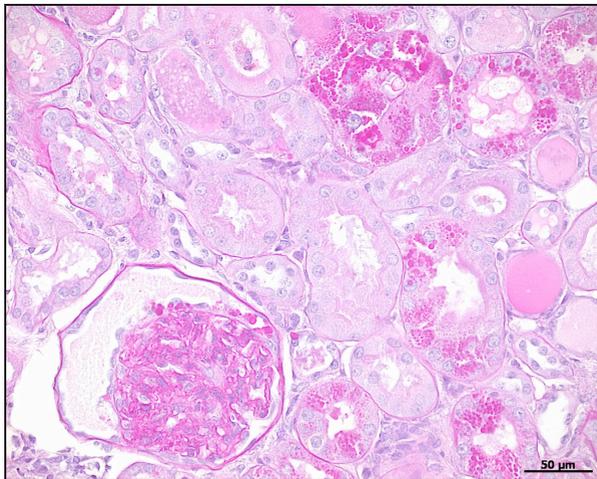


Abbildung 10: Tubuläre und glomeruläre hyalintropfige Rückresorption bei einem Weißbüschelaffen mit einer Klasse V Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) (G 7415, Paraffinschnitt, PAS-Reaktion).

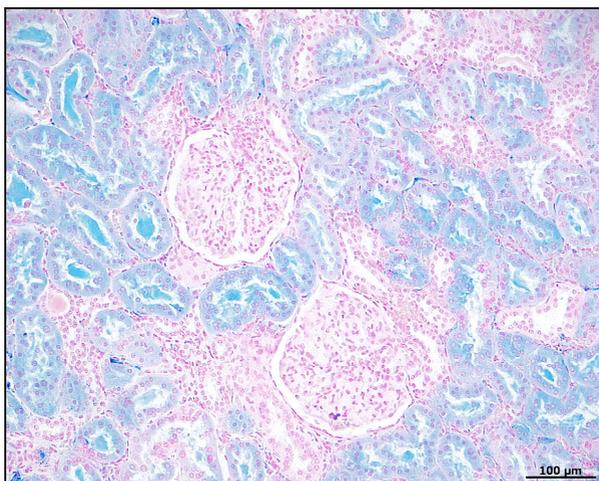


Abbildung 11: Mittelgradige, überwiegend tubuläre Hämosiderose bei einem Weißbüschelaffen mit einer Klasse IV Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) (G 7532, Paraffinschnitt, Berliner-Blau-Reaktion)

3.2.5.2 Lichtmikroskopische Veränderungen an den Nierenglomerula

Mit Ausnahme eines Kontrolltieres (K 1981) zeigten alle untersuchten Weißbüschelaffen histopathologische Alterationen im Bereich der Nierenglomerula. Zu beobachten waren eine mesangiale Hyperzellularität (\geq drei Mesangiumszellen pro hilusferner Kapillarschlinge in 1 bis 2 μm dicken, nach Movat versilberten Schnitten), eine Zunahme der mesangialen Matrix, Synechien der glomerulären Kapillarschlingen mit der Bowman-Kapsel und vereinzelte, intrakapilläre, mono- und polymorphnukleäre Entzündungszellen. Bei einigen Tieren lag auch eine milde Hyperplasie der Endothelzellen vor. Zudem konnten teilweise deutliche mononukleäre bis gemischtzellige, interstitielle Entzündungszellinfiltrate im Bereich stark sklerotisch veränderter Glomerula beobachtet werden, welche teilweise mit einem partiellen bis vollständigen Verlust der Bowman-Kapseln und ihrer Basalmembranen einhergingen (siehe Abbildung 15). Die genannten Veränderungen traten in unterschiedlichen Kombinationen und Ausprägungsgraden auf und dienten dementsprechend der Einteilung in fünf Subklassen nach der Klassifizierung der IgA-Nephropathie des Menschen von HAAS (1997) (siehe Abbildungen 12 bis 15).

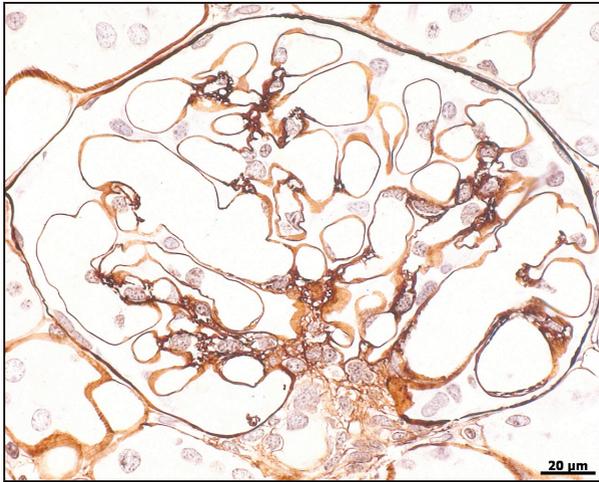


Abbildung 12: Unverändertes Nierenglomerulum eines klinisch und pathologisch-anatomisch unauffälligen Weißbüschelaffen (Kontrolltier K 1981, Kunststoffschnitt, Methenaminversilberung nach Movat).

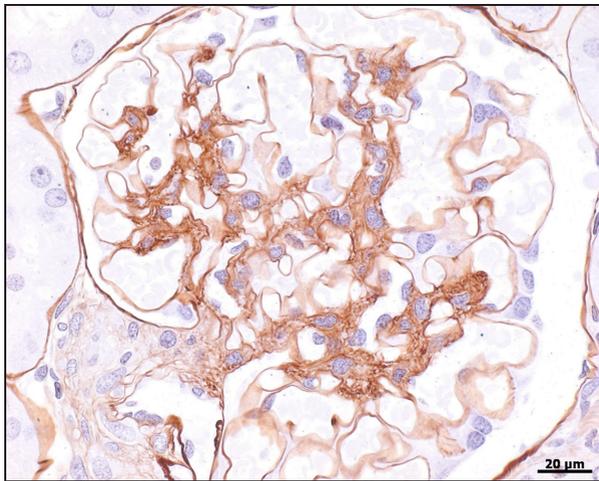


Abbildung 13: Glomerulum eines Weißbüschelaffen mit einer Klasse III Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997). Die Mesangien sind geringgradig erweitert und es ist eine moderate mesangiale Hyperzellularität zu erkennen (G 7433, Kunststoffschnitt, Methenaminversilberung nach Movat).

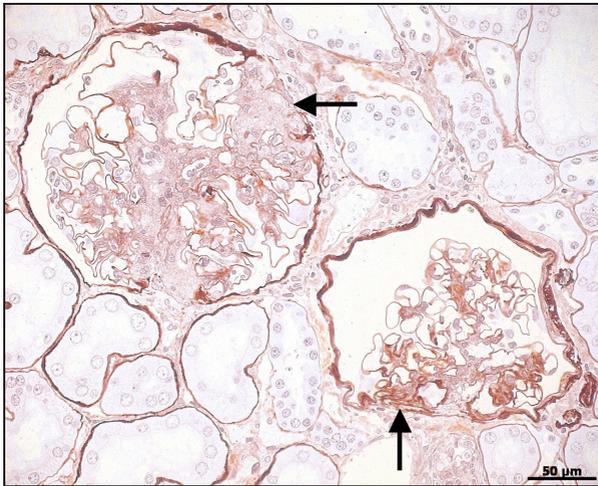


Abbildung 14: Fortgeschrittene glomeruläre Sklerose mit deutlichen Synechien (Pfeile) bei einem Weißbüschelaffen mit einer Klasse IV Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) (G 7439, Kunststoffschnitt, Methenaminversilberung nach Movat).

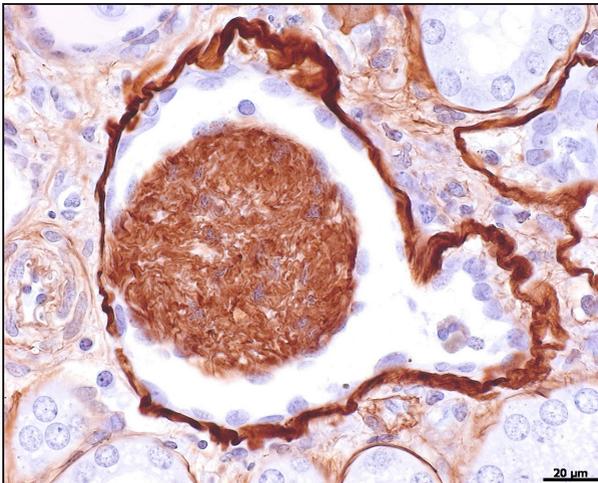


Abbildung 15: Global sklerotisches, hypozelluläres Glomerulum bei einem Weißbüschelaffen mit einer Klasse V Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) (G 6931, Kunststoffschnitt, Methenaminversilberung nach Movat).

Ergänzend zu der histologischen Untersuchung erfolgte bei allen Weißbüschelaffen eine immunhistochemische Untersuchung auf glomeruläre Ablagerungen von IgM-, IgA-Immunkomplexen und Komplementfaktor C3c sowie auf die glomeruläre Expression von Alpha-smooth muscle actin (α -sma). Diese Ablagerungen stellten sich, wenn vorhanden, als fokale bis diffuse, globale bis segmentale, fein- bis grobgranuläre Strukturen im Bereich der Mesangien in unterschiedlicher Ausprägungsform dar. Einen Überblick über die prozentuale Verteilung der untersuchten Antigenablagerungen in den Untersuchungsgruppen und der Kontrollgruppe geben die Tabellen 4 und 5. Im Anhang unter 8.1.4 lassen sich die einzelnen Grade für jedes Tier nachlesen.

Wie in Tabelle 4 zu erkennen zeigten alle untersuchten Weißbüschelaffen mesangiale IgM-Ablagerungen mit zumeist gering- bis mittelgradiger Ausprägung (siehe Abbildung 16). Minimale Ablagerungen fanden sich bei einem Viertel der Tiere aus der Untersuchungsgruppe I und bei jeweils weniger als 10 % der Weißbüschelaffen aus der Untersuchungsgruppe II und der Kontrollgruppe. Lediglich bei einem Tier aus der Untersuchungsgruppe I wurden die Ablagerungen als hochgradig eingestuft.

Tabelle 4: Prozentuale Verteilung der glomerulären IgM- und IgA-Ablagerungen in den Untersuchungsgruppen I und II und der Kontrollgruppe.

	IgM					IgA				
	neg.	min.	ggr.	mgr.	hgr.	neg.	min.	ggr.	mgr.	hgr.
UG I	0 %	25 %	25 %	46 %	4 %	54 %	38 %	8 %	0 %	0 %
UG II	0 %	8 %	46 %	46 %	0 %	62 %	31 %	4 %	4 %	0 %
KG	0 %	9 %	55 %	36 %	0 %	36 %	46 %	18 %	0 %	0 %

UG I = Untersuchungsgruppe I; UG II = Untersuchungsgruppe II; KG = Kontrollgruppe

Tabelle 5: Prozentuale Verteilung der glomerulären Komplementfaktor C3c-Ablagerungen und der α -sma-Exprimierung in den Untersuchungsgruppen I und II und der Kontrollgruppe.

	C3c					α -sma				
	neg.	min.	ggr.	mgr.	hgr.	neg.	min.	ggr.	mgr.	hgr.
UG I	0 %	50 %	38 %	13 %	0 %	0 %	17 %	45 %	17 %	21 %
UG II	4 %	35 %	35 %	23 %	4 %	0 %	15 %	46 %	35 %	4 %
KG	0 %	55 %	45 %	0 %	0 %	0 %	0 %	73 %	18 %	9 %

UG I = Untersuchungsgruppe I; UG II = Untersuchungsgruppe II; KG = Kontrollgruppe

Der glomeruläre Nachweis von IgA-Ablagerungen fiel bei über der Hälfte der Weißbüschelaffen aus den Untersuchungsgruppen I und II und bei über einem Drittel der Kontrolltiere negativ aus (siehe Tabelle 4). Minimale Ablagerungen fanden sich hier bei ca. einem Drittel aller erkrankten Tiere und knapp der Hälfte der Kontrolltiere. Bei insgesamt drei erkrankten und zwei Kontrolltieren wurden die Ablagerungen als geringgradig eingestuft (siehe Abbildung 17). Als höchster verteilter Grad zeigte ein erkranktes Tier aus der Untersuchungsgruppe II (4 %) mittelgradige IgA-Ablagerungen.

Glomeruläre Ablagerungen des Komplementfaktors C3c fanden sich bei rund der Hälfte der Weißbüschelaffen aus der Untersuchungsgruppe I und der Kontrollgruppe und rund einem

Drittel der Untersuchungsgruppe II in minimaler, sowie bei etwa einem Drittel aller erkrankten Tiere und rund der Hälfte der Kontrolltiere in geringgradiger Ausprägung (siehe Tabelle 5). Insgesamt neun erkrankte Tiere aus den Untersuchungsgruppen I und II zeigten mittelgradige, und lediglich ein Tier aus der externen Kolonie zeigte hochgradige C3c-Ablagerungen (siehe Abbildung 18). Negativ fiel der Nachweis bei einem ebenfalls aus der externen Kolonie stammenden Weißbüschelaffen aus.

Bei allen untersuchten Tieren lag eine glomeruläre Expression des Proteins α -smooth muscle actin vor. Hierbei konnten die positiv reagierenden Strukturen aufgrund von Überlagerungseffekten, die auf die Schnittdicke der verwendeten Paraffinschnitte zurückzuführen sind, häufig nicht eindeutig einer histologisch-anatomischen glomerulären Struktur zugeordnet werden. Neben den Mesangien fanden sich positive Reaktionen des Öfteren auch im Bereich von Endothelzellen peripherer Kapillarschlingen. Die glomeruläre Expression von α -sma wurde bei knapp einem Fünftel der erkrankten Weißbüschelaffen aus den Untersuchungsgruppen I und II als minimal und bei knapp der Hälfte der erkrankten Tiere sowie rund drei Viertel der Kontrolltiere als geringgradig eingestuft. Knapp ein Fünftel der Weißbüschelaffen aus der Untersuchungsgruppe I und der Kontrollgruppe und etwa ein Drittel der Tiere aus Untersuchungsgruppe II zeigte ein mittelgradiges Expressionsmuster. Insgesamt sieben Tiere (fünf Tiere aus der Untersuchungsgruppe I und jeweils ein Tier aus der Untersuchungsgruppe II und der Kontrollgruppe) wiesen eine hochgradige Expression von α -sma auf (siehe Abbildung 19).

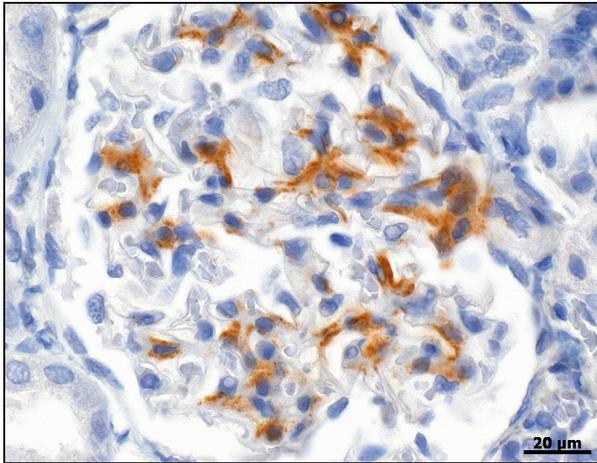


Abbildung 16: Mittelgradige, mesangiale IgM-Ablagerungen bei einem Weißbüschelaffen mit einer Klasse II Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) (G 7485, SABC-IHC, anti-IgM).

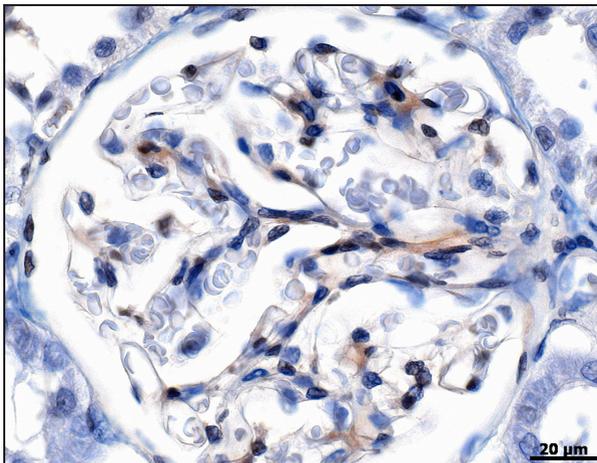


Abbildung 17: Geringgradige, mesangiale IgA-Ablagerungen bei einem Weißbüschelaffen mit einer Klasse V Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) (G 7415, SABC-IHC, Anti-IgA).

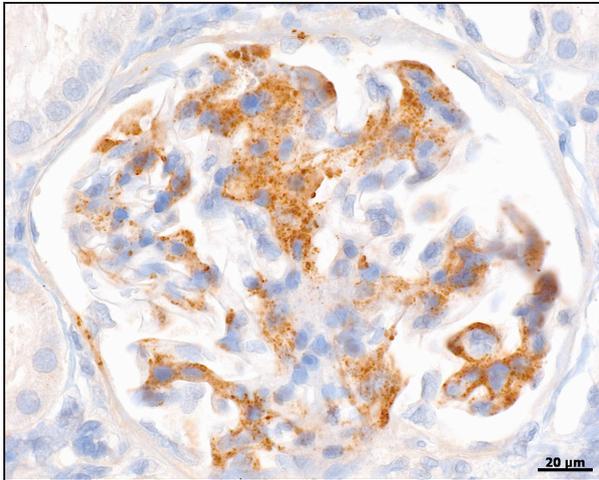


Abbildung 18: Hochgradige, glomeruläre C3c-Ablagerungen bei einem Weißbüschelaffen mit einer Klasse IV Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) (G 7439, SABC-IHC, Anti-C3c).

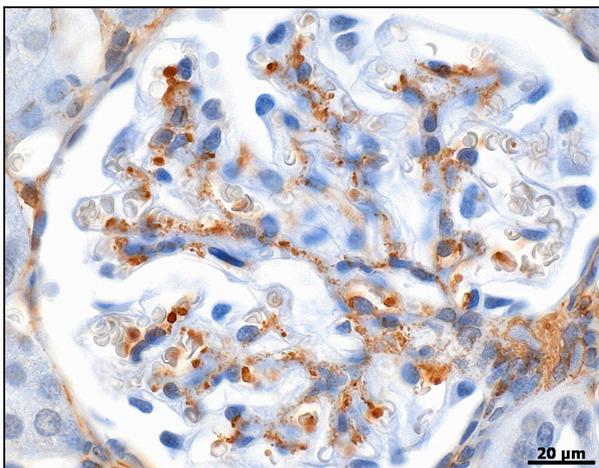


Abbildung 19: Hochgradige α -sma-Ablagerungen bei einem Weißbüschelaffen mit einer Klasse II Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) (G 6905, SABC-IHC, anti- α -sma).

Wie aus Abbildung 20 ersichtlich wird, lagen bei einem Großteil der erkrankten Weißbüschelaffen aus den Untersuchungsgruppen I (54 %) und II (70 %) als Klasse III nach HAAS (1997) eingeordnete, fokale proliferative Glomerulonephritiden vor. Am zweithäufigsten wurden mit einem Anteil von 21 % in der Untersuchungsgruppe I und 17 % in der Untersuchungsgruppe II fokale, segmentale Glomerulosklerosen als Klasse II diagnostiziert. Eine der Klasse IV entsprechende, diffuse, proliferative Glomerulonephritis lag bei insgesamt sieben erkrankten Tieren vor. Zwei erkrankte Tiere aus der Kolonie des DPZ (G 6931 und 7415) zeigten fortgeschrittene, chronische Glomerulonephritiden mit einem hohen Anteil (> 40 %) global sklerotischer Glomerula und wurden als Klasse V eingestuft. Bei jeweils einem Weißbüschelaffen aus beiden Untersuchungsgruppen (G 6869 und 7062) fanden sich der Klasse I entsprechende minimale histologische Läsionen.

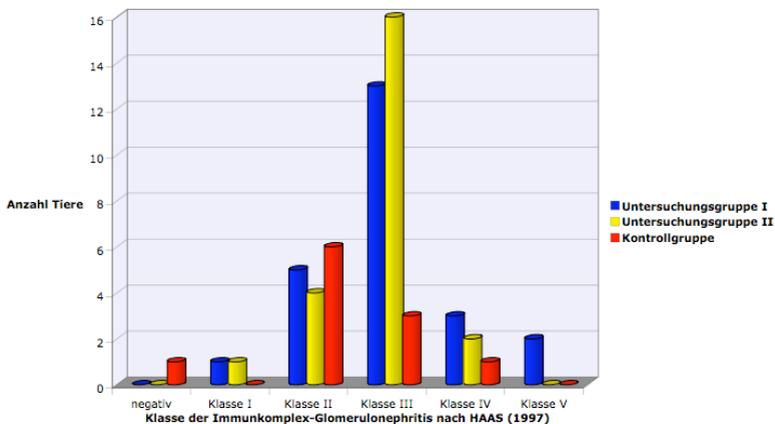


Abbildung 20: Einteilung der glomerulären Veränderungen bei den zwei Untersuchungsgruppen und der Kontrollgruppe nach der Klassifizierung der humanen IgA-Nephropathie von HAAS (1997).

Demgegenüber zeigten die Weißbüschelaffen der Kontrollgruppe mit 55 % am häufigsten als Klasse II eingeordnete fokal-segmentale Glomeruloskrosen. Die Klasse III wurde hier bei drei Tieren, die Klasse IV bei einem Tier diagnostiziert. Das Kontrolltier mit der K-Nummer 1981 wies keinerlei glomeruläre Veränderungen auf und wurde somit als negativ eingestuft.

Fasst man die Ergebnisse der Untersuchungsgruppen I und II zusammen und bewertet sie unter Berücksichtigung der verschiedenen Alterskategorien, so fällt auf, dass erkrankte Weißbüschelaffen höheren Alters (fünf bis acht und über neun Jahre alt) im Schnitt ausgeprägtere Veränderungen aufwiesen als junge und subadulte erkrankte Tiere. Keines dieser bis eineinhalb Jahre alten Tiere zeigte Veränderungen, die höher als Klasse III eingestuft wurden (siehe Abbildung 21).

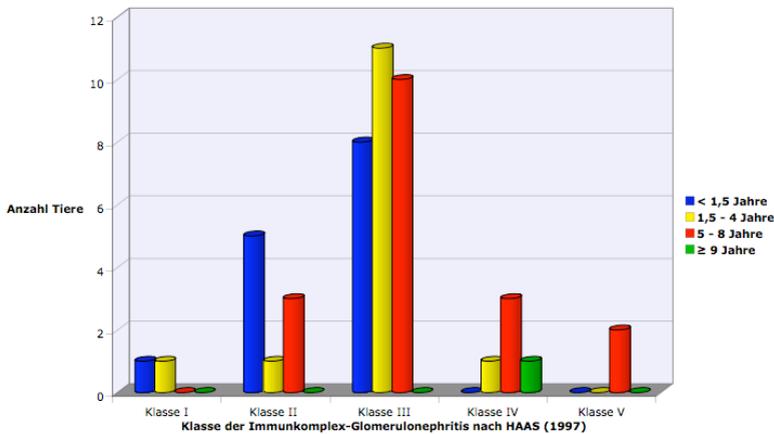


Abbildung 21: Altersabhängige Verteilung der Immunkomplex-Glomerulonephritiden bei den erkrankten Tieren aus den Untersuchungsgruppen I und II.

Eine statistische Untersuchung mit Hilfe des Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests (siehe Material und Methoden 3.1.14) zeigte, dass die erkrankten Weißbüschelaffen aus den beiden

Untersuchungsgruppen gegenüber den Kontrolltieren signifikant höhere Ausprägungsgrade der proliferativen Glomerulonephritiden aufwiesen. Dies ist in Abbildung 22 mit Hilfe eines Box Plots dargestellt. Aufgrund des relativ geringen Stichprobenumfangs in der Kontrollgruppe wurde sich hierbei auf den zweiseitigen, exakten p-Wert bezogen (zweiseitiger exakter p-Wert: 0,046269; signifikant ab $p < 0,05000$).

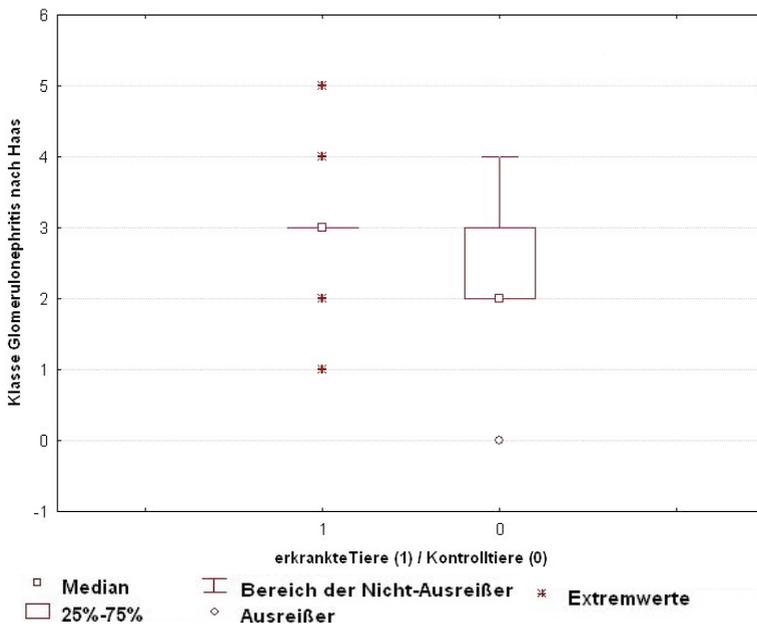


Abbildung 22: Verteilung der Immunkomplex-Glomerulonephritiden nach HAAS (1997) bei erkrankten Weißbüschelaffen und klinisch gesunden Kontrolltieren im Vergleich.

Demgegenüber ist, wie in Abbildung 23 gezeigt, die Verteilung der Glomerulonephritiden zwischen den Untersuchungsgruppen I und II weitgehend homogen.

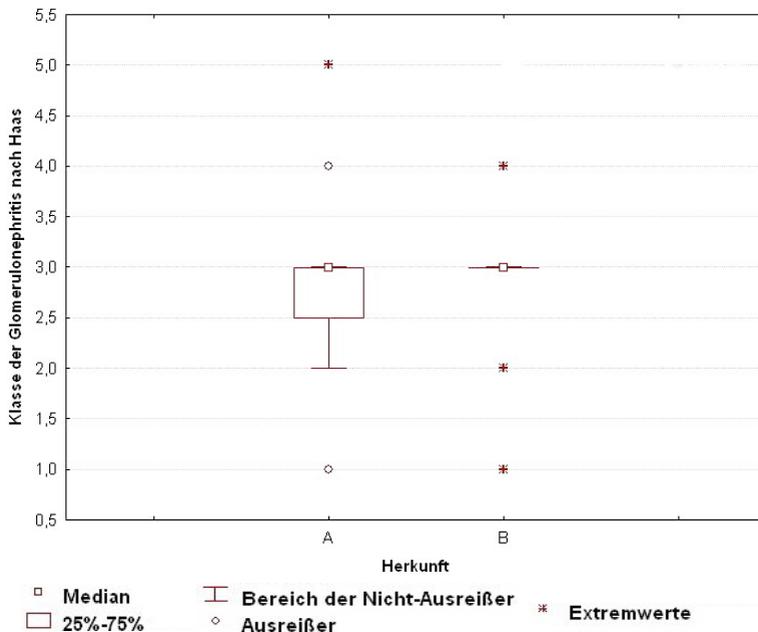


Abbildung 23: Box Plot der Verteilung der Immunkomplex-Glomerulonephritiden nach HAAS (1997) in den Untersuchungsgruppen I (Herkunft „A“) und II (Herkunft „B“) im Vergleich.

Ebenfalls kein signifikanter Unterschied zeigte sich bezüglich der Ausprägungsgrade der Glomerulonephritiden bei männlichen und weiblichen Tieren zwischen den Untersuchungsgruppen I und II (siehe Abbildung 24).

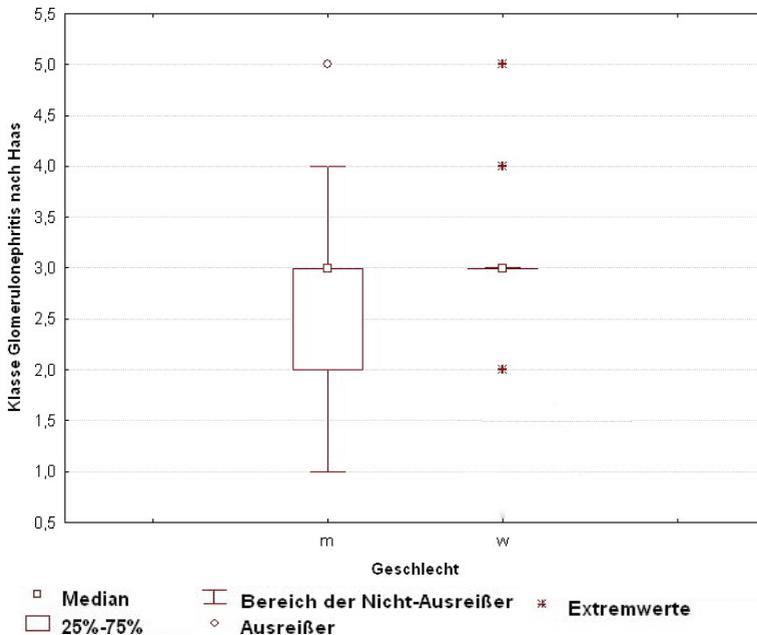


Abbildung 24: Verteilung der nach HAAS (1997) klassifizierten Glomerulonephritiden gruppiert nach dem Geschlecht der Weißbüschelaffen (m = männlich, w = weiblich) in den Untersuchungsgruppen I und II (zusammengefasst).

Des Weiteren wurde mit Hilfe des Spearman Rangkorrelationsstests (siehe Material und Methoden 3.1.14) geprüft, ob bei den erkrankten Tieren aus den Untersuchungsgruppen I und II eine Korrelation zwischen dem Grad der Glomerulonephritiden und den verschiedenen histopathologischen und immunhistologischen Nierenparametern bestand. Ein Rangkorrelationskoeffizient (r_s) von plus Eins bzw. minus Eins steht bei diesem Test für eine vollständige positive bzw. negative Korrelation, der Wert Null für nicht korrelierende Datensätze. Der Schwellenwert für die Signifikanz lag hier wiederum bei einem p-Wert kleiner als 0,05000.

Es konnten signifikante Rangkorrelationskoeffizienten (r_s) bezüglich des Grades der glomerulären Ablagerungen von IgA ($r_s = 0,395023$) und C3c ($r_s = 0,389436$) sowie dem Grad der interstitiellen Nephritiden ($r_s = 0,395958$) und der tubulären Atrophie ($r_s = 0,352427$) ermittelt werden. Demgegenüber korrelierten die nach HAAS (1997) klassifizierten Immunkomplex-Glomerulonephritiden nicht signifikant mit dem Grad der IgM- ($r_s = 0,163832$) und α -sma-Ablagerungen ($r_s = -0,009290$). Des Weiteren lag eine signifikante Korrelation zwischen dem Grad der interstitiellen Nephritis und der tubulären Atrophie vor ($r_s = 0,658185$). Ein Überblick über die Ergebnisse der durchgeführten statistischen Tests findet sich im Anhang (8.1.8.).

3.2.5.3 Ultrastrukturelle Veränderungen an ausgewählten Nierenglomerula

Zur Absicherung und Bestätigung der aufgrund histopathologischer und immunhistologischer Untersuchungen diagnostizierten und nach HAAS (1997) klassifizierten Immunkomplex- Glomerulonephritiden wurde bei den folgenden vier Weißbüschelaffen eine transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung durchgeführt:

- G-Nummer 7415 (Untersuchungsgruppe I): Klasse V Immunkomplex- Glomerulonephritis;
- G-Nummer 7514 (Untersuchungsgruppe I): Klasse III Immunkomplex- Glomerulonephritis;
- G-Nummer 7389 (Untersuchungsgruppe II): Klasse III Immunkomplex- Glomerulonephritis;
- K-Nummer 1981 (Kontrollgruppe): ohne erkennbare glomeruläre Veränderungen.

Bei den drei Tieren aus den Untersuchungsgruppen I und II fanden sich multifokale, elektronendichte Ablagerungen differierender Ausprägung im Bereich des glomerulären Mesangiums, die zum Teil von einem erhöhten Nachweis mesangialer Matrix begleitet

wurden. Am ausgeprägtesten waren diese Ablagerungen bei der G-Nummer 7389 (siehe Abbildung 26). Die Weißbüschelaffen mit den G-Nummern 7415 und 7514 zeigten jeweils gering- bis mittelgradige Ablagerungen. Die lichtmikroskopische Vororientierung des Semidünnschnitts zu der G-Nummer 7415 zeigte, dass die im Schnitt befindlichen Glomerula größtenteils ausgeprägte histopathologische Veränderungen in Form von kapillärer Sklerosierung, Degeneration und Atrophie sowie hyalintropfiger, extravasaler Proteinablagerung und einer Dilatation der Bowman-Kapsel mit segmental ausgeprägter Erweiterung des Bowmanschen Raums aufwiesen. Die Glomerula des als gesund eingestuften Kontrolltieres mit der K-Nummer 1981 waren auch ultrastrukturell unauffällig und zeigten keine elektronendichten Ablagerungen.

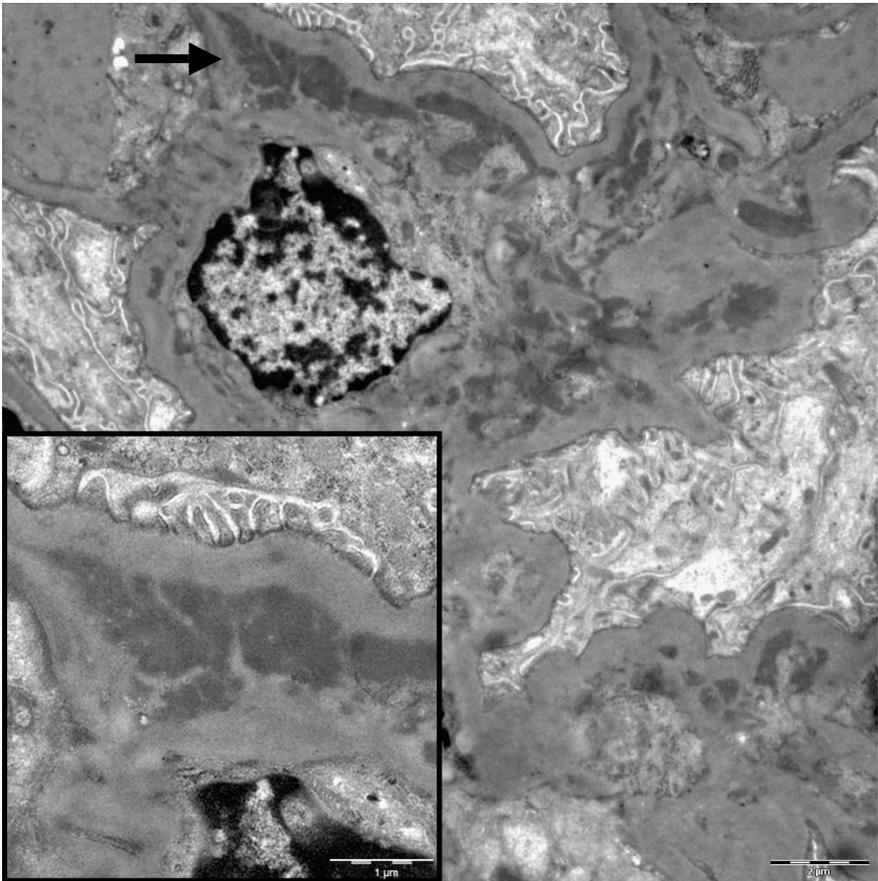


Abbildung 25: Mittelgradige, multifokale elektronendichte Ablagerungen im Bereich der mesangialen Matrix bei einem Weißbüschelaffen mit einer Klasse III Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997); der Pfeil zeigt auf ein unten links vergrößertes Areal mit besonders ausgeprägten Ablagerungen (G 7389, Transmissionselektronenmikroskopie, Scalebar großes Bild = 2 µm, Scalebar Inset = 1 µm, Uranylacetat und Bleizitrat).

3.2.6 Sonstige histopathologische Befunde

Histopathologische Veränderungen an anderen Organen fanden sich in Form von milden Hepatitiden, Pericholangitiden und/oder Hämosiderosen des Leberparenchyms sowie milder interstitieller Pneumonien. Einige Tiere zeigten zudem gering- bis mittelgradige chronische Gastritiden. Tabelle 12 im Anhang (8.1.2) gibt einen Überblick über die Verteilung und Ausprägung der Enteritiden sowie der sonstigen histopathologischen Befunde. Die übrigen Organveränderungen waren unspezifisch oder unbedeutende Einzelbefunde.

3.2.7 Ergebnisse der bakteriologischen und parasitologischen Untersuchungen

3.2.7.1 Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen

3.2.7.1.1 Bakteriennachweis in den Nieren

Bei drei untersuchten Weißbüschelaffen lag eine bakterielle Besiedlung der Nieren vor:

- G 7035 (Untersuchungsgruppe I) → hochgradiger Nachweis von *Serratia liquefaciens*; (histopathologischer Befund: IKGK Klasse III, mgr. interstitielle Nephritis)
- G 7415 (Untersuchungsgruppe I) → mittelgradiger Nachweis von *Aerococcus urinae*; (histopathologischer Befund: IKGK Klasse V, mgr. interstitielle Nephritis)
- G 7499 (Untersuchungsgruppe I) → geringgradiger Nachweis von *Escherichia hermannii*; (histopathologischer Befund: IKGK Klasse III)

Bei dem erkrankten Tier mit der G-Nummer 7499 fand sich zudem auch eine geringgradige Besiedlung des ZNS mit *Escherichia hermannii*.

3.2.7.1.2 Nachweis potentiell pathogener Bakterien in Dün- und Dickdarm

Als potentiell pathogene und somit eventuell klinisch relevante Erreger wurden bei insgesamt elf Weißbüschelaffen aus der Untersuchungsgruppe I, 15 Tieren aus der Untersuchungsgruppe II und einem Tier (G 7532) aus der Kontrollgruppe Bakterien der Gattung *Streptococcus sp.* in unterschiedlichen Ausprägungen aus dem Dün- und/oder Dickdarm isoliert.

Nicht weiter spezifizierte Sporenbildner konnten bei jeweils drei Tieren aus den Untersuchungsgruppen I und II nachgewiesen werden.

Der Nachweis von *Campylobacter sp.* gelang bei zwei Tieren aus der Untersuchungsgruppe I.

Bei insgesamt vier Weißbüschelaffen wurden Bakterien der Gattung *Klebsiella sp.* isoliert. Diese konnten bei jeweils einem Tier aus der Untersuchungsgruppe I und der Kontrollgruppe als *Klebsiella ozenanae* und bei einem Tier aus der Untersuchungsgruppe I als *Klebsiella pneumoniae* differenziert werden.

Hämolisierende Bakterien der Genospezies *Escherichia coli* fanden sich im Dün- und/oder Dickdarm von vier Weißbüschelaffen aus der Untersuchungsgruppe I. Diese wurden bei den zwei retrospektiv aufgearbeiteten Fällen (G-Nummern 6795 und 7035) als Serovaren O6:H1 bzw. O4:H6 typisiert. Bei dem ebenfalls aus der Untersuchungsgruppe I stammenden Tier mit der G-Nummer 7499 lag neben den Befunden in Niere und ZNS auch der geringgradige Nachweis von *Escherichia hermannii* in Dün- und Dickdarm vor. Bis auf die Tiere mit den G-Nummern 7284, 7485 und 7499 wurden bei allen untersuchten Weißbüschelaffen in wenigstens einem Darmabschnitt nicht weiter differenzierte, nicht hämolysierende Bakterien der Genospezies *Escherichia coli* isoliert.

Der bakterielle Nachweis aus den übrigen Organsystemen verlief ausnahmslos negativ.

3.2.7.2 Ergebnisse der parasitologischen Untersuchungen

Bei der parasitologischen Untersuchung konnten ausschließlich zu den Protozoen zählende Parasiten in Dünn- und/oder Dickdarm in differierender Ausprägung nachgewiesen werden. Eine Besiedlung mit *Giardia sp.* lag bei elf Weißbüschelaffen der Untersuchungsgruppe I und sieben Tieren der Untersuchungsgruppe II vor. Bei den Tieren mit den G-Nummern 6931, 7035 und 7392 erfolgte eine weitere Differenzierung der Parasiten als *Giardia lamblia* mittels ELISA (siehe Material und Methoden 3.1.4).

Zu den Amöben zählende Protozoen der Gattung *Entamoeba sp.* fanden sich bei sechs erkrankten Tieren aus der Untersuchungsgruppe II. Wiederum mittels ELISA (siehe Material und Methoden 3.1.4) wurden diese bei dem Weißbüschelaffen mit der G-Nummer 7062 als *Entamoeba coli* und bei der G-Nummer 7390 als *Entamoeba histolytica* identifiziert. Eine Zusammenfassung aller bakteriologischen und parasitologischen Untersuchungsergebnisse findet sich in Tabelle 14 im Anhang unter 8.1.3.

3.2.8 Ergebnisse der Urinuntersuchungen

Bei 13 erkrankten Weißbüschelaffen wurde ein Combur®-Test (Fa. Roche) mit im Rahmen der Sektion durch Punktion der Harnblase frisch gewonnenem Urin durchgeführt. Bei der Auswertung wurde aufgrund fehlender speziesspezifischer Referenzwerte auf die vom Hersteller angegebenen humanen Referenzwerte zurückgegriffen. Im Folgenden sind die wichtigsten Befunde zusammengefasst:

- Neun Weißbüschelaffen zeigten eine reduzierte Harndichte mit Werten zwischen 1,005 bis 1,015 (Referenzwert (human): 1,016 – 1,022).
- Eine Hämaturie lag bei acht Tieren vor, wobei das Tier mit der G-Nummer 7390 mit ca. 250 Erythrozyten pro Mikroliter die höchste Erythrozytenkonzentration aufwies.

- Eine Proteinurie wurde bei sieben Tieren nachgewiesen. Diese war wiederum am ausgeprägtesten bei der G-Nummer 7390 mit ca. 100 mg/dl. Die restlichen sechs Weißbüschelaffen zeigten Werte von ca. 30 mg/dl.
- Fünf Weißbüschelaffen zeigten eine Glucosurie. Die Konzentrationen bei den einzelnen Tieren lagen bei 50 mg/dl (G 7391), 100 mg/dl (G 7388), 300 mg/dl (G 7438 und 7439) und 1000 mg/dl (G 7429).
- Bei drei Tieren (G 7415, 7429 und 7438) fiel der qualitative Nachweis von Nitrit im Harn positiv aus, und ein Tier (7429) zeigte eine leichte Erhöhung des Urobilinogens von 1 mg/dl (Referenzwert (human): < 1 mg/dl).
- Eine erhöhte Leukozytenkonzentration von 10 bis 25/μl lag bei dem Weißbüschelaffen mit der G-Nummer 7434 vor.

Tabelle 12 (Anhang 7.1.5) gibt einen Überblick über alle mit Hilfe des Combur-Tests® gewonnenen Daten.

Bei den Tieren mit den G-Nummern 7415, 7390 und 7433 wurde zudem eine weiterführende quantitative Analyse auf die Gehalte des Gesamtproteins, Kreatinins und Albumins aus zuvor kryokonservierten Urinproben im Zentrallabor des Göttinger Universitätsklinikums durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 6 ebenfalls unter Angabe humaner Referenzwerte zusammengefasst. Ergänzend zeigt Tabelle 7 die Verteilung der unterschiedlichen Kombinationen des Auftretens von Proteinurie, Hämaturie und Glucosurie.

Tabelle 6: Ergebnisse der quantitativen Urinanalyse der G-Nummern 7390, 7415 und 7433

G-Nummer	Gesamtprotein mg/dl	Kreatinin mg /dl	Albumin mg/dl	IKGN nach HAAS (1997)
7415 (UG I)	17,67	2,29	7,73	V
7390 (UG II)	510,23	106,23	18,28	III
7433 (UG II)	n.u.	19,6	n.u.	III
Referenzwerte	30 – 150	50 – 150	< 20	-

Tabelle 7: Kombinationen des Auftretens von Proteinurie, Hämaturie und Glucosurie bei der Harnanalyse

G-Nummer	Proteinurie	Hämaturie	Glucosurie	IKGN nach HAAS (1997)
7415 (UG I)	x	x	-	V
7429 (UG I)	x	x	x	III
7387 (UG II)	x	x	-	IV
7388 (UG II)	-	x	x	III
7389 (UG II)	-	-	-	III
7390 (UG II)	x	x	-	III
7391 (UG II)	-	-	x	III
7392 (UG II)	-	-	-	III
7433 (UG II)	x	x	-	III
7434 (UG II)	x	x	-	III
7435 (UG II)	x	-	-	III
7438 (UG II)	-	-	x	III
7439 (UG II)	x	x	x	IV

3.2.9 Ergebnisse der Blutuntersuchungen

Bei allen erkrankten Weißbüschelaffen und drei Kontrolltieren (G 7551, 7552 und 7553) erfolgten hämatologische und serologische Untersuchungen der im Rahmen der Sektionen gewonnenen Blutproben (siehe Material und Methoden 3.1.6). Als Referenzwerte dienten die von PRYCE et al. (1997) und FORTMAN et al. (2001) veröffentlichten Werte für Weißbüschelaffen in menschlicher Obhut. Die gesamten Ergebnisse finden sich im Anhang unter 7.1.6 und 7.1.7 in tabellarischer Form. Im Folgenden werden lediglich die wichtigsten Befunde zusammengefasst.

3.2.9.1 Ergebnisse der hämatologischen Untersuchungen

Bezüglich des roten Differentialblutbildes zeigten 13 Tiere eine reduzierte Erythrozytenzahl mit Werten zwischen $1,22 \times 10^6$ und $4,25 \times 10^6$ Erythrozyten pro Mikroliter (Referenzwert: 4,6 bis $6,6 \times 10^6/\mu\text{l}$). Der Hämatokrit war bei elf Weißbüschelaffen, der Hämoglobinwert bei

23 Tieren reduziert. Die niedrigsten Werte wurden hier bei der G-Nummer 7485 mit einem Hämatokrit von 10,1 % (Referenzwert: 32 % - 54 %) und einer Hämoglobinkonzentration von 3,23 g/dl (Referenzwert: 12,6 – 19,6 g/dl) gemessen. Insgesamt 33 Tiere zeigten eine reduzierte, mittlere Hämoglobinkonzentration (MCHC), wohingegen das mittlere korpuskuläre Volumen der Erythrozyten (MCV) bei 14 Tieren leicht oberhalb der in der Literatur angegebenen Referenzwerte lag.

Von den Normwerten abweichende Befunde des weißen Differentialblutbildes fanden sich in Form einer Leukozytopenie bei insgesamt 21 Weißbüschelaffen. Ein Tier (G-7389) zeigte mit 17000 Leukozyten pro Mikroliter (Referenzwert: 4900 – 11300 Leukozyten/ μ l) eine deutliche Leukozytose. Bei zwei weiteren Tieren (G 7434 und 7499) lag die Leukozytenzahl leicht über dem Referenzbereich. Acht Tiere wiesen eine Neutrophilie, vier eine milde Neutropenie auf.

Bei 14 Weißbüschelaffen fand sich eine zum Teil ausgeprägte Monozytose mit einem Anteil der Leukozyten von bis zu 20 % (Referenzwert: 0,4 – 6,2). Eine Lymphozytose mit Werten bis zu 72 % (Referenzwert: 35 % – 67 %) lag wiederum bei vier, eine Leukozytopenie bei acht Tieren vor.

Von den drei beprobten Kontrolltieren zeigte lediglich die G-Nummer 7551 ein leicht verändertes weißes Blutbild: Hier lagen eine milde Leukozytose (3240/ μ l), ein geringgradig erniedrigter Hämoglobinwert (11,6 g/dl) sowie eine reduzierte, mittlere Hämoglobinkonzentration vor (MCHC = 32 g/dl).

3.2.9.2 Ergebnisse der serologischen Untersuchungen

Die klinisch-chemische Analyse der Serumproben zeigte bei 35 Weißbüschelaffen eine bestehende Hypoproteinämie mit Werten zwischen 3,07 g/dl und 6,38 g/dl (Referenzwert: 6,4 – 8,0 g/dl). Mit Ausnahme von zwei Kontrolltieren lag zudem bei allen Tieren eine Hypalbuminämie mit Serumkonzentrationen von 1,25 g/dl bis 4,35 g/dl (Referenzwert: 4,4 – 8,5 g/dl) vor.

Bezüglich der harnpflichtigen Substanzen und somit renal relevanten Serumwerte konnte bei fünf Weißbüschelaffen ein erhöhter Harnstoffgehalt im Blut (BUN) mit einem bei der G-Nummer 7499 gemessenen Maximalwert von 93 mg/dl (Referenzwert: 15 – 29 mg/dl) verzeichnet werden. Die Kreatininkonzentration hingegen lag bei 27 Tieren leicht unterhalb der in der Literatur angegebenen Werte (Referenzwert: 0,25 – 1,9 mg/dl).

Im Bereich der Mengenelemente fand sich bei rund einem Drittel aller Weißbüschelaffen eine Hyperkaliämie (Werte zwischen 4,91 mmol/l und 9,87 mmol/l; Referenzwert: 3,5 – 4,7 mmol/l) und bei 27 Tieren eine Hyperphosphatämie (Werte zwischen 2,33 mmol/l und 5,31 mmol/l; Referenzwert: 1,4 – 2,3 mmol/l). Neun Tiere wiesen reduzierte serologische Phosphatwerte bis zu einem Minimalwert von 0,42 mmol/l (G 7035) auf. Die Kalziumkonzentration war bei 17 Weißbüschelaffen erniedrigt (Werte zwischen 1,62 und 2,29 mmol/l; Referenzwert: 2,3 – 2,9 mmol/l), bei vier Tieren lag sie leicht oberhalb des angegebenen Referenzbereiches.

15 Weißbüschelaffen waren zum Zeitpunkt der Blutprobenentnahme hypoglykämisch bei Blutglukosewerten von 48 mg/dl bis 123 mg/dl (Referenzwert: 124 - 220 mg/dl). Demgegenüber konnte eine Hyperglykämie mit einem Höchstwert von 487 mg/dl ebenfalls

bei 15 Tieren verzeichnet werden, wobei es sich hierbei fast ausschließlich um Weißbüschelaffen aus der externen Kolonie handelte. Im Bereich der Blutfettwerte lagen bei 29 Tieren erniedrigte, bei drei Tieren erhöhte Triglyzeridkonzentrationen vor. Der Cholesterinwert befand sich bei 23 Weißbüschelaffen unterhalb des Referenzbereiches von 136 – 234 mg/dl.

Ein Anstieg des Serumspiegels des Enzyms Kreatinkinase über den oberen Referenzwert von 2410 U/l lag bei über 60 % der Tiere mit Konzentrationen zwischen 2614 U/l bis 39586 U/l vor.

29 Weißbüschelaffen wiesen erhöhte Serumkonzentrationen des Leberenzym Serumspartat-Amino-Transferase (AST) auf. Hier lagen die gemessenen Werte zwischen 209 U/l und 3104,9 U/l (Referenzwert: 106 – 196 U/l). Eine unterhalb des Referenzbereiches liegende Serumkonzentration des AST fand sich hingegen bei zwei Tieren. Eine ebenfalls reduzierte Serumkonzentration der Alanin-Amino-Transferase (ALT) lag bei rund 40 % der Weißbüschelaffen mit Werten von 0,8 U/l bis 37,6 U/l (Referenzwert: 38 – 72 U/l) vor, wobei es sich hierbei wiederum überwiegend um Tiere aus der externen Kolonie handelte. Sechs Tiere zeigten zudem eine milde Bilirubinämie mit Werten zwischen 0,21 mg/dl und 0,28 mg/dl (Referenzwert: 0,1 – 0,2 mg/dl).

Die Laktatdehydrogenase war bei über der Hälfte der Tiere mit Werten zwischen 333 U/l bis 6001 U/l (Referenzwert: 108 – 328 U/l) erhöht.

Von den Referenzwerten abweichende serologische Werte wurden auch bei den drei Kontrolltieren gemessen: Bei dem Weißbüschelaffen mit der G-Nummer 7552 lag eine milde Hypalbuminämie (3,89 g/dl) vor. Die Kreatinkinase war bei allen drei Kontrolltieren mit Werten zwischen 217 U/l bis 791 U/l erniedrigt. Die G-Nummer 7552 zeigte relativ niedrige

Konzentrationen der Leberenzyme AST, ALT und GGT; bei der G-Nummer 7551 war lediglich das AST leicht erniedrigt. Des Weiteren lagen bei der G-Nummer 7552 eine milde Hypoglykämie (112 mg/dl) und bei der G-Nummer 7553 ein reduzierter Cholesterinwert von 87 mg/dl vor.

3.2.9.3 Zusammenfassung der wichtigsten veränderten Blutparameter in Bezug auf die Nierenpathologie

Hinsichtlich der Häufigkeit ihres Auftretens und ihrer klinischen Relevanz lassen sich als wichtigste Blutparameter der Hämatokrit, die Hämoglobinkonzentration sowie die serologischen Konzentrationen des Gesamtproteins, des Albumins und des Blutharnstoffs zusammenfassen.

Abbildung 26 zeigt das Auftreten von Abweichungen dieser Parameter in Bezug auf die diagnostizierten Klassen der IKGK bei den beiden Untersuchungsgruppen. Hierbei ist anzumerken, dass es sich lediglich bei dem Blutharnstoffwert um einen rein nierenspezifischen Parameter handelt. Ein Anstieg dieses Wertes kann als deutlicher Hinweis auf eine bestehende Niereninsuffizienz gewertet werden. Es fällt auf, dass auch Weißbüschelaffen mit relativ gering ausgeprägten IKGK zum Teil erhöhte BUN-Werte aufweisen. Abweichungen der restlichen Blutwerte sind vermutlich eher im Zusammenhang mit dem Krankheitskomplex des WMS zu betrachten.

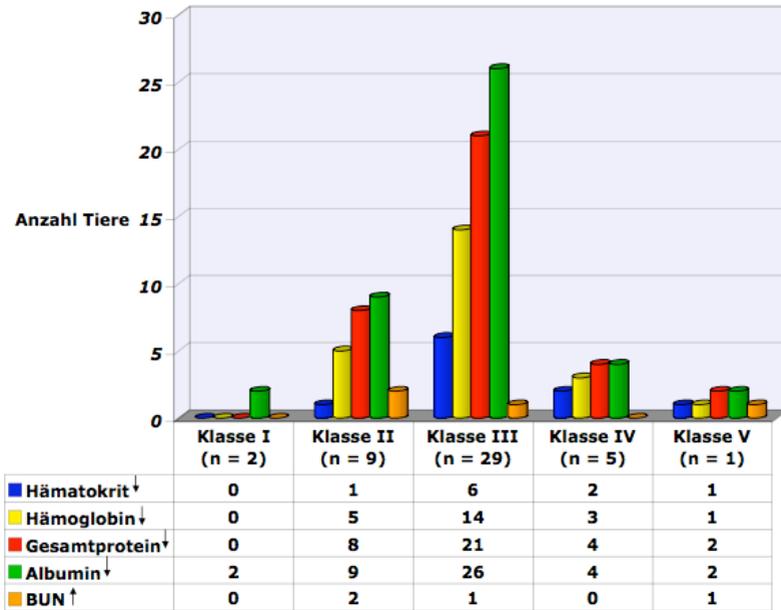


Abbildung 26: Darstellung der wichtigsten veränderten Blutparameter in Bezug auf die Klassifizierung der IKGn nach HAAS (1997) in den Untersuchungsgruppen I und II.

3.3 Bedeutung der morphologischen Veränderungen im Hinblick auf das WMS

Um eine mögliche Korrelation zwischen dem WMS und den nachgewiesenen Nierenveränderungen zu untersuchen, wurden in Tabelle 8 die wichtigsten nierenpathologischen Parameter (Klasse IKGn, interstitielle Nephritis und tubuläre Atrophie) den wichtigsten Parametern der Pathologie des WMS (Klinik und chronische Enteritis) gegenübergestellt. Die Tabelle zeigt ausgehend von der Klassifizierung der IKGn die jeweils parallel bestehenden Befunde unter Angabe der verschiedenen zugeteilten Grade. Bezüglich der Enteritiden wurde hierfür bei abweichenden Ausprägungsformen in den unterschiedlichen Darmabschnitten der höchste Grad verwendet; einem Weißbüschelaffen mit einer

mittelgradigen chronischen Enteritis des Dünndarms und einer minimalen chronischen Colitis wurde somit der Grad drei (= mittelgradig) zugeordnet.

Tabelle 8: Gegenüberstellung der wichtigsten Parameter von Nieren- und WMS-Pathologie ausgehend von der Klasse der IKGN nach HAAS (1997).

Tier- gruppe	Klasse IKGN nach HAAS (1997)	NIERE		WMS	
		interstitielle Nephritis	tubuläre Atrophie	Klinik WMS	chronische Enteritis
UG I	negativ (n = 0)	-----	-----	-----	-----
	I (n = 1)	-	-	positiv	++
	II (n = 5)	-/+ /+++ /+++	-/+ /+++	positiv	+++ /+++
	III (n = 13)	-/+ /+++ /+++	+ /+++ /+++	positiv	+ /+++ /+++ /+++
	IV (n = 3)	++	+ /++	positiv	++
	V (n = 2)	+++	+++	positiv	+++
UG II	negativ (n = 0)	-----	-----	-----	-----
	I (n = 1)	-	-	positiv	++
	II (n = 4)	- /+ /++	- /+	positiv	+++ /+++
	III (n = 16)	- /+ /++	- /+ /++	positiv	+++ /+++
	IV (n = 2)	+ /+++	- /++	positiv	+ /+++
	V (n = 0)	-----	-----	-----	-----
KG	negativ (n = 1)	-	-	negativ	n. u.
	I (n = 0)	-----	-----	-----	-----
	II (n = 6)	- /+ /++	- /+	negativ	n. u.
	III (n = 3)	++	+	negativ	++
	IV (n = 1)	++	+	negativ	++
	V (n = 0)	-----	-----	-----	-----

UG I = Untersuchungsgruppe I; UG II = Untersuchungsgruppe II; KG = Kontrollgruppe; - = negativ; + = minimal; ++ = geringgradig; +++ = mittelgradig; ++++ = hochgradig.

Es zeichnet sich ein heterogenes Bild ab, bei dem der Ausprägungsgrad der Enteritis und das Vorhandensein klinischer WMS-Symptomatik nicht mit der Ausprägung der Nierenpathologie korreliert. Dies wird besonders deutlich am Beispiel der 13 am WMS erkrankten Weißbüschelaffen der Untersuchungsgruppe I mit einer Klasse III IKGN nach HAAS (1997): So zeigten diese Tiere mit Graden von minimal bis hochgradig die volle Bandbreite chronischer Enteritiden; gleichzeitig wurde das Niereninterstitium einzelner Tiere

als unverändert eingestuft. Bei den restlichen Tieren lagen minimale bis mittelgradige interstitielle Nephritiden vor. Atrophische Prozesse des Tubulussystems derselben Weißbüschelaffen wurden mit Graden zwischen minimal und mittelgradig eingestuft.

Bei einer weiterführenden statistischen Untersuchung mit Hilfe des Spearman Rangkorrelationskoeffizienten wurden die Grade der in den Untersuchungsgruppen I und II diagnostizierten Enteritiden den Graden der IKGN gegenübergestellt. Hierbei wurde ein nicht signifikanter Korrelationskoeffizient von $r_s = 0,022868$ ermittelt, wodurch die in Tabelle 8 dargestellten Ergebnisse zusätzlich unterstrichen werden.

Nochmals hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang auch, dass zwei der Kontrolltiere bei fehlender klinischer WMS-Symptomatik ebenfalls eine geringgradige chronische Enteritis und renale Alterationen in Form einer Klasse III und IV IKGN nach HAAS (1997), einer geringgradigen interstitiellen Nephritis und einer minimalen tubulären Atrophie zeigten. Zusammenfassend sprechen die Ergebnisse für eine weitgehende Unabhängigkeit zwischen WMS und Nierenveränderungen, wobei jedoch davon auszugehen ist, dass das parallele Auftreten beider Krankheitskomplexe das pathologische und klinische Bild der jeweils anderen Erkrankung mit beeinflusst. Weiterhin zeigen die Ergebnisse, dass Marmosets unabhängig vom WMS zu einem hohen Prozentsatz an spontan auftretenden Nierenveränderungen leiden.

3.4 Fallberichte der K-Nummern 2086 und 2096

Zwei weitere Weißbüschelaffen aus der Kolonie des DPZ (K 2086, K 2096) wurden im Rahmen dieser Dissertation mit verwendet, da das von ihnen gezeigte Krankheitsbild Ähnlichkeiten mit dem WMS zeigte und sie massive Nierenveränderungen aufwiesen.

Beide Tiere hatten zum Zeitpunkt ihres Todes ein fortgeschrittenes Alter von zehn (K 2086) und elf (K 2096) Jahren erreicht und wurden aufgrund eines progredient schlechter werdenden Allgemeinbefindens und stetigen Gewichtsverlusts über einen Zeitraum von mehr als drei Jahren euthanasiert (siehe Abbildungen 27 und 28).

Die relevanten Ergebnisse zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführter Blut-, Serum- und Urinuntersuchungen sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Beide Tiere zeigten hierbei einen deutlich herabgesetzten Hämatokrit, einen Anstieg des im Blutharnstoff enthaltenen Stickstoffs (BUN) und der Triglyceride sowie eine Proteinurie und Glucosurie. Die K-Nummer 2086 wies zudem eine erhöhte Leukozytenzahl und einen positiven Nachweis von Ketonkörpern und Bilirubin im Urin auf.

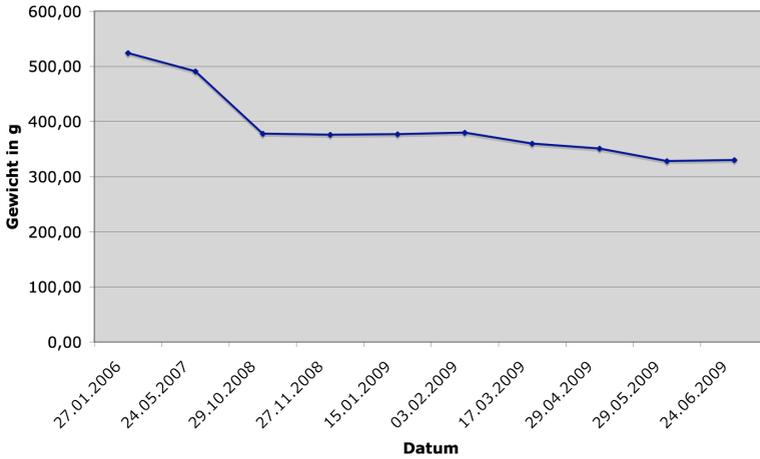


Abbildung 27: Gewichtsverlauf der K-Nummer 2086.

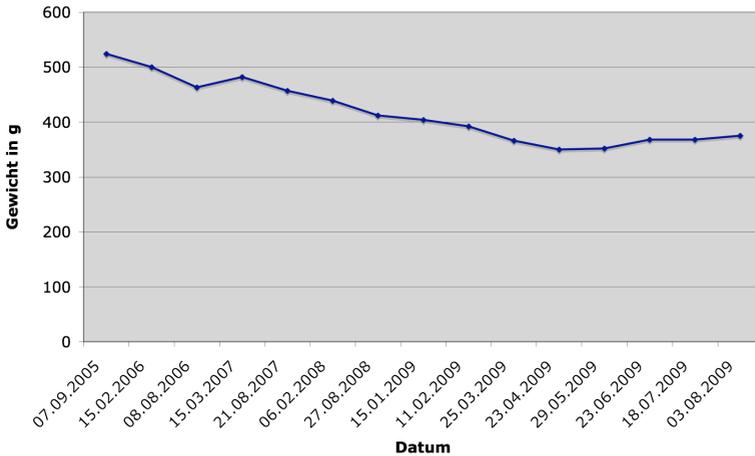


Abbildung 28: Gewichtsverlauf der K-Nummer 2096.

Tabelle 9: Laborwerte der K-Nummern 2086 und 2096

K 2086	K 2096
Laborwerte: <ul style="list-style-type: none"> • Blut- und Serumwerte am 10.06.09: Hämatokrit: 14% ↓; BUN: 62,62 mmol/l ↑; Triglyceride: 275 mg/dl ↑; Kalium: 7,4 mmol/l ↑; Kreatinin: 1,19 mg/dl ↑; • Combur®-Test vom 23.01.09: Leukozyten: ca. 75/μl ↑; Protein: ca. 50/μl ↑; Glukose: 300-1000 mg/dl ↑; Erythrozyten: ca. 50/μl ↑; Keton: +; Bilirubin: + 	<ul style="list-style-type: none"> • Blut- und Serumwerte am 03.08.09: Hämatokrit 24% ↓; AP: 176 U/l ↑; CK: 362 U/l ↓; ALT: 29,4 U/l ↓; GGT 4,5 U/l ↓; BUN 77,2 mg/dl ↑; LDH 338 U/l ↑; Triglyceride: 287 mg/dl ↑; • Combur®-Test vom 16.06.09: Glucose: ca. 150 mg/dl ↑; Protein ca. 30 mg/dl ↑; Bilirubin: +

+ = positiv; ↓ = erniedrigt; ↑ = erhöht.

Zur pathologischen Untersuchung standen jeweils lediglich die Nieren zur Verfügung. Die Nieren beider Tiere zeigten makroskopisch bilateral hochgradige, multifokale oberflächliche Einziehungen der Nierenrinde und multifokale Kapseladhäsionen. Bei beiden Weißbüschelaffen hatte das Nierenparenchym eine diffuse weißlich-gelbe bis bräunliche, unregelmäßige Färbung, die sich auch im Anschnitt nachvollziehen ließ. Das Gewebe wies eine derbe Konsistenz mit Verdacht auf multifokale Fibrosierungen und Verkalkungen auf. Tabelle 10 zeigt die zusammengefassten histopathologischen Nierenbefunde der zwei Weißbüschelaffen.

Tabelle 10: Überblick über die histopathologischen Befunde bei den K-Nummern 2086 und 2096

	K 2086	K 2096
Glomerula	<ul style="list-style-type: none"> • mgr., diffuse, überwiegend zystische Degeneration • mgr., diffuse, segmentale bis globale mesangiale Hyperplasie und Hyperzellularität • hgr., diffuse Verdickung der Basalmembranen • ggr., fokale Synechien 	<ul style="list-style-type: none"> • mgr., diffuse, teils zystische Degeneration • mgr., diffuse, segmentale bis globale mesangiale Hyperplasie und Hyperzellularität • hgr., diffuse Verdickung der Basalmembranen • mgr., fokale Synechien
Tubulus-system	<ul style="list-style-type: none"> • hgr., multifokale bis diffuse Hämosiderose • hgr., multifokale zystische Degeneration und hgr., multifokale Atrophie • mgr., multifokale, zumeist von den Basalmembranen ausgehende Verkalkungen • mgr., multifokale Verdickung der Basalmembranen • mgr., multifokale, unregelmäßige papilläre Hyperplasie der Epithelzellen • hgr., multifokaler Nachweis von Proteinzyllindern • oligofokale, minimale, mononukleäre Exozytose 	<ul style="list-style-type: none"> • mgr., multifokale Hämosiderose • hgr., multifokale, teils zystische Degeneration und hgr., multifokale Atrophie • ggr., multifokale, zumeist von den Basalmembranen ausgehende Verkalkungen • mgr., multifokale Verdickung der Basalmembranen • mgr., multifokale, unregelmäßige papilläre Hyperplasie der Epithelzellen • hgr., multifokaler Nachweis von Proteinzyllindern
Interstitium	<ul style="list-style-type: none"> • mgr., multifokale, gemischtzellige Entzündungszellinfiltrate • hgr., multifokale Hämosiderose • hgr., multifokale bis diffuse Fibrose (siehe Abb. 29) • hgr., diffuse extramedulläre Hämatopoese im Bereich des Nierenbeckens mit Nachweis aller Zelllinien 	<ul style="list-style-type: none"> • mgr., multifokale, gemischtzellige Entzündungszellinfiltrate • mgr., multifokale Hämosiderose • hgr., multifokale bis diffuse Fibrose • hgr., diffuse extramedulläre Hämatopoese im Bereich des Nierenbeckens mit Nachweis aller Zelllinien (siehe Abb. 30)
Nierenbecken	<ul style="list-style-type: none"> • o.b.B. 	<ul style="list-style-type: none"> • o.b.B.;

Bei der immunhistochemischen Untersuchung wurden im Bereich der glomerulären Mesangien bei der K-Nummer 2096 hochgradige, diffuse, überwiegend globale und bei der K-Nummer 2086 mittelgradige, diffuse, segmentale bis globale IgM-Ablagerungen nachgewiesen (Abbildung 31). Der Nachweis von IgA hingegen verlief negativ. Beide Tiere zeigten zudem eine hochgradige, diffuse, segmentale bis globale Ablagerung des Komplementfaktors C3c (Abbildung 32) und eine geringgradige, fokale und segmentale Expression von α -sma. Im Bereich der Interstitien konnte mit Hilfe des anti- α -sma-Antikörpers eine hochgradige, multifokale Expression von glatten Muskelfasern nachgewiesen werden.

Aufgrund der vorliegenden histopathologischen und immunhistologischen Befunde wurden für beide Tiere die folgenden histopathologischen Diagnosen gestellt:

- 1) Diffuse proliferative Glomerulonephritis im Sinne einer Klasse IV Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997);
- 2) Hochgradige, diffuse, chronisch-fibrosierende tubulointerstitielle Nephritis;
- 3) Hochgradige, diffuse extramedulläre Hämatopoese im Bereich Medulla und der Nierenpapille.

Diese beiden Fälle zeigen auch im Zusammenhang mit den Befunden bei an WMS erkrankten Weißbüschelaffen, dass diese Tierart häufig von teils schweren, spontan auftretenden Nierenveränderungen betroffen ist. Dies ist zu berücksichtigen bei der Verwendung von Weißbüschelaffen im Rahmen präklinischer Studien mit toxikologischen Auswertungen. Andererseits zeigen sich aber auch Möglichkeiten, diese Spezies als Tiermodell in der nephrologischen Forschung einzusetzen.

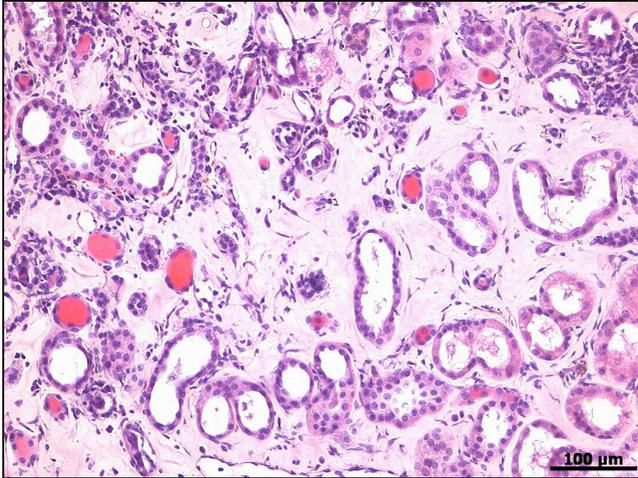


Abbildung 29: Hochgradige, chronisch-fibrosierende interstitielle Nephritis mit ausgeprägter tubulärer Atrophie bei einem Weißbüschelaffen mit chronischer Niereninsuffizienz (K 2086, HE).

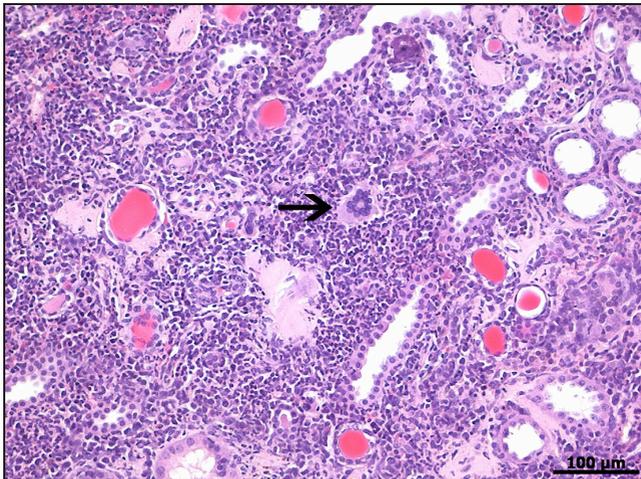


Abbildung 30: Hochgradige extramedulläre Hämatopoese im Bereich des Nierenmarks bei einem Weißbüschelaffen mit chronischer Niereninsuffizienz; Pfeil zeigt auf einen Megakaryozyten (K 2096, HE).

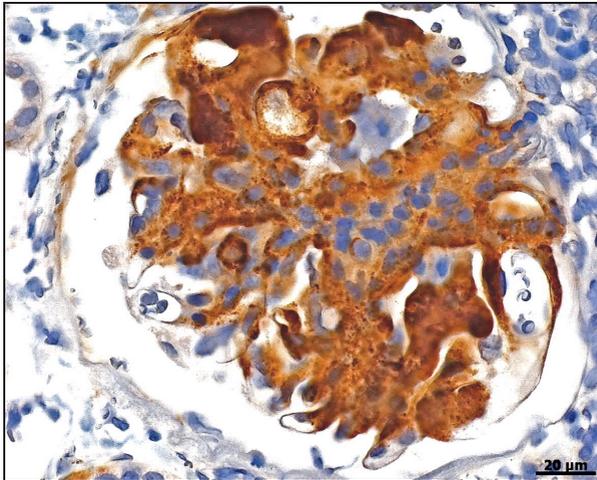


Abbildung 31: Fokale, massive glomeruläre IgM-Ablagerungen bei einem Weißbüschelaffen mit chronischer Niereninsuffizienz und einer Klasse IV Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997) (K 2096, SABC-IHC, anti-IgM).

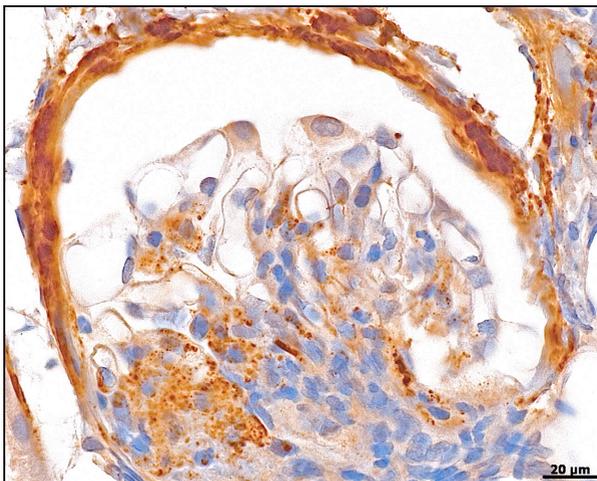


Abbildung 32: Hochgradige glomeruläre Ablagerungen des Komplementfaktors C3c bei einem Weißbüschelaffen mit chronischem Nierenversagen (K 2096, SABC-IHC, anti-C3c).

4 Diskussion

Das Wasting Marmoset Syndrom stellt ein ernstzunehmendes Problem bei in menschlicher Obhut lebenden Weißbüschelaffen dar. Frühere, am Deutschen Primatenzentrum durchgeführte Studien haben sich aus diesem Grund der ausführlichen Untersuchung der assoziierten pathomorphologischen Veränderungen und zugrunde liegender pathogenetischer Mechanismen des WMS gewidmet (QUOHS 2003; ZÖLLER 2005). Es konnte dargestellt werden, dass es sich um ein multifaktorielles Krankheitsgeschehen handelt, das primär im Darmtrakt in Form von T-Zell dominierten chronischen Enteritiden lokalisiert ist. Durch diese Enteritiden bedingte chronische Schädigungen des Darmepithels führen zu der Ausbildung eines Malabsorptionssyndroms mit entsprechender klinischer Symptomatik (ZÖLLER 2005).

Neben mit dem WMS in Verbindung gebrachten pathologischen Veränderungen in anderen Organsystemen wurden auch immer wieder entzündliche Nierenveränderungen mit progressivem Charakter und proliferativen Prozessen im Bereich der Glomerula bei erkrankten Weißbüschelaffen beschrieben. Autoren, die an diesen Nephropathien geforscht haben, stellten bezüglich des Krankheitsbildes deutliche Übereinstimmungen mit der primären IgA-Nephropathie des Menschen fest und benannten sie aus diesem Grund als IgA-, bzw. IgM/IgA-Nephropathie der Callitrichiden (BRACK et al. 1999; SCHROEDER et al. 1999; EITNER et al. 2001). SCHROEDER et al. (1999) vermuteten zudem einen ätiologischen Zusammenhang mit dem WMS, ähnlich wie er beim Menschen mit gleichzeitiger Glutenintoleranz (Zöliakie) und IgA-Nephropathie diskutiert wird (MATYSIAK-BUDNIK et al. 2008; ZHOU et al. 2009).

Vor dem Hintergrund der Ergebnisse dieser vorangegangenen Studien war es das Ziel des

vorliegenden Dissertationsvorhabens, eine detaillierte und ausführliche Untersuchung und Beschreibung aller bei Weißbüschelaffen auftretenden pathomorphologischen Nierenveränderungen durchzuführen und einen Überblick über die Ausprägung und Prävalenz insbesondere der mesangioproliferativen Alterationen zu schaffen. Hierbei standen umfassende histopathologische und immunhistologische Methoden als wichtigste diagnostische Verfahren im Vordergrund. Anhand des Vergleiches zu klinisch gesunden Kontrolltieren sollte zudem die Fragestellung einer möglichen Korrelation der nachgewiesenen Nephropathien mit dem WMS weiterführend ergründet werden. Zu diesem Zweck wurden die Nieren von insgesamt 47, aus zwei unterschiedlichen Kolonien mit vergleichbaren Haltungsbedingungen stammenden Weißbüschelaffen mit der klinischen Verdachtsdiagnose WMS untersucht. Der Identifikation potentiell erkrankter Tiere dienten die von ZÖLLER (2005) aufgestellten Kriterien (siehe Material und Methoden 3.1.1). Die Weißbüschelaffen aus dem Deutschen Primatenzentrum wurden der Untersuchungsgruppe I, die aus einer externen Kolonie stammenden der Untersuchungsgruppe II zugeordnet. Als Kontrollgruppe dienten insgesamt elf beiden Kolonien entstammende, klinisch und pathologisch-anatomisch unauffällige Weißbüschelaffen.

4.1 Histopathologie des Darmtrakts und Diagnoseabsicherung des WMS

Aufgrund der im Rahmen der postmortalen Untersuchung gewonnenen pathologisch-anatomischen und histopathologischen Befunde konnte bei allen Weißbüschelaffen aus den Untersuchungsgruppen I und II die Verdachtsdiagnose des WMS bestätigt werden. Es lagen zumeist milde, chronische bis chronisch-aktive Enteritiden mit differierendem Verteilungsmuster in Dünn- und Dickdarm vor, die makroskopisch jedoch nicht immer in Erscheinung traten. Das Entzündungsbild wurde bei allen Tieren von lymphoplasmazytären

Infiltraten dominiert. Auf eine immunhistochemische Untersuchung zur Differenzierung von B- und T-Lymphozyten wurde bei den nicht retrospektiven Fällen verzichtet. Abgesehen von den im Fokus der vorliegenden Studie stehenden Nierenveränderungen, wiesen die Weißbüschelaffen neben den Darmentzündungen keine wesentlichen anderen pathologischen Organveränderungen auf.

In der Kontrollgruppe konnten neben den Nieren lediglich Dünn- und Dickdarmanteile von zwei Tieren, G 7531 und 7532, histopathologisch untersucht werden, da das verbleibende Organmaterial der restlichen Tiere anderen wissenschaftliche Zwecken zugeführt wurde. Beide Weißbüschelaffen zeigten mit geringgradigen chronischen, lymphoplasmazytären Enteritiden im Bereich des Dünndarms und minimalen Colitiden vergleichbare histopathologische Befunde zu denen der erkrankten Tiere. Dies wirft die Frage auf, ob diese Tiere tatsächlich als gesund einzustufen sind, oder ob es sich möglicherweise um subklinische, frühe Stadien des WMS bzw. anderer Erkrankungen handeln könnte. Zudem kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, dass die restlichen Kontrolltiere bei einer entsprechenden histopathologischen Untersuchung ähnliche enterale Entzündungsprozesse aufgewiesen hätten. Eine Aufnahme dieser Tiere in die Kontrollgruppe der vorliegenden Studie ist einerseits mit ihrer vollständigen klinischen Symptomlosigkeit zu Lebzeiten und andererseits mit dem besonderen Status des Weißbüschelaffens als Versuchstier zu rechtfertigen: Mehr noch als bei anderen Vertebraten steht bei der Forschung an non-humanen Primaten die strenge Einhaltung des 3R-Konzepts (replacement, reduction, refinement) im Vordergrund. Das 3R-Konzept sieht den weitestgehenden Verzicht auf Versuchstiere, eine Reduktion der Versuchstierzahlen und eine Verfeinerung der wissenschaftlichen Methoden zur Minimierung des Belastungsgrades der Tiere vor. Aus der Einhaltung dieses sinnvollen

und ethisch notwendigen Konzepts resultiert, dass unverändertes Organmaterial von Weißbüschelaffen generell nur sehr restriktiv und in geringem Umfang zur Verfügung steht. Inwieweit insbesondere die statistischen Ergebnisse der vorliegenden Studie durch die Verwendung dieser Kontrolltiere beeinflusst wurden und welche Rückschlüsse sich daraus ergeben, wird an späterer Stelle bei den Überlegungen zur Pathogenese der mesangioproliferativen Immunkomplex-Glomerulonephritis des Weißbüschelaffens diskutiert.

4.2 Altersstruktur der Untersuchungsgruppen I und II und der Kontrollgruppe

Bei Betrachtung der Altersstruktur der beiden Untersuchungsgruppen und der Kontrollgruppe fällt auf, dass die erkrankten Weißbüschelaffen aus der externen Kolonie im Schnitt deutlich jünger waren als die der Kolonie des Deutschen Primatenzentrums. Während es sich bei ersteren zu über der Hälfte (57 %) um juvenile bis subadulte Tiere bis zu eineinhalb Jahren handelte, lag der Altersschnitt bei der Untersuchungsgruppe I bei etwa fünf Jahren, also in der Altersgruppe adulter Weißbüschelaffen von fünf bis acht Jahren. Somit entspricht die Altersverteilung der Untersuchungsgruppe I weitgehend den in der Literatur zu findenden Angaben, laut derer in erster Linie adulte und geschlechtsreife Weißbüschelaffen vom WMS betroffen sind (KING 1976; LOGAN u. KHAN 1996; QUOHS 2003). Die Ergebnisse der Altersanalyse der Untersuchungsgruppe II unterstützen hingegen die These, dass neben einer adulten auch eine juvenile Ausprägungsform existiert, welche durch Entwicklungsstörungen und unzureichende Gewichtszunahmen gekennzeichnet ist (SHIMWELL et al. 1979; ZÖLLER 2005).

In der Kontrollgruppe fanden sich überwiegend Tiere, die der Altersgruppe heranwachsender, geschlechtsreifer Weißbüschelaffen zwischen eineinhalb bis vier Jahren zugeordnet wurden.

Insgesamt zeigte die Kontrollgruppe bezüglich ihrer Altersstruktur keine deutlichen Abweichungen zu denen der Untersuchungsgruppen I und II.

4.3 Nierenpathologie und Graduierung der histopathologischen Befunde

Betrachtet man die im Rahmen dieser Studie gewonnenen Ergebnisse der pathologisch-anatomischen Untersuchungen der Nieren in den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen, so fällt auf, dass auch ausgeprägtere histopathologische Schädigungen makroskopisch nur wenig bzw. gar nicht in Erscheinung traten. Lediglich sechs Tiere wiesen makroskopische Anzeichen einer Nephropathie auf, die sich zumeist in Form einer bilateralen, diffusen hellen Färbung des Nierenparenchyms, einer granulierten Oberfläche und fokalen bis multifokalen Kapseladhäsionen äußerten. Ein vergleichbares, insgesamt relativ unauffälliges makroskopisches Bild wird auch in der Literatur im Zusammenhang mit chronischen interstitiellen Nephritiden und Glomerulopathien bei Weißbüschelaffen beschrieben (BRACK 1988).

Das Spektrum histopathologischer Befunde war insbesondere hinsichtlich glomerulärer Alterationen bei allen in die Studie aufgenommenen Weißbüschelaffen mannigfaltig und erforderte eine detaillierte Untersuchung der einzelnen histologisch-anatomischen Einheiten. Glomeruläre, tubuläre und interstitielle Veränderungen mussten für sich charakterisiert und graduiert werden, um später in einen pathogenetischen Zusammenhang gebracht und interpretiert werden zu können. Auch das Nierenbecken und Gefäßsystem wurden berücksichtigt, zeigten jedoch nur in Ausnahmefällen relevante histopathologische Veränderungen. Im Zusammenhang mit dem WMS wurden schon früh von verschiedenen Autoren regelmäßig auftretende, in der Regel hauptsächlich das Interstitium und

Tubulussystem betreffende, entzündliche Prozesse unbekannter Ursache beschrieben (BRACK u. ROTHE 1981; BEGLINGER et al. 1988; POTKAY 1992; SAINSBURY et al. 1992). BRACK (1988) erwähnte erstmals bei Krallenaffen des Deutschen Primatenzentrums bei bereits sehr jungen subadulten Tieren, vermehrt aber bei Tieren ab einem Jahr, auftretende Glomerulonephritiden mit mesangioproliferativem Charakter und vermutete aufgrund des immunhistochemischen Nachweises von mesangialen IgM-Ablagerungen zugrunde liegende immunpathologische Mechanismen. Dass derartige Glomerulumveränderungen zuvor kaum Erwähnung fanden, ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass sie im Rahmen der histologischen Routinediagnostik, für die in der Regel lediglich HE-gefärbte Paraffinschnitte zur Verfügung stehen, insbesondere bei milden Ausprägungsformen schnell übersehen werden können. Die Diagnose Immunkomplex vermittelter Glomerulonephritiden setzt jedoch entsprechende immunhistochemische Untersuchungen und Spezialfärbungen zur Darstellung von mesangialen Strukturen und Basalmembranen wie der PAS-Reaktion und Methenaminversilberungen voraus.

Ein weiteres Problem stellt die Klassifizierung solcher Immunkomplex-Glomerulonephritiden dar. In der Humanmedizin existieren zahlreiche unterschiedliche Klassifikationen der IgA-Nephropathie (LEE et al. 1982; HAAS 1997; D'AMICO et al. 2001; LEE et al. 2005; WAKAI et al. 2006). Die hier angegebenen Veröffentlichungen stellen lediglich einen Teil der Versuche einer histologischen Graduierung und diagnostischen Standardisierung dieses Krankheitsbildes dar und spiegeln die Komplexität und Heterogenität der assoziierten histologischen Alterationen wider. Ziel einer Klassifizierung sollte die Entwicklung von Kriterien sein, anhand derer sich verlässliche klinisch-prognostische Aussagen für den Patienten treffen lassen. Hierfür ist neben klaren Definitionen einzelner Begrifflichkeiten eine

gute Reproduzierbarkeit der gestellten Diagnosen nötig, d. h., mehrere Pathologen sollten anhand klarer Bewertungsschemata unabhängig voneinander dieselbe Biopsie histologisch gleichartig beurteilen und einstufen (CATTRAN et al. 2009). Unter den bestehenden Klassifikationen der IgAN gehört die von HAAS (1997) zu den anerkanntesten, da dieser sowohl akute als auch chronische Kriterien berücksichtigt und mit Hilfe seiner Einteilung in fünf Subklassen eine relativ exakte klinische Prognose möglich ist (ZHOU et al. 2009). Aus diesem Grund wurde auch in der vorliegenden Studie auf dieses Bewertungssystem zurückgegriffen. Seit letztem Jahr steht mit der von Nierenpathologen und Nephrologen des International IgA-Nephropathy Networks und der Renal Pathology Society entwickelten „Oxford Klassifikation der IgA-Nephropathie“ eine neue viel versprechende Klassifikation zur Verfügung, die ihre Anwendbarkeit im Laufe der nächsten Jahre jedoch noch unter Beweis stellen muss (CATTRAN et al. 2009; EITNER u. FLOEGE 2009; ROBERTS et al. 2009). In Anlehnung an dieses humanmedizinische Modell entwickelt derzeit eine veterinärmedizinische Fachgruppe der World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), die „Renal Standardization Study Group“, ein vergleichbares Bewertungssystem für mit Proteinurie einhergehenden Glomerulopathien bei Hunden und Katzen (www.wsava.org).

Mit Ausnahme eines Kontrolltieres (K 1981) zeigten alle in diese Studie aufgenommenen Weißbüschelaffen bei der histologischen Untersuchung zumeist von reaktiven interstitiellen und tubulären Prozessen begleitete proliferative Veränderungen im Bereich der Mesangien, welche aufgrund ihrer Pathomorphologie und ihres immunhistochemischen Verhaltens als Immunkomplex vermittelte mesangioproliferative Glomerulonephritiden eingeordnet wurden. Daraus ergibt sich eine sehr hohe Prävalenz von 98 %. Am häufigsten wurde mit einem

Anteil von 62 % in den beiden Untersuchungsgruppen und 55 % aller untersuchten Tiere inklusive der Kontrollgruppe die Klasse III diagnostiziert, welche dem histopathologischen Bild einer fokal proliferativen Glomerulonephritis entspricht. Die am WMS erkrankten Weißbüschelaffen aus dem Deutschen Primatenzentrum zeigten bezüglich der Ausprägungsgrade der Glomerulonephritiden keine signifikanten Unterschiede zu denen der externen Kolonie. Herkunftsbedingte Einflüsse im Krankheitsverlauf konnten somit weitgehend ausgeschlossen werden, wodurch eine Zusammenlegung der beiden Untersuchungsgruppen zu einer Gruppe für weiterführende statistische Untersuchungen gerechtfertigt war.

Des Weiteren konnte dargestellt werden, dass weibliche und männliche Weißbüschelaffen gleichermaßen betroffen waren, was gegen das Vorliegen einer Geschlechtsprädisposition der Immunkomplex-Glomerulonephritiden spricht und somit mit den von BRACK et al. (1999) veröffentlichten Daten konform geht.

Obwohl auch die Kontrolltiere zu 91 % mesangioproliferative Glomerulonephritiden aufwiesen, ließen sich hier doch signifikant mildere Ausprägungsgrade feststellen. Auffällig ist, dass die G-Nummer 7532, bei der parallel eine geringgradige chronische Enteritis nachgewiesen werden konnte, mit der Klasse IV den höchsten innerhalb der Kontrollgruppe verteilten Grad zeigte. Bei dem vergleichbare enterale Befunde aufweisenden Weißbüschelaffen mit der G-Nummer 7531 wurde mit einer Klasse III Immunkomplex-Glomerulonephritis ebenfalls ein relativ hoher Grad diagnostiziert. Es bleibt die bereits zuvor aufgeworfene Frage, ob diese und eventuell auch weitere Kontrolltiere bereits frühe Stadien des WMS oder anderer enteraler Erkrankungen zeigten, und ob die statistischen Ergebnisse bei einer vollständig darmgesunden Kontrollgruppe nicht noch deutlicher ausgefallen wären. Eine Analyse der altersabhängigen Manifestation der Immunkomplex-Glomerulonephritis

innerhalb der beiden Untersuchungsgruppen zeigte eine Tendenz zu stärkeren Ausprägungsformen bei zunehmendem Alter. So befanden sich die beiden Weißbüschelaffen, bei denen der Klasse V entsprechende fortgeschrittene chronische Glomerulopathien diagnostiziert wurden (G 6931 und 7415), zum Zeitpunkt der Sektion in der Altersgruppe der fünf- bis achtjährigen Tiere. Der mit neun Jahren älteste Weißbüschelaffe (G 6787) wies eine einer diffusen proliferativen Glomerulonephritis entsprechende Klasse IV Immunkomplex-Glomerulonephritis auf. Allerdings zeigte auch ein mit drei Jahren relativ junges Tier aus der externen Kolonie (G 7378) bereits eine Klasse IV Immunkomplex-Glomerulonephritis nach HAAS (1997). Bei der Gruppe der juvenilen bis subadulten Tiere wurde als höchster Ausprägungsgrad die Klasse III diagnostiziert. Diese Daten sprechen für einen chronisch progressiven Verlauf der Erkrankung mit einer bereits sehr frühen ersten Manifestation im sub- bis jungadulten Alter, wie er auch in der Literatur beschrieben wird (BRACK et al. 1999). So war der jüngste entsprechende Befunde aufweisende Weißbüschelaffe (G 7065) gerade einmal zehn Monate alt. Gleichzeitig fällt auf, dass das einzige als befundfrei eingestufte Kontrolltier (K 1981) mit neun Monaten zugleich das jüngste Tier der gesamten Studie war. Die Zahl der untersuchten Jungtiere unter einem Jahr ist jedoch nicht ausreichend, um auf Basis dieser Ergebnisse Aussagen bezüglich einer klaren unteren Altersgrenze der Erstmanifestation zu treffen.

In der Pathogenese der Immunkomplex-Glomerulonephritis korreliert das Maß der glomerulären Schädigungen mit dem der Schädigungen des Interstitiums und des Tubulussystems. Dies erklärt sich durch die besondere endarterielle Blutgefäßversorgung der Tubuli in der Niere. So kann es infolge obliterierter glomerulärer Kapillaren zu ischämischen Situationen kommen, die vor allem im Bereich des Cortex und der empfindlichen proximalen

gewundenen Tubuli zu Nekrose und Atrophie der Tubulusepithelien führen, welche von sekundären, entzündlichen tubulointerstitiellen Entzündungsprozessen begleitet werden (NEWMAN et al. 2009). Dementsprechend konnte auch in der vorliegenden Studie eine positive signifikante Korrelation zwischen dem Ausprägungsgrad der Immunkomplex- Glomerulonephritiden und dem der interstitiellen Nephritiden bzw. der tubulären Atrophie ermittelt werden. Dass zusätzlich tubuläre Atrophie und interstitielle Nephritis stark positiv miteinander korrelierten, überrascht in Anbetracht der oben beschriebenen pathogenetischen Zusammenhänge nicht.

Die bei einem Großteil der untersuchten Weißbüschelaffen vorliegenden tubulären Proteinzyylinder können als Anzeichen einer gestörten glomerulären Filtration infolge glomerulärer Schädigungen gewertet werden und fanden sich dementsprechend vermehrt bei ausgeprägteren Fällen von Immunkomplex-Glomerulonephritiden. Bei zwei Weißbüschelaffen mit hochgradigem, multifokalem bis diffusem Nachweis solcher Proteinzyylinder lag zudem eine hyalintropfige tubuläre Proteinrückresorption bzw. der Nachweis von intratubulären hyalinen Proteintropfen vor (G 6931 und 7415). Betroffene Tubuli wiesen deutliche Schädigungen auf, wobei vor allem Epithelnekrosen im Vordergrund standen. Dies entspricht auch weitgehend den bei Menschen in Verbindung mit hyalintropfiger Rückresorption beobachteten Veränderungen (SATO et al. 2005). Typische klinische Begleitsymptome einer solchen glomerulären und tubulären Schädigung sind eine Hypoproteinämie und Proteinurie. Hiermit konform gehen die ebenfalls bei beiden Tieren ermittelten deutlich erniedrigten serologischen Werte des Gesamtproteins. Die lediglich bei der G-Nummer 7415 erfolgte Harnanalyse zeigte jedoch, anders als aufgrund des histopathologischen Bildes zu vermuten, lediglich eine milde Proteinurie. Die Gründe hierfür

bleiben unklar. Möglicherweise war die Resorptionsfähigkeit der restlichen Tubulusepithelien noch nicht derart ausgeschöpft, dass Protein in höheren Konzentrationen über den Harn ausgeschieden wurde.

Bei vielen der untersuchten Weißbüschelaffen konnten multifokale, zumeist von tubulären Basalmembranen ausgehende Verkalkungen nachgewiesen werden. Häufig wurden diese von tubulärer Atrophie und chronischer interstitieller Nephritis begleitet, so dass in diesen Fällen von einer dystrophischen Form von Kalksalzablagerungen infolge einer Gewebeschädigung auszugehen ist. Bei der Schädigung von Gewebe kommt es zur Ausbildung eines fokalen alkalischen Milieus, welches die Ausfällung von Kalksalzen begünstigt.

Dort, wo entsprechende tubuläre und interstitielle Alterationen fehlten, ist von anderen Formen und Ursachen der Verkalkung auszugehen. So führt eine chronische Niereninsuffizienz über eine Hyperphosphatämie zu einem renalen (sekundären) Hyperparathyreoidismus, welcher seinerseits über eine vermehrte Produktion und Sekretion von Parathormon eine erhöhte Kalziummobilisation aus den Knochen und somit eine Strukturschädigung des knöchernen Systems und eine Störung des Kalzium-Phosphat-Haushalts hervorruft. Als Folge treten disseminierte, sowohl dystrophische als auch metastatische Gewebsverkalkungen und als *Osteodystrophia fibrosa* bezeichnete osteofibrotische Prozesse insbesondere im Bereich des Schädels auf (NEWMAN et al. 2009). Bei zwei Tieren aus dem Deutschen Primatenzentrum (G 6795 und 6634), die ausgeprägte renale, auch das Gefäßsystem betreffende Kalzifikationen aufwiesen, konnte serologisch eine entsprechend deutliche Hyperkalzämie nachgewiesen werden. Zwei der insgesamt fünf Tiere aus der Untersuchungsgruppe I (G 6694 und 6821) bei denen makroskopisch entsprechende Alterationen der Schädelkalotte vorlagen, zeigten zumindest grenzwertige Kalzium-

Serumwerte. Das Ausmaß renaler Gewebeschädigungen würde allerdings lediglich in zwei der genannten Fälle (G 6787 und 6821) die Ausbildung eines renalen Hyperparathyreoidismus erklären. Differentialdiagnostisch ist also noch an eine dritte Form der Verkalkung mit alimentärer Ursache zu denken. So fällt auf, dass besonders massive Kalkablagerungen bei der Gruppe der aus dem Deutschen Primatenzentrum stammenden retrospektiven Fallaufarbeitungen vorlagen. Da sich diese Tiere zu einer Zeit in der Kolonie befanden, in der den Weißbüschelaffen noch vermehrt Vitamin D über das Futter supplementiert wurde, könnte es infolge einer so verursachten Vitamin-D-Hypervitaminose zu einer vermehrten enteralen Kalziumresorption und in deren Folge zu metastatischen Verkalkungen gekommen sein. Ein durch zu geringe Kalzium- und Cholecalciferolgehalte und/oder zu hohe Phosphatgehalte im Futter bedingter alimentärer Hyperparathyreoidismus, der auch bei in menschlicher Obhut lebenden Krallenaffen in der Literatur beschrieben wird (BRACK et al. 1995), kann als ätiologischer Faktor ebenfalls nicht ausgeschlossen werden.

Die meisten (86 %) der untersuchten Weißbüschelaffen zeigten intrazytoplasmatische tubuläre und interstitielle, granuläre Hämosiderinablagerungen im Sinne von Speicherungsnephrosen, die jedoch zumeist nur minimal oder geringgradig ausgeprägt waren. Auch hierfür kommen mehrere Ursachen in Betracht. So können fokale Hämosiderosen Anzeichen eines Erythrozytenabbaus bei mit Blutungen einhergehenden chronischen Entzündungsprozessen bzw. primären fokalen Blutungen sein. Disseminierte Hämosiderosen der Tubulusepithelien, wie sie bei vielen der Tiere in dieser Studie vorlagen, deuten hingegen eher auf eine vermehrte glomeruläre Filtration des Hämosiderins, wie sie infolge hämolytischer Krisen und vermehrten Erythrozytenabbaus beobachtet werden, hin. Generell sind Hämosiderinablagerungen, insbesondere Hämosiderosen der Leber, ein häufiger Nebenbefund bei Weißbüschelaffen mit und ohne WMS (BRACK u. ROTHE 1981;

CHALIFOUX et al. 1982; QUOHS 2003; ZÖLLER 2005), wobei ihre klinische bzw. pathologische Relevanz unklar ist (TUCKER 1984; POTKAY 1992). MILLER et al. (1997) konnten im Rahmen ihrer Studien eine positive Korrelation zwischen dem Eisenanteil in der Nahrung und dem Hämosiderinnachweis in der Leber bei Weißbüschelaffen ermitteln, was eine diätetisch bedingte Ätiologie wahrscheinlich macht. KASPAREIT et al. (2006) kommen aufgrund ihrer histopathologischen Studienergebnisse an insgesamt 200 Weißbüschelaffen zu dem gleichen Schluss. Aussagen darüber, inwieweit solche alimentär bedingten Hämosiderosen auch in der Niere auftreten können, finden sich in der Literatur jedoch nicht. Beim Hund stellen Hämosideringranula im Zytoplasma der proximalen gewundenen Tubulusepithelzellen einen häufigen mikroskopischen Zufallsbefund in ansonsten gesunden Nieren dar (NEWMAN et al. 2009). Dementsprechend können vermutlich auch die milden tubulären Hämosiderosen dieser Studie als Zufallsbefunde ohne klinische Relevanz eingestuft werden.

4.3.1 Pathogenetische Bedeutung der Immunglobuline A und M

Die immunhistochemische Untersuchung zeigte bei allen untersuchten Weißbüschelaffen in ihrer Ausprägung differierende, teilweise jedoch ausgeprägte mesangiale Ablagerungen von IgM. IgA konnte im Vergleich hierzu lediglich bei 47 % der Tiere in deutlich niedrigeren Ausprägungsgraden im Bereich der Mesangien nachgewiesen werden. Dies entspricht weitgehend den Ergebnissen von BRACK et al. (1999), welche ebenfalls eine deutliche Dominanz von mesangialem IgM gegenüber IgA beobachteten. Interessanterweise konnte in der vorliegenden Studie jedoch eine positive signifikante Korrelation zwischen dem Ausprägungsgrad der diagnostizierten Immunkomplex-Glomerulonephritiden und dem mesangialen Nachweis von IgA ermittelt werden, während dieser Wert für IgM-

Ablagerungen nicht signifikant war. Auf der anderen Seite wiesen auch einige Tiere, bei denen immunhistochemisch lediglich IgM-, aber keine IgA-Ablagerungen darstellbar waren, vergleichsweise hohe Grade von Immunkomplex-Glomerulonephritiden auf. Dies lässt mehrere Schlüsse zu: Einerseits scheint es so zu sein, dass IgM-Ablagerungen bei der Pathogenese der Immunkomplex-Glomerulonephritiden eine durchaus gewichtige Rolle spielen und auch ohne das Vorhandensein von mesangialem IgA ein entsprechendes Krankheitsbild auslösen können. Andererseits ist zu bedenken, und wurde auch bereits in der Literatur diskutiert, dass für immunhistochemische Studien nur polyklonale humane Immunglobulin-Antikörper mit begrenzter Kreuzreaktivität für Immunglobuline von Krallenaffen zur Verfügung stehen. So konnten SCHROEDER et al. (1997) eine im Vergleich zu IgM deutlich geringere Kreuzreaktivität von Callitrichiden-IgA mit humanen Antikörpern nachweisen und kamen demnach zu dem Schluss, dass eine sehr viel höhere tatsächliche Prävalenz von IgA-Ablagerungen bei betroffenen Tieren vorliegt, als es die Ergebnisse immunhistologischer Studien vermuten lassen. Wahrscheinlich ist, dass beide Faktoren gleichzeitig eine Rolle spielen, dass also sowohl mesangiales IgM als auch IgA einen wichtigen pathogenetischen Einfluss haben, wobei jedoch das pathologische Potential der IgA-Ablagerungen zu überwiegen scheint. Insofern erscheint die von BRACK (1999) gewählte Bezeichnung einer IgM/IgA-Nephropathie der Callitrichiden auch für die vorliegende Studie als adäquat und ist der Bezeichnung als reine IgAN vorzuziehen.

In der humanen- und veterinärmedizinischen Literatur werden bei der IgA-, bzw. IgM/IgA-Nephropathie parallel zu IgA-Ablagerungen auftretende mesangiale Ablagerungen des Komplementfaktors C3 beschrieben (RIFAI et al. 1979; BRACK 1988; JACKSON et al. 1992; KIM u. HONG 1997; NAKAGAWA et al. 2000; HAAS 2003; MATHIESON 2003;

BORDA et al. 2004). In Übereinstimmung hiermit konnten auch in der vorliegenden Arbeit bei einem Großteil der untersuchten Tiere mesangiale C3c-Komplementablagerungen immunhistochemisch nachgewiesen werden, und es konnte zudem eine positive signifikante Korrelation zwischen den Ausprägungsgraden dieser Ablagerungen und denen der IgA-Ablagerungen sowie der Immunkomplex-Glomerulonephritiden dargestellt werden.

Die bei insgesamt vier Tieren durchgeführte ultrastrukturelle Untersuchung wurde als ergänzende Methode im Rahmen dieses Dissertationsvorhabens durchgeführt. Der hierbei bei drei Tieren mit zuvor diagnostizierten Immunkomplex-Glomerulonephritiden positive Nachweis von elektronendichten Ablagerungen im Bereich der Mesangien bzw. der negative Nachweis im Falle des als gesund eingestuften Kontrolltieres K 1981 kann als Bestätigung und Unterstreichung der histopathologischen und immunhistologischen Befunde betrachtet werden.

Eine weitere immunhistochemische Untersuchung erfasste den Nachweis glatter Muskelfasern in den Glomerula. Der Gedanke war, dass sich eine vermehrte mesangiale Proliferation in einer erhöhten Expression von glatten Muskelfasern im Bereich der mesangialen Matrix widerspiegeln würde. Hierfür wurde ein polyklonaler anti- α -sma-Antikörper verwendet. Alle untersuchten Weißbüschelaffen zeigten zum Teil ausgeprägte positive Reaktionen in den Glomeruli. Diese konnten jedoch aufgrund der Dicke der verwendeten Paraffinschnitte häufig nicht eindeutig einer glomerulären Struktur zugeordnet werden. Zumeist fanden sich positive Areale jedoch sowohl in den Mesangien als auch im Bereich der Endothelzellen peripherer Kapillarschlingen. Das Ergebnis der statistischen Untersuchung zeigten deutlich, dass zwischen dem glomerulären Nachweis von glatten

Muskelfasern und der Ausprägung der Immunkomplex-Glomerulonephritis keine Korrelation bestand ($r_s = -0,009290$). Ähnliche Verteilungsmuster glatter Muskelfasern beschreiben GOUMENOS et al. (1994) in ihrer Studie zur Expression von Myofibroblasten bei Patienten mit IgA-Nephropathie. Zudem konnte auch hier keine signifikante Korrelation der beiden Parameter ermittelt werden. Der glomeruläre Nachweis von α -sma scheint demnach also wie bei der IgA-Nephropathie des Menschen kein guter pathologischer und prognostischer Indikator für die IgM/IgA-Nephropathie der Callitrichiden zu sein.

4.3.2 Interpretation der Ergebnisse der laboranalytischen Untersuchungen

Bei insgesamt 13 Weißbüschelaffen aus den Untersuchungsgruppen I und II wurde im Rahmen der Sektion eine Harnanalyse mit Hilfe des Combur-Tests® durchgeführt. Alle diese Tiere zeigten mindestens eine Klasse III Immunkomplex-Glomerulonephritis; das Ausmaß der histologischen Schädigungen ließ also in allen Fällen veränderte Harnparameter erwarten. Dementsprechend lag bei sechs der untersuchten Tiere eine milde und bei einem Tier (G 7390) eine mittelgradige Proteinurie vor. Bei dem einzigen Weißbüschelaffen dieser Gruppe mit einer Klasse V Immunkomplex-Glomerulonephritis (G 7415) fiel der Proteinnachweis mit Hilfe des Combur-Tests® jedoch, wie bereits zuvor erwähnt, negativ aus. Eine spätere bei drei Tieren ergänzend durchgeführte quantitative Analyse zeigte allerdings auch bei diesem Tier einen geringgradig erhöhten Proteingehalt im Urin (17,67 mg/dl). Zudem konnte mit Hilfe der qualitativen Harnanalyse bei einem weiteren Tier eine deutlich stärker ausgeprägte Proteinurie nachgewiesen werden, als es anhand des Farbumschlags auf dem Teststreifen abzulesen war (Ergebnis Combur®-Test: ca. 100 mg/dl; Ergebnis quantitative Analyse: 510, 23 mg/dl). Die Widersprüchlichkeit der Ergebnisse beider Testverfahren weist die Grenzen des kommerziellen Testsystems auf, stellt aber aufgrund seiner hohen Praktikabilität und

Wirtschaftlichkeit seinen klinischen Sinn der Aufdeckung schwerer Ausscheidungsstörungen kaum in Frage.

Die Proteinurie wurde in vielen Fällen von einer zumeist milden Hämaturie und einer Glucosurie begleitet; die drei Diagnosen traten jedoch auch unabhängig voneinander auf. Als weiterer Hinweis auf eine gestörte glomeruläre Filtration lag vereinzelt der Nachweis von Ketonkörpern und Leukozyten im Urin vor. Die im Vergleich zu den humanen Referenzwerten bei einem Großteil der Weißbüschelaffen ermittelten erniedrigten Harndichtewerte sind in Frage zu stellen, wird in der Veterinärmedizin doch ein größerer entsprechender Referenzbereich zwischen 1,001 bis 1,065 kg/l für gesunde Tiere angegeben (BICKHARDT 2006), innerhalb dessen sich die gemessenen Werte aller 13 Tiere bewegen.

Insgesamt spiegeln die Ergebnisse der Harnanalyse eine deutliche Heterogenität der klinischen Symptomatik der Immunkomplex-Glomerulonephritiden bei ähnlichen histopathologischen Graden wieder. In der Humanmedizin wird die Proteinurie neben den Serum-Kreatininwerten und Bluthochdruck als ein wichtiger klinisch-prognostischer Indikator für die Ausbildung einer Nierenerkrankung im Endstadium (englisch: end stage renal disease (ESRD)) betrachtet (FRIMAT et al. 1997; RADFORD et al. 1997; DONADIO et al. 2002). Eine regelmäßige Beobachtung und Dokumentation des Proteingehalts im Urin könnte also demnach auch bei Weißbüschelaffen einen guten Hinweis auf das Vorliegen einer IgM/IgA-Nephropathie und deren möglichen Verlauf geben. In Verbindung mit parallelen Blutdruckmessungen und Blutanalysen wäre so zudem ein weiterführender Vergleich des humanen Krankheitsbildes mit dem der Callitrichiden möglich. Eine regelmäßige diagnostische Entnahme von Nierenbiopaten zur gleichzeitigen Erfassung von morphologischen Veränderungen dürfte sich hingegen beim Weißbüschelaffen als schwierig

bzw. nicht praktikabel erweisen.

Bei der hämatologischen Untersuchung fiel in erster Linie der relativ hohe Anteil anämischer Tiere insbesondere in der Untersuchungsgruppe I ins Auge. Die Anämie äußerte sich in einer reduzierten Erythrozytenzahl, erniedrigten Hämoglobinwerten sowie einem erniedrigten Hämatokrit. In der Literatur wird im Zusammenhang mit dem WMS zumeist von einer hämolytischen Anämie berichtet, die als normochrom und normozytär oder normochrom und makrozytär eingestuft wird (RICHTER 1984; LOGAN u. KHAN 1996). Die Ursache hierfür ist in den instabilen und für hämolytische Prozesse empfänglichen Erythrozyten von Weißbüschelaffen zu sehen, welche bei Abwesenheit von Vitamin E schnell infolge oxidativer Schädigungen der Zellmembranen einer intravasalen Lyse unterliegen (CHALMERS et al. 1983). Die mit der Lyse einhergehenden Abbauvorgänge könnten über einen vermehrten Eisenabbau zudem einen weiteren Erklärungsansatz für die bei vielen am WMS erkrankten Weißbüschelaffen vorliegende Leberhämösiderose liefern.

Eine morphologische Beurteilung der Erythrozyten und quantitative Bestimmung von Normoblasten und Retikulozyten erfolgte im Rahmen der vorliegenden Studie nicht, so dass eine weitere Differenzierung des Anämietyps diesbezüglich nicht möglich ist. Eine reduzierte mittlere Hämoglobinkonzentration (MCHC), wie sie ebenfalls bei einem hohen Anteil der untersuchten Tiere vorlag, wird normalerweise mit einer Eisenmangelanämie in Verbindung gebracht, so dass auch diese in den entsprechenden Fällen differentialdiagnostisch nicht auszuschließen ist. Gegen eine Eisenmangelanämie sprechen hingegen die bei allen Weißbüschelaffen gemessenen normalen serologischen Eisenwerte.

In Hinblick auf die Nierenalterationen könnte bei ausgeprägteren mit chronischer Niereninsuffizienz einhergehenden Immunkomplex-Glomerulonephritiden auch eine

verminderte Sekretion von Erythropoetin vorliegen, welche infolge einer reduzierten Erythropoese im Knochenmark zu einer hämoplastischen Anämie führen kann. Das Hormon Erythropoetin wird primär renal infolge absinkender Blutsauerstoffwerte vermutlich von peritubulären interstitiellen Zellen (Fibroblasten) in der Niere gebildet (PLOTKIN u. GOLIGORSKY 2006). Dementsprechend können entzündliche und fibrotische Prozesse Schädigungen dieser Zellen und/oder einen gestörten hämatogenen Abtransport bedingen, wodurch es zu einem relativen Erythropoetinmangel kommt. Bei den Weißbüschelaffen dieser Studie dürfte eine solche renale Form der Anämie jedoch nur in einzelnen hochgradigen Fällen einen entscheidenden Einfluss auf das rote Blutbild gehabt haben.

Die Analyse des weißen Blutbildes erbrachte wiederum ein heterogenes, widersprüchliches Bild bei den erkrankten Weißbüschelaffen. So zeigten einige Tiere eine Neutrophilie, andere eher eine milde Neutropenie, genauso wie gleichermaßen Lymphozytosen wie Lymphozytopenien vorlagen. Auffällig ist jedoch, dass ein großer Teil der untersuchten Weißbüschelaffen eine Leukopenie aufwies. Dies steht im Widerspruch zu den Ergebnissen älterer Studien, in denen das WMS eher mit gelegentlich beobachteten Leukozytosen in Verbindung gebracht wird (BARNARD et al. 1988; SAINSBURY et al. 1992). Die Daten der vorliegenden Studie decken sich jedoch mit denen von ZÖLLER (2005), welche als Ursache der Leukopenie in erster Linie lokale Entzündungsprozesse diskutiert, die eine vorübergehende reduzierte Leukozytenzahl im Blut zur Folge haben. Störungen der Hämatopoese infolge von Knochenmarksschädigungen schließt sie diesbezüglich hingegen weitgehend aus. Eine reaktive Leukopenie geht normalerweise mit einer granulozytären Linksverschiebung einher, während bei Blutbildungsstörungen in der Regel eine Rechtsverschiebung zu verzeichnen ist. Da für Weißbüschelaffen keine Referenzwerte für

stabkernige Granulozyten vorliegen, sind Aussagen hinsichtlich einer Links- bzw. Rechtsverschiebung jedoch für die vorliegende Studie nicht möglich.

Als wichtigster Aspekt der klinisch-chemischen Serumuntersuchung fiel eine bei allen erkrankten Weißbüschelaffen und sogar einem Kontrolltier vorliegende Hypalbuminämie ins Auge. Diese wurde bei über zwei Drittel (77 %) aller Tiere der Untersuchungsgruppen I und II zudem von einer teils deutlich reduzierten Konzentration des Gesamtproteins begleitet. Primäre Hypoproteinämien können im Zusammenhang mit Mangelernährungen und enteralen oder renalen Plasma-Proteinverlusten auftreten. In allen Fällen nachgewiesene chronische bis chronisch-aktive Enteritiden lassen, konform gehend mit in der Literatur zu findenden Angaben (TUCKER 1984; BARNARD et al. 1988; ZÖLLER 2005), auch für die vorliegende Studie enterale Verluste infolge eines Malabsorptionssyndroms als wichtigste Ursache eines solchen Proteinmangels erscheinen. Auch renale Einflüsse infolge klinisch manifester Glomerulonephritiden und damit assoziierter glomerulärer und tubulärer Schäden (nephrotisches Syndrom) dürften bei den untersuchten Weißbüschelaffen mit paralleler Proteinurie und histologisch nachweisbarem tubulärem Proteinverlust eine gewisse, wenn auch untergeordnete Rolle gespielt haben. Gleichzeitig beobachtete erhöhte Blutharnstoffwerte und Verschiebungen im Bereich der Mengenelemente (Hyperphosphatämie, Hypokalzämie) können ebenfalls in Zusammenhang mit einer beginnenden Niereninsuffizienz stehen. Als deutlicher Indikator einer Niereninsuffizienz dienen normalerweise erhöhte Kreatininwerte im Serum. Diese lagen jedoch bei keinem der untersuchten Tiere über, bei 27 Tieren hingegen unterhalb des angegebenen Referenzbereiches, was vermutlich auf eine bei vielen der Tiere bestehende beginnende Kachexie zurückzuführen ist. Ebenfalls als Hinweis auf kachektische Zustände können die bei

vielen der Weißbüschelaffen nachgewiesenen erniedrigten Blutfettwerte (Cholesterin, Triglyceride) gedeutet werden, sollten aber aufgrund ihres klinischen begrenzten Aussagewerts nicht überinterpretiert werden.

Für den bei über 60 % der Weißbüschelaffen nachgewiesenen teils massiven Anstieg des muskelspezifischen Enzyms Kreatinkinase kommen ursächlich im Zusammenhang mit dem WMS stehende Myodegenerationen, vor allem aber iatrogene myodegenerative Prozesse infolge von intramuskulären Injektionen in Betracht (ZÖLLER 2005). Weitere, bei vielen Tieren beobachtete erhöhte Serumenzymwerte (AP, CK, AST, LDH) wurden ebenfalls bereits bei am WMS erkrankten Weißbüschelaffen in der Literatur beschrieben (SHIMWELL et al. 1979; BEGLINGER et al. 1988; POTKAY 1992; LOGAN u. KHAN 1996) und sind vermutlich Folge sekundärer Myopathien, Osteopathien und Hepatopathien.

Die bakteriologische Untersuchung der Nieren erbrachte einen positiven Befund bei drei der Weißbüschelaffen aus dem Deutschen Primatenzentrum. Angezchtet wurden jeweils Monokulturen von Bakterien der Genospezies *Serratia liquefaciens*, *Aerococcus urinae*, und *Escherichia hermannii*. Infektionen mit *Serratia sp.* und *Aerococcus urinae* wurden als seltener Befund bei Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) beschrieben, werden aber aufgrund ihrer geringen Pathogenität mit einer bestehenden Immunsuppression in Verbindung gebracht (CARRIER et al. 2009). Beim Menschen wird *Aerococcus urinae* als ebenfalls selten vorkommendes Agens ursächlich in Zusammenhang mit Harnwegsinfektionen beschrieben (ZHANG et al. 2000). Berichte über Infektionen mit *Escherichia hermannii* lassen sich bei non-humanen Primaten nicht finden; beim Menschen findet das Bakterium als seltener Erreger im Rahmen von Septikämien Erwähnung in der Literatur (GINSBERG u. DAUM 1987). Der histologische

Nachweis von Bakterien verlief bei allen drei Tieren negativ. Zudem lagen keine histopathologischen Befunde vor, die auf relevante, primär bakteriell bedingte Entzündungsprozesse hindeuten würden. Demnach scheint es sich um Sekundärinfektionen zu handeln, die im Rahmen einer durch das chronische Krankheitsgeschehen bedingten Abwehrschwäche entstanden sind. Während für die zwei anderen Bakterienarten ein aufsteigender Infektionsweg zu vermuten ist, deutet der gleichzeitige Nachweis von *Escherichia hermannii* bei der G-Nummer 7499 in Niere und ZNS auf eine hämatogene Streuung im Sinne einer Bakteriämie hin. Für die Pathogenese der im Fokus dieser Studie liegenden Immunkomplex-Glomerulonephritiden sind die bakteriologischen Befunde als Nebenbefunde von untergeordneter Relevanz einzuordnen.

Das nachgewiesene bakterielle und parasitäre Spektrum in Dün- und Dickdarm deckt sich mit den in der Literatur über das WMS zu findenden Angaben, wo die entsprechenden Bakterien und Parasiten als sekundäre, nicht aber kausale Erreger Erwähnung finden (BRACK u. ROTHE 1980; CHALIFOUX et al. 1982; TUCKER 1984; QUOHS 2003; ZÖLLER 2005). Für die vorliegende Arbeit sind sie somit ebenfalls von untergeordneter Priorität und sollen an dieser Stelle nicht weiter diskutiert werden.

4.4 Diskussion der Fallberichte der K-Nummern 2086 und 2096

Die Fallberichte der Weißbüschelaffen mit den K-Nummern 2086 und 2096 sind eine interessante Ergänzung der im Rahmen dieser Studie gewonnenen Ergebnisse, stellen sie doch beide Formen eines Endstadiums chronischer Nephropathien (ESRD) dar. So umfassten die histopathologischen Befunde hier eine massive interstitielle Fibrose und ausgeprägte tubuläre Atrophie sowie deutliche mesangioproliferative Veränderungen im Bereich der Glomerula,

welche mit Synechien, Verdickungen der Bowman Kapsel und zystischer Dilatation einhergingen. Der parallele Nachweis deutlicher mesangialer IgM- und C3c-Ablagerungen lässt eine primäre Immunkomplex-Glomerulonephritis als Ursache der ESRD plausibel erscheinen. Allerdings ist anzumerken, dass die ätiologische Diagnose in derart fortgeschrittenen Stadien häufig ein Problem darstellt, da multiple primäre und sekundäre Nephropathien im Endstadium ein pathomorphologisch sehr ähnliches Bild aufweisen (ZHOU et al. 2009).

Das Ausmaß der tubulointerstitiellen Gewebeschädigungen spiegelte sich bei beiden Tieren in den labordiagnostischen Befunden wider. So ist es wahrscheinlich, dass es sich bei der hier bestehenden Anämie in beiden Fällen um eine renal bedingte Form in Folge eines Erythropoetinmangels handelt. Die hohen gemessenen Blutharnstoffwerte unterstützen diese Annahme zusätzlich.

Die Ursache und Bedeutung der bei beiden Weißbüschelaffen vorliegenden massiven extramedullären Hämatopoese im Bereich des Nierenmarks und der Papille bleibt unklar. Vermutlich handelt es sich jedoch um einen reaktiven Prozess infolge des chronischen Krankheitsgeschehens und der damit assoziierten Blutarmut. Fallbeschreibungen mit vergleichbar ausgeprägten renalen Befunden lassen sich weder in der veterinär- noch in der humanmedizinischen Literatur finden. Allerdings findet die extramedulläre Hämatopoese als häufiger histopathologischer Nebenbefund in multiplen Organsystemen auch bei klinisch gesunden Weißbüschelaffen im Sinne einer so genannten „background lesion“ Erwähnung (TUCKER 1984; KASPAREIT et al. 2006).

4.5 Überlegungen zur Pathogenese der IgM/IgA-Nephropathie der Callitrichiden und Schlussfolgerungen

Bezüglich der Pathogenese der bei 98 % aller im Rahmen dieser Studie untersuchten Weißbüschelaffen nachgewiesenen IgM/IgA-Nephropathie sind ähnliche Mechanismen wie bei der IgA-Nephropathie des Menschen zu vermuten. Diese zu großen Teilen spekulativen pathophysiologischen Mechanismen wurden bereits in der Literaturübersicht in ausführlicher Form beschrieben. Zusammenfassend werden im Zusammenhang mit vorangegangenen Infektionen und nutritiv bedingten Überempfindlichkeitsreaktionen erhöhte Serumwerte zirkulierender Immunkomplexe nachgewiesen, welche sich im Bereich der glomerulären Mesangien ablagern und dort über eine Aktivierung des Komplementsystems zu einer Schädigung der Glomerula und sekundären tubulointerstitiellen Alterationen führen. In erster Linie handelt es sich bei den beteiligten Immunglobulinen um ansonsten Darm assoziierte polymere IgA1, was auf eine Störung des Informationsaustausches zwischen enteralem und systemischem Immunsystem hindeutet. Dieser Informationsaustausch ermöglicht im physiologischen Zustand die Ausbildung einer oralen Toleranz gegenüber Nahrungsbestandteilen und von bakteriellen Darmkommensalen stammenden Antigenen. An dieser Stelle wird in der Humanmedizin auch ein möglicher Zusammenhang mit der Zöliakie bzw. einheimischen Sprue, die auf eine Unverträglichkeit des Glutenbestandteils Gliadin zurückzuführen ist, diskutiert. So konnten erhöhte zirkulierende anti-Gliadin-Antikörper vermehrt bei Patienten sowohl mit Zöliakie als auch mit IgA-Nephropathie nachgewiesen werden. Vergleichbare erhöhte anti-Gliadin-Antikörperlevel konnten auch SCHROEDER et al. (1999) im Rahmen ihrer Studien an Weißbüschelaffen messen. Sie stellten zudem eine signifikante positive Korrelation der Höhe der gemessenen Serumwerte und der Ausprägung einer WMS-Erkrankung und/oder einer Immunkomplex-Glomerulonephritis fest, was sie auf

die ätiologische Beteiligung einer Glutenunverträglichkeit auch bei diesen Krankheitsbildern schließen ließ. Aufgrund dieser Ergebnisse ist eine nutritiv bedingte pathogenetische Komponente der IgM/IgA-Nephropathie also durchaus wahrscheinlich. Vermutlich spielen aber auch gegen andere Antigene gerichtete zirkulierende IgA-Antikörper gleichzeitig eine Rolle. So vermuten BARRATT et al. (2007) in ihren Ausführungen zu der Immunpathogenese der IgA-Nephropathie des Menschen, dass die bei betroffenen Patienten erhöhten, zirkulierenden pathogenen IgA-Antikörperlevel auf eine umfangreiche IgA-Immunantwort gegen verschiedene Antigene zurückzuführen sind und halten die Bedeutung lediglich eines Antigens für unwahrscheinlich. Da die Detektion zirkulierender IgA-Antikörper nicht Teil der vorliegenden Studie gewesen ist, können die aufgeführten Überlegungen an dieser Stelle weder bestätigt noch widerlegt werden.

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung der gewonnenen Daten können ambivalent diskutiert werden. So deutet der Nachweis signifikant höherer Ausprägungsgrade der IgM/IgA-Nephropathien bei den am WMS erkrankten Tieren gegenüber den klinisch gesunden Kontrolltieren auf einen pathogenetischen Zusammenhang beider Erkrankungen hin. Dass jedoch auch die Kontrolltiere mit Ausnahme eines einzigen Tieres entsprechende mesangioproliferative Glomerulonephritiden aufwiesen, lässt, ähnlich wie bei dem verwandten humanen Krankheitsbild, auf das Vorliegen weiterer pathogenetischer Faktoren schließen. Hier stellt sich jedoch wieder die Frage, inwieweit die statistischen Ergebnisse in Folge der offensichtlich nicht vollständig darmgesunden Kontrollgruppe verfälscht wurden. Die Untersuchung der Korrelation der Ausprägungsgrade der IgM/IgA-Nephropathien in den beiden Untersuchungsgruppen mit dem Ausprägungsgrad vorliegender chronischer Enteritiden war der Versuch, einen Zusammenhang zwischen den beiden Erkrankungen herzustellen. Allerdings lässt sich ein multifaktorielles Krankheitsgeschehen wie das des

WMS natürlich nicht auf die Ausprägungsgrade vorliegender Darmentzündungen reduzieren, spielen hierbei doch unter anderem komplexe immunpathologische Mechanismen eine entscheidende Rolle. Dementsprechend kann trotz des ermittelten nicht signifikanten Rangkorrelationskoeffizienten ein pathogenetischer Zusammenhang beider Krankheitskomplexe nicht ausgeschlossen werden.

Außer Frage hingegen steht, dass die in dieser und in früheren Studien (BRACK et al. 1999) verzeichnete extrem hohe Prävalenz der IgM/IgA-Nephropathie auf eine starke genetische Prädisposition der Callitrichiden hindeutet, worin eine weitere Parallele zu der IgAN des Menschen zu sehen ist.

Zusammenfassend kann die IgM/IgA-Nephropathie der Callitrichiden als eine multifaktorielle immunologische Erkrankung mit genetischen, nutritiven und infektiösen Ursachen beschrieben werden, bei der es infolge hoher Spiegel zirkulierender Immunkomplexe zu der Ablagerung von IgM und IgA in den Mesangien und in deren Folge zur Ausbildung mesangioproliferativer Glomerulonephritiden mit stark variabler histologischer und klinischer Manifestation kommt. Bestehende Parallelen zu der IgAN und der Zöliakie des Menschen lassen den Weißbüschelaffen als ein geeignetes Tiermodell dieser humanen Erkrankungen erscheinen. Weiterführende Studien sollten sich vor allem in Hinsicht auf die Entwicklung einer wirkungsvollen kausalen Therapie für Mensch und Weißbüschelaffe einem tieferen und besseren Verständnis der zugrunde liegenden immunpathologischen Mechanismen widmen.

5 Zusammenfassung

Julia Winkelmann (2010)

Nierenveränderungen bei Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) mit Wasting Marmoset Syndrom

Bei in menschlicher Obhut lebenden Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) wird ein Krankheitsbild, das Wasting Marmoset Syndrom (WMS), beschrieben, das primär durch einen progredienten Gewichtsverlust bei normaler Futteraufnahme und weitgehender Therapieresistenz gekennzeichnet ist und aufgrund einer hohen Morbiditäts- und Mortalitätsrate ein ernstzunehmendes Problem in Versuchs- und Zootierhaltungen darstellt. Am WMS erkrankte, aber auch klinisch gesunde Weißbüschelaffen zeigten bei der postmortalen pathomorphologischen Untersuchung regelmäßig auftretende Nierenveränderungen, die sich in Form von Immunkomplex-Glomerulonephritiden (IKGN) mit mesangioproliferativem Charakter und chronischen interstitiellen Nephritiden äußern.

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden die Nieren von insgesamt 47 am WMS erkrankten und elf klinisch und pathologisch-anatomisch unauffälligen Weißbüschelaffen einer eingehenden und detaillierten Untersuchung unterzogen, wobei histopathologische (Paraffin- und Kunststoffeinbettung) und immunhistologische Methoden (IgA, IgM, C3c-Komplement und α -sma) im Vordergrund standen. Die erkrankten Tiere wurden entsprechend ihrer Herkunft in zwei Untersuchungsgruppen eingeteilt: Untersuchungsgruppe I umfasste 24 aus dem Deutschen Primatenzentrum stammende, Untersuchungsgruppe II 23 aus einer externen Kolonie stammende Weißbüschelaffen. Für die Graduierung der nachgewiesenen IKGN wurde aufgrund bereits früher beschriebener deutlicher Übereinstimmungen mit dem

humanen Krankheitsbild auf die Klassifizierung der IgA-Nephropathie des Menschen von HAAS (1997) zurückgegriffen. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen eine mit 98 % hohe Prävalenz der von BRACK (1999) als IgM/IgA-Nephropathie der Callitrichiden bezeichneten Erkrankung. Interessanterweise wiesen mit Ausnahme eines Weißbüschelaffens auch alle als klinisch gesund eingestuft Kontrolltiere mesangioproliferative Veränderungen auf. Am Häufigsten wurde mit 62 % der am WMS erkrankten Tiere eine der Klasse III IKGn nach HAAS (1997) entsprechende fokale proliferative Glomerulonephritis diagnostiziert. 4 % zeigten eine Klasse I, 19 % eine Klasse II, 11 % eine Klasse IV und 4 % eine Klasse V IKGn nach HAAS (1997), wobei ausgeprägtere Formen mit begleitender klinischer Manifestation vor allem bei Tieren fortgeschrittenen Alters vorlagen. Eine transmissions-elektronenmikroskopische Untersuchung ausgesuchter Fälle zeigte elektronendichte mesangiale Ablagerungen im Bereich proliferativ veränderter Glomerula. Hinweise auf herkunftsbedingte Unterschiede bzgl. der Ausprägungsgrade der IKGn oder eine Geschlechtsprädisposition lagen nicht vor. Konform gehend mit den Ergebnissen früherer Studien fanden sich bei allen Tieren immunhistologisch mesangiale Ablagerungen der Immunglobulinklasse M. Im Vergleich hierzu waren IgA-Ablagerungen lediglich bei 47 % der Weißbüschelaffen nachweisbar, wobei die statistische Datenanalyse jedoch auf ein größeres pathogenes Potential des IgA gegenüber dem des IgM hinweist. Signifikant höhere Ausbildungsgrade bei den am WMS erkrankten Weißbüschelaffen im Vergleich zu der Kontrollgruppe lassen eine gewisse Korrelation der beiden Krankheitsbilder vermuten; das Auftreten der Immunkomplex-Glomerulonephritiden auch bei klinisch gesunden Tieren deutet jedoch eher in Richtung einer WMS-Unabhängigkeit und somit auf ein multifaktoriell immunologisch bedingtes Krankheitsbildes hin. Dies zeigte sich auch bei zwei zusätzlich in

die Studie aufgenommenen Fallberichten. Weißbüschelaffen bieten daher interessante Möglichkeiten als Tiermodell für die nephrologische Forschung.

6 Summary

Julia Winkelmann (2010)

Kidney alterations in common marmosets (*Callithrix jacchus*) with Wasting Marmoset Syndrome

Common marmosets (*Callithrix jacchus*) in captivity frequently suffer of a disease pattern, known as the Wasting Marmoset Syndrome (WMS). This syndrome is primarily characterized by progressive, therapy resistant weight loss in spite of normal food intake. Exhibiting high morbidity and mortality rates in affected animals it represents a serious health problem in zoological gardens and laboratory husbandry. Pathomorphologic investigation of diseased and also of clinically healthy animals revealed kidney alterations in terms of immune complex glomerulonephritis (ICGN) with mesangial proliferative character and chronic interstitial nephritis.

In the present study the kidneys of 47 common marmosets suffering from WMS and 11 clinically and macroscopically inconspicuous animals were thoroughly investigated focusing histopathologic (paraffin and plastic embedding) and immunohistochemic methods (IgA, IgM, C3c-complement and α -sma). Animals were separated into two groups according to their origin: 24 animals originating from the German Primate Center (DPZ) were assigned into group I, while group II consisted of 23 animals originating from an external colony. Distinct similarities between the ICGN in callitrichids and the human disease of IgA-Nephropathy have been described previously. Therefore, ICGN was categorized in accordance to the classification of IgA-Nephropathy (IgAN) of humans proposed by HAAS (1997). The investigation showed a high prevalence of 98 % for ICGN. Interestingly, apart from one marmoset, also all clinically healthy animals showed mesangial proliferative

changes. The majority of common marmosets suffering from WMS showed a focal proliferative glomerulonephritis graduated as HAAS subclass III ICGN; subclass I was diagnosed in 4,2 %, subclass II in 19,1 %, subclass IV in 10,6 %, and subclass V 4,3 % of the cases. HAAS subclasses IV and V were mainly diagnosed in elderly animals with accompanying clinical manifestation. Transmission electron microscopy of selected cases revealed mesangial electron-dense deposits in proliferated glomeruli. There were no signs for origin- or sex-related dispositions for ICGN. In accordance to previous studies immunohistological investigations revealed mesangial deposits of IgM in all animals. IgA could be detected in 47 % of all cases whereas statistical results suggest a higher pathogenic potential of IgA compared to IgM. Common marmosets suffering from WMS showed significantly higher grades compared to the control group. Therefore, a certain positive correlation between WMS and ICGN seems likely. However, the occurrence of ICGN in clinically inconspicuous animals suggests a WMS-independent, multifactorial immunologic disease pattern. This was also confirmed by two additionally included case reports. Hence, common marmosets offer interesting possibilities as an animal model in nephrologic research.

7 Literaturverzeichnis

- ABBOTT, D. H., D. K. BARNETT, R. J. COLMAN, M. E. YAMAMOTO u. N. J. SCHULTZ-DARKEN (2003):
Aspects of common marmoset basic biology and life history important for biomedical research.
Comp. Med. 53, 339-350
- BARNARD, D., J. KNAPKA u. D. RENQUIST (1988):
The apparent reversal of a wasting syndrome by nutritional intervention in *Saguinus mystax*.
Lab. Anim. Sci. 38, 282-288
- BARRATT, J. u. J. FEEHALLY (2005):
IgA nephropathy.
J. Am. Soc. Nephrol. 16, 2088-2097
- BARRATT, J., A. C. SMITH, K. MOLYNEUX u. J. FEEHALLY (2007):
Immunopathogenesis of IgAN.
Sem. Immunopath. 29, 427-443
- B EGLINGER, R., B. ILLGEN, R. PFISTER u. K. HEIDER (1988):
The parasite *Trichospirura leptostoma* associated with wasting disease in a colony of common marmosets, *Callithrix jacchus*.
Folia Primatol. 51, 45-51
- BICKHARDT, K. (2006):
Kompendium der Allgemeinen Inneren Medizin und Pathophysiologie für Tierärzte.
Parey Verlag, Hamburg
- BORDA, J. T., D. R. PAULEY, J. J. MACKEY, X. ALVAREZ, M. A. SIMON u. S. A. KLUMPP (2004):
Immunoglobulin-A nephropathy with crescentic glomerulonephritis in a pigtailed macaque (*Macaca nemestrina*).
Vet. Pathol. 41, 44-49
- BOX, H. O. (1995):
Biological propensities of the Callitrichidae - a much used little-known Group.
Lab. Anim. 29, 237-243
- BRACK, M. (1988):
IgM-mesangial nephropathy in callitrichids.
Vet. Pathol. 25, 270-276

BRACK, M., R. GÖLTHENBOTH u. W. RIETSCHHEL (1995):
Primaten.

In: Krankheiten der Zoo- und Wildtiere
Blackwell, Berlin, S. 25-66

BRACK, M. u. H. ROTHE (1980):

Fütterungsbedingte "Wasting Disease" bei Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*).

In: Erkrankungen der Zootiere, XXII. Internationales Symposium, Arnheim S. 181-186

BRACK, M. u. H. ROTHE (1981):

Chronic tubulointerstitial nephritis and wasting disease in marmosets (*Callithrix jacchus*).
Vet. Pathol. 18, 45-54

BRACK, M., C. SCHROEDER, M. FOOKE u. W. SCHLUMBERGER (1999):

IgM/IgA nephropathy in callitrichids: Antigen studies.

Nephron 82, 221-231

BRANDON-JONES, D. u. C. P. GROVES (2002):

Neotropical primate family-group names replaced by Groves (2001) in contravention of article 40 of the international code of zoological nomenclature.

Neotr. Prim. 10, 113-115

CARRIER, C. A., T. B. ELLIOT u. G. D. LEDNEY (2009):

Resident bacteria in a mixed population of rhesus macaque (*Macaca mulatta*) monkeys: a prevalence study.

J. Med. Primatol. 38, 397-403

CATTRAN, D. C., R. COPPO, H. T. COOK, J. FEEHALLY, I. S. ROBERTS, S.

TROYANOV, C. E. ALPERS, A. AMORE, J. BARRATT, F. BERTHOUX, S. BONSI, J.

A. BRUIJN, V. D'AGATI, G. D'AMICO, S. EMANCIPATOR, F. EMMA, F. FERRARIO, F.

C. FERVENZA, S. FLORQUIN, A. FOGO, C. C. GEDDES, H. J. GROENE, M. HAAS, A.

M. HERZENBERG, P. A. HILL, R. J. HOGG, S. I. HSU, J. C. JENNETTE, K. JOH, B. A.

JULIAN, T. KAWAMURA, F. M. LAI, C. B. LEUNG, L. S. LI, P. K. LI, Z. H. LIU, B.

MACKINNON, S. MEZZANO, F. P. SCHENA, Y. TOMINO, P. D. WALKER, H. WANG,

J. J. WEENING, N. YOSHIKAWA u. H. ZHANG (2009):

The Oxford classification of IgA nephropathy: rationale, clinicopathological correlations, and classification.

Kid. Intern. 76, 534-545

CHALIFOUX, L. V., R. T. BRONSON, A. ESCAJADILLO u. S. MCKENNA (1982):

An analysis of the association of gastroenteric lesions with chronic wasting syndrome of marmosets.

Vet. Pathol. Suppl. 7, 141-162

- CHALMERS, D. T., L. B. MURGATROYD u. P. F. WADSWORTH (1983):
A survey of the pathology of marmosets (*Callithrix jacchus*) derived from a marmoset breeding unit.
Lab. Anim. 17, 270-279
- D'AMICO, G. (2004):
Natural history of idiopathic IgA nephropathy and factors predictive of disease outcome.
Sem. Nephrol. 24, 179-196
- D'AMICO, G., P. NAPODANO, F. FERRARIO, M. P. RASTALDI u. G. ARRIGO (2001):
Idiopathic IgA nephropathy with segmental necrotizing lesions of the capillary wall.
Kidney Intern. 59, 682-692
- DIGBY, L. J. (1999):
Sexual behavior and extragroup copulations in a wild population of common marmosets (*Callithrix jacchus*).
Folia Primatol. 70, 136-145
- DONADIO, J. V., E. J. BERGSTRALH, J. P. GRANDE u. D. M. RADEMCHEK (2002):
Proteinuria patterns and their association with subsequent end-stage renal disease in IgA nephropathy.
Nephrol. Dial. Transplant. 17, 1197-1203
- EITNER, F. u. J. FLOEGE (2009):
Glomerular disease: the Oxford classification-predicting progression of IgAN.
Nature Rev. 5, 557-559
- EITNER, F., T. OSTENDORF, M. KITAHARA, S. RENSING, P. HOFMANN, K. MÄTZ-RENSING, F. J. KAUP, H. J. GRÖNE u. J. FLOEGE (2001):
A novel model of human IgA nephropathy.
Kidney Blood Pres. Res. 24, 332
- FALK, D. (2000):
Monkeys of the New World: The Callitrichines.
In: Primate Diversity
Norton & Company, New York, London, S. 112-131
- FORTMAN, J. D., T. A. HEWETT u. B. T. BENNETT (2001):
The laboratory nonhuman primate.
CRC Press, Boca Raton
- FRIMAT, L., S. BRIANCON, D. HESTIN, B. AYMARD, E. RENOULT, T. C. HUU u. M. KESSLER (1997):
IgA nephropathy: prognostic classification of end-stage renal failure.
Nephrol. Dial. Transplant. 12, 2569-2575

GEISSMANN, T. (2003):
Vergleichende Primatologie.
Springer Verlag, Berlin

GINSBERG, H. G. u. R. S. DAUM (1987):
Escherichia hermanii sepsis with duodenal perforation in a neonate.
Pediatr. Infect. Dis. J. 6, 300-302

GOUMENOS, D. S., C. B. BROWN, J. SHORTLAND u. A. M. EL NAHAS (1994):
Myofibroblasts, predictors of progression of mesangial IgA nephropathy?
Nephrol. Dial. Transplant. 9, 1418-1425

HAAS, M. (1997):
Histologic subclassification of IgA nephropathy: A clinicopathologic study of 244 cases.
Am. J. Kidney Dis. 29, 829-842

HAAS, M. (2003):
Incidental healed postinfectious glomerulonephritis: A study of 1012 renal biopsy specimens
examined by electron microscopy.
Hum. Pathol. 34, 3-10

HAAS, M. (2007):
IgA Nephropathy and Henoch-Schönlein Purpura Nephritis.
In: Heptinstall's Pathology of the Kidney
6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, S. 420-486

HARRISON, M. L. u. S. D. TARDIF (1994):
Social implications of gummivory in marmosets.
Am. J. Phys. Anthropol. 95, 399-408

HERNANDEZ, G. R. u. A. P. GARCIA (2001):
Retrospective study of the causes of Infant Death in a Common Marmoset (*Callithrix jacchus*
jacchus) Colony.
Lab. Primate Newsletter 40, 1-5

IALEGGIO, D. M. u. A. J. BAKER (1995):
Results of a preliminary survey into Wasting Marmoset Syndrome in Callithrichid
Collections.
Proc. Conf. Nutr. Advisory Group 1, 148-158

JACKSON, S., Z. MOLDOVEANU, K. A. KIRK, B. A. JULIAN, T. F. PATTERSON, A. L.
MULLINS, T. JILLING, J. MESTECKY u. J. H. GALLA (1992):
IgA-containing immune complexes after challenge with food antigens in patients with IgA
nephropathy.
Clin. Exp. Immunol. 89, 315-320

- JENNETTE, J. C., J. L. OLSON, M. M. SCHWARTZ u. F. G. SILVA (2007):
Heptinstall's Pathology of the Kidney.
Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
- KASPAREIT, J., S. FRIDERICHS-GROMOLL, E. BUSE u. G. HABERMANN (2006):
Background pathology of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) in toxicological studies.
Exp. Toxicol. Pathol. 57, 405-410
- KAUP, F. J. (2007):
The need of experiments using primates from a scientific point of view.
Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. 114, 76-80
- KIM, M. J. u. S. P. HONG (1997):
Immunological aspects of IgA nephropathy.
Nephrology 3, 55-61
- KING, G. (1976):
An investigation into "Wasting Marmoset Syndrome" at Jersey Zoo.
Annu. Rep. Jersey Wildl. Pres. Trust 13, 97-107
- KOYAMA, A., S. SHARMIN, H. SAKURAI, Y. SHIMIZU, K. HIRAYAMA, J. USUI, M. NAGATA, K. YOH, K. YAMAGATA, K. MURO, M. KOBAYASHI, K. OHTANI, T. SHIMIZU u. T. SHIMIZU (2004):
Staphylococcus aureus cell envelope antigen is a new candidate for the induction of IgA nephropathy.
Kidney Intern. 66, 121-132
- LAYNE, D. G. u. R. A. POWER (2003):
Husbandry, handling, and nutrition for marmosets.
Comp. Med. 53, 351-359
- LEE, H. S., M. S. LEE, S. M. LEE, S. Y. LEE, E. S. LEE, E. Y. LEE, S. Y. PARK, J. S. HAN, S. KIM u. J. S. LEE (2005):
Histological grading of IgA nephropathy predicting renal outcome: revisiting H. S. Lee's glomerular grading system.
Nephrol. Dial. Transplant. 20, 342-348
- LEE, S. M., V. M. RAO, W. A. FRANKLIN, M. S. SCHIFFER, A. J. ARONSON, B. H. SPARGO u. A. I. KATZ (1982):
IgA nephropathy: morphologic predictors of progressive renal disease.
Hum. Pathol. 13, 314-322
- LEWIS, D. H., F. J. STEIN, R. F. SIS u. D. N. MCMURRAY (1987):
Fecal microflora of marmosets with wasting marmoset syndrome.
Lab. Anim. Sci. 37, 103-105

- LOGAN, A. C. u. K. N. M. KHAN (1996):
Clinical pathologic changes in two marmosets with wasting syndrome.
Toxicol. Pathol. 24, 707-709
- LUFT, J. H. (1961):
Improvements in epoxy resin embedding methods.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 409-414
- MANSFIELD, K. (2003):
Marmoset models commonly used in biomedical research.
Comp. Med. 53, 383-392
- MATHIESON, P. W. (2003):
What has the immune system got against the glomerular podocyte?
Clin. Exp. Immunol. 134, 1-5
- MATYSIAK-BUDNIK, T., I. C. MOURA, M. ARCOS-FAJARDO, C. LEBRETON, S.
MENARD, C. CANDALH, K. BEN-KHALIFA, C. DUGAVE, H. TAMOUZA, G. VAN
NIEL, Y. BOUHNIC, D. LAMARQUE, S. CHAUSSADE, G. MALAMUT, C. CELLIER, N.
CERF-BENSUSSAN, R. C. MONTEIRO u. M. HEYMAN (2008):
Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor
in celiac disease.
J. Exp. Med. 205, 143-154
- MAXIE, M. G. u. S. J. NEWMAN (2007):
Urinary System.
In: JUBB, KENNEDY und PALMER (Hrsg.): Pathology of domestic animals.
5. Aufl., Band 2
Saunders/Elsevier, Edinburgh, S. 451-454
- MILLER, G. F., D. E. BARNARD, R. A. WOODWARD, B. M. FLYNN u. J. W. BULTE
(1997):
Hepatic hemosiderosis in common marmosets, *Callithrix jacchus*: effect of diet on incidence
and severity.
Lab. Anim. Sci. 47, 138-142
- MORIN, M. L. (1983):
A different approach in examining a wasting syndrome.
Lab. Animal 12, 36-41
- MURGATROYD, L. B. u. D. T. CHALMERS (1980):
A histological and histochemical study of normal and diseased skeletal muscle in marmosets
Callithrix jacchus.
J. Comp. Pathol. 90, 373-378

- NAKAGAWA, H., S. SUZUKI, M. HANEDA, F. GEJYO u. R. KIKKAWA (2000):
Significance of glomerular deposition of C3c and C3d in IgA nephropathy.
Am. J. Nephrol. 20, 122-128
- NEUSSER, M., R. STANYON, F. BIGONI, J. WIENBERG u. S. MULLER (2001):
Molecular cytotoxicity of New World monkeys (Platyrrhini) - comparative analysis of five
species by multi-color chromosome painting gives evidence for a classification of *Callimico
goeldii* within the family of Callitrichidae.
Cytogen. Cell Gen. 94, 206-215
- NEWMAN, S. J., A. W. CONFER u. R. I. PANCIERA (2009):
Harnorgane.
In: TEIFKE, LÖHR, KOPFFLEISCH, MARSCHANG (Hrsg.): Pathologie der Haustiere
Urban & Fischer, München, S. 571-642
- PFISTER, R., K. HEIDER, B. ILLGEN u. R. BEGLINGER (1990):
Trichospirura leptostoma: a possible cause of wasting disease in the marmoset.
Zeitschrift Versuchstierk. 33, 157-161
- PLOTKIN, M. D. u. M. S. GOLIGORSKY (2006):
Mesenchymal cell from adult kidney support angiogenesis and differentiate into multiple
interstitial cell types including erythropoietin-producing fibroblasts.
Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 291, F902-912
- POTKAY, S. (1992):
Diseases of the Callitrichidae - a Review.
J. Med. Primatol. 21, 189-236
- POWER, M. L. (1991)
Digestive function, energy intake and the response to dietary gum in captive callitrichids.
Berkeley, University of California, PhD-thesis
- PRITZKER, K. P. H. u. M. J. KESSLER (1998):
Diseases of the musculoskeletal system.
In: B. T. BENNETT, C. R. ABEE u. R. HENDRICKSON (Hrsg.): Nonhuman Primates in
biomedical research: Diseases
Academic Press, San Diego, S. 415-460
- PRYCE, C., L. SCOTT u. C. SCHNELL (1997):
Marmosets and tamarins in biomedical research.
DSSD Imagery, Salisbury, UK
- PSCHYREMBEL, W., C. ZINK u. O. DORNBLÜTH (2010):
Pschyrembel ®.
Walter de Gruyter, Berlin

- QUOHS, A. (2003)
Retrospektive Untersuchungen zum Vorkommen von Erkrankungen in einer Weißbüschelaffenkolonie unter besonderer Berücksichtigung des Wasting Marmoset Syndroms.
Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.
- RADFORD, M. G., JR., J. V. DONADIO, JR., E. J. BERGSTRALH u. J. P. GRANDE (1997):
Predicting renal outcome in IgA nephropathy.
J Am Soc Nephrol 8, 199-207
- RICHARDSON, K. C., L. JARETT u. E. H. FINKE (1960):
Embedding in epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy.
Stain Techn. 35, 313 - 317
- RICHTER, C. B. (1984):
Biology and Diseases of Callitrichidae.
Academic Press, Orlando
- RIFAI, A., P. A. SMALL, JR., P. O. TEAGUE u. E. M. AYOUB (1979):
Experimental IgA nephropathy.
J. Exp. Med. 150, 1161-1173
- ROBERTS, I. S., H. T. COOK, S. TROYANOV, C. E. ALPERS, A. AMORE, J. BARRATT, F. BERTHOUX, S. BONSI, J. A. BRUIJN, D. C. CATTRAN, R. COPPO, V. D'AGATI, G. D'AMICO, S. EMANCIPATOR, F. EMMA, J. FEEHALLY, F. FERRARIO, F. C. FERVENZA, S. FLORQUIN, A. FOGO, C. C. GEDDES, H. J. GROENE, M. HAAS, A. M. HERZENBERG, P. A. HILL, R. J. HOGG, S. I. HSU, J. C. JENNETTE, K. JOH, B. A. JULIAN, T. KAWAMURA, F. M. LAI, L. S. LI, P. K. LI, Z. H. LIU, B. MACKINNON, S. MEZZANO, F. P. SCHENA, Y. TOMINO, P. D. WALKER, H. WANG, J. J. WEENING, N. YOSHIKAWA u. H. ZHANG (2009):
The Oxford classification of IgA nephropathy: pathology definitions, correlations, and reproducibility.
Kidney Intern. 76, 546-556
- ROWE, N. (1996):
The pictorial guide to the living primate.
Pogonias Press, East Hampton, New York
- SAINSBURY, A. W., A. A. CUNNINGHAM, C. M. HAWKEY u. O. A. GARDEN (1992):
Conditions causing loss of weight in marmosets.
Assoc. Brit. Wild Anim. Keepers 17, 16-22
- SAINSBURY, A. W., J. K. KIRKWOOD u. E. C. APPLEBY (1987):
Chronic colitis in common marmosets (*Callithrix jacchus*) and cotton-top tamarins (*Saquinus oedipus*).
Vet. Rec. 121, 329-330

- SALTZMAN, W., L. J. DIGBY u. D. H. ABBOTT (2009):
Reproductive skew in female common marmosets: what can proximate mechanisms tell us about ultimate causes?
Proc. Biol. Sci. 276, 389-399
- SATO, S., H. KITAMURA, M. GHAZIZADEH, A. ADACHI, Y. SASAKI, M. ISHIZAKI, K. INOUE, K. WAKAMATSU u. Y. SUGISAKI (2005):
Occurrence of hyaline droplets in renal biopsy specimens: an ultrastructural study.
Med. Mol. Morphol. 38, 63-71
- SCHROEDER, C., M. BRACK, F. BRANDES u. S. F. BRUNO (1997):
Immune complex glomerulopathy in marmosets at the German Primate Center.
Proc. Am. Assoc. Zoo Vet., 339-343
- SCHROEDER, C., A. A. OSMAN, D. RGGENBUCK u. T. MOTHES (1999):
IgA-gliadin antibodies, IgA-containing circulating immune complexes, and IgA glomerular deposits in wasting marmoset syndrome.
Nephrol. Dial. Transplant. 14, 1875-1880
- SHIMWELL, M., B. F. WARRINGTON u. J. S. L. FOWLER (1979):
Dietary habits relating to Wasting Marmoset Syndrome (WMS).
Lab. Anim. 13, 139-142
- STEVENSON, M. F. u. A. B. RYLANDS (1988):
The marmosets, genus *Callithrix*.
In: MITTERMEIER, RYLANDS, COIMBRIA-FILHO und FONSECA (Hrsg.): Ecology and Behavior of Neotropical Primates, Volume 2.
World Wildlife Fund, Washington, D.C., S. 131-222
- TOYABE, S., W. HARADA u. M. UCHIYAMA (2001):
Oligoclonally expanding gammadelta T lymphocytes induce IgA switching in IgA nephropathy.
Clin. Exp. Immunol. 124, 110-117
- TRIBE, G. W. (1978):
Wasting syndrome in primates.
Primate Supply 4, 15-17
- TUCKER, M. J. (1984):
A survey of the pathology of marmosets (*Callithrix jacchus*) under experiment.
Lab. Anim. 18, 351-358
- WAKAI, K., T. KAWAMURA, M. ENDOH, M. KOJIMA, Y. TOMINO, A. TAMAKOSHI, Y. OHNO, Y. INABA u. H. SAKAI (2006):
A scoring system to predict renal outcome in IgA nephropathy: from a nationwide prospective study.
Nephrol. Dial. Transplant. 21, 2800-2808

WIESNER, E. u. R. RIBBECK (2000):

Lexikon der Veterinärmedizin.

Enke Verlag, Stuttgart

WOLTERS, J., IMMELMANN, K. (1988):

Krallenaffen.

In: B. GRZIMEK (Hrsg.): Grzimeks Enzyklopädie. Säugetiere.

Kindler Verlag, München, S. 183-205

ZHANG, Q., C. KWOH, S. ATTORRI u. J. E. CLARRIDGE, 3RD (2000):

Aerococcus urinae in urinary tract infections.

J. Clin. Microbiol. 38, 1703-1705

ZHOU, X. J., Z. LASZIK, T. NADASDY, V. D. D'AGATI u. F. G. SILVA (2009):

Silva's diagnostic renal pathology.

Cambridge University Press, Cambridge

ZÖLLER, M. (2005)

Pathogenetische Untersuchungen zum Wasting Marmoset Syndrom bei Weißbüschelaffen

(*Callithrix jacchus*).

Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss.

ZÖLLER, M., K. MATZ-RENSING u. F. J. KAUP (2006):

Über das Wasting Marmoset Syndrom bei Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*).

Kleintierpraxis 51, 11-19

8 Anhang

8.1 Anhangstabellen

8.1.1 Tiermaterial

Tabelle 11: Tiermaterial

G-/K-Nr.	Tier-Nr.	Herkunft	Geburtsdatum	Sektionsdatum	Geschlecht	Gewicht bei Sektion in g	Alter bei Sektion
Untersuchungsgruppe I							
G 6634	11404	DPZ,	10.01.2002	14.05.2003	männlich	221	1,34
G 6650	10835	DPZ	15.03.2001	12.06.2003	weiblich	321	2,24
G 6687	11530	DPZ	22.08.2000	18.07.2003	weiblich	290	2,9
G 6688	10631	DPZ	25.11.2000	24.07.2003	weiblich	321	2,66
G 6694	8912	DPZ	21.09.1997	12.08.2003	männlich	224	5,89
G 6787	7417	DPZ	18.12.1994	06.10.2003	männlich	202	8,81
G 6795	8837	DPZ	06.08.1997	21.10.2003	weiblich	286	6,21
G 6821	9891	DPZ	09.08.1999	06.11.2003	weiblich	244	4,25
G 6859	8939	DPZ	31.10.1997	04.12.2003	weiblich	330	6,1
G 6869	11005	DPZ	28.05.2001	13.01.2004	männlich	273	2,63
G 6905	11081	DPZ	15.07.2002	10.03.2004	männlich	266	1,65
G 6931	9496	DPZ	12.11.1998	22.05.2004	weiblich	292	5,53
G 6940	9318	DPZ	12.07.1998	02.07.2004	weiblich	305	5,98
G 7035	10103	DPZ	12.01.2000	07.09.2004	weiblich	277	4,66
G 7079	10158	DPZ	26.01.2000	08.11.2004	männlich	249	4,79
G 7096	10456	DPZ	23.06.1998	08.12.2004	weiblich	272	6,47
G 7284	9281	DPZ	14.04.1999	26.10.2005	weiblich/ kastriert	229	6,54
G 7411	9732	DPZ	07.09.1998	03.07.2006	weiblich	245	7,82
G 7415	13482	DPZ	11.04.2001	21.07.2006	männlich	269	5,28
G 7429	10920	DPZ	07.06.2000	14.08.2006	weiblich	244	6,19
G 7485	10367	DPZ	17.03.2002	21.10.2006	weiblich	224	4,6
G 7499	12771	DPZ	04.08.2004	21.11.2006	weiblich	301	2,3
G 7512	11534	DPZ	01.01.2002	19.12.2006	weiblich	320	4,97
G 7514	1207	DPZ	05.08.2001	10.01.2007	weiblich	218	5,44
Untersuchungsgruppe II							
G 7062	319	ext. Kolonie	20.06.2003	26.10.2004	männlich	244	1,35
G 7064	03. Sep	ext. Kolonie	14.05.2003	26.10.2004	männlich	260	1,45
G 7065	336	ext. Kolonie	16.12.2003	26.10.2004	weiblich	248	0,86
G 7066	371	ext. Kolonie	02.06.2003	26.10.2004	männlich	248	1,4
G 7067	A455	ext. Kolonie	07.07.2003	26.10.2004	männlich	226	1,31
G 7387	330	ext. Kolonie	12.08.2003	01.06.2006	weiblich	215	2,81

Anhang

G 7388	1356475 21A	ext. Kolonie	10.08.2004	01.06.2006	männlich	220	1,81
G 7389	Feb 35	ext. Kolonie	07.10.2002	01.06.2006	männlich	278	3,65
G 7390	1375521 71A	ext. Kolonie	06.04.2004	02.06.2006	weiblich	221	2,16
G 7391	1373213 21	ext. Kolonie	11.10.2004	02.06.2006	weiblich	291	1,64
G 7392	04. Jun	ext. Kolonie	26.05.2004	02.06.2006	weiblich	208	2,02
G 7432	504	ext. Kolonie	21.04.2005	22.08.2006	weiblich	184	1,34
G 7433	A436	ext. Kolonie	08.01.2003	22.08.2006	weiblich	308	3,62
G 7434	507	ext. Kolonie	23.02.2005	22.08.2006	männlich	203	1,49
G 7435	23	ext. Kolonie	15.07.2000	22.08.2006	männlich	247	6,11
G 7436	577	ext. Kolonie	22.03.2005	22.08.2006	weiblich	118	1,42
G 7437	509	ext. Kolonie	22.03.2005	22.08.2006	männlich	195	1,42
G 7438	505	ext. Kolonie	08.05.2005	22.08.2006	männlich	202	1,29
G 7439	A 379	ext. Kolonie	01.10.2001	22.08.2006	weiblich	243	4,89
G 7440	510	ext. Kolonie	16.05.2005	22.08.2006	weiblich	209	1,27
G 7441	502	ext. Kolonie	29.06.2005	22.08.2006	weiblich	165	1,15
G 7442	501	ext. Kolonie	29.06.2005	22.08.2006	männlich	130	1,15
G 7443	A 431	ext. Kolonie	24.09.2002	22.08.2006	männlich	188	3,91
Kontrollgruppe							
K 1981	I	ext. Kolonie	07.06.2006	13.03.2007	männlich	280	0,76
K 1982	II	ext. Kolonie	28.04.2005	15.03.2007	männlich	360	1,88
K 1983	III	ext. Kolonie	23.03.2005	19.03.2007	männlich	375	1,99
K 1984	IV	ext. Kolonie	20.02.2006	20.03.2007	weiblich	335	1,08
G 7551	13048	DPZ	05.04.05	06.02.07	männlich	398	1,84
G 7552	13102	DPZ	28.04.05	06.02.07	männlich	388	1,78
G 7531	10364	DPZ	06.07.2000	15.01.2007	weiblich	390 g	6,53
G 7532	9561	DPZ	15.12.1998	15.01.2007	weiblich	448 g	8,09
G 7553	13144	DPZ	30.05.2005	06.02.2007	männlich	416 g	1,69
G 7554	13145	DPZ	30.05.2005	06.02.2007	männlich	404 g	1,69
G 7555	13146	DPZ	30.05.2005	06.02.2007	männlich	360 g	1,69

ext. Kolonie = externe Kolonie

Tabelle 12: Tiere Fallberichte

G-/K-Nr.	Tier-Nr.	Herkunft	Geburts- datum	Sektions- datum	Geschlecht	Gewicht bei Sektion in g	Alter bei Sektion
K 2086	9918	DPZ	19/08/99	24/06/09	weiblich	330 g	9,85
K 2096	9136	DPZ	14/03/98	03/08/09	weiblich	375 g	11,42

8.1.2 Histopathologische Befunde Darm und sonstige Organsysteme

Tabelle 13: Histopathologische Befunde Darm und sonstige Organsysteme

G-/K-Nr.	Dünndarm	Dickdarm	sonstige Befunde
G 6634	++	++	ggr. Hepatitis, ggr. interstitielle Pneumonie
G 6650	-	++	-
G 6687	+++	++	ggr. EZI in Leber und Lunge
G 6688	+	++	VKH in multiplen Organen
G 6694	+++	++	VKH in multiplen Organen
G 6787	++	++	mgr. Pericholangitis, hgr. Fibrose der Prostata
G 6795	+++	+	ggr. Leberlipidose
G 6821	++	++	VKH in Niere und Lunge
G 6859	++	+	-
G 6869	++	+	-
G 6905	+	+	-
G 6931	+++	+	-
G 6940	+++	+++	-
G 7035	++	+	ggr. Pneumonie
G 7079	+++	++	-
G 7096	++	+	-
G 7284	++	+++	-
G 7411	++	++	-
G 7415	+++	+	-
G 7429	+++	+++	-
G 7485	+++	+	-
G 7499	+++	++	-
G 7512	++++	++++	-
G 7514	++++	++++	-
G 7062	++	++	-
G 7064	++	++	-
G 7065	++	+	-
G 7066	+	++	-
G 7067	++	+	-
G 7387	+	+	-
G 7388	++	+++	-
G 7389	++	++	ggr. interstitielle Pneumonie
G 7390	++	+++	-
G 7391	+	+++	mgr. interstitielle Pneumonie, ggr. Pericholangitis
G 7392	-	++	ggr. interstitielle Pneumonie
G 7432	+	+++	mgr. interstitielle Pneumonie
G 7433	-	++	ggr. interstitielle Pneumonie
G 7434	++	+++	ggr. interstitielle Pneumonie
G 7435	+	+++	ggr. interstitielle Pneumonie
G 7436	++	+++	ggr. Gastritis

G-/K-Nr.	Dünndarm	Dickdarm	sonstige Befunde
G 7437	++	+++	mgr. interstitielle Pneumonie
G 7438	-	+++	-
G 7439	++	+++	-
G 7440	++	+++	fokale Lebernekrose, ggr. Gastritis
G 7441	-	+++	mgr. Gastritis
G 7442	-	++	mgr. Gastritis, mgr. interstitielle Pneumonie
G 7443	++	+++	ggr. interstitielle Pneumonie
K 1981	*	*	*
K 1982	*	*	*
K 1983	*	*	*
K 1984	*	*	*
G 7531	++	+	ggr. interstitielle Pneumonie
G 7532	++	+	-
G 7551	*	*	*
G 7552	*	*	*
G 7553	*	*	*
G 7554	*	*	*
G 7555	*	*	*

* = nicht untersucht

- = negativ, + = minimal, ++ = geringgradig, +++ = mittelgradig, ++++ = hochgradig

8.1.3 Bakteriologische und parasitologische Ergebnisse

Tabelle 14: Bakteriologische und parasitologische Ergebnisse

G-/K-Nr.	Bakterieller Befund	Parasitärer Befund
G 6634	Dickdarm: <i>E. coli</i> +	n.u.
G 6650	Dickdarm: <i>Strep. sp.</i> +	- Dünndarm: <i>Giardia sp.</i> +, Dickdarm: <i>Giardia sp.</i>
G 6687	Dickdarm: <i>E. coli</i> +++	+++
G 6688	Dickdarm: <i>E. coli</i> +++	Dünn-/Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> +++
G 6694	Dünndarm: <i>E. coli</i> (+), <i>Kleb. sp.</i>	Dünn-/Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> +++
G 6787	Dünndarm: <i>E. coli</i> +; <i>Strep. sp.</i> ++, <i>Kleb. pneumoniae</i> ++; Dickdarm: <i>E. coli</i> +++, <i>Strep. sp.</i> ; <i>Kleb. sp.</i>	-
G 6795	Dünndarm: <i>E. coli</i> (+); <i>Strep. sp.</i> ++; <i>Campyl. sp.</i> +++; Dickdarm: <i>E. coli</i> +++; <i>E. coli</i> häm. +; <i>Kleb. sp.</i> (+); <i>Campyl. sp.</i> +++	-
G 6821	Dickdarm: <i>E. coli</i> (+), <i>Strep. sp.</i> (+)	Dünndarm: <i>Giardia sp.</i> (+)
G 6859	Dickdarm: <i>Kleb. ozaenae</i> ++; <i>Campyl. sp.</i>	n.u.
G 6869	Dünndarm: <i>E. coli</i> ; <i>Acinetobacter sp.</i> +, Dickdarm: <i>E. coli</i> +++	Dickdarm: <i>Giardia sp.</i>
G 6905	Dünn-/Dickdarm: <i>E. coli</i> +++	Dünn-/Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> +++
G 6931	Dickdarm: <i>E. coli</i> +	Dünn-/Dickdarm: <i>Giardia lamblia</i> ++
G 6940	Dickdarm: <i>E. coli</i> ; <i>Strep. sp.</i>	Dünn-/Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> +
G 7035	Niere: <i>Serratia liquefaciens</i> +++; Dünndarm: <i>E. coli</i> häm. +; Dickdarm: <i>E. coli</i> häm. +++; <i>E. coli</i> ++	Dünn-/Dickdarm: <i>Giardia lamblia</i> ++
G 7079	Dickdarm: <i>E. coli</i> ++	Dünn-/Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> +
G 7096	Dünndarm: <i>E. coli</i> ++; <i>Strep. sp.</i> ++; Dickdarm: <i>E. coli</i> +++	n.u.

G-/K-Nr.	Bakterieller Befund	Parasitärer Befund
G 7284	Dünn-/Dickdarm: Sporenbildner +	-
G 7411	n.u.	n.u.
G 7415	Niere: <i>Aerococcus urinae</i> ++; Dick-/Dünndarm: <i>E. coli</i> +++	-
G 7429	Dünndarm: <i>E. coli</i> +++; <i>Strep. sp.</i> +++; Dickdarm: Sporenbildner ++	Dünndarm: <i>Giardia sp.</i> (+)
G 7485	Dünndarm: <i>Strep. sp.</i> +; Dickdarm: <i>E. coli</i> häm. (+), <i>Strep. sp.</i> +	n.u.
G 7499	Niere + ZNS: <i>E. hermanni</i> +; Dünndarm: <i>E. hermanni</i> ++; <i>Strep. sp.</i> ++	n.u.
G 7512	Dünn-/Dickdarm: <i>Strep. sp.</i> +; <i>E. coli</i> +; Sporenbildner +	-
G 7514	Dünndarm: <i>E. coli</i> ++; <i>Strep. sp.</i> +; Dickdarm: <i>E. coli</i> häm. +; <i>E. coli</i> ; Prot. sp.	n.u.
G 7062	Dünn-/Dickdarm: <i>E. coli</i> , <i>Strep. sp.</i>	Dünn-/Dickdarm: <i>Entamoeba coli</i> (+)
G 7064	Dünn-/Dickdarm: <i>E. coli</i> , <i>Strep. sp.</i>	-
G 7065	Dünn-/Dickdarm: <i>E. coli</i> , <i>Strep. sp.</i>	-
G 7066	Dickdarm: <i>E. coli</i> +	n.u.
G 7067	Dünn-/Dickdarm: <i>E. coli</i> , <i>Strep. sp.</i>	-
G 7387	Dickdarm: <i>E. coli</i> , <i>Strep. sp.</i>	-
G 7388	Dickdarm: <i>E. coli</i> +	-
G 7389	Dickdarm: <i>E. coli</i> , <i>Strep. sp.</i>	Dünn-/Dickdarm: <i>Entamoeba sp.</i> +
G 7390	Dickdarm: <i>E. coli</i> +	Dünn-/Dickdarm: <i>Entamoeba histolytica</i> +
G 7391	Dünndarm: Sporenbildner; Dickdarm: <i>E. coli</i> , <i>Proteus sp.</i>	Dünn-/Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> +
G 7392	Dünn-/Dickdarm: <i>E. coli</i> , <i>Strep. sp.</i>	Dünn-/Dickdarm: <i>Giardia lamblia</i> +
G 7432	Dünndarm: <i>Strep. sp.</i> +, <i>Acinetobacter loeffii</i> ++; Dickdarm: <i>E. coli</i> +++; Sporenbildner ++	Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> (+), <i>Entamoeba sp.</i> (+)
G 7433	Dünndarm: <i>E. coli</i> (+); Dickdarm: <i>E. coli</i> +++; <i>Strep. sp.</i> (+)	Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> +
G 7434	Dünndarm: <i>E. coli</i> ++; <i>Strep. sp.</i> (+); Dickdarm: <i>E. coli</i> +++; <i>Strep. sp.</i> (+)	-
G 7435	Dickdarm: <i>E. coli</i> +++	Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> +
G 7436	Dünndarm: <i>Strep. sp.</i> ++; Dickdarm: <i>E. coli</i> ++; <i>Strep. sp.</i> (+)	-

G-/K-Nr.	Bakterieller Befund	Parasitärer Befund
G 7437	Dickdarm: <i>E. coli</i> +++, Sporenbildner +	-
G 7438	Dickdarm: <i>E. coli</i> +++, <i>Strep. sp.</i> +	-
G 7439	Dünn-/Dickdarm: <i>E. coli</i> ++	Dünndarm: <i>Giardia sp.</i> (+)
G 7440	Dünndarm: <i>E. coli</i> (+), <i>Strep. sp.</i> +; Dickdarm: <i>E. coli</i> +++, <i>Strep. sp.</i> +	Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> ++
G 7441	Dünn-/Dickdarm: <i>E. coli</i> +++, <i>Strep. sp.</i> ++	-
G 7442	Dickdarm: <i>E. coli</i> +++, <i>Strep. sp.</i> ++	Dickdarm: <i>Entamoeba sp.</i> +
G 7443	Dünndarm: <i>E. coli</i> ++; Dickdarm: <i>E. coli</i> +++, <i>Strep. sp.</i> ++	Dünndarm: <i>Giardia sp.</i> +; Dickdarm: <i>Giardia sp.</i> ++; <i>Entamoeba sp.</i> +
K 1981	n.u.	n.u.
K 1982	n.u.	n.u.
K 1983	n.u.	n.u.
K 1984	n.u.	n.u.
G 7531	-	-
G 7532	Dickdarm: <i>Kleb. ozaeanae</i> (+); <i>Strep. sp.</i> ++	-
G 7553	n.u.	n.u.
G 7554	n.u.	n.u.
G 7555	n.u.	n.u.

- = negativ; (+) = minimal; + = geringgradig; ++ = mittelgradig; +++ = hochgradig

8.1.4 Histopathologische Befunde Niere

Tabelle 15: Histopathologische Befunde Niere

G-/K-Nr.	Klasse		IgM	IgA	C3c	α -sma	interstitielle Nephritis	tubuläre Atrophie	Verkalkungen	Fibrose	Hämoperitoneum
	IKGN	IKGN									
G 6634	II		1	0	1	2	1	1	4	1	1
G 6650	II		2	0	1	3	2	1	1	0	1
G 6687	III		1	0	2	1	3	1	1	1	0
G 6688	III		2	0	1	2	2	2	3	2	2
G 6694	II		1	0	1	2	1	2	4	3	2
G 6787	IV		3	1	3	2	2	2	3	2	2
G 6795	III		1	0	1	2	2	2	3	2	1
G 6821	IV		2	1	3	1	2	1	2	2	0
G 6859	II		2	1	2	3	3	1	1	2	1
G 6869	I		3	0	2	2	0	0	2	1	0
G 6905	III		1	2	1	4	0	0	1	0	2
G 6931	V		3	0	2	2	3	3	2	3	3
G 6940	III		1	0	1	2	2	3	1	1	1
G 7035	III		3	1	2	1	3	2	1	2	3
G 7079	III		3	1	2	4	2	0	1	0	1
G 7096	IV		3	1	1	4	2	1	2	1	0
G 7284	III		4	0	1	1	1	0	0	1	3
G 7411	III		3	1	1	4	2	1	2	2	1
G 7415	V		3	2	2	4	3	3	1	2	1
G 7429	III		3	0	1	3	2	0	2	1	1
G 7485	II		3	1	2	2	0	0	0	0	0

G-/K-Nr.	Klasse IKGN	IgM	IgA	C3c	α -sma	interstitielle Nephritis	tubuläre Atrophie	Verkal- kungen	Fibrose	Hämo- siderose
G 7499	III	2	0	1	2	0	0	0	0	1
G 7512	III	3	1	2	3	2	1	0	2	1
G 7514	III	2	0	3	2	0	0	0	1	1
G 7062	I	3	0	1	3	0	0	0	0	1
G 7064	III	2	0	2	3	1	1	0	1	1
G 7065	III	3	0	1	4	1	1	1	0	1
G 7066	III	3	0	1	3	1	1	1	1	1
G 7067	III	3	0	2	3	0	0	0	1	1
G 7387	IV	2	1	2	2	1	0	1	1	1
G 7388	III	2	0	2	1	2	0	1	0	2
G 7389	III	2	2	1	2	2	1	1	1	1
G 7390	III	3	1	3	3	2	2	0	2	3
G 7391	III	3	1	3	3	2	0	0	0	1
G 7392	III	3	0	0	2	2	1	1	2	1
G 7432	II	2	0	1	2	0	0	2	0	1
G 7433	III	2	1	1	3	2	1	1	2	1
G 7434	III	3	1	2	1	2	1	0	2	1
G 7435	III	2	0	2	2	2	1	1	1	2
G 7436	III	2	0	2	1	1	0	0	1	1
G 7437	II	3	0	1	2	1	0	2	1	1
G 7438	III	2	0	3	2	1	0	0	0	1
G 7439	IV	2	1	4	2	3	2	2	3	3
G 7440	III	3	0	2	3	0	0	0	1	0
G 7441	II	1	0	1	3	2	0	0	1	1
G 7442	II	2	0	1	2	2	1	1	2	1
G 7443	III	1	1	2	2	2	1	1	2	2

G-/K-Nr.	Klasse IKGN	IgM	IgA	C3c	α -sma	interstitielle Nephritis	tubuläre Atrophie	Verkalkungen	Fibrose	Hämo- siderose
K 1981	0	3	0	1	2	1	0	1	0	1
K 1982	II	2	1	2	2	2	1	0	1	2
K 1983	II	2	0	1	3	0	0	1	0	1
K 1984	II	2	0	1	2	1	1	1	1	2
G 7531	III	3	2	1	4	2	1	1	0	2
G 7532	IV	3	2	2	3	2	2	2	2	1
G 7551	III	3	1	2	2	2	1	0	2	1
G 7552	II	2	1	1	2	2	1	1	1	2
G 7553	III	2	1	2	2	2	1	0	1	1
G 7554	II	1	0	1	2	1	1	0	0	1
G 7555	II	2	1	2	2	1	1	1	1	3

Klasse der Glomerulonephritis nach HAAS (1997) von 0 = negativ über I bis V; restliche Scores 0 = negativ, 1 = minimal, 2 = geringgradig, 3 = mittelgradig, 4 = hochgradig

8.1.5 Ergebnisse des Combur®-Tests

Tabelle 16: Ergebnisse des Combur® Tests

G-, K-Nr.	Dichte	pH	Eryrs/ μ l	Bilirubin	EiweiB (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Keton	Urobilinogen (mg/dl)	Nitrit	Leukos/ μ l
G 7415	1,010	7,5	ca. 50	neg.	0	norm.	neg.	norm.	pos.	neg.
G 7429	1,005	7,0	ca. 5-10	neg.	30	1000	neg.	1	pos.	neg.
G 7387	1,010	7,0	ca. 5-10	neg.	30	norm.	neg.	norm.	neg.	neg.
G 7388	1,020	5,5	ca. 50	neg.	0	100	neg.	norm.	neg.	neg.
G 7389	1,015	6,0	neg.	neg.	0	norm.	neg.	norm.	neg.	neg.
G 7390	1,025	6,0	ca. 250	neg.	100	norm.	neg.	norm.	neg.	neg.
G 7391	1,015	6,0	neg.	neg.	0	50	neg.	norm.	neg.	neg.
G 7392	1,015	6,0	neg.	neg.	0	norm.	neg.	norm.	neg.	neg.
G 7433	1,015	6,0	ca. 50	neg.	30	norm.	pos.	norm.	neg.	neg.
G 7434	1,010	7,5	ca. 50	neg.	30	norm.	neg.	norm.	neg.	10-25
G 7435	1,015	6,0	neg.	neg.	30	norm.	neg.	norm.	neg.	neg.
G 7438	1,020	5,0	neg.	neg.	0	300	neg.	norm.	pos.	neg.
G 7439	1,010	7,0	ca. 50	neg.	30	300	neg.	norm.	neg.	neg.
Referenzwerte	1,016-1,022	4,8-7,4	0-5/ μ l	<0,2 mg/dl	<2 mg/dl	<30 mg/dl	<5 mg/dl	<1 mg/dl	-	<10/ μ l

8.1.6 Differentialblutbilder

Tabelle 17: Differentialblutbilder

G-, K-Nr.	Eryt. (10 ⁶ /µl)	Leuko. /µl	Stab. (%)	Seg. (%)	Eos. (%)	Baso. (%)	Mono. (%)	Lym. (%)	HTK (%)	Hb (g/dl)	MCH (pg)	MCV (µm ³)	MCHC (g/dl)
G 6634	4,2	800	8	70	0	0	0	22	34	8,71	20,7	80,9	*
G 6650	4,18	3600	1	55	0	0	0	44	44	12,4	29,7	105,2	*
G 6687	*	*	1	33	0	0	0	66	31	*	*	*	*
G 6688	3,73	1800	0	71	0	0	0	29	32	10,2	27,3	85,8	*
G 6694	4,95	1950	*	*	*	*	*	*	40	11,1	22,4	80,8	*
G 6787	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 6795	3,62	1900	0	63	0	0	0	37	36	*	*	99,4	*
G 6821	4,15	2250	0	28	0	0	0	72	28	*	*	67,47	*
G 6859	5,3	1900	0	29	0	0	0	71	48	*	*	91,8	*
G 6869	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 6905	3,84	4890	1	71	1	1	1	25	42	*	*	*	*
G 6931	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 6940	5,15	3220	1	52	0	0	1	46	30	*	*	*	*
G 7035	2,12	1720	0	31	1	0	13	55	18,5	5,05	23,9	87,4	27,3
G 7079	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 7096	4,8	8350	0	48	0	1	1	50	35,3	10,3	21,4	73,5	29,1
G 7284	3,7	2440	0	38,5	0,15		0,94	60,4	29,1	8,86	24	78,7	30,5
G 7411	4,78	5870	0	71	0,26	1,07	4,73	22,9	31,3	9,38	19,6	65,4	29,9

G-, K-Nr.	Eryt. (10 ⁶ /µl)	Leuko. /µl	Stab. (%)	Seg. (%)	Eos. (%)	Baso. (%)	Mono. (%)	Lym. (%)	HTK (%)	Hb (g/dl)	MCH (pg)	MCV (µm ³)	MCHC (g/dl)
G 7415	2,79	2510	0	35,8	0,92	0	3,87	59,5	24,9	6,84	24,3	88,4	27,5
G 7429	3,97	*	1	46	0	0	4	46	26,5	7,38	18,6	66,8	27,8
G 7485	1,22	618	0	59,8	0,53	0	6,56	33,1	10,1	3,23	26,4	82,5	32
G 7499	6,17	11700	0	21,3	0,16	0,49	56	41,3	45,1	11,7	18,9	73	25,9
G 7512	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 7514	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 7062	6,51	1000	0	30	1	1	20	48	50,6	12,7	19,6	77,8	25,1
G 7064	7,28	4810	0	48	0	1	7	44	50,1	15,1	20,7	68,8	30,1
G 7065	5,01	8160	0	30	1	0	3	66	39,4	11,2	22,4	78,8	29
G 7066	6,57	8380	0	25	0	0	3	72	51,9	15	22,9	78,9	29
G 7067	6,41	567	0	60	0	0	12	28	47,5	14,1	22	74,2	29,6
G 7387	3,97	3120	0	43,6	0,22	2,8	2,74	50,6	31,8	9,39	23,6	80,1	29,5
G 7388	6,74	9390	0	32,2	0,13	0,38	14,2	53,1	45,7	12,7	18,8	67,8	27,7
G 7389	5,84	17000	0	51,1	0,02	0,51	3,76	44,6	42,5	11,8	20,2	72,8	27,7
G 7390	4,25	2700	0	39,7	0,18	2,04	16,6	41,5	30,5	9,33	22	71,7	30,7
G 7391	6,92	6040	0	46,6	0,08	2,11	12,5	38,7	47,5	13,6	19,7	68,7	28,6
G 7392	5,11	5300	0	21,6	0,64	2,69	19,8	55,3	40,5	11,8	23,2	79,3	29,2
G 7432	7,13	7500	0	52,4	0,21	0,86	12,2	34,4	48,9	14,3	20	68,6	29,1
G 7433	4,72	3910	0	44,7	0,04	1,67	10,9	42,7	33,6	10,4	22,1	71,2	31
G 7434	7	11500	0	40,8	0,26	0,93	17,5	40,6	45,8	13,2	18,9	65,4	28,9
G 7435	5,8	6460	0	62	0,24	0,72	8,02	29	42,1	12,7	21,8	72,6	30
G 7436	4,66	7700	0	47,8	0,09	2,25	3,77	46,1	32,7	10,1	21,7	70,2	30,8
G 7437	6,03	2700	0	48,2	0,25	0,45	3,27	47,8	43	12,9	21,4	71,3	30,1
G 7438	6,29	4460	0	47,7	0,19	0,19	4,8	47,1	45,7	13,2	21,1	72,7	29

G-, K-Nr.	Eryt. (10 ⁶ /µl)	Leuko. /µl	Stab. (%)	Seg. (%)	Eos. (%)	Baso. (%)	Mono. (%)	Lym. (%)	HTK (%)	Hb (g/dl)	MCH (pg)	MCV (µm ³)	MCHC (g/dl)
G 7439	5,36	5750	0	60,1	0,3	0,3	4,77	34,5	38,4	11,4	21,3	71,5	29,7
G 7440	5,04	2690	0	56,4	0,32	0	1,15	42,2	39,5	11,6	23,1	78,4	29,4
G 7441	5,66	5240	0	50,8	0,13	0,96	2,95	45,1	36,9	10,6	18,7	65,1	28,7
G 7442	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 7443	5,39	5850	0	37,9	0,2	0,2	3,19	58,5	33,9	10,7	19,9	63	31,6
K 1981	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
K 1982	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
K 1983	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
K 1984	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 7531	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 7532	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 7551	5,09	3420	0	24,5	0,53	1,02	1,94	72	36,2	11,6	22,8	71,2	32
G 7552	6,42	6480	0	58	0,53	1,18	3,2	37,1	43,9	13,6	21,1	68,4	30,9
G 7553	6,97	9002	0	51,3	0,36	1,02	4,92	42,4	48,4	15,4	22,1	69,4	31,8
G 7554	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G 7555	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
K 2086	*	*	*	*	*	*	*	*	14	*	*	*	*
K 2096	*	*	*	*	*	*	*	*	24	*	*	*	*
Referenzwerte	4,6 – 6,6	4900 – 11300	27 – 59	0 – 1,4	0 – 2,1	0,4 – 6,2	35 – 67	32 – 54	12,6 – 19,6	14 – 32	66 – 78	34 – 54	

Eryt. = Erythrozyten; Leuko. = Leukozyten; Stab. = stabkernige neutrophile Granulozyten; Seg. = segmentkernige neutrophile Granulozyten; Eos. = eosinophile Granulozyten; Baso. = basophile Granulozyten; Mono. = Monozyten; Lym. = Lymphozyten

8.1.7 Klinische Chemie

Tabelle 18: Klinische Chemie

G _r -K-Nr.	Alb g/dl	AP u/l	Amy U/l	Bili ges. mg/dl	Ca mmol /l	Chol mg/dl	CK U/l	Crea mg/dl	TP g/dl	Gluc mg/dl	AST U/l	ALT U/l	GGT U/l	HS mg/dl	BUN mg/dl	Eisen µmol/ l	LDH U/l	TG mg/dl	Phos mmol /l	Na mmol /l	K mmol /l	Cl mmol /l	
6634 G	3,35	56	781,8	0,06	3,77	114	1635	0,33	5,38	145	122,1	0,1	<4	0,97	9,5	21,4	571	66	1,58	150,1	3,65	106,2	
6650 G	3,84	101	779,5	0,08	2,31	142	4468	0,23	6,05	106	360,3	10,9	1,2	1,06	35,9	21,7	582	62	2,33	152,3	4,12	112,6	
6687 G	3,01	49	545,5	0,07	2,25	73	4674	0,19	4,93	159	172	8,8	1,3	1,27	12,9	27,8	292	43	2,9	152,8	4,38	124	
6688 G	3,31	48	774,1	0,09	2,91	102	3859	0,29	5,48	169	148,5	2	0,1	1,47	10	27,2	121	57	2,29	148,7	3,08	114,6	
6694 G	3,03	92	1363	0,15	2,9	139	3349	0,57	6,43	250	207,8	9,3	<4	2,47	40,5	11,5	558	236	5,31	125,7	5,24	80,3	
6787 G	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
6795 G	3,82	112	1148	0,09	3,98	135	47	0,26	6,33	121	59,6	2	1,4	0,67	4,7	16	83	183	1,69	156,8	4,93	107	
6821 G	2,94	158	999,2	0,09	2,95	115	5656	0,065	5,51	199	468,7	36,8	2,5	2,31	18,9	36	594	151	3,24	137	7,19	108,6	
6859 G	4,19	94	739,9	0,09	2,5	114	2078	0,24	6,21	87	175,3	13,3	1	2,35	18,5	23,5	351	50	2,53	152,9	4,52	116,3	
6869 G	3,44	200	865,7	0,22	2,03	173	7355	0,3	6,52	149	82,6	5,6	3	1,13	13	20,6	1310	82	0,88	150,6	3,77	108,7	
6905 G	3,47	332	643,9	0,07	1,62	108	2614	0,24	5,14	138	236	15,4	3,2	1,73	10,9	10,4	306	57	1,49	158,4	5,18	118	

G _r	K-	Nr.	Alb g/dl	AP u/l	Amy U/l	Bili ges. mg/dl	Ca mmol /l	Chol mg/dl	CK U/l	Crea mg/dl	TP g/dl	Gluc mg/dl	AST U/l	ALT U/l	GGT U/l	HS mg/dl	BUN mg/dl	Eisen µmol/ l	LDH U/l	TG mg/dl	Phos mmol /l	Na mmol /l	K mmol /l	Cl mmol /l
G		6931	1,25	95	591,1	0,1	2,32	197	32654	0,07	3,07	190	1105	45,8	5,2	1,14	49,6	19	3352	97	1,21	152	4,1	111,8
G		6940	2,15	67	479,2	0,04	2,28	126	21098	0,14	4,9	105	3905	3,8	2,3	0,78	21,6	9	4065	225	2,05	155,8	2,46	123,8
G		7035	2,97	276	575,1	0,14	2,2	57	11444	0,12	4,56	184	286,4	2,5	3,8	0,53	13,3	27,6	249	93	0,42	149,3	7,85	119
G		7079	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G		7096	2,88	589	728	0,18	2,22	77	2283	0,15	5,13	253	585,4	9	4	1,37	9	42,2	174	45	1,21	141,6	5,12	104,7
G		7284	1,76	49	686	0,04	2,13	93	39586	0,28	3,2	114	9	30,6	4,8	1,6	1	16,2	6001	67	2,28	151,8	4,17	109,5
G		7411	2,06	463	746,9	0,07	2,1	52	2919	0,21	4,81	136	192,4	3,9	-1,3	0,77	28,3	18,4	291	87	1,28	142,9	7	107,7
G		7415	1,49	98	561,9	0,06	1,9	94	8850	0,16	3,38	218	1021	16,8	0,1	1,1	13,4	15	1313	137	1,38	148,4	2,93	107,4
G		7429	2,25	62	614,7	0,06	1,83	99	694	0,17	4,95	320	133,8	10,7	-3,6	0,79	15	12,2	180	76	1,07	145,1	3,75	108,6
G		7485	2,56	0	103,8	0,24	0	41	5977	0,3	3,57	123	772,8	25,5	1,8	0,98	26,9	0	781	26	1,21	118,1	0,2	85,1
G		7499	2,32	305	831,8	0,28	2,29	58	13586	0,59	5,07	74	5990	24,5	2,9	0,43	93	11,8	619	6	4,05	164,2	4,57	119
G		7512	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G		7514	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G		7062	4,08	442	896,5	0,17	2,44	124	1160	0,33	7,39	150	217,2	2,8	0,2	1,57	22,4	21,2	357	52	2,35	158,1	3,83	111,4
G		7064	3,12	212	772	0,14	2,45	128	5708	0,21	5,28	199	311,2	20,2	1,6	1,37	15,3	24,6	474	42	2,6	152,2	4,58	113,9

G-, K- Nr.	Alb		AP	Amy	Bili	Ca	Chol	CK	Crea	TP	Gluc	AST	ALT	GGT	HS	BUN	Eisen	LDH	TG	Phos	Na	K	Cl
	g/dl	g/dl	u/l	u/l	mg/dl	mmol/l	mg/dl	U/l	mg/dl	g/dl	mg/dl	U/l	U/l	U/l	mg/dl	mg/dl	μ mol/l	U/l	mg/dl	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l
G	7065	3,96	276	715,4	0,12	2,37	106	*	0,4	6,38	209	*	78,3	1,7	1,56	22,7	17,9	*	64	2,58	151,7	7,01	116,4
G	7066	4,35	239	853,9	0,15	2,54	233	9658	0,21	7,18	201	322,5	23,9	2,7	1,36	14,5	26,5	903	85	2,69	154,1	4,53	115,7
G	7067	4,08	266	688,4	0,07	2,78	160	4238	0,14	6,37	121	264,4	13,4	1,8	1,01	18,5	18,7	335	57	3,03	155,9	4,32	116,9
G	7387	2,87	59	775,8	0,24	2,59	138	4013	0,2	5,59	315	748,7	40,7	-1,9	1,2	14,7	29,5	1332	83	3,66	141,6	9,87	102,7
G	7388	2,69	188	729,7	0,11	2,29	167	5371	0,2	6,23	89	267,4	12,2	1,7	4,24	19,9	22,5	639	63	4,18	155,2	3,01	101,1
G	7389	3,14	138	918	0,25	2,63	191	7167	0,2	5,75	62	204,2	6,5	3,2	0,75	19,1	38,9	291	151	4,5	154	7,45	106,1
G	7390	2,38	154	809,1	0,08	2,31	163	2628	0,12	5,46	277	230,8	15,9	0,8	0,86	24,7	10,7	360	54	2,91	135,5	6,18	92,8
G	7391	4,15	309	948,4	0,08	2,95	145	4234	0,18	7,39	347	226,4	14,2	3	0,99	18,9	6,5	351	87	3,85	152,4	5,54	102,3
G	7392	3,25	158	756,5	0,13	2,69	175	4657	0,11	6,54	330	212	6,7	0,6	0,65	25,7	13,4	275	109	3,23	148,2	6,42	100,4
G	7432	3,36	155	766	0,19	2,64	192	3148	0,39	5,94	418	302,6	27	1,2	4,03	27,7	24,4	514	81	3,09	137,6	8,51	96,3
G	7433	3,94	70	576,5	0,1	2,11	82	2011	0,26	6,79	114	153,5	11,6	5,4	1,7	11,7	27,2	293	38	0,99	146,7	2,53	104,6
G	7434	3,18	178	573,9	0,12	2,26	196	5901	0,25	6,22	262	226,5	11,5	2,4	1,13	16,6	21,4	333	37	3,23	140,1	5,57	94,7
G	7435	3,31	122	937,8	0,15	2,32	218	7626	0,25	6,42	98	259,6	17,2	3,6	2,61	25,7	35,1	317	59	2,81	147,4	5,81	100
G	7436	2,7	331	565,7	0,17	1,66	250	5174	0,24	5,32	72	195,9	7,6	2,7	2,67	23,9	10,4	506	90	1,8	152,2	2,53	105,3

G _r K- Nr.	Alb g/dl	AP u/l	Amy U/l	Bili ges. mg/dl	Ca mmol/ l	Chol mg/dl	CK U/l	Crea		Gluc mg/dl	AST U/l	ALT U/l	GGT U/l	HS mg/dl	BUN mg/dl	Eisen µmol/ l	LDH U/l	TG mg/dl	Phos mmol /l	Na mmol /l	K mmol /l	Cl mmol /l	
								TP g/dl	I mg/d														
7437	3,32	190	653,7	0,15	2,48	142	3400	0,24	5,74	298	236	37,6	2,3	2,47	26	14,4	435	29	3	146,7	3,58	101,1	
G																							
7438	3,39	190	665	0,11	2,51	149	3461	0,22	6,14	487	255,2	16	1,3	0,74	12,4	25,7	321	85	2,73	150,1	6,64	111	
G																							
7439	2,69	111	869,4	0,1	2,28	163	7217	0,29	4,98	447	490,4	59,4	0,6	1,49	11,5	12,2	637	77	3,06	148,6	5,6	111,9	
G																							
7440	3,42	165	546,2	0,19	2,29	136	1519	0,21	5,78	248	131,6	0,8	1,9	1,28	13,2	8,6	192	28	2,08	147,1	3,06	103,1	
G																							
7441	3,24	175	470	0,17	2,38	166	2191	0,27	6,25	286	209	26,9	1,3	1,71	17,7	9,9	420	29	2,39	145,1	4,91	104	
G																							
7442	3,04	203	501,2	0,21	2,37	123	4832	0,3	6,12	274	128,9	8,4	1,1	3,38	34,6	9,9	249	32	3,3	132,2	5,64	92,2	
G																							
7443	2,89	79	738,9	0,14	2,35	231	1692	0,32	5,84	48	186,3	5,3	1,7	0,86	17,5	9,1	393	76	3,63	139,5	5,09	97,7	
K																							
1981	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
K																							
1982	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
K																							
1983	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
K																							
1984	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G																							
7531	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G																							
7532	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G																							
7551	4,54	130	873,3	0,08	2,62	129	791	0,3	7,1	188	164,6	12,9	7,3	1,23	17,3	18,3	338	210	2,23	153,1	4,92	110,	
G																							1

G _r	Alb	AP	Amy	Bili	Ca	Chol	CK	Crea	TP	Gluc	AST	ALT	GGT	HS	BUN	Eisen	LDH	TG	Phos	Na	K	Cl	
Nr.	g/dl	U/l	U/l	mg/dl	mmol/l	mg/dl	U/l	mg/dl	g/dl	mg/dl	U/l	U/l	U/l	mg/dl	mg/dl	µmol/l	U/l	mg/dl	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	
7552	3,89	92	799,5	0,12	2,42	132	248	0,31	7,37	112	78,5	6,3	2	1,63	19,4	13,9	229	72	1,78	152,4	4,3	110	
G																						108,	
7553	4,48	125	782	0,1	2,69	87	217	0,28	6,55	194	112,4	16,6	7	0,4	12,2	12	273	162	1,99	152,1	3,41	6	
G																							
7554	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G																							
7555	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
K																							
2086	*	*	*	*	1,49	*	*	1,19	*	151,4	127	*	*	*	62,62	*	*	275	1,67	169	7,4	126	
K			1179,																				
2096	4,26	176	3	<0,1	2,59	143	362	0,79	6,95	99	120,5	29,4	4,5	0,63	77,2	52,5	338	287	2,65	155,4	4,6	112	
Ref-	4,4-5,8	34-88	337-1523	0,1-0,2	2,3-2,9	136-234	920-2410	0,25-1,9	6,4-8,0	124-220	106-196	38-72	5,8-15,5	0,02-0,8	15-29	6-45	108-328	63-209	1,4-2,3	153-169	3,5-4,7	93-121	
wert																							

Alb = Albumin; Amy = Amylase; Bili ges. = Bilirubin gesamt; Chol = Cholesterin; Crea = Kreatinin; TP = Gesamtprotein; Gluc = Glucose;
 HS = Harnstoff; Phos = Phosphat;

8.1.8 Tabelle Statistik

8.1.8.1 Ergebnisse des Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests

Tabelle 19: Ergebnisse des Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests auf signifikante Unterschiede in der Verteilung verschiedener pathologischer Nierenparameter in den Untersuchungsgruppen I und II gegenüber der Kontrollgruppe

Variable	Rangsumme		U	Z	p-Level	Z angepasst	p-Level	Valid N		2-seitiger exakter p-Wert
	Gruppe I	Gruppe 2						Gruppe I	Gruppe 2	
Klasse GN	1487	224	158	1,98344*	0,047319*	2,19866*	0,027902*	47	11	0,046269*
IgM	1400	311	245	0,25785	0,796525	0,27901	0,780239	47	11	0,799325
IgA	1318	393	190	-1,34874	0,177421	-1,52307	0,127742	47	11	0,179974
C3c	1421	290	224	0,67437	0,500077	0,7376	0,460756	47	11	0,50536
α -sma	1392	319	253	0,09917	0,921002	0,10729	0,914561	47	11	0,92213
interst. Nephritis	1404,5	306,5	240,5	0,3471	0,728515	0,37268	0,709388	47	11	0,724766
tubuläre Atrophie	1361,5	349,5	233,5	0,48594	0,627008	-0,52402	0,600263	47	11	0,624636
Verkalkungen	1433,5	277,5	211,5	0,92223	0,356373	0,97821	0,327971	47	11	0,356243
Fibrose	1450	261	195	1,24957	0,211458	1,32062	0,186629	47	11	0,214718

GN = Glomerulonephritis; Gruppe I = Untersuchungsgruppen I + II; Gruppe 2 = Kontrollgruppe; * markierte Werte sind signifikant mit $p < 0,05000$

8.1.8.2 Ergebnisse des Spearman Rangkorrelationstests

Tabelle 20: Korrelationen zwischen den Glomerulonephritiden nach HAAS (1997) und diversen Nierenparametern in den Untersuchungsgruppe I und II

Variable	Klasse GN	IgM	IgA	C3c	α -sma	interstitielle Nephritis	tubuläre Atrophie
Klasse GN	1,000000	0,163832	0,395023*	0,389436*	-0,009290	0,395958*	0,352427*
IgM	0,163832	1,000000	0,141878	0,115645	0,239672	-0,044479	-0,123975
IgA	0,395023*	0,141878	1,000000	0,322618*	0,239403	0,363478*	0,207099
C3c	0,389436*	0,115645	0,322618*	1,000000	-0,190096	0,172100	0,007364
α-sma	-0,009290	0,239672	0,239403	-0,190096	1,000000	-0,058513	-0,042100
interst. Nephritis	0,395958*	-0,044479	0,363478*	0,172100	-0,058513	1,000000	0,658185*
tubuläre Atrophie	0,352427*	-0,123975	0,207099	0,007364	-0,042100	0,658185*	1,000000

Spearman Rangkorrelation; MD (fehlende Daten) sind paarweise eliminiert;

*Markierte Korrelationen sind signifikant mit $p < 0,05000$.

Tabelle 21: Korrelation zwischen der Klasse der Glomerulonephritis nach Haas und dem Grad der Enteritis in den Untersuchungsgruppen I und II

Variable	Klasse GN	Grad Enteritis
Klasse GN	1,000000	0,022868
Grad Enteritis	0,022868	1,000000

Spearman Rangkorrelation; MD (fehlende Daten) sind paarweise eliminiert;

*Markierte Korrelationen sind signifikant mit $p < 0,05000$.

8.2 Rezept für Quarkbrei

(für 100 Tiere):

- *Gummi arabicum* in einem halben kleinen Napf mit Wasser anrühren
- 3 Bananen
- 1 Becher Magerquark
- 1/2 Becher Naturjoghurt
- 10 g Vitamin C
- 8 ml Distelöl
- 100 ml Karottensaft
- 20 g Protevit®
- 6 g Bierhefe
- 8 g Kalzoral ad us vet. (Fa. Albrecht, Aulendorf)
- 0,8 ml Vitamin D3 (Ursovit D3®, Fa. Serum-Werk Bernheim)
- 19 g Mineralstoffmischung

Bei Bedarf Reisschleim zum Eindicken hinzufügen.

8.3 Protokolle für die Histologie

8.3.1 Hypercenter XP-Protokoll

- Wasser (entmineralisiert) für 2 h bei Zimmertemperatur
- aufsteigende Alkoholreihe (50 %, 70 %, 80 %, 96 %, 96 %, 100 %, 100 %)
- für jeweils 45 min bei 35°C und Vakuum
- 2x Chloroform für 1,5 h bzw. 1 h bei Zimmertemperatur und Vakuum
- 2x Paraffin für jeweils 1,5 h bei 60°C und Vakuum

8.3.2 Phosphatpuffer

Stammlösung A (0,2 M):

- Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat 27,6 g
(Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 6346)
- *Aqua bidest.* ad 1000 ml

Stammlösung B (0,2 M):

- di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat 35,6 g
(Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 6580)
- *Aqua bidest.* ad 1000 ml

Gebrauchslösung (0,1 M, pH 7,4 – 7,6):

- Stammlösung A 10 ml
- Stammlösung B 40 ml
- *Aqua bidest.* 50 ml

8.3.3 Fixierlösungen

4 %iges neutral gepuffertes Formalin:

- 35 %ige Formaldehydlösung 114 ml
- *Aqua dest.* 386 ml
- Stammlösung A (Phosphatpuffer) 100 ml
- Stammlösung B (Phosphatpuffer) 400 ml

10%iges neutral gepuffertes Formalin:

- 35 %ige Formaldehydlösung 285 ml
- *Aqua dest.* 215 ml
- Stammlösung A (Phosphatpuffer) 100 ml
- Stammlösung B (Phosphatpuffer) 400 ml

8.3.4 Protokoll der Kunststoffeinfettung

Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe:

Ethanol 70 %ig	2 h bei Raumtemperatur
Ethanol 96 %ig	2 h bei Raumtemperatur
Ethanol 100 %ig	1 h bei Raumtemperatur

Infiltration:

Infiltrationsmedium A:

- Technovit 7100 (HEMA mit Co-Katalysator XCL) (Fa. Heraeus Kulzer, Wehrheim) 100 ml
- Härter I Dibenzoylperoxid (Fa. Heraeus Kulzer, Wehrheim) 1 g

Einbettungsflüssigkeit B:

- Infiltrationsmedium A 15 Teile
- Härter II (Fa. Heraeus Kulzer, Wehrheim) 1 Teil

Komponenten während 1 min gut mischen

- 1) Gewebeproben über Nacht (bis zu 24 h je nach Größe der Gewebestückchen) in Infiltrationsmedium **A** inkubieren
- 2) jeweils ca. 1 ml der Einbettflüssig **B** in die Mulden einer Einbettform (Histoform S, Fa. Heraeus Kulzer, Wehrheim) vorpipettieren
- 3) Proben in Einbettmulden legen
- 4) für ca. 3 h bei Raumtemperatur polymerisieren lassen
- 5) nach Ablauf der Polymerisation das Trägerteil Histobloc (Fa. Heraeus Kulzer, Wehrheim) in die Aussparungen der Einbettform legen und mit Technovit 3040 (2 bis 3 Teile Pulver: 1 Teil Flüssigkeit) auffüllen
- 6) nach 3 bis 5 Minuten Einbettung mit Histobloc (Fa. Heraeus Kulzer, Wehrheim) aus der Form lösen

8.3.5 Histologische Färbungen an Kunststoff- und Paraffinschnitten

8.3.5.1 Movat-Versilberung für nicht entplastete Kunststoffsnitte

Perjodsäure 1 %ig:	30 min
in <i>Aqua dest.</i> spülen:	10 min
Methenamin-Silbernitratmischung:	30 – 60 min
in <i>Aqua dest.</i> spülen:	10 min
Natriumthiosulfat 2 %ig	3 min
in Leitungswasser spülen:	10 min
Hämalaun nach Mayer (Fa. Merck, Darmstadt):	5 min
in Leitungswasser spülen	10 min

Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- 70 %iges Ethanol: 1 min
- 80 %iges Ethanol: 1 min
- 96 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 2 min
- Xylol: 1 min
- Xylol: 3 min
- Xylol: 3 min
- Eindecken mit Eukitt (Fa. Kindler, Freiburg)

Methenamin-Silberlösung:

Methenamin 3 %ig:	80 ml
Silbernitrat 5 %ig:	10 ml
di-Natriumtetraborat 3 %ig:	10 ml

Getrennt auf 60°C erwärmen. Kurz vor Gebrauch in dieser Reihenfolge zusammengeben und in eine vorgewärmte Küvette füllen.

8.3.5.2 Häkalaun und Eosin-Färbung:

Entparaffinierung und Rehydratisierung (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- Xylol 1: 5 min
- Xylol 2: 2 min

- Xylol 3: 2 min
- 100% iges Ethanol: 2 min
- 96% iges Ethanol: 2 min
- 80% iges Ethanol: 1 min
- 70% iges Ethanol: 1 min
- *Aqua dest.*: 1 min

- Zur Kernfärbung Hämalaun nach Mayer (Fa. Merck, Darmstadt): 3 min
- Zum Bläuen fließend wässern: 10 min
- Gegenfärbung in wässrigem Eosin (Fa. Thermo Shandon, Frankfurt am Main): 5 min
- Fließend wässern: 5 sec

Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- 70 %iges Ethanol: 1 min
- 80 %iges Ethanol: 1 min
- 96 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 2 min
- Xylol: 1 min
- Xylol: 3 min
- Xylol: 3 min
- Eindecken mit Eukitt (Fa. Kindler, Freiburg)

8.3.5.3 Periodic-Acid-Schiff-Reaktion

Entparaffinierung und Rehydratisierung (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- Xylol 1: 5 min
- Xylol 2: 2 min
- Xylol 3: 2 min
- 100% iges Ethanol: 2 min
- 96% iges Ethanol: 2 min
- 80% iges Ethanol: 1 min
- 70% iges Ethanol: 1 min
- *Aqua dest.*: 1 min

- 0,5 % Perjodsäure: 10 min
- *Aqua dest.* fließend: 10 min
- Schiff's Reagenz (Fa. Merck, Darmstadt): 15 min
- *Aqua dest.*: wenige sec
- Leitungswasser fließend: 10 min
- Gegenfärbung mit Mayers Hämalaun: 30 sec
- Bläuen in Leitungswasser: 10 min

Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- 70 %iges Ethanol: 1 min

- 80 %iges Ethanol: 1 min
- 96 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 2 min
- Xylol: 1 min
- Xylol: 3 min
- Xylol: 3 min
- Eindecken mit Eukitt (Fa. Kindler, Freiburg)

8.3.5.4 Berliner-Blau-Reaktion (Eisen-III-Nachweis):

Entparaffinierung und Rehydratisierung (im Färbeautomaten VaristainGemini, Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- Xylol 1: 5 min
 - Xylol 2: 2 min
 - Xylol 3: 2 min
 - 100 %iges Ethanol: 2 min
 - 96 %iges Ethanol: 2 min
 - 80 % iges Ethanol: 1 min
 - 70 %iges Ethanol: 1 min
 - *Aqua dest.*: 1 min
-
- Kaliumferrozyanid 10 %: 5 min
 - 1:1 HCl 20 % und Kaliumferrozyanid 20 %: 30 min

Anhang

- dreimal in *Aqua dest.* spülen:
- Kernechtrot (für Kerne): 5 min
- dreimal in *Aqua dest.* spülen

Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- 70 %iges Ethanol: 1 min
- 80 %iges Ethanol: 1 min
- 96 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 2 min
- Xylol: 1 min
- Xylol: 3 min
- Xylol: 3 min
- Eindecken mit Eukitt (Fa. Kindler, Freiburg)

8.3.5.5 von Kossa-Versilberung

Entparaffinierung und Rehydratisierung (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- Xylol 1: 5 min
- Xylol 2: 2 min
- Xylol 3: 2 min
- 100 %iges Ethanol: 2 min
- 96 %iges Ethanol: 2 min

- 80 %iges Ethanol: 1 min
- 70 %iges Ethanol: 1 min
- *Aqua dest.*: 1 min

- 5 %ige Silbernitratlösung: 45-60 min im Dunkeln
- 3-mal in *Aqua dest.* spülen
- in Natriumkarbonat-Formaldehydlösung reduzieren: 2 min
- in Leitungswasser spülen: 10 min
- in 5 %iger Natriumthiosulfatlösung fixieren: 5 min
- in Leitungswasser spülen: 10 min
- in *Aqua dest.* spülen
- mit Kernechtrot gegenfärben: 5 min
- in *Aqua dest.* spülen

Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- 70 %iges Ethanol: 1 min
- 80 %iges Ethanol: 1 min
- 96 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 2 min
- Xylol: 1 min
- Xylol: 3 min

- Xylol: 3 min
- Eindecken mit Eukitt (Fa. Kindler, Freiburg)

Natriumkarbonat-Formaldehydlösung:

- 5 g Natriumkarbonat in 25 ml Formaldehyd (35-40 %) und 75 ml *Aqua dest.* lösen

Kernechtrot:

- 5 g Aluminiumsulfat in 100 ml *Aqua dest.* lösen
- die Aluminiumsulfatlösung erhitzen und 0,1 g Kernechtrot einrühren, bis sich der Farbstoff gelöst hat
- erkalten lassen, filtrieren

8.3.5.6 Trichromfärbung nach Masson-Goldner

Entparaffinierung und Rehydratisierung (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- Xylol 1: 5 min
- Xylol 2: 2 min
- Xylol 3: 2 min
- 100 %iges Ethanol: 2 min
- 96 %iges Ethanol: 2 min
- 80 %iges Ethanol: 1 min
- 70 %iges Ethanol: 1 min
- *Aqua dest.*: 5 min

- Hämatoxylin nach Weigert 2 min
- Leitungswasser fließend 10 min

- Azophloxin 5 min
- Essigsäure 1 %ig 30 sec
- Phosphomolybdänsäure-Orange 2 min
- Essigsäure 1 %ig 30 sec
- Lichtgrün 5 min
- Essigsäure 1 %ig 5 min
- Objektträger um die Schnitte herum vorsichtig trocknen
- Ethanol 96 %ig 2 min
- 2 x Ethanol 100 %ig je 2 min
- 3 x Xylol je 2 min
- Eindecken mit Eukitt (Fa. Kindler, Freiburg)

Hämatoxylin nach Weigert:

- Stammlösung A: 100 ml Ethanol 96 %ig + 1 g Hämatoxylin (eine Woche reifen lassen)
 - Stammlösung B: 100 ml *Aqua dest.* + 2,48 g Eisen(III)chlorid + 1 ml konzentrierte HCl
-
- Gebrauchslösung: A und B 1:1 vermischen; Gebrauchslösung ist 14 Tage haltbar

Gebrauchslösung Azophloxin:

- Azophloxin 0,5 %ig + 0,2 ml Eisessig in 100 ml *Aqua dest.*

Gebrauchslösung Phosphormolybdänsäure-Orange:

- 4 g Phosphomolybdänsäure + 2 g Orange G + 100 ml *Aqua dest.*

Gebrauchslösung Lichtgrün:

- Lichtgrün 0,2 %ig + 0,2 ml Eisessig in 100 ml *Aqua dest.*

8.3.5.7 Amyloid-Färbung mit Kongorot

Entparaffinierung und Rehydratisierung (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- Xylol 1: 5 min
 - Xylol 2: 2 min
 - Xylol 3: 2 min
 - 100 %iges Ethanol: 2 min
 - 96 %iges Ethanol: 2 min
 - 80 %iges Ethanol: 1 min
 - 70 %iges Ethanol: 1 min
 - *Aqua dest.*: 5 min
-
- bei 590 Watt in Mayers Hämalaun bestrahlen: 10 sec
 - mit Leitungswasser fließend wässern: 5 min
 - bei 590 Watt in Kongorot-Lösung bestrahlen: 50 sec
 - kurz in KOH-Lösung differenzieren
 - mit *Aqua dest.* fließend wässern 5 min

Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- 70 %iges Ethanol: 1 min
- 80 %iges Ethanol: 1 min
- 96 %iges Ethanol: 1 min

- 100 %iges Ethanol: 1 min
- 100 %iges Ethanol: 2 min
- Xylol: 1 min
- Xylol: 3 min
- Xylol: 3 min
- Eindecken mit Eukitt (Fa. Kindler, Freiburg)

Kongorot-Lösung:

- 1 g Kongorot in 200 ml 50 %igem Ethanol lösen und filtrieren

KOH-Lösung:

- 2 ml 1 %iges KOH und 200 ml 80 %iges Ethanol mischen

8.4 Protokolle für die Immunhistochemie

8.4.1 Zitratpuffer

Stammlösung A: 0,1 M Zitronensäure (C₆H₈O₇ H₂O)

Zitronensäure	21,01 g
<i>Aqua bidest.</i>	ad 1000 ml

Stammlösung B: 0,1 M Natriumzitat (C₆H₅Na₃O₇ 2H₂O)

Natriumzitat	29,41 g
<i>Aqua bidest.</i>	ad 1000 ml

Gebrauchslösung: 0,01 M, pH 6,0

Stammlösung A	18 ml
Stammlösung B	82 ml
<i>Aqua bidest.</i>	900 ml

8.4.2 Immunhistochemisches Protokoll IgA, IgM und C3c

Entparaffinierung und Rehydratisierung (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- Xylol 1: 5 min
- Xylol 2: 2 min
- Xylol 3: 2 min
- 100 %iges Ethanol: 2 min
- 96 %iges Ethanol: 2 min
- 80 %iges Ethanol: 1 min
- 70 %iges Ethanol: 1 min
- *Aqua dest.*: 5 min

Hitzebehandlung im Schnellkochtopf zur Antigendemaskierung:

- 1 l Zitratpuffer im Schnellkochtopf bei losem Deckel zum Kochen bringen
- rehydrierte Schnitte in kochendes Wasser bringen, Deckel schließen und nach Erreichen des Maximaldrucks eine weitere Minute warten
- zum Druckausgleich Topf mit geschlossenem Deckel kalt wässern, dann Deckel abnehmen
- Schnitte im Puffer stehen lassen bis dieser ungefähr Zimmertemperatur erreicht hat

NexES-IHC-Färbemodul vorbereiten:

- Auswählen des Färbeprotokolls 32 DAB mit Protease
- Etiketten drucken und Reagenzienkarussell bestücken
- Waschpuffer und Öl auffüllen sowie Abfallbehälter kontrollieren
- Schnitte aus dem handwarmen Puffer entnehmen und in eine Küvette mit *Aqua dest.* stellen
- Barcode-Etiketten auf die Objektträger kleben, diese im NexES einspannen und mit APK-Waschpuffer bedecken

Durchführung:

Start des halbautomatischen Laufs nach der SABC-Methode (Streptavidin-Biotin-Komplex) im NexES-IHC-Färbemodul nach folgendem Protokoll:

- 1) Objektträger werden auf 37°C erwärmt
- 2) 4 min I-VIEW Inhibitor (3 %ige H₂O₂ zur Hemmung der endogenen Peroxidase)
- 3) 8 min Protease 1 (0,5 enzyme unit/ml) als enzymatische Vorbehandlung
- 4) Option 1 für 10 min (Ziegen Serum 1:5 mit PBS verdünnt, zum Blockieren unspezifischer Bindungsstellen)
- 5) manuelle Titration der Primäantikörper anti-IgA, anti-IgA und anti-C3c in der jeweiligen Verdünnung (IgM und IgA = 1:2000, C3c = 1:3000) 32 min
- 6) 2 min Fixative 1 (20 µl Glutardialdehyd in 10 ml 0,9 %ige NaCl)
- 7) 8 min I-VIEW Biotin Ig (Biotinylierter Sekundäantikörper, ein so genannter Multi-Link-Antikörper, der sowohl Maus- als auch Kaninchenimmunglobuline erkennt)
- 8) min I-VIEW SA-HRP (Streptavidin-Meerrettichperoxidase-Komplex)
- 9) 8 min I-VIEW DAB und I-VIEW H₂O₂ (Enzymhistochemische Reaktion, DAB 2 g/l als Chromogen und 0,04-0,08 %ige H₂O₂)
- 10) 4 min I-VIEW Copper (Kupfersulfat 5 g/l)
- 11) 4 min Hämatoxylin (zur Gegenfärbung)

12) 4 min Bluing Reagent (zum Bläuen)

Allen Inkubationsschritten im NexES-IHC-Färbemodul folgen definierte Waschschrte mit dem APK-Waschpuffer von VENTANA (Cat. 250-042).

- nach Ablauf des vollständigen Färbeprotokolls Schnitte aus NexES-IHC-Färbemodul herausnehmen und zum Ablösen von verbliebenen Ölresten kurz in einer Küvette mit *Aqua dest.* und Spülmittel schwenken; daraufhin Schnitte in eine Küvette mit reinem *Aqua dest.* verbringen
- Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):
 - 70 %iges Ethanol: 1 min
 - 80 %iges Ethanol: 1 min
 - 96 %iges Ethanol: 1 min
 - 100 %iges Ethanol: 1 min
 - 100 %iges Ethanol: 2 min
 - Xylol: 1 min
 - Xylol: 3 min
 - Xylol: 3 min
- Eindecken mit Eukitt (Fa. Kindler, Freiburg)

8.4.3 Immunhistochemisches Protokoll α -sma

Entparaffinierung und Rehydratisierung (im Färbeautomaten VaristainGemini, Fa. Shandon, Frankfurt am Main):

- Xylol 1: 5 min
- Xylol 2: 2 min
- Xylol 3: 2 min

- 100 %iges Ethanol: 2 min
- 96 %iges Ethanol: 2 min
- 80 %iges Ethanol: 1 min
- 70 %iges Ethanol: 1 min
- *Aqua dest.*: 5 min

Hitzebehandlung im Schnellkochtopf zur Antigendemaskierung:

- 1 l Zitratpuffer im Schnellkochtopf bei losem Deckel zum Kochen bringen
- rehydrierte Schnitte in kochendes Wasser bringen, Deckel schließen und nach Erreichen des Maximaldrucks eine weitere Minute warten
- zum Druckausgleich Topf mit geschlossenem Deckel kalt wässern, dann Deckel abnehmen
- Schnitte im Puffer stehen lassen bis dieser ungefähr Zimmertemperatur erreicht hat

NexES-IHC-Färbemodul vorbereiten:

- Auswählen des Färbeprotokolls 32 DAB
- Etiketten drucken und Reagenzienkarussell bestücken
- Waschpuffer und Öl auffüllen sowie Abfallbehälter kontrollieren
- Schnitte aus dem handwarmen Puffer entnehmen und in eine Küvette mit *Aqua dest.* stellen
- Barcode-Etiketten auf die Objektträger kleben, diese im NexES einspannen und mit APK-Waschpuffer bedecken

Durchführung:

Start des halbautomatischen Laufs nach der SABC-Methode (Streptavidin-Biotin-Komplex) im NexES-IHC-Färbemodul nach folgendem Protokoll:

- **Schritte 1 bis 4** wie unter **8.3.2**, wobei die Proteasevorbehandlung (Schritt 3) entfällt
- manuelle Titration (**Schritt 5**) des Primärantikörpers anti- α -sma, Verdünnung 1:200
- **Schritte 6 bis 12** wie unter **8.3.2**
- nach Ablauf des vollständigen Färbeprotokolls Schnitte aus NexES-IHC-Färbemodul herausnehmen und zum Ablösen von verbliebenen Ölresten kurz in einer Küvette mit *Aqua dest.* und Spülmittel schwenken; daraufhin Schnitte in eine Küvette mit reinem *Aqua dest.* verbringen
- Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe (im Färbeautomaten VaristainGemini (Fa. Shandon, Frankfurt am Main):
 - 70 %iges Ethanol: 1 min
 - 80 %iges Ethanol: 1 min
 - 96 %iges Ethanol: 1 min
 - 100 %iges Ethanol: 1 min
 - 100 %iges Ethanol: 2 min
 - Xylol: 1 min
 - Xylol: 3 min
 - Xylol: 3 min

Eindecken mit Eukitt (Fa. Kindler, Freiburg)

8.5 Protokolle für die Transmissionselektronenmikroskopie

8.5.1 Eponmischung nach LUFT (1961)

Mischung A:

- Glycidether 100 (Fa. Serva, Heidelberg, Nr. 21045) 71,3 g
- 2-Dodeceny succinic acid anhydrid (DDSA) (Fa. Serva, Heidelberg, Nr. 20755) 115 g

1 h auf dem Magnetprüher vermischen

Mischung B:

Glycidether 100 (Fa. Serva, Heidelberg, Nr. 21045) 100 g

Methylacidanhydrid (MNA) (Fa. Serva, Heidelberg, Nr. 29452) 89 g

1 h auf dem Magnetprüher vermischen

- Mischungen **A** und **B** im Verhältnis 1:1 zusammengeben und 30 min auf dem Magnetprüher vermischen
- 1,8 %igen Beschleuniger DMP (2,4,6-Tris(dimethylaminomethyl)phenol (Fa. Serva, Heidelberg, Nr. 36975) dazugeben und 15 min auf dem Magnetprüher vermischen

8.5.2 Eponeinbettung

Proben spülen in 0,1 M Phosphatpuffer (pH 7,4) 3 x 30 min bei 4°C

- Nachfixieren in 1 %iger Osmiumtetroxidlösung in 0,1 M Phosphatpuffer (pH 7,2) 2 h bei 4°C
- Spülen in 0,1 M Phosphatpuffer (pH 7,4) 3 x 30 min bei 4°C

- Dehydrieren in aufsteigender Alkoholreihe:
 - 1) 30 %iges Ethanol 15 min bei 4°C
 - 2) 50 %iges Ethanol 15 min bei 4°C
 - 3) 70 %iges Ethanol 15 min bei 4°C
 - 4) 90 %iges Ethanol 15 min bei 4°C
 - 5) 100 %iges Ethanol 15 min bei 4°C
 - 6) 100 %iges Ethanol 15 min bei 4°C
 - 7) Isopropanol 15 min bei 4°C
- Infiltration mit Propylenoxid 2 x 15 min bei 4°C
- Infiltration mit Propylenoxid-Epon 2:1 1 h bei 10 °C
- Infiltration mit Propylenoxid-Epon 1:1 2 h bei 10°C
- Infiltration mit Propylenoxid-Epon 1:2 4 h bei 10°C
- Infiltration mit reinem Epon über Nacht bei 20°C
- Infiltration mit reinem Epon 3 h bei 20°C

8.5.3 Methylenblaufärbung nach RICHARDSON et al. (1960)

Lösung A:

Azur II für die Lichtmikroskopie (Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 9211) 1 g
lösen in *Aqua dest.* 100 ml

Lösung B:

di-Natriumtetraborat p. a. (Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 6306)	1 g
lösen in <i>Aqua dest.</i>	100 ml
Methylenblau für die Lichtmikroskopie (Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 15943)	1 g

- Lösungen **A** und **B** im Verhältnis 1:1 vermischen und filtrieren
- Semidünnschnitte auf der Wärmebank (60°C) 1 min mit dieser Mischung färben

8.6 Protokolle der mikrobiologischen Untersuchungen**8.6.1 Protokolle für die Bakteriologie****8.6.1.1 Blutagar-Platte**

- Columbia-Agar Basis (Fa. Merck, Darmstadt) 42 g
- *Aqua dest.* 1000 ml

bei 121°C 15 min autoklavieren, auf 50°C abkühlen lassen

- Schafblut (Fa. Oxoid, Wesel) 80 ml

in Petrischalen abfüllen

8.6.1.2 MacConkey-Agar

- MacConkey- Agar für die Mikrobiologie (Fa. Merck, Darmstadt) 50 g
- *Aqua dest.* 1000 ml

zu Platten gießen und bei 121°C 15 min autoklavieren

8.6.1.3 Salmonellen-Platte

- Salmonella-Agar nach ÖNÖZ zur Züchtung von Salmonellen (Fa. Merck, Darmstadt) 80,5 g
- *Aqua dest.* 1000 ml

lösen durch Erhitzen und zu Platten gießen

8.6.1.4 Campylobacter-Platte

- Campylobacter-Selektivagar (Basis) für die Mikrobiologie (Fa. Merck, Darmstadt) 40 g
- *Aqua dest.* 1000 ml

bei 121°C 15 min autoklavieren;

nach Abkühlung auf 45-50°C Campylobacter Selektivsupplement (Fa. Merck, Darmstadt) und 5-7 % Blut einmischen

8.6.1.5 Salmonellenanreicherungsbouillon

- Salmonella-Anreicherungsbouillon nach RAPPAPORT für die Mikrobiologie (Fa. Merck, Darmstadt) 54 g
- *Aqua dest.* 1000 ml

in Röhrchen abfüllen und 20 min bei 115°C autoklavieren

8.6.2 Protokolle für die Parasitologie

8.6.2.1 Lugolsche Lösung

Kalium-Iodid (KI)	7,5 g
in <i>Aqua dest.</i> lösen	18 ml
Jod	0,5 g
mit <i>Aqua dest.</i> auffüllen	100 ml

In einer braunen Flasche aufbewahren.

Durchführung der Färbung:

- 1 Tropfen Lugolsche Lösung mit etwas Kot verrühren, mit einem Deckglas abdecken und mikroskopieren

8.6.2.2 Methylenblaufärbung

- eine kleine Menge Kot auf einem Objektträger ausstreichen und lufttrocknen lassen
- mit Methylenblau (0,05 %ige wässrige Lösung) für 10 min färben
- mit Wasser abspülen, trocknen lassen und anschließend mikroskopieren

8.6.2.3 Modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung (Kinyoun-Färbung)

Karbofuchsinlösung:

- Fuchsinlösung: 4 g basisches Fuchsin in 20 ml Ethanol 95 % lösen
- Phenollösung: 8 g Phenolkristalle durch leichtes Erwärmen verflüssigen
- dann 100 ml *Aqua dest.* zufügen

Zur Herstellung der Karbofuchsinlösung die Fuchsin- und die Phenollösung mit Magnetrührer über Nacht bei 36°C mischen. Vor Gebrauch filtrieren.

Salzsäure-Alkohol:

Salzsäure (HCl) konz.	3 ml
Ethanol 95 %ig zugeben und vorsichtig mischen	97 ml

Methylenblaulösung:

Methylenblaulösung	0,3 g
in <i>Aqua dest.</i> lösen	100 ml

Durchführung:

- Stuhlausstrich ca. 1 Stunde lufttrocknen lassen
- Fixieren in Methanol 5 min
- Lufttrocknen lassen
- Karbolfuchsinlösung, kalt 20 min
- mit Wasser abspülen
- Entfärben in HCl-Alkohol ca. 2 min
- mit Wasser abspülen
- Gegenfärbung mit Methylenblau 1 min
- mit Wasser abspülen und trocknen lassen
- den gefärbten Objektträger mit einem Tropfen Öl und einem Deckglas bedecken und bei 40facher Vergrößerung lichtmikroskopisch nach Kryptosporidien durchsuchen.

8.7 Göttinger Mischung

- Ketamin (100 mg/kg) 5 ml
- Xylazin (10 %ig) 1 ml
- Atropin (1 %ig) 0,1 ml
- *Aqua ad injectionem* 3,9 ml

Danksagung

Ich möchte allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, meinen Dank aussprechen.

Zuallererst danke ich meinem Doktorvater Herrn Univ.-Prof. Dr. Franz-Josef Kaup, der mich im Rahmen meiner Dissertation und meiner Weiterbildung auf dem Bereich der Veterinärpathologie stets gefördert und unterstützt hat. Ich habe nicht nur von seinem umfassenden Fachwissen profitieren können, sondern auch seine Begeisterung für die Pathologie zu teilen gelernt.

Danke auch an Herrn apl. Prof. Dr. Michael Böer für seine Bereitschaft, das Zweitgutachten zu erstellen. Des Weiteren geht mein Dank an Frau Katharina Lange und Kollegen aus der Abteilung Medizinische Statistik der Humboldt Universität Göttingen für die freundliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Daten und an die Kollegen der externen Weißbüschelaffenkolonie für das Zurverfügungstellen von Material und Daten.

Frau Dr. Martina Zöller hatte gerade in der Anfangszeit meiner Doktorarbeit immer ein offenes Ohr und wertvolle fachliche Anregungen und Ideen, brachte mir bei diversen Sitzungen geduldig und ausführlich die Histopathologie näher und half mir bei der Materialgewinnung. Genauso wertvoll waren mir die fachliche Unterstützung von Frau Dr. Kerstin Mätz-Rensing, ihre stete Bereitschaft, ihr pathologisches Wissen mit mir zu teilen, die Hilfe bei der Gewinnung des Untersuchungsmaterials sowie die kritische Durchsicht von Teilen meiner Dissertation. Danke Martina und Kerstin.

Mein ganz besonderer Dank geht auch an Frau Dr. Eva Gruber-Dujardin für die zahlreichen guten fachlichen Ratschläge, die gründliche und kritische Durchsicht größter Teile meiner Dissertation aber vor allem auch für ihre Freundschaft und die vielen wertvollen Gespräche. Danke Eva.

Für ihre fachkundige Unterstützung und Hilfsbereitschaft im Labor danke ich Frau Nadine Knöchelmann von ganzem Herzen. In der Sektionshalle und „hinter der Schleuse“ haben mir Herr Wolfgang Henkel, Frau Elke Lischka und Stefanie Wienstroth ebenso hilfreich, geduldig und freundlich zur Seite gestanden. Vielen Dank.

Herzlich bedanke ich mich auch bei Frau Ingrid Rossbach für ihre immer freundliche und prompte Hilfe in organisatorischen Fragen.

Traurig über den Tod zweier so wertvoller Kollegen möchte ich Frau Dr. Bärbel Beardi und Frau Karin Kaiser-Jarry für ihre Hilfsbereitschaft und ihre Freundlichkeit danken. Ich werde sie immer in kostbarer Erinnerung behalten.

Frau Dr. Tamara Becker, Frau Dr. Annette Schroth und Frau PD Dr. Christina Schlumbohm möchte ich für ihre Hilfe bei Fragen zur Physiologie und Klinik der Weißbüschelaffen sowie für ihre Unterstützung bei der Materialgewinnung danken.

Jessica, Marius, Rebecca und den Mädels und Jungs aus der Neurologie danke ich für ihre Freundschaft und die vielen lustigen gemeinsamen Stunden. Danke auch an alle nicht namentlich genannten Kollegen aus der Abteilung Infektionspathologie und der Primatenhaltung: Es war schön, mit jedem von Euch zusammen zu arbeiten.

Sehr große Dankbarkeit empfinde ich gegenüber meiner Familie; insbesondere meiner Mutter danke ich aus tiefstem Herzen. Einerseits bin ich ihr für die Stunden, die sie mit dem Korrekturlesen meiner Dissertation verbracht hat, dankbar. Noch viel größer jedoch ist meine Dankbarkeit für den Rückhalt, den sie mir über all die Jahre gegeben hat, und ihre kompromisslose Unterstützung in allen Lebenslagen.

Und zuletzt danke ich Dir, Stefan, für den Halt und die Stärke, die Du mir gibst, und die Liebe und das Glück, das ich jeden Tag durch Dich erfahre.

ISBN 978-3-86345-001-4



**Verlag: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH
35392 Gießen · Friedrichstraße 17 · Tel. 0641 / 24466 · Fax: 0641 / 25375
e-mail: info@dvf.net · Homepage: <http://www.dvf.de>**