

Aus dem Institut für Zoo- und Wildtierforschung im Forschungsverbund Berlin e.V.,
eingereicht über den Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

UNTERSUCHUNGEN ZUR AMYLOIDOSE BEI ZOO- UND WILDVÖGELN
SOWIE ZUR HISTO- UND IMMUNHISTOCHEMISCHEN
CHARAKTERISIERUNG DES AVIÄREN AMYLOIDPROTEINS

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Anne Zöllner
Tierärztin aus Großröhrsdorf/OL

Berlin, 1997

Journal-Nr. 2110

**Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

Dekan : Univ.-Prof. Dr. habil K. Hartung

Erster Gutachter : Univ.-Prof. Dr. habil R.R. Hofmann

Zweiter Gutachter : Univ.-Prof. Dr. V. Bergmann

Tag der Promotion: 28.11.1997

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	2
2. 1	Amyloid als pathologisches Substrat	2
2. 1. 1	Geschichte der Amyloidforschung	2
2. 1. 2	Definition	4
2. 1. 3	Amyloidformen und deren Klassifizierung	6
2. 1. 4	Pathogenese	12
2. 1. 5	Morphologie	13
2. 1. 6	Klinisch-pathologische Veränderungen	14
2. 1. 7	Nachweismethoden	15
2. 2	Amyloidose bei Säugetieren	19
2. 3	Amyloidose bei Vögeln	23
2. 3. 1	Historischer Rückblick	23
2. 3. 2	Häufigkeit und Verbreitung	23
2. 3. 3	Klinische Symptome	27
2. 3. 4	Makroskopische Organveränderungen	28
2. 3. 5	Histologische Veränderungen	28
2. 3. 6	Eigenschaften und Formen des Vogelamyloids	29
2. 3. 7	Ursachen und Bedingungen für die Amyloidbildung	30
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	33
3. 1	Material und Methoden	33
3. 1. 1	Tiermaterial	33
3. 1. 2	Histopathologische Untersuchung	33
3. 1. 2. 1	Vorbereitung des Untersuchungsmaterials	33
3. 1. 2. 2	Kongorotfärbung	35
3. 1. 2. 3	Histopathologische Auswertung	36
3. 1. 3	Histochemische Untersuchung	36

3. 1. 3. 1	Vorbereitung des Untersuchungsmaterials	36
3. 1. 3. 2	Kaliumpermanganatoxidation	37
3. 1. 3. 3	Histochemische Kontrollen	37
3. 1. 3. 4	Histochemische Auswertung	37
3. 1. 4	Immunhistochemische Untersuchung	38
3. 1. 4. 1	Vorbereitung des Untersuchungsmaterials	38
3. 1. 4. 2	Verwendete Antikörper	39
3. 1. 4. 3	Durchführung der Immunperoxidasetechnik	39
3. 1. 4. 4	Immunhistochemische Kontrollen	40
3. 1. 4. 5	Immunhistochemische Auswertung	41
3. 2	Ergebnisse	42
3. 2. 1	Aviäre Amyloidose	42
3. 2. 1. 1	Vorkommen und Häufigkeit	42
3. 2. 1. 2	Saisonalität	47
3. 2. 1. 3	Amyloidlokalisation	49
3. 2. 2	Histopathologische Befunde	51
3. 2. 3	Histochemische Befunde	57
3. 2. 4	Immunhistochemische Befunde	58
4	DISKUSSION	64
5	ZUSAMMENFASSUNG	71
	SUMMARY	73
6	ABBILDUNGEN	74
7	LITERATURVERZEICHNIS	82
8	ANHANG	101
8. 1	Bezugsquellen für Chemikalien und Antikörper	101
8. 2	Lösungen	103
8. 3	Abkürzungen	104

1 **EINLEITUNG**

Die Amyloidose ist eine bei Mensch, Säugern und Vögeln vorkommende Erkrankung, die in verschiedenen Formen auftritt und schon seit mehr als einem Jahrhundert Gegenstand des wissenschaftlichen Interesses von Klinikern und Pathologen ist (ZSCHIESCHE und JAKOB, 1989). Demgemäß gibt es im humanmedizinischen Schrifttum eine Vielzahl von Veröffentlichungen zur Amyloidose, deren Formen und mutmaßlichen Entstehungsmechanismen. Die ersten Beschreibungen amyloidotischer Organveränderungen bei den Haustieren erfolgten im letzten Viertel des 19. Jahrhunderts (HJÄRRE, 1933; SCHWARTZ, 1970). Zu Beginn unseres Jahrhunderts beobachtete SIPOS (1930) systemische Amyloidosen bei Serumpferden. Eine neue Ära der Amyloidforschung begann mit der Durchführung umfassender Untersuchungen an Labormäusen mit spontaner und experimenteller Amyloidose (DUNN, 1944; DUNN, 1946; TWORT und TWORT, 1932), um tiefere Einblicke in die verschiedenen Amyloidformen und deren Entstehung zu gewinnen. Die in der 2. Hälfte dieses Jahrhunderts einsetzenden Forschungen auf zellulärer und molekularer Ebene führten zu einem enormen Erkenntniszuwachs innerhalb der letzten Jahrzehnte. In Verbindung damit verbesserten sich nicht nur die Nachweismethoden, sondern es haben sich auch die Einteilungs- und Differenzierungskriterien gewandelt.

Amyloide Ablagerungen in Geweben und Organen spielen auch bei einigen Zoo- und freilebenden Vogelarten eine größere Rolle. Nähere Untersuchungen über das Vorkommen der aviären Amyloidose sowie über Lokalisation, kausale Genese und Charakterisierung des Amyloids wurden von verschiedenen Autoren bisher vorwiegend bei Vögeln der Ordnung Anseriformes vorgenommen.

Ziel dieser Arbeit ist es, anhand des Obduktionsmaterials von Vögeln einen Überblick über Vorkommen und Verbreitung der Amyloidose bei Vögeln zu gewinnen und deren Beziehung zu anderen Erkrankungen und Einflüssen zu untersuchen. Mittels histochemischer und immunhistochemischer Methoden soll versucht werden, eine nähere Charakterisierung des Amyloidproteins vorzunehmen.

2 **LITERATURÜBERSICHT**

2.1 **Amyloid als pathologisches Substrat**

2.1.1 Geschichte der Amyloidforschung

SCHWARTZ (1970) unterteilte die frühe Periode der Amyloidforschung in die Zeit vor Virchow (bevor der Name „Amyloid“ eingeführt wurde) und die Virchow-Ära. Autopsiedaten, welche das Bild von Amyloidinfiltrationen beschreiben, konnte er bis auf das Jahr 1639 zurückverfolgen. Die ersten ausführlichen Beschreibungen pathologischer Veränderungen mit Vergrößerung und Induration der Leber als Zeichen für Amyloidinfiltration sind wahrscheinlich die von PORTAL (1813) und LOBSTEIN (1829). ROKITANSKY (1842) war der erste, dessen Beschreibungen der „speckähnlichen“ Leber und der vergrößerten Milz von Patienten mit chronischen Erkrankungen eindeutig auf Amyloidablagerungen hinweisen. Diese Fälle fanden aber damals kaum Beachtung, da noch kein Name für die gefundenen pathologischen Veränderungen existierte, über den debattiert werden konnte.

Erst VIRCHOW (1854) prägte den Namen „Amyloid“ („stärkeähnlich“), um Substanzen zu beschreiben, die für ihn Zelluloseinfiltrate im Gewebe zu sein schienen. Seine These von der Kohlenhydratnatur des Amyloids beruhte auf dessen Eigenschaft, sich bei Behandlung mit LUGOL'scher Lösung und verdünnter Schwefelsäure ähnlich wie Stärke und Zellulose zu verhalten. Seine Beobachtungen ließen ihn vermuten, daß die systemische Amyloidose durch Ablagerung eines Materials aus der Blutbahn verursacht wird. Gleichzeitig stellte er jedoch fest, daß er erst nach Isolation der amyloidverursachenden Substanz fähig sein würde, eine entsprechende Definition zu geben.

FRIEDREICH und KEKULÉ (1859) erkannten bei ihrer Analyse der Amyloidsubstanz als erste deren Proteincharakter. Auch andere Autoren bestätigten später, daß die Amyloidsubstanz hauptsächlich aus Proteinen und nicht, wie von VIRCHOW (1854) angenommen, aus Zellulose besteht. Da der Begriff „Amyloid“ aber schon zu tief in die wissenschaftliche

Literatur eingebunden war, wurde er trotz falscher Bedeutung als morphologischer Term beibehalten.

Über die ersten experimentell induzierten Amyloidosen beim Tier wurde von KRAWKOW (1895) und KUCZYNSKI (1923) berichtet. Die histologische Auffindung und Charakterisierung des Amyloids wurde durch die Nutzung von Anilinfärbungen (HESCHL, 1875; JÜRGENS, 1875), durch die Einführung der Kongorotfärbung von BENNHOLD (1932) als diagnostische Methode und später als histologische Färbung sowie durch die Beobachtung der Doppelbrechung des mit Kongorot gefärbten Amyloids unter polarisiertem Licht von DIVRY und FLORKIN (1927) gefördert.

Die durch Röntgenkristallographie (EANES und GLENNER, 1968) und Infrarotspektroskopie (TERMINE et al., 1972) gewonnenen Erkenntnisse, daß alle Amyloidsubstanzen aus Polypeptidketten mit einer β -Faltblattstruktur zusammengesetzt sind, bildeten die Grundlage für die Charakterisierung dieser Substanzen als fibrilläres Protein. Amyloidose ist somit der erste beschriebene Krankheitskomplex, der auf einer spezifischen Proteinkonformation basiert. Diese Erkenntnisse waren der Auftakt zur chemischen Charakterisierung der Amyloidfibrillen bei verschiedenen klinischen Syndromen. Die Entwicklung von Solubilisierungs-, Extraktions- und Fraktionierungsmethoden für das fibrilläre Amyloidprotein ermöglichte die chemische Analyse der gereinigten Amyloidfibrillen. Dabei erkannte man, daß die Amyloidfibrillen von ganz verschiedenen Proteinen abstammen. Zum Beispiel hatten Ablagerungen bei primärer und myelomassoziierter Amyloidose Fibrillen, die hauptsächlich aus Leichtketten-Polypeptiden eines Immunglobulins zusammengesetzt waren (GLENNER et al., 1973). Die Fibrillen in Ablagerungen beim medullären Karzinom der Schilddrüse bestanden dagegen aus Präkalzitonin-Molekülen (SLETTEN et al., 1976). Diese weitreichende chemische Differenziertheit war nicht voraussehbar, aber sie war vereinbar mit der Charakteristik der β -Faltblattstruktur der Amyloidfibrillen (GLENNER et al., 1972).

2. 1. 2 Definition

Als Amyloidose wird ein Krankheitskomplex bezeichnet, der durch extrazelluläre Amyloidablagerungen in die Gefäßwand, das Gefäßbindegewebe und das Interstitium gekennzeichnet ist (COHEN et al., 1983).

Das Amyloid ist eine lichtmikroskopisch kongophile, glasig-homogene, polarisationsoptisch anisotrope und elektronenmikroskopisch feinfibrilläre, teils parallelgeordnete, extrazelluläre Proteinkonformation. Es besteht aus Fibrillen und assoziierten, untereinander aggregierten, pentagonalen Einheiten. Bei letzteren handelt es sich um die P-Komponente, einem Glykoprotein, welches biochemisch von dem Akute-Phase-Protein SAP abstammt (WESTERMARK et al., 1976; COHEN und CONNORS, 1987).

Die einzelnen Fibrillen sind aus Eiweißmolekülen zusammengesetzt, die eine β -Faltblattstruktur aufweisen (GLENNER, 1980; HUSBY und SLETTEN, 1986; WESTERMARK et al., 1985b). Die nach Art eines Faltblattes zickzackförmig abgewinkelten Polypeptidketten lagern sich im senkrechten Verlauf zur Faserachse parallel aneinander. Die jeweils benachbarten Peptidketten werden dabei durch Wasserstoffbrückenbindungen miteinander verknüpft, wodurch die Fibrillen ihre Stabilität und Rigidität erhalten (DI BARTOLA und BENSON, 1989).

Während die P-Komponente bei allen Amyloidformen identisch ist, sind die Fibrillen unterschiedlicher Herkunft: Serumamyloid A, Leichtketten der Immunglobuline, Präalbumin, β_2 -Mikroglobulin, Peptidhormon-Vorstufen und andere Proteine (ZSCHIESCHE, 1987).

Nach GLENNER et al. (1974) wird das Amyloid durch drei Kriterien definiert (vgl. KOREMANS, 1994):

1. Anfärbbarkeit mit dem Farbstoff Kongorot im histologischen Schnittpräparat unter stringenten Bedingungen und grüner Doppelbrechung des mit Kongorot gefärbten Materials im polarisierten Licht.

2. Die elektronenmikroskopisch darstellbare Fibrillennatur: Amyloid setzt sich aus 7,5 bis 10 nm dicken, geraden, unverzweigten Fibrillen von bisher unbestimmbarer Länge zusammen. Im Gewebe liegen sie überwiegend extrazellulär und sind in Bündeln geordnet.
3. Einheitliches Prinzip der Konfiguration der Amyloide ist die β -Faltblattstruktur, die durch röntgenkristallographische und infrarotspektroskopische Methoden nachweisbar ist. (Aufgrund dieser Konfiguration ersetzen GLENNER et al. (1980) in ihren Arbeiten den Begriff „Amyloidose“ durch den der „ β -Fibrillose“.)

Die Amyloidbildung ist nicht die Folge eines einzelnen Krankheitsprozesses. Amyloidose ist daher keine eigenständige Erkrankung, sondern ist assoziiert mit verschiedenen pathologischen Prozessen, die mit Ablagerung von Proteinfibrillen einhergehen. Zu den assoziierten pathologischen Prozessen gehören nicht nur chronische Infektionen sowie andere entzündliche Veränderungen, sondern auch Immundefekte und Tumoren nichtlymphoretikulären Ursprungs (GLENNER, 1980).

Die Nomenklatur für die Amyloidose wurde von WEGELIUS und PASTERNAK (1976) standardisiert:

Alle Amyloidfibrillenproteine werden mit dem Buchstaben „A“ gekennzeichnet und unterscheiden sich durch einen zweiten Buchstaben, der Aussagen zur Proteinnatur, zum Gewebe, Organsystem oder zu pathologischen Bedingungen macht, mit welchen die Amyloidose verbunden ist. Kleine angefügte Zahlen werden für verschiedene Amyloidfibrillenproteine genutzt, die im selben Organ auftreten (Glenner et al., 1980).

AL	Leichtketten der Immunglobuline
AA	A - Protein
AE	Endokrines Amyloid
AS	Seniles Amyloid
AD	Haut - (dermal) Amyloid
AF	Familiäres Amyloid
AH	Amyloid bei Hämodialysepatienten

Amyloidablagerungen können als „systemische“ Amyloidosen in verschiedenen Geweben und Organen des Körpers auftreten, oder sie manifestieren sich als „lokale“ Amyloidosen an einem speziellen Ort (COHEN und CONNORS, 1987).

Die Unlöslichkeit der Amyloidfibrillen unter physiologischen Bedingungen und ihre relative Resistenz gegenüber proteolytischer Verdauung sind bei der systemischen Amyloidose verantwortlich für degenerative Veränderungen an lebenswichtigen Organen, welche durch Herzversagen, Nierenversagen, Leber- oder Milzrupturen zum Tode führen können (GLENNER et al., 1974; GLENNER und PAGE, 1976).

2. 1. 3 Amyloidformen und deren Klassifizierung

Die Einteilung der Amyloidosen gab immer wieder Anlaß zu Diskussionen. Eine Reihe von Begriffen, mit denen früher eine Einteilung angestrebt wurde, ist angesichts zunehmender Erkenntnisse über die Amyloidose nicht mehr korrekt bzw. für jeden Fall gültig. Da sie aber im Schrifttum auch weiterhin Verwendung finden, sollen sie hier kurz angeführt und erläutert werden.

Die erste bekannte Einteilung ist die von WICHMANN (1893) in „lokale“ und „generalisierte“ Formen. Diese Einteilung ist in abgewandelter Form bis heute erhalten geblieben. LUBARSCH (1929) unterteilte die Amyloidose in „typische“ und „atypische“ Formen. Diesen zwei Amyloidformen wurde von KING (1948) eine Organverteilung zugrundegelegt. Die typische Amyloidose tritt vor allem in Nieren, Milz, Leber und Nebennieren auf, während alle Ablagerungen in ungewöhnlichen Organen (wie Herz, Lungen, Muskulatur, Haut), ohne Beteiligung der „typischen“ Organe, der atypischen Amyloidose zugeordnet werden. Da den typischen Formen offensichtlich eine chronische Krankheit zugrunde lag, stufte man sie als „sekundär“ ein. Dem standen die atypischen Formen ohne erkennbares Grundleiden gegenüber, welche als „primär“ bezeichnet wurden. Spätere Einteilungen erfolgten nach der Lokalisation des Amyloids in „perikollagene“ und „periretikuläre“ Amyloidosen (MISSMAHL, 1968), setzten sich aber nie durch.

Tab. 1: Klassifizierung der humanen Amyloidose (nach GLENNER und PAGE, 1976)

<u>Klinisch - pathologischer Prozeß</u>	<u>Amyloidform</u>
Erworbene systemische Amyloidose	
- Plasmazeldyskrasie mit Amyloidose	AL
Monoklonale Gammopathie	AL
Plasmazell-Myelom	AL
Primäre Makroglobulinämie	AL
Heavy-Chain-Disease	AL
Agammaglobulinämie	AL
andere Plasmazelltumoren	AL
- Reaktive systemische Amyloidose	AA
Akute, periodisch auftretende und chronisch suppurative oder granulomatöse Infektionen	AA
chronische Entzündungen	AA
Hodgkin´s disease	AA
- Erbliche, familiäre systemische Amyloidose	
Neuropathische Formen	AF
Nicht-neuropathische Formen	
Familiäres Mediterranes Fieber	AA
Ostertag´sche Krankheit: Kardiomyopathie	
Organ-begrenzte Amyloidosen	
- Amyloidose , ausgehend von Immunozyten	
Respirationstrakt	AL
Harntrakt, Knochenmark, lymphoides System	AL
- kardiovaskulär („senile Kardiomyopathie“)	AS
- zerebrale Plaques	
- Hautamyloidose	AD
Lokalisierte Ablagerungen	
- Endokrine Organe oder gewebeassoziiert	AE
medulläres Schilddrüsenkarzinom	
Insulinom der Langerhansschen Inseln	
- Plasmozytom	AL
- „Myelom-Nephrose“	AL
- spezifische nichtlymphoide Tumoren	
- ererbte Ablagerungen	

Nach dem heutigen Erkenntnisstand werden die Unterschiede im chemischen Fibrillenaufbau als Grundlage für die Einteilung der Amyloidose genutzt. Ausgangspunkt dafür war die Klassifizierung der Amyloidosen nach beteiligten Hauptproteinkomponenten sowie klinisch-pathologischen Eigenschaften, wie sie von GLENNER und PAGE (1976) erstmals vorgenommen wurde (Tab. 1). Somit stehen mittels der chemischen Definition der Amyloide Kriterien zur Verfügung, die eine exakte Klassifikation gewährleisten, mit welcher in der Mehrzahl der Fälle auch eine Aussage zur Pathogenese verbunden ist (KOREMANS, 1994).

Amyloidosen vom AA - Typ

Dieser Amyloidtyp tritt vor allem als Sekundärantwort auf eine zugrundeliegende entzündliche Erkrankung oder Infektionskrankheit auf (COHEN und CONNORS, 1987) und wird deshalb oft als „sekundäre“ bzw. „reaktive“ Form bezeichnet. Es gibt aber auch „idiopathische“ und „hereditäre“ Formen. Der Hauptbestandteil der Amyloidfibrillen ist das Protein AA, ein Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 8500 Dalton (HUSBY und SLETTEN, 1986; STONE, 1990). Es leitet sich vom Serumamyloid A (SAA) ab, einem Protein, das von Hepatozyten synthetisiert wird und im Blut an das Apolipoprotein HDL gebunden zirkuliert (COHEN und CONNORS, 1987). Die funktionelle Bedeutung von SAA ist noch weitestgehend unbekannt. Es wird vermutet, daß es immunregulatorische Fähigkeiten besitzt. SAA verhält sich beim Menschen und bei verschiedenen Tieren wie ein Akute-Phase-Protein. Ein drastischer Anstieg der Serumkonzentration erfolgt bei bestimmten Reizzuständen im Zusammenhang mit chronischen Entzündungen, antigener Stimulation, Tumorerkrankungen und psychosozialem Streß. Dabei kann die SAA-Synthese der Leber bis auf 2,5 Prozent des von der Leber synthetisierten Gesamtproteins gesteigert werden (HUSBY und SLETTEN, 1986).

Amyloidosen vom AL - Typ

Den Amyloidosen vom AL-Typ liegen B-Zell-Tumoren zugrunde, die entweder rein lokal, organlimitiert oder systemisch sein können (GEISEL et al., 1990). COHEN und CONNORS (1987) charakterisieren den AL-Typ als „primäres“ oder „idiopathisches“ Amyloid und schließen dabei auch myelomassozierte Erkrankungen sowie monoklonale Gammopathien ein. Das AL-Protein stammt von homogenen Immunglobulin-Leichtketten oder von NH₂-terminalen Fragmenten dieser Ketten ab und erscheint entsprechend den beiden Leichtkettentypen entweder als Kappa- oder Lambda-Isotyp. Dabei sind in derselben Amyloidablagerung oft sowohl intakte Leichtketten als auch verschieden große Fragmente dieser Ketten auffindbar, was auf eine enzymatische Spaltung der intakten Ketten bei der Amyloidentstehung schließen läßt (HUSBY und SLETTEN, 1986).

Amyloidosen vom AE - Typ

Bei dieser Form der Amyloidose besteht eine enge Beziehung zwischen Amyloidfibrillenproteinen und Hormonen, die von endokrinen Tumoren produziert werden (COHEN und CONNORS, 1987). Man findet diesen Typ in Organen, die dem **A**mine-**P**recursor-**U**ptake and **D**ecarboxylation (APUD)-System zugeordnet werden. Insbesondere betroffen sind die C-Zellen der Schilddrüse, die Langerhansschen Pankreasinseln und die enterochromaffinen Zellen des Magen-Darm-Traktes (DAHME und SCHRÖDER, 1990). Es wird angenommen, daß es unter nicht näher bekannten Voraussetzungen in der Umgebung der sekretionsaktiven APUD-Zellen zur Transformation von Hormonproteinen bzw. deren Vorstufen in filamentäre Einheiten und damit zu extrazellulären Amyloidablagerungen kommt.

Das endokrine Amyloid der Langerhansschen Inseln entsteht aus dem Inselamyloid-Polypeptid (IAPP), das auch als „Amylin“ bezeichnet wird (WESTERMARK et al., 1987). Das Amyloid im Stroma der Schilddrüse leitet sich vom Prokalzitinin, einer Vorstufe des Kalzitonins, ab.

Amyloid vom AF - Typ

Dieser Amyloidtyp wird bei bestimmten systemischen, heredofamiliären Amyloidosen des Menschen gesehen. Die ererbte Form der systemischen Amyloidose, auch bekannt als „Familiäre Amyloid-Polyneuropathie“ (FAP), ist eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung (COHEN und CONNORS, 1987). Aufgrund der Existenz multipler Präalbumin-Fragmente unterschiedlicher Größe in den Amyloidablagerungen und der Übereinstimmung der Aminosäuresequenz von Präalbumin mit dem Amyloidfibrillenprotein am NH₂-Terminus, wird dieses als Vorläuferprotein dem AF-Typ zugeordnet.

Amyloidosen vom AS - Typ

Das Auftreten von mehr oder minder umfangreichen Amyloidablagerungen in Herz, Gehirn, Pankreas und Milz scheint mit dem Alterungsprozeß des Gewebes im Zusammenhang zu stehen. Dabei treten die Ablagerungen vorwiegend in der Media kleiner Arterien sowie im myokardialen Interstitium auf. Das Vorläuferprotein für diese Form ist ebenfalls das Präalbumin.

Für die zerebrale Form der senilen Amyloidose, wie sie beim Menschen bei der Alzheimerschen Krankheit, beim Down-Syndrom und bei der erblichen zerebralen Amyloidangiopathie zu beobachten ist (STONE, 1990), wurde von GLENNER und WONG (1984) das β -Protein als Vorstufe des Amyloidfibrillenproteins beschrieben. Dieses Protein tritt als ein an die Zellmembran gebundenes Eiweiß im Gehirn und in anderen Organen auf. Es zirkuliert im Blut, bevor es in Plaques und Blutgefäßwänden abgelagert wird (STONE, 1990).

Amyloidosen vom AD - Typ

Diese sehr seltene Amyloidform stammt wahrscheinlich von keratinbildenden Zellen ab, die blastomatös entartet sind. In diese Gruppe gehören möglicherweise die beim Menschen beobachteten Hornhaut- und Knorpelamyloide (FISCHER et al., 1986). Das Vorläuferprotein für diesen Typ ist derzeit noch nicht bekannt.

Amyloidosen vom AH - Typ

Dieser Typ ist eine relativ neue Form der Amyloidose und wurde in der Humanmedizin bei chronischen Hämodialysepatienten beobachtet. Die dabei auftretende, außerordentlich hohe Inzidenz von Karpaltunnelsyndromen und anderen rheumatologischen Erkrankungen könnte das Ergebnis von Amyloidablagerungen im Gelenk sein (STONE, 1990). Als Hauptprotein-komponente der AH-Fibrillen wurde das β_2 -Mikroglobulin identifiziert, das in dieser Form auch im normalen Serum vorkommt. Durch die pathologischen Nierenveränderungen erfolgt vermutlich eine ungenügende Ausscheidung des Vorläuferproteins, die zu einem Konzentrationsanstieg im Serum mit anschließender Fibrillenbildung und Ablagerung im Gewebe führt (COHEN und CONNORS, 1987).

Sonstige Amyloidformen

Eine relativ neue und gut erforschte Form der Amyloidose wird durch Prionenproteine hervorgerufen. Die Ablagerungen treten dabei beim Menschen im Zusammenhang mit der Kreuzfeldt/Jakob-Erkrankung und dem Gerstmann-Sträussler-Syndrom auf (PRUSINER, 1985). Beim Tier wurde das Prionprotein von DE ARMOND et al. (1985) und WISNIEWSKI et al. (1985) durch immunhistochemische Methoden als Bestandteil der Amyloidfibrillen und Plaques bei an Scrapie erkrankten Tieren identifiziert.

2. 1. 4 Pathogenese

Der pathogenetische Mechanismus der Entstehung von Amyloidfibrillen ist bis heute nur teilweise geklärt und gibt den Wissenschaftlern seit Jahrzehnten Grund zur intensiven Forschung. Seit VIRCHOW's Zeiten sind viele Thesen zur Amyloidgenese aufgestellt worden, wovon hier nur die wichtigsten kurz angesprochen werden sollen.

VIRCHOW (1854) vertrat die Ansicht, daß der im Blut zirkulierende Vorläufer der Amyloidsubstanz in ein Gel transformiert wird, nachdem dieser das Gefäßsystem verlassen hat. REIMANN et al. (1935) listeten mehrere mögliche Faktoren der Amyloidgenese auf:

- eine generelle Störung des Proteinmetabolismus,
- eine Antigen-Antikörper-Reaktion mit Präzipitation,
- eine Absorption von Proteinen,
- eine Störung oder Anormalität des Retikuloendothelialen Systems (RES),
- Hyperglobulinämie und
- Hyperproteinämie mit gleichzeitiger Störung des RES.

LETTERER griff 1958 die Theorie der Antigen-Antikörper-Präzipitation auf und vertrat lange die Ansicht, daß bei erhöhtem Immunglobulingehalt des Blutes überschüssiges Serumglobulin in veränderter Form im Gewebe als Amyloid abgelagert wird.

OSSERMANN et al. (1964) überprüften vorangegangene klinische, pathologische und biochemische Beobachtungen, die die Theorie unterstützten, daß in der Mehrzahl der Amyloidosefälle (1) eine proliferative Störung (Dyskrasie) von Plasmazellen, verbunden mit Störungen der Gammaglobulinsynthese auftritt, und daß (2) die Gammaglobuline als Produkte dieser anormalen Plasmazellen direkt für die Produktion der Amyloidinfiltrate verantwortlich sind. Diese Ansicht wurde auch von TEILUM (1964) geteilt, der die Theorie von der „Lokalen zellulären Sekretion in zwei Phasen“ aufstellte. Er vermutete, daß die Amyloidbildung mit der Proliferation retikuloendothelialer Zellen in Zusammenhang steht, welche bei der Antikörperproduktion als Antwort auf eine langandauernde antigene Stimulierung des Immunsystems auftritt.

Nach den neuesten Erkenntnissen wird generell angenommen, daß das Fibrillenprotein in allen Amyloidtypen ein Präkursormolekül besitzt. Weitgehende Übereinstimmung besteht darin, daß bei der Amyloidbildung zwei Schlüsselprozesse eine Rolle spielen: (1) ein Mechanismus, der eine Veränderung in der Serumkonzentration oder in der Molekülstruktur der Amyloidpräkursoren bewirkt, und (2) ein Schritt, der die Verarbeitung und Transformation des Präkursors nach sich zieht (COHEN und CONNORS, 1987). Dieses Konzept kann am besten am Beispiel der AA-Amyloidose erläutert werden und ist auch auf andere Amyloidformen übertragbar:

Während der Akuten-Phase-Reaktion werden die Hepatozyten durch bestimmte, von aktivierten Makrophagen freigesetzte Faktoren (Interleukine) zur vermehrten Synthese von Akute-Phase-Proteinen, darunter auch SAA, stimuliert. Es kommt damit zu einer starken Erhöhung der Serumkonzentration von SAA, die bei chronischen Reizzuständen über einen längeren Zeitraum aufrechterhalten bleibt. Aufgrund der gleichzeitig erhöhten Konzentration von Proteaseinhibitoren sowie Dysfunktionen der retikuloendothelialen Zellen (Verlust der phagozytischen Aktivität oder der membrangebundenen Enzyme), wird die Proteinabbauaktivität unterdrückt. Das SAA wird demzufolge nicht mehr vollständig abgebaut, sondern AA-Filamente lagern sich als Zwischenprodukt ab und akkumulieren zu Amyloidfibrillen (MAURY, 1984; DU und ALI-KHAN, 1990).

2. 1. 5 Morphologie

Makroskopische Befunde:

Makroskopisch sind Amyloidosen nur bei reichlicher Amyloidablagerung im Gewebe erkennbar. Die betroffenen Organe erscheinen dabei vergrößert, lehmfarben-hell und holzig-trocken (besonders Leber und Nieren).

In der Milz gibt es grundsätzlich zwei Manifestationstypen. Befinden sich die Amyloidabscheidungen in den Follikeln, wird die Milz als „Sagomilz“ bezeichnet. Für Ablagerungen, die diffus im gesamten retikulären Milzgerüst verteilt sind, ist der Begriff „Schinken-“ oder „Speckmilz“ geprägt worden. In der Niere findet man ebenfalls zwei Manifestationstypen. Sie

treten entweder als „glomeruläre“ oder als „medulläre“ bzw. „papilläre“ Ablagerungen auf. Leberamyloidosen lokalisieren sich bevorzugt auf das Gitterfasersystem der Sinusoide mit Ausdehnung der Amyloidmassen in die Disse'schen Räume. Dies stellt einen raumfordernden Prozeß dar, der bei hochgradiger Amyloidose den Untergang des normalen Lebergewebes zur Folge hat.

Histologische Befunde:

Bei Organen, die bei der Autopsie die charakteristischen Veränderungen einer Amyloidose erkennen lassen, fallen die histologischen Amyloidnachweise in den allermeisten Fällen positiv aus. Nicht selten werden Amyloidablagerungen jedoch erst bei der histologischen Organuntersuchung aufgefunden. Das Amyloid stellt sich in der HE-Färbung als scheinbar unstrukturiertes, extrazelluläres Material dar, welches sich schwach mit Eosin anfärbt.

Elektronenmikroskopische Befunde:

Wie schon in Kapitel 2.1.2 erwähnt, haben alle Amyloidformen eine fibrilläre Ultrastruktur. Dabei stellt sich das Amyloid elektronenmikroskopisch als Ansammlung stäbchenförmiger, starrer, nichtverzweigter Fibrillen mit einem Durchmesser von 7 - 10 nm und undefinierter Länge dar (COHEN und CONNORS, 1987). Jede Fibrille besteht aus 2,5 bis 3,5 nm starken filamentären Untereinheiten, und jede Untereinheit setzt sich aus 1,0 bis 1,5 nm starken Protofilamenten zusammen. Die Amyloidfibrillen liegen teils ungeordnet, teils in parallel orientierten Bündeln zusammen (DAHME und SCHRÖDER, 1990).

2. 1. 6 Klinisch - pathologische Veränderungen

Klinische Symptome bei der generalisierten Amyloidose zeigen sich am häufigsten bei Amyloidablagerungen in den Nieren. Sie äußern sich in leichten Fällen als Proteinurie und können in schweren Fällen über das Auftreten des nephrotischen Syndroms zum Nieren-

versagen führen. Massive Ablagerungen sind mit einer Obliteration der glomerulären Struktur und Verdrängung des Nierengewebes verbunden. Amyloidablagerungen können im gesamten Gastrointestinaltrakt auftreten und führen zu Malabsorption sowie einer Reihe anderer Verdauungsstörungen. Bei fortgeschrittener Amyloidinfiltration der Leber können Hepatomegalie sowie Ödembildung an den Extremitäten in Verbindung mit Aszites beobachtet werden. Bei hochgradigen Amyloidinfiltrationen kommt es zum Untergang des normalen Lebergewebes und anderen Strukturveränderungen, die zu Leberrupturen mit innerer Verblutung führen können. Auch die Vergrößerung und Konsistenzänderung der Milz kann zu Milzrupturen führen.

Bei lokalen Amyloidosen zeigen sich organbegrenzte Infiltrationen im Respirationstrakt, im Bereich der Augen, des Harnapparates und in anderen Organen, wie dem Lymphgefäß- und hämopoetischen System. Die isolierten Amyloidmassen zeigen gelegentlich lokale Kalzifizierungs- bzw. Ossifikationsherde (IPPEN und JAKOB, 1968). Klinische Symptome sind häufig nicht zu beobachten, die Amyloidose wird dann meist zufällig als Nebenbefund erhoben.

2. 1. 7 Nachweismethoden

Färbemethoden zum Amyloidnachweis am histologischen Präparat:

Mit Hilfe nachfolgend beschriebener Färbetechniken können Amyloidosen im histologischen Präparat diagnostiziert und die Ablagerungen im Gewebe lokalisiert werden. Eine Feststellung des Amyloidtyps ist mit diesen Methoden jedoch nicht möglich.

Die früheste Technik zum Nachweis des Amyloids war die von VIRCHOW (1854) beschriebene Behandlung der histologischen Schnitte mit LUGOL'scher Lösung, bei der die Farbe des Amyloids nach Zusatz verdünnter Schwefelsäure von gelblich-rot in blau-violett umschlug.

Diese Methode wurde von HESCHL (1875) und JÜRGENS (1875) durch die Nutzung von Anilinfarbstoffen abgelöst, womit eine Abgrenzung der Amyloidablagerungen im Gewebe von pflanzlicher Stärke möglich war. Die auftretende Metachromasie beim Amyloid beruht, wie später herausgefunden wurde, auf der Anwesenheit von Glykosaminoglykanen im Amyloid. Da diese Methode jedoch wenig spezifisch ist, wird sie heute kaum noch angewendet.

Die Kongorotfärbung als histologische Färbung wurde 1932 von BENNHOLD eingeführt. PUCHTLER et al. (1962) modifizierten diese Methode und nutzten sie zur selektiven Darstellung von Amyloid. Bei der Kongorotmethode können sich am Paraffinschnitt außer Amyloid gelegentlich auch elastische Fasern, kollagenes Bindegewebe und eosinophile Granulozyten rot anfärben. Zur Vermeidung von Fehldiagnosen ist deshalb eine Betrachtung der Schnitte unter dem Polarisationsmikroskop notwendig. Amyloid zeigt dabei im Gegensatz zu anderen Faserstrukturen einen typischen Doppelbrechungseffekt mit Farbumschlag in ein zweifarbigen Grün (sogenannter Dichroismus). Verantwortlich für dieses Phänomen ist die gerichtete Anlagerung der Farbstoffmoleküle an die Oberfläche der Amyloidfibrillen und parallel zur Achse der zugrundeliegenden, orientierten Amyloidstruktur (GLENNER und PAGE, 1976). Die alkalische Kongorotfärbung nach Puchtler ist die heute am häufigsten routinemäßig angewendete Methode zum Amyloidnachweis, da bei dieser Methode, im Vergleich zu der von BENNHOLD (1932), das Auftreten unspezifischer Anfärbungen von Bindegewebsstrukturen weitestgehend vermieden wird.

Eine ebenfalls hochsensitive Methode zum Nachweis minimaler Mengen von Amyloid ist die Fluoreszenzmikroskopie. Bei Fluorochromierung mit Thioflavin-T und -S zeigen Amyloidablagerungen im ultravioletten Licht eine intensive gelbgrüne Fluoreszenz. Diese Färbung wurde von VASSAR und CULLING (1959) erstmals beschrieben und von SCHWARTZ (1970) weiterentwickelt. Da jedoch, insbesondere bei Anwendung von Thioflavin T, gelegentlich falschpositive Ergebnisse auftreten können, müssen diese mit Hilfe anderer Techniken überprüft werden

Eine Zusammenfassung der oben aufgeführten histologischen Färbemethoden zeigt Tabelle 2.

Tab. 2 Zusammenfassung der meist genutzten Methoden zur Amyloidfärbung
(nach. GLENNER und PAGE 1976)

Färbung	Typ der Reaktion	Reaktionsfarbe	Ergebnisse
Kristallviolett	Metachromasie	violett	gelegentlich falsch negativ
Kongorot	Wasserstoffbrücken- bindung	rot	gelegentlich falsch negativ oder positiv
Kongorot	Fluoreszenz	orange-gelb	gelegentlich falsch negativ oder positiv
Kongorot	Polarisation	grün	sensitiv, gelegentlich falsch positiv
Thioflavin T&S	Fluoreszenz	gelb	sehr sensitiv, gelegentlich falsch positiv
Toluidinblau	Polarisation	rot	häufig falsch negativ für nicht systemische Ablagerungen

Methoden zur Differenzierung des Amyloidtypes:

Eine einfache und nachvollziehbare histochemische Methode zur Differenzierung des Amyloidtyps ist die Kaliumpermanganatoxidation nach WRIGHT et al. (1977). Diese Methode basiert auf der veränderten Affinität des Amyloids für den Kongorotfarbstoff, nachdem die histologischen Präparate mit einer Lösung aus Kaliumpermanganat und verdünnter Schwefelsäure vorbehandelt wurden. Die Kaliumpermanganatmethode repräsentiert eine Modifikation der früher angewendeten Romhanyi-Trypsin-Technik. Die Amyloidosen vom Typ AA können bei der Kaliumpermanganatmethode nach WRIGHT et al. (1977) aufgrund

einer herabgesetzten Kongorotaffinität der Amyloidfibrillen von anderen Amyloidtypen unterschieden werden. Dabei wird ein Präparat als „kaliumpermanganat-sensitiv“ (also Typ AA) eingestuft, wenn das Amyloid seine Affinität zu Kongorot gegenüber einem nicht vorbehandelten, kongorotgefärbten Präparat ganz oder zum größten Teil verloren hat.

Als Routinemethode zur sicheren Klassifizierung der verschiedenen Amyloidformen gilt heute die immunhistochemische Identifizierung mit Hilfe spezifischer Antikörper. Bei dieser Methode ist die Bestimmung des Amyloidtyps sowohl anhand nativen Gewebes als auch retrospektiv an formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Organmaterial möglich. Dabei können monoklonale oder polyklonale Antikörper zur Anwendung kommen (LINKE, 1982; LINKE et al., 1984; ZSCHIESCHE und LINKE, 1989).

Eine relativ neue Methode zur Amyloidbestimmung ist die Sequenzanalyse. Hierbei werden die unterschiedlichen Amyloidproteine nach Isolierung aus dem Gewebe nach der Reihenfolge ihrer Aminosäuren ermittelt, wobei eine Klassifizierung anhand der charakteristischen Aminosäuresequenz erfolgt (BENDITT und ERIKSEN, 1971).

2. 2. Amyloidose bei Säugetieren

Die Amyloidose kann bei vielen Säugetierarten beobachtet werden (ZSCHIESCHE und JAKOB, 1989). Im folgenden sollen die häufigsten beim Tier auftretenden Amyloidformen kurz aufgeführt werden.

AA - Amyloidosen

Die wichtigste Form beim Tier stellt die AA-Amyloidose dar. In der Literatur findet sich eine Vielzahl von Publikationen zur sogenannten reaktiven Amyloidose beim Tier. So wurde diese Form beim Hund (CHEVILLE, 1968), bei Pferden (SHAW et al., 1987), Rindern (MURRAY et al., 1972; JOHNSON und JAMISON, 1984), Schweinen (WINKELMANN et al., 1979), Ziegen (FARNSWORTH und MILLER, 1985), Schafen (RINGS und CARRY, 1988) und Hauskatzen (LUCKE und HUNT, 1965; CLARK und SEAWRIGHT, 1969) beschrieben. Eine Charakterisierung des Amyloidproteins „A“ erfolgte beim Affen (HERMODSON et al., 1972), beim Hund (WESTERMARK et al., 1985a), bei der Katze (DI BARTOLA et al., 1985), beim Nerz (WAALEN et al., 1980), beim Pferd (SLETTEN et al., 1987), beim Hamster (BRANDWEIN et al., 1981), beim Meerschwein (SKINNER et al., 1974) und bei der Maus (ERIKSEN et al., 1976).

Am besten erforscht ist die AA-Amyloidose bei Nagern. Das Auftreten der Amyloidose ist bei diesen Tieren von genetischen Faktoren, vom Geschlecht, von hormonellen Einflüssen sowie von der Ernährung abhängig. Die meisten Fälle treten als idiopathische Form auf, Ursachen können dabei chronischer Streß und psychosoziale Faktoren sein.

Die kanine Amyloidose ist eine vorwiegend bei älteren Hunden vorkommende sporadische Erkrankung, die im Zusammenhang mit Tuberkulose, chronisch-eitrigen Entzündungen, Lupus erythematosus, Neubildungen u.ä. auftritt und sich vor allem in den Nieren manifestiert (OSBORN et al., 1968; SLAUSON et al., 1970). Bekannt ist auch eine hereditäre AA-Amyloidose bei grauen Collies mit dem Krankheitsbild der zyklischen Neutropenie (CHEVILLE, 1968).

Amyloidose bei Hauskatzen wurde bis in die 80er Jahre sehr selten nachgewiesen. CHEW et al. (1982) beobachteten eine relativ hohe Inzidenz von Nierenamyloidosen bei Abyssinier-Katzen. Studien von BOYCE et al. (1984) und DI BARTOLA et al. (1987) bestätigten eine familiäre Prädisposition dieser Rasse in den ersten zwei Lebensjahren und ordneten diese Erkrankung der idiopathischen AA-Amyloidose zu.

Beim Rind sind Fälle von reaktiver Amyloidose im Zusammenhang mit chronisch suppurativen Prozessen verschiedener Lokalisation, seltener mit Tuberkulose beschrieben worden. Die Erkrankung tritt vermehrt im höheren Alter auf und manifestiert sich vor allem in den Nieren.

Beim Nerz tritt die Amyloidose häufig im Zusammenhang mit Abszessen, Pleuritis, Leukose, Tuberkulose oder eitrigen Hepatitiden auf. Die Amyloidosehäufigkeit steigt mit dem Alterungsprozeß. Reaktive Amyloidosen können beim Nerz durch wiederholte Injektionen von Endotoxinen experimentell induziert werden (WAALEN et al., 1980).

Bei freilebenden Mardern fand man bei 28 Prozent der Tiere Amyloidosen hauptsächlich in der Milz, weniger in der Leber, in den Nieren und anderen Organen. Auffällig war ein ungewöhnlich hoher Befall des Zentralnervensystems.

Beim Primaten wird die Amyloidose am häufigsten beim Rhesusaffen beschrieben, sie tritt aber auch bei anderen Arten auf. Die Amyloidinfiltrationen betreffen vorwiegend die Milz, Leber, Nieren und die Mesenteriallymphknoten. Die Erkrankungsfälle häufen sich im Alter.

AL - Amyloidosen

Amyloidosen diesen Typs sind beim Tier nur sehr selten zu beobachten. Erst in jüngster Zeit sind beim Pferd und Hund eingehendere Untersuchungen zum Auftreten von Amyloidablagerungen, die sich von Lambda-Leichtketten eines Immunglobulins ableiten lassen, gemacht worden (LINKE und TRAUTWEIN, 1989; GEISEL et al., 1989; GEISEL et al., 1990; LINKE et al., 1990; HERMANNNS und GEISEL, 1993). In diese Gruppe gehören wahrscheinlich auch

die beim Pferd gefundenen lokalen Amyloidablagerungen in der Haut, Nasenschleimhaut und Luftröhre.

Auch die beim Nerz spontan auftretenden Amyloidosen im Zusammenhang mit der Aleutenkrankheit sind möglicherweise diesem Amyloidtyp zuzuordnen, was aber noch nachzuweisen wäre (ZSCHIESCHE und JAKOB, 1989).

AE - Amyloidosen

Endokrine Amyloidosen treten vor allem in den Langerhansschen Inseln des Pankreas bei alten Feliden sowie bei Primaten, Procyoniden, Musteliden und Hyaeniden auf (JAKOB, 1970b; JAKOB, 1971; ZSCHIESCHE und JAKOB, 1989). Die Ursachen der Inselamyloidose sind noch nicht geklärt, es besteht keine Beziehung zu anderen Erkrankungen, zu Geschlecht oder Rasse. Lediglich eine zunehmende Inzidenz im Alter wurde beschrieben. Das histologische Bild der Inselveränderungen ist sehr charakteristisch. Man findet eine partielle oder totale Hyalinisierung der Langerhansschen Inseln. Das Parenchym des exokrinen Pankreas bleibt jedoch unverändert.

Amyloidablagerungen in den C-Zell-Tumoren der Schilddrüse kommen bei verschiedenen Säugetieren vor, häufig betroffen sind Bullen ab dem 4. Lebensjahr und Ratten ab dem 18. Lebensmonat (ZSCHIESCHE und JAKOB, 1989). Die C-Zell-Adenome und -Karzinome der Schilddrüse enthalten dabei unterschiedliche Mengen an Amyloid in ihrem Stroma.

AS - Amyloidosen

Diese Amyloidform tritt erst auf, wenn die Tiere ein bestimmtes Alter erreicht haben. Man findet sie vor allem bei älteren Kaniden, besonders beim Hund (JAKOB, 1970b). Charakteristisch ist die Lokalisation der Amyloidablagerungen vorwiegend in der Media der Blutgefäße, gewöhnlich in leptomeningealen, kortikozerebralen und Koronargefäßen, aber auch in Arterien anderer Organe. Weniger häufig findet man auch Infiltrationen in Darm, Blase und

Magen älterer Hunde. Bei Wolf, Schakal und Fuchs finden sich die Ablagerungen vorzugsweise in der Media kleinerer und mittlerer Hirnhautgefäße, während bei Feliden und beim Waschbär nur die Langerhansschen Inseln der Bauchspeicheldrüse betroffen sind (JAKOB, 1970a). Bei Eisbären wurden senile Amyloidplaques im Gehirn, aber keine Blutgefäßveränderungen gefunden (SELKOE et al., 1987).

AD - Amyloidosen

In diesen Formenkreis gehören wahrscheinlich die beim Mammakarzinom des Hundes nachgewiesenen Veränderungen (VOS und GRUYS, 1985; POSPISCHIL et al., 1987).

Andere Formen, wie z.B. die von BREUER et al. (1994) beschriebenen Amyloidablagerungen in odontogenen Tumoren bei Hund und Katze, sind zur Zeit noch nicht genau einzuordnen.

2. 3. Amyloidose bei Vögeln

2. 3. 1 Historischer Rückblick

Die ersten Amyloidosen bei Vögeln wurden 1867 von RÖLL bei Fasanen beschrieben. Weitere Berichte über Amyloidosen bei dieser Vogelart folgten von BRUCKMÜLLER (1869) und FRIEDBERGER (1874). Auch bei Hühnern (KITT, 1883; BRUCKMÜLLER, 1869; LEISERING, 1886; KLEE, 1901), Puten (RABE, 1883) und beim Pfau (SIBLEY, 1890) wurden Amyloidinfiltrate schon im vergangenen Jahrhundert beobachtet. Diese ersten Beschreibungen bezogen sich zunächst auf Arten des Haus-, Zier- und Nutzgeflügels der Ordnung Galliformes. Bald kamen auch Vertreter anderer Ordnungen hinzu. So beschreibt PAULICKI (1872) Amyloidablagerungen bei einer Pfeifgans, FOX (1923) erwähnt in seinem Bericht Leberamyloidosen bei zwei Gänsen, und HJÄRRE (1933) beschreibt Amyloidablagerungen bei zwei Wildenten und später auch bei einem Schwan (HJÄRRE und NORDLUND, 1942). Außer bei den oben erwähnten Vogelordnungen Galliformes und Anseriformes finden sich in der frühen Literatur Berichte über das sporadische Auftreten der Amyloidose bei Sperlingsvögeln, einer Taube und einem Pinguin (FOX, 1923) sowie bei drei Greifvögeln (PAUL und BRINZOIU, 1965).

Während der letzten Jahrzehnte sind aus verschiedenen Einrichtungen detaillierte Todesursachenanalysen sowie spezielle Untersuchungen über das Amyloidvorkommen bei Vögeln aus Zoologischen Gärten publiziert worden, denen wir genauere Aufschlüsse über Häufigkeit und Verbreitung der aviären Amyloidose verdanken.

2. 3. 2. Häufigkeit und Verbreitung

Die Amyloidose ist eine bei Vögeln relativ häufig anzutreffende Erkrankung. So liegen in der Literatur die Angaben zur Amyloidinzidenz bei Vögeln in der Regel zwischen 1 und 8 Prozent, wobei diese Werte in Abhängigkeit vom untersuchten Sektionsmaterial und der an-

gewendeten Nachweismethoden variieren. Einige der Literatur entnommene Daten sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tab. 3 Häufigkeit des postmortalen Amyloidnachweises bei Vögeln

Insgesamt untersucht	davon mit Amyloidose	Prozent	Autoren
1444	59	4,1	IPPEN und SCHRÖDER, 1972
4000	28	0,7	KRONBERGER und SCHÜPPEL, 1972
2546	23	0,9	KRONBERGER und SCHÜPPEL, 1976
1120	56	5,0	KRAMER et al., 1980
1234	20	1,6	FABIAN und VETESI, 1980
381	3	3,0	CULJAK et al., 1983
5090	99	1,9	GRINER, 1983
2348	169	8,3	ZSCHIESCHE und JAKOB, 1989

In welchem Umfang die Amyloidose bei Vögeln tatsächlich verbreitet ist, ist aus den in der Literatur bislang vorliegenden Daten noch nicht klar ersichtlich, da aufgrund des relativ geringen untersuchten Materials in einer Reihe von Vogelordnungen noch keine zuverlässigen Angaben möglich sind. Mit Sicherheit kann jedoch festgestellt werden, daß die Amyloidose in mindestens 14 Vogelordnungen auftritt.

Das Amyloidvorkommen in den verschiedenen Vogelordnungen variiert sehr stark. So findet man bei einem Vergleich der Daten verschiedener Autoren in den Ordnungen Anseriformes, Phoenicopteriformes, Rheiformes, Pelecaniformes, Gruiformes, Charadriiformes und Galliformes eine relativ hohe Amyloidosehäufigkeit (ca. 4 - 15 %). Eine deutlich geringere Häufigkeit (ca. 1 - 2 %) zeigen die Ordnungen Sphenisciformes, Falconiformes, Columbiformes, Strigiformes und Passeriformes. Als relativ amyloidresistent stellen sich die Psittaciformes dar, die eine Häufigkeit von weniger als 1 Prozent aufweisen (Tab. 4).

Tab. 4 Amyloidvorkommen innerhalb nichtanseriformer Vogelordnungen

Ordnung	A u t o r e n						Insgesamt	(%)
	1	2	3	4	5	6		
Sphenisciformes	3/11*		1/30		2/118	2/109	5/257	(1,9)
Rheiformes						1/39	4/50	(8,0)
Pelecaniformes						2/27	2/27	(7,4)
Ciconiiformes		4/108		1/89		4/103	9/300	(3,0)
Phoenicopteriformes	1/15		1/25		4/56	20/74	26/170	(15,3)
Falconiformes		2/99				2/106	4/205	(2,0)
Galliformes	13/162	3/211		1/55		9/186	26/614	(4,2)
Gruiformes	6/78	4/71		5/68	6/229	11/69	32/515	(6,2)
Charadriiformes	9/46			1/93	4/256	5/66	19/461	(4,1)
Columbiformes	1/46	1/64				1/93	3/203	(1,5)
Psittaciformes	1/158		2/1747	1/178	4/1322	5/314	13/3719	(0,3)
Strigiformes						1/70	1/70	(1,4)
Passeriformes	8/341		5/597		12/1300	6/194	31/2432	(1,3)

* Zahl der Amyloidosen / Zahl der untersuchten Tiere

- 1 = COWAN, 1968b
- 2 = IPPEN und SCHRÖDER, 1972
- 3 = KRONBERGER und SCHÜPPEL, 1972
- 4 = FABIAN und VETESI, 1980
- 5 = GRINER, 1983
- 6 = ZSCHIESCHE und JAKOB, 1989

Auch innerhalb der einzelnen Vogelordnungen ist die Amyloidose sehr unterschiedlich verteilt. So sind bei den Charadriiformes die Möwen (COWAN, 1968a) und bei den Gruiformes die Kraniche (ZSCHIESCHE und LINKE, 1986) besonders betroffen.

Die wohl am besten untersuchte aviäre Amyloidose ist die der Ordnung Anseriformes. Eine Reihe von wissenschaftlichen Publikationen beschäftigt sich mit Vorkommen und Häufigkeit der Amyloidose bei dieser Ordnung sowie mit den auftretenden pathologischen Verän-

derungen. Die Angaben über die Amyloidinzidenz bei den Anseriformes variieren in der Literatur zwischen 3 und 56 Prozent, liegen jedoch in der Mehrzahl bei über 8 Prozent. In Tabelle 5 sind die uns zugänglichen Publikationen der letzten Jahrzehnte zusammengestellt, in denen Aussagen zur prozentualen Amyloidosehäufigkeit bei der Ordnung Anseriformes getroffen wurden.

Tab. 5 Amyloidosehäufigkeit bei Anseriformes

Insgesamt untersucht	davon mit Amyloidose	in Prozent	Autoren
1044	246	23,6	BRASSARD, 1965
578	262	45,3	COWAN, 1968a
285	58	20,4	KARSTAD & SILEO, 1971
322	45	14,0	IPPEN & SCHRÖDER, 1972
500	19	3,8	KRONBERGER & SCHÜPPEL, 1972
30	11	36,7	KRONBERGER & SCHÜPPEL 1976
471	29	6,2	KRAMER et al., 1980
210	11	5,2	FABIAN & VETESI, 1980
88	49	55,7	SATO et al., 1981
103	3	2,9	CULJAK et al., 1983
1047	67	6,4	GRINER, 1983
587	88	15,0	ZSCHIESCHE & LINKE, 1986
1528	246	8,0	MONTALI, 1987
139	35	25,2	SCHNEIDER et al., 1988
888	127	14,3	ZSCHIESCHE & JAKOB, 1989
1979	235	11,9	KLÖS, 1989

Auch innerhalb der Ordnung Anseriformes gibt es beträchtliche Unterschiede hinsichtlich Amyloidvorkommen und -verteilung zwischen den einzelnen Stämmen, Gattungen und Arten. So weisen die Gattungen Anserini, Tadornini, Cairinini und Mergini eine relativ hohe Amyloidhäufigkeit auf, während die Gattungen Oxyurini, Anatini, und bei ZSCHIESCHE und LINKE (1986) auch Dendrocygnini, relativ selten betroffen sind (COWAN, 1968b; SATO et al., 1981; GRINER, 1983). Selbst innerhalb ein und derselben Art können Unterschiede in der Amyloidhäufigkeit auftreten. Bei der Moschusente z.B. gibt es offensichtlich regionale Unterschiede. Während RIGDON (1967) unter 43 und LIU (1985) unter 78 Tieren keine einzige Amyloidose fanden, berichteten COWAN (1968b) und ZSCHIESCHE und JAKOB (1989) bei der gleichen Art über eine relativ hohe Amyloidhäufigkeit.

2. 3. 3 Klinische Symptome

Die meisten der an Amyloidose erkrankten Vögel zeigen keine charakteristischen Krankheitszeichen. Auch Vögel mit hochgradiger Amyloidose werden in vielen Fällen tot aufgefunden, ohne daß Krankheitssymptome zuvor beobachtet werden konnten. Häufig wird die Amyloidose bei Obduktion neben anderen pathologischen Veränderungen zufällig diagnostiziert.

Vögel mit einem durch Leberschädigung bedingten Aszites können gelegentlich Ödeme an den Gliedmaßen zeigen (RIGDON, 1961; KLÖS, 1989).

LANDMANN et al. (1996) beschreiben in ihrem Bericht spontan auftretende Amyloid-Arthropathien als klinisches Problem auf Geflügelfarmen. Dabei treten vor allem im Knie- und Sprunggelenk Schwellungen, verbunden mit milden, subakuten bis chronischen Lahmheiten auf.

Schwäche, Anorexie, Abmagerung und Muskelschwund können bei aviären Amyloidosen beobachtet werden, die im Zusammenhang mit chronischen Erkrankungen wie Tuberkulose und Aspergillose auftreten.

2. 3. 4 Makroskopische Organveränderungen

Die bei Vögeln am häufigsten befallenen Organe sind Leber und Milz. Diese sind bei fortgeschrittener Amyloidinfiltration meist deutlich vergrößert, von hellerer Farbe und wachsartiger, festerer Konsistenz und zeigen oft eine stärkere Neigung zur Brüchigkeit. Diese kann zu intravitalen Leberrupturen (IPPEN, 1975) und Milzzerreißen (RIGDON, 1964) mit innerer Verblutung führen. An den übrigen Organen lassen sich gewöhnlich makroskopisch keine Veränderungen erkennen.

2. 3. 5 Histologische Veränderungen

Die aviäre Amyloidose erweist sich in den meisten Untersuchungen als systemische Erkrankung. Dabei finden sich Amyloidinfiltrationen bevorzugt in Leber, Milz, Nieren und Darm. Weniger betroffen sind die endokrinen Organe wie Schilddrüse und Nebennieren sowie Pankreas, Herz und Lungen. Selten beobachtet wurden Ablagerungen in Harn- und Eileiter, Hoden und Ovar sowie im Gehirn.

In der Leber können nach RIGDON (1961, 1967) und DOUGHERTY et al. (1963) zwei Verteilungsmuster angetroffen werden: (1) multiple herdförmige Ablagerungen mit vorwiegend vaskulärer und perivaskulärer Verteilung und (2) diffuse Ablagerungen in den Leberläppchen mit parasinusoidaler Verteilung. Die Amyloidablagerungen scheinen dabei in den größeren Blutgefäßen des Leberinterstitiums zu beginnen und dehnen sich dann entlang der Sinusoide aus, bis eine diffuse Verteilung erreicht ist. IPPEN und JAKOB (1968) beobachteten im Leberamyloid bei Ringelgänsen das Auftreten von metaplastischen Ossifikationsvorgängen.

In der Milz tritt das Amyloid entweder nur in den Gefäßwänden kleiner Arterien oder diffus verteilt in der Pulpa auf.

In den Nieren findet sich das Amyloid im Interstitium und in den interstitiellen Gefäßen der Markscheid. Häufig sind auch die Basalmembranen der Tubuli sowie die Glomeruli betroffen.

Im Darm sind die Amyloidablagerungen bevorzugt in der Lamina propria mucosae (im Dünndarm auch in den Zotten) lokalisiert.

In der Schilddrüse findet man nach ZIPPER und TAMASCHKE (1972) drei Verteilungsmuster, nämlich Ablagerungen (1) im interfollikulären Gewebe, wobei in hochgradigen Fällen das interfollikuläre Gewebe stark verbreitert und homogenisiert ist, (2) als amyloido-gene Degenerationsherde und (3) solche, die nur auf die Gefäßwände beschränkt sind.

Im Herz beobachteten RIGDON und SCHWARTZ (1968) Amyloidablagerungen in den interstitiellen Herzgefäßen und im bindegewebigen Interstitium.

2. 3. 6 Eigenschaften und Formen des Vogelamyloids

Das Vogelamyloid gleicht in seinen charakteristischen färberischen und polarisationsoptischen Eigenschaften dem der Säugetiere und des Menschen. Bei elektronenmikroskopischer Untersuchung lassen sich ebenfalls die typischen Fibrillen von 8 bis 10 nm Durchmesser nachweisen. Biochemische Untersuchungen des Amyloids von Weißen Pekingenten (GOREVIC et al., 1977; ERICSSON et al., 1987) und auch orientierende immunhistochemische Untersuchungen bei Vögeln der Ordnungen Anseriformes, Phoenicopteriformes und Gruiformes (ZSCHIESCHE und LINKE, 1986; 1989) sowie Galliformes (LANDMANN et al., 1996) haben gezeigt, daß die Amyloidosen der Vögel nach bisherigen Erkenntnissen zum Typ AA gehören. Das Fibrillenprotein AA leitet sich dabei wie beim Säuger vom Serumamyloid A ab. ZSCHIESCHE und LINKE (1989) konnten bei ihren Untersuchungen eine eindeutige Kreuzreaktivität von Amyloid aus oben genannten Vogelordnungen mit mono- und polyklonalen Antikörpern gegen Amyloidprotein A von verschiedenen Säugetierspezies nachweisen.

Bei den systemischen Amyloidosen der Vögel unterscheidet man zwischen einer reaktiven Form (sekundäre Amyloidose) in Zusammenhang mit einem Grundleiden und einer idiopathischen Form ohne erkennbare Ursache (KLÖS, 1989). Die bei der sogenannten sekundären Amyloidose am häufigsten auftretenden chronischen Erkrankungen sind Tuberkulose,

Gicht, Aspergillosen sowie Parasitosen, wobei aufgrund der langen Verlaufsauer, sowohl der Amyloidose als auch der Begleiterkrankungen, nicht sicher zu klären ist, ob letztere als Ursache oder Folge der Amyloidose zu sehen sind. Während bei früheren Untersuchern (HJÄRRE, 1933; BRASSARD, 1965) die Meinung vorherrschte, daß sich die meisten Amyloidosen sekundär auf der Grundlage einer chronischen Erkrankung entwickeln, wird diese Auffassung heute nicht mehr voll geteilt. Die genannten chronischen Erkrankungen könnten sich umgekehrt auch auf der Grundlage einer Amyloidose, die zu verminderter Körperresistenz und beeinträchtigter Immunreaktion führt, entwickelt haben. Auf diese Möglichkeit hat erstmals COWAN (1968a,b) aufgrund seiner Beobachtungen bezüglich des Zusammentreffens von Amyloidose und Tuberkulose aufmerksam gemacht. Verschiedene andere Autoren wie KARSTAD und SILEO (1971), KRAMER et al. (1980), MONTALI (1987) und ZSCHIESCHE und JAKOB (1989) schlossen sich später dieser Meinung an.

2. 3. 7 Ursachen und Bedingungen für die Amyloidbildung

Wie auch bei Säugetieren und Mensch läßt sich bei der aviären Amyloidose eine Altersprävalenz erkennen. Küken und Jungvögel sind von der Amyloidose kaum betroffen, die Erkrankungshäufigkeit steigt mit zunehmenden Lebensalter an. Nach KRAMER et al. (1980) lag das Alter der von Amyloidose betroffenen Vögel zwischen 5 Monaten und 19 Jahren. Bei SCHNEIDER et al. (1988) liegt der Anteil der an Amyloidose erkrankten Tiere bei 25,2 Prozent der adulten und 1,5 Prozent der juvenilen (unter 7 Wochen alten) Vögel. Der Grund liegt nach Meinung von ESKENS et al. (1984) weniger in einer erhöhten Empfänglichkeit adulter Tiere, als vielmehr in der für die Krankheitsentstehung notwendigen Zeitdauer der Einwirkung von Risikofaktoren. Unter extremen Bedingungen können Amyloidosen auch schon bei relativ jungen Vögeln vorkommen. So konnten DOUGHERTY et al. (1963) tödliche Amyloiderkrankungen bei 3 Pekingenten schon im Alter von 6, 7 und 8 Wochen beobachten.

Im Gegensatz zum Alter spielt das Geschlecht der Vögel keine Rolle für das Auftreten der Amyloidose, wie umfangreiche Untersuchungen insbesondere bei den Anatiden zeigen. So berichtet z.B. COWAN (1968b), daß sich unter 259 Vögeln mit Amyloidose 133 männliche (51,4 %) und 126 weibliche (48,6 %) Tiere befanden. COWAN's Beobachtungen stehen im

Einklang mit den Untersuchungen zahlreicher anderer Autoren, die keine Geschlechtsprävalenz im Auftreten der Amyloidose fanden (RIGDON, 1964; KRAMER et al., 1980; KLÖS, 1989).

Eine interessante Beobachtung ist die scheinbar jahreszeitliche Abhängigkeit der Amyloidose bei den Ordnungen Anseriformes und Phoenicopteriformes. Bei Analyse der monatlichen Verteilung der aviären Amyloidosen aus dem Tierpark Berlin von 1980 bis 1985 durch ZSCHIESCHE und LINKE (1986) zeichneten sich deutliche Winter-Frühjahrs-Maxima und Sommer-Herbst-Minima ab. Eine befriedigende Erklärung für diese Beobachtung ließ sich jedoch nicht finden.

Bemerkenswert ist ebenfalls der relativ hohe Anteil spontan auftretender Amyloidosen, auch als idiopathische oder primäre Amyloidosen benannt. ZSCHIESCHE und LINKE (1986) beobachteten bei etwa 30 Prozent der Anseriformes und sogar 60 Prozent der Phoenicopteriformes Amyloidosen ohne erkennbare Begleiterkrankung. Über die Ursachen dieser Amyloidoseform bei Vögeln bestehen noch keine gesicherten Erkenntnisse. Es gibt aber Hinweise dafür, daß psychosoziale Belastungsfaktoren an der Amyloidentstehung beteiligt sein könnten. So untersuchten COWAN und JOHNSON (1970) die Amyloidentwicklung bei Weißen Pekingenten, die in verschiedenen großen Gruppen auf unterschiedlich großem Raum gehalten wurden. Sie kamen zu der Auffassung, daß nicht die Größe des zur Verfügung stehenden Raumes eine Rolle bei der Amyloidentstehung spielt, sondern daß die Zahl der Tiere pro Flächeneinheit von Bedeutung ist, d.h., daß mit zunehmender Besatzdichte das Amyloidoserisiko wächst. Wahrscheinlich kommt es durch Rankämpfe und Aggressionen über die Aktivierung neuroendokriner Mechanismen zu anhaltenden Streßreaktionen, die über zur Zeit noch unzureichend geklärte Stoffwechselabläufe zu einem Anstieg des SAA und zur Amyloidentstehung führen. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch PAGE und GLENNER (1972), die Untersuchungen über die Amyloidgenese in unterschiedlich zusammengesetzten Mäusegruppen vornahmen. Dabei beobachteten sie eine fast 100prozentige Amyloidbildung in größeren männlichen Mäusegruppen, in denen eine hohe Aggressivität der Einzeltiere auftrat. Neben den dargestellten sozialbiologischen Faktoren könnten auch physikalische Einflüsse (z.B. verminderte Helligkeitsdauer für exotische und Zugvögel) einen amyloidogenen Streß darstellen.

Die Disposition zur Amyloidbildung bei Vögeln ist offensichtlich auch genetisch determiniert, wofür das unterschiedliche Amyloidvorkommen innerhalb der einzelnen Vogelordnungen spricht. Die dafür verantwortlichen molekularen Mechanismen sind noch nicht geklärt.

3 **EIGENE UNTERSUCHUNGEN**

3.1 **Material und Methoden**

3.1.1 Tiermaterial

Die Grundlage für diese Arbeit bilden die von 1970 bis 1992 in der Forschungsstelle für Wirbeltierforschung Berlin (ab Januar 1992 Institut für Zoo- und Wildtierforschung) seziierten Zoo- und Wildvögel (8456 Sektionen in 23 Jahren).

Um eine statistische Erhebung über Vorkommen und Häufigkeit der Amyloidose bei Vögeln durchführen zu können, wurden die Sektionsberichte aller obduzierten Vögel gesichtet und ausgewertet. Für die histopathologischen und immunhistochemischen Untersuchungen wurde eine Stichprobe von 100 Vögeln mit Amyloidablagerungen aus den vorhandenen Ordnungen und Gattungen ausgewählt. Zu allen aus den Sektionstagebüchern erfaßten Amyloidosen lagen archivierte Gewebeproben in Paraffinblockmaterial vor.

3.1.2 Histopathologische Untersuchung

3.1.2.1 Vorbereitung des Untersuchungsmaterials

Von den eingebetteten Gewebblöckchen der in Tabelle 6 aufgeführten Vögel wurden 4 bis 6 µm dicke Schnitte hergestellt, auf mit Eiweißglyzerin beschichtete Objektträger aufgezogen und für 48 Stunden bei 45 °C im Brutschrank getrocknet.

Tab.6 Ausgewählte Vögel und verwendete Organe für die histologische und histochemische Untersuchung

Vogelart	untersuchte Organe	Vogelart	untersuchte Organe
Anseriformes		Pelecaniformes	
Kubapfeifgans	Le,Mi	Schlangehalsvogel	Le,Mi,Ni,Da,Pa
Gelbe Pfeifgans	Le,Hz	Ohrenscharbe	Le,Ni,Da,Pa,Hz,Ge
Herbstpfeifgans	Le,Ni,Pa,Hz,Lu	Europ.Kormoran	Le,Ni,Pa,Lu
Höckerschwan	Le	Kormoran	Le,Mi,Ni,Da,Pa,Hz
Schwarzhalsschwan	Le,Ni,Da	Ciconiiformes	
Singschwan	Le,Mi,Ni,Da,Sch,Lu	Kuhreiher	Le,Ni,Pa,Lu
Schwangengans	Le,Mi,Ni,Lu	Kuhreiher	Le,Mi,Ni,Da,Pa,Hz
Graugans	Le,Da,Hz	Nachtreiher	Le,Ni,Da,Hz,Ge
Bleßgans	Le,Mi,Ni,Da,Pa,Sch,Oe	Abdimmstorch	Le,Mi,Da,Pa,Ge,Lu
Kanadagans	Mi	Weißer Sichler	Le,Mi,Da,Pa,Hz,Sch
Hawaiigans	Mi,Ni,Pa,Hz,Ge,Lu	Rosa Löffler	Le,Mi,Ni,Da,Pa,Hz
Paradieskasarka	Mi,Ni,Hz,Lu	Waldrapp	Le,Mi,Ni,Pa,Hz,Lu
Austr. Kasarka	Le,Mi,Pa,Hz,Lu,Oe	Struthioniformes	
Orinokogans	Le,Ni,Pa,Pa,Hz,Oe	Nandu	Le,Ni,Pa,Pa,Hz,Sch
Rotkopfgans	Le	Nandu	Le,Ni,Pa,Hz,Ge,Lu
Rotkopfgans	Le,Ni,Hz,Ge,Oe	Strauß	Le,Pa,Ge,Lu
Kupferspiegelente	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Sch,Lu	Falconiformes	
Stockente	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Hz,Sch	Wüstenbussard	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Hz,Lu
Spatelschnabelente	Le,Ni,Pa,Hz,Lu	Keilschwanzadler	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Hz,Oe
Eiderente	Le,Mi,Ni,Hz,Ge	Brahminenweih	Le,Mi,Ni,Pa,Sch,Lu,Oe
Peposakaente	Le,Ni,Pa,Pa,Pa,Hz,Sch	Galliformes	
Rotaugenente	Mi,Ni,Pa,Pa,Hz,Lu,NN	Arabisches Steinhuhn	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Hz
Halsringente	Ni,Pa,Pa,Ge	Schwarzkehlsteinhuhn	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Hz,NN
Amerik. Tafelente	Le,Ni,Pa,Pa,Pa,Hz,Sch	Steinhuhn	Mi,Ni,Pa,Pa,Sch,Lu
Kolbenente	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Lu	Straußenwachtel	Le,Ni,Pa,Pa,Hz
Moschusente	Le,Mi,Ni,Pa,Hz,Lu	Hauspute	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Hz,Ge,Lu
Hartlaubente	Le,Mi,Ni,Pa,Hz	Brauner Ohrfasan	Le,Mi,Pa,Pa,Pa,Hz,Sch
Mähngans	Le,Mi,Pa,Hz,Ge,Lu	Blauer Ohrfasan	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Pa,Hz
Brautente	Le,Ni,Hz,Ge,Oe	Chin.Ringfasan	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Hz,Ge,Lu
Schellente	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Pa,Hz	Pfau	Le,Mi,Ni,Pa,Ge
Büffelkopffente	Le,Ni,Hz,Ge	Pfau	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Sch,Ge
Zwergsäger	Le,Mi,Ni,Hz,Ge	Pfau	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Pa,Hz
Mittelsäger	Le,Ni,Pa,Pa,Pa,Hz,Lu	Gruiformes	
Gänsesäger	Le,Pa,Hz,Ge,Lu	Graukranich	Le,Mi,Pa,Hz
Kuckucksente	Mi,Ni,Pa,Hz,Lu	Lilfordkranich	Le,Mi,Pa,Pa,Pa,Hz,Sch
Phoenicopteriform.		Jungfernkranich	Le,Mi,Ni,Pa,Hz,Lu
Chileflamingo	Auge	Kronenkranich	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Sch,Ge
Chileflamingo	Mi,Pa,Pa,Pa,Hz,NN	Kronenkranich	Le,Mi,Ni,Pa,Sch
Rosa-Flamingo	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Hz,Lu	Klunkerkränich	Le,Ni,Ge,Lu
James-Flamingo	Le,Mi,Ni,Pa,Pa,Hz	Bleßhuhn	Le,Mi,Ni,Pa,Ge,Lu
Kubaflamingo	Le,Ni,Pa,Pa,Pa,Sch,Ge	Großtrappe	Le,Mi,Ni,Pa
Zwergflamingo	Le,Mi,Pa,Pa,Hz,Sch,Ge	Großtrappe	Le,Mi,Ni,Pa,Hz,Sch,Ge

Fortsetzung Tab. 6

Vogelart	untersuchte Organe	Vogelart	untersuchte Organe
Trappe	Le,Mi,Ni,Ma,Sch,Lu	Gouldamadine	Le,Ni,Da,Pa,Hz,Ge
Gr.Brachvogel	Le,Mi,Ni,Da,Ma,Hz,NN	Schwarzkopfnonne	Le,Ni,Da,Ge,Lu,NN
Sphenisciformes		Grünfink	Le
Humboldt-Pinguin	Le,Mi,Ni,Da,Ma,Ge,Lu	Blauflügelsonnenvogel	Le,Mi,Ni,Da,Hz,Oe
Humboldt-Pinguin	Le,Mi,Ni,Da,Ge,Lu,Oe	Jap.Mövchen	Le,Ni,Da,Ma,Hz
Humboldt-Pinguin	Ni,Da,Ma,Hz,Ge,Oe	Psittaciformes	
Humboldt-Pinguin	Le,Mi,Da,Hz,Lu,Zu	Bergsittich	Le,Mi,Ni,Da,Hz,Sch,Lu
Charadriiformes		Rosenköpfchen	Le,Ni,Da,Ma,Pa,Hz,Ge,Lu
Triel	Le,Mi,Ni,Ma,Hz	Königsittich	Le,Mi,Ni,Da,Ma,Ge
Möwe	Le,Mi,Ni,Da,Pa,Hz,Ge	Schönsittich	Le,Ni,Da,Ma,Hz,Lu
Aztekenmöwe	Mi,Ni,Da,Pa,Hz,Ge,Lu	Springsittich	Le,Mi,Ni,Da,Ma,Hz,Ge,Lu
Lachmöwe	Le,Mi,Ni,Lu,Oe	Ara	Le,Mi,Da,Ma,Hz,Ge,Lu,Oe
Columbiformes		Kubaamazonen	Le,Mi,Ni,Da,Ma,Lu
Taube	Le,Mi,Da,Pa,Ge,Lu,Oe	Kakadu	Le,Ni,Da,Ma,Pa,Hz,Lu
Steppenhuhn	Le,Mi,Ni,Ma,Hz,Lu	Kontrollen	
Strigiformes		Waschbär	Pa
Schnee-Eule	Le,Mi,Ni,Da,Ma,Pa	Salzkatze	Pa
Waldohreule	Ni,Da,Pa,Hz,Lu	Rotluchs	Pa
Passeriformes		Wolf	Ge,Hz
Kalabülbül	Le,Mi,Ni,Da,Hz,Ge	Wolf	Ge
Paradieswitwe	Le,Da,Hz,Ge,Lu,Oe	Wolf	Ge,Hz
Veilchenastrild	Le,Ni,Da,Hz,Sch,Ge,Lu	Saiga-Antilope	Le

3. 1. 2. 2 Kongorotfärbung

Zur Lokalisierung der Amyloidablagerungen in den Organen wurde an den vorbereiteten Schnitten die alkalische Kongorotfärbung (PUCHTLER et al., 1962) gemäß folgender Arbeitsvorschrift durchgeführt:

- 1) Entparaffinieren der Schnitte in Xylol zweimal für 5 Minuten, in absolutem Ethanol zweimal für je 2 Minuten und je einmal in 96%-, 80%- und 70%igem Ethanol für jeweils 2 Minuten. Anschließend Spülung in Aqua dest. für ebenfalls 2 Minuten.
- 2) Einbringen der Schnitte in gefiltertes Mayers Hämalaun für 10 Minuten zur Kernfärbung, anschließend dreimal Spülung in Aqua dest.

- 3) Einbringen der Schnitte für 20 Minuten in 100 ml filtrierte Puchtler-1-Stammlösung (1ml 1%ige Natronlauge zu 100 ml Stammlösung geben und filtrieren, vor Gebrauch frisch zubereiten).
- 4) Einbringen der Schnitte für 20 Minuten in Puchtler-2-Stammlösung (ebenfalls 100 ml mit 1ml 1%igem wässrigem Natriumhydroxid versetzt und filtriert).
- 5) Schnitte umgehend in 3 Ansätzen Ethanol entwässern, trocknen, in Xylol als Intermedium überführen und anschließend in Caedax eindecken.

3. 1. 2. 3 Histopathologische Auswertung

Die gefärbten Schnitte wurden unter dem Lichtmikroskop sowie unter polarisiertem Licht ausgewertet. Als positiv wurden Ablagerungen mit einem roten Farbton gewertet, der bei polarisationsoptischer Untersuchung aufgrund des für Amyloid charakteristischen Doppelbrechungseffektes in Grün umschlug.

Die Beurteilung der Kongorotreaktion erfolgte nach folgendem Schema:

- = keine Kongorotbindung
- G = vereinzelt Amyloidablagerungen in den Gefäßwänden
- + = vereinzelt Amyloidablagerungen im Gewebe
- ++ = starke Amyloidablagerungen im Gewebe
- +++ = sehr starke Amyloidablagerungen im Gewebe

3. 1. 3 Histochemische Untersuchung

3. 1. 3. 1 Vorbereitung des Untersuchungsmaterials

Die Vorbereitung des Materials erfolgte wie unter Punkt 3. 1. 2. 1

3. 1. 3. 2 Kaliumpermanganatoxidation

Zur Differenzierung des chemischen Typs der Amyloidose wurden von den in Tabelle 6 aufgeführten Vögeln und Organen Schnittpräparate mit einer Kaliumpermanganatlösung (WRIGHT et al., 1977; VAN RIJSWIJK und VAN HEUSDEN, 1979) nach folgender Arbeits-vorschrift vorbehandelt:

- 1) Entparaffinieren wie unter 3. 1. 2. 2
- 2) Einbringen in die unter 8. 2 d) aufgeführte Kaliumpermanganatlösung für 3 Minuten
- 3) Entfärben mit 5%iger Oxalsäure
Anschließend zweimal Spülung in Aqua dest.
- 4) weiter wie Kongorotfärbung ab Schritt 2)

3. 1. 3. 3 Histochemische Kontrollen

Als Negativkontrollen für die Differenzierung mittels Kaliumpermanganatoxidation wurden Pankreasschnitte mit Inselamyloid zweier adulter Feliden (Rotluchs, Salzkatze) sowie Schnitte mit Amyloidablagerungen in Hirnhaut und Herzen dreier Wölfe nach den unter 3. 1. 2. 2 und 3. 1. 3. 2 aufgeführten Methoden behandelt.

3. 1. 3. 4 Histochemische Auswertung

Die Auswertung erfolgte unter dem Lichtmikroskop. Dazu wurden die mit Kongorot gefärbten Schnitte mit und ohne Kaliumpermanganatoxidation miteinander verglichen. Ein Schnitt wurde als „kaliumpermanganat-sensitiv“ beurteilt, wenn das Amyloid ganz bzw. zu über 90 Prozent seine Affinität zu Kongorot verloren hatte.

3. 1. 4 Immunhistochemische Untersuchung

3. 1. 4. 1 Vorbereitung des Untersuchungsmaterials

Für die immunhistochemische Untersuchung wurden von den in Tabelle 7 aufgeführten Tieren 4 bis 5 µm dicke Schnitte angefertigt, auf Super Frost Plus-Objektträger aufgezogen und bei 45 °C im Brutschrank getrocknet. Am Tag vor der Durchführung der immunhistochemischen Färbung wurden die jeweiligen Schnitte noch einmal für einige Stunden bei 60 bis 65 °C im Brutschrank belassen.

Tab.7 Ausgewählte Vögel und verwendete Organe für die immunhistochemische Untersuchung

Vogelart	untersuchte Organe	Vogelart	untersuchte Organe
Anseriformes		Galliformes	
Kubapfeifgans	Le,Mi,Lu	Arabisches Steinhuhn	Le,Mi,Ni,Da,Ma,HZ,Oe
Schwarzhalsschwan	Le,Ni,Da	Schwarzkehlsteinhuhn	Le,Mi,Ni,Da,Ma,Pa,Sch
Schwanengans	Le,Mi,Lu	Straußenwachtel	Le,Ni,HZ
Graugans	Le,Da,HZ	Blauer Ohrfasan	Le,Mi,Ni,Da,Pa
Kasarka	Le,Lu	Chin.Ringfasan	Le,Mi,Ni,Da,Pa,HZ,Ge,Lu
Orinokogans	Ni,Da,Pa	Pfau	Le,Mi,Ni,Ge
Rotkopfgans	Mi,Ge,Oe	Gruiformes	
Rotkopfgans	Le	Lilfordkranich	Le,Mi,Ma,Ge
Eiderente	Le,Mi,HZ	Kronenkranich	Mi,Ni,Da,Sch,Ge
Hartlaubente	Le,Mi,Ni,Da,Ma,HZ	Grauhalskronenkranich	Mi,Ni,Da,Ma,Sch,Ge
Büffelkopfente	Le,Ni,HZ,Ge	Bleßhuhn	Le,Mi,Ni,Ge,Lu
Mittelsäger	Le,Ni,HZ	Großtrappe	Le,Mi,Ni,Sch,Ge
Kuckucksente	Mi,Ni,Da,Pa	Trappe	Le,Mi,Ma,Sch
Phoenicopteriformes		Gr.Brachvogel	Le,Mi,Ni,Da,Ma,HZ
Kubaflamingo	Le,Ni,Da,Ma,Sch,Ge	Charadriiformes	
Chileflamingo	Ni,Da,Ma,HZ,Ge,NN	Möwe	Le,Ni,Da,HZ,Ge,Lu
Rosaflamingo	Le,Mi,Ni,Da,Ma,HZ,Lu	Atztekenmöwe	Ni,Da,HZ,Ge,Oe
Jamesflamingo	Le,Mi,Ni,Da,Ma,HZ	Triel	Le,Ni,Ma,HZ,Lu
Chileflamingo	Auge	Columbiformes	
Pelecaniformes		Taube	Le,Mi,Da,HZ,Lu
Europ.Kormoran	Le	Strigiformes	
Ciconiiformes		Schnee-Eule	Mi,Ni
Nachtreiher	Le,HZ	Passeriformes	
Kuhreiher	Le,Mi,Ni	Kalabülbül	Le,Ni,Da,HZ,Ge,Lu
Rosa Löffler	Le,Mi,Ma,Pa,HZ,Ge,Lu	Paradieswitwe	Le,Da,HZ,Ge,Lu

Fortsetzung Tab. 7

Vogelart	untersuchte Organe	Vogelart	untersuchte Organe
Struthioniformes		Veilchenastrild	Le,Mi,Ni,Da,Hz,Ge,Lu
Nandu	Le,Mi,Da,Hz,Sch	Gouldamadine	Le,Ni,Pa,Hz,Ge,Lu
Falconiformes		Schwarzkopfnonne	Le,Da,Pa,Ge
Bussard	Le,Mi,Ni,Da,Hz	Grünfink	Le
Brahminenweih	Le,Ni	Blauflügelsonnenvogel	Le,Ni,Lu
Sphenisciformes		Kontrollen	
Humboldt-Pinguin	Mi,Da,Pa,Zunge	Saiga-Antilope	Le
		Salzkatze	Pa
		Waschbär	Pa
		Wolf	Hz,Ge
		Wolf	Hz

3. 1. 4. 2 Verwendete Antikörper

(1) Polyklonaler Kaninchenantikörper gegen Enten-AA-Protein:

Dieser Antikörper wurde uns von Dr. Nils Eriksen (University of Washington) zur Verfügung gestellt. Der lyophilisierte Antikörper wurde nach Vorschrift in 1 ml PBS gelöst, portioniert und in kleinen Fraktionen bei -20 °C bis zur Verwendung gelagert. Der Antikörper kam in einer Endverdünnung mit PBS von 1 : 3000 bis 1 : 4000 zum Einsatz.

(2) Monoklonaler Mausantikörper gegen humanes AA-Protein (mc 1):

Dieser Antikörper kam in Verdünnungen mit PBS von 1: 20 bis 1 : 320 zum Einsatz .

3. 1. 4. 3 Durchführung der Immunperoxidasetechnik

Für den immunhistochemischen Amyloidnachweis wurde der kommerziell erhältliche KIT „Omnitags“ verwendet, der auf folgendem Reaktionsablauf basiert:

Der eingesetzte Primäantikörper bindet sich an das im Präparat enthaltene Antigen. Der zugegebene, mit Biotin konjugierte, polyvalente Sekundäantikörper geht dann mit dem Primäantikörper eine feste Bindung ein. Dazu wird Peroxidase-konjugiertes StreptAvidin

gegeben, wobei die freien Valenzen des StreptAvidins sich fest an das Biotin des Sekundärantikörpers binden. Die Antigen-Antikörperreaktion wird mit einer Substrat-Chromogen-Reaktion sichtbar gemacht, wobei Diaminobenzidin als Chromogen eingesetzt wurde.

Die immunhistochemische Amyloiddarstellung erfolgte nach folgenden Arbeitsschritten:

- 1) Entparaffinierung wie unter 3. 1. 2. 2
- 2) Spülen der Schnitte in PBS für 10 Minuten
- 3) Inaktivierung der endogenen Peroxidase für 5 Minuten in 3 %igem H₂O₂
- 4) Spülen der Schnitte, dreimal in PBS für je 2 Minuten
- 5) Auftragen des Protein-Blockers auf die Schnitte für 5 - 10 Minuten
- 6) Inkubation mit dem Primärantikörper in oben genannten Verdünnungen in einer feuchten Kammer für 20 bis 30 Minuten
- 7) Spülung in PBS, dreimal für je 2 Minuten
- 8) Auftragen des Sekundärantikörpers, Inkubation der Schnitte für 30 Minuten in feuchter Kammer
- 9) Spülung in PBS, dreimal für je 2 Minuten
- 10) Auftragen des peroxidasemarkierten StreptAvidins, Inkubation der Schnitte für 30 Minuten in feuchter Kammer
- 11) Spülung in PBS, dreimal für je 2 Minuten
- 12) Inkubation der Schnitte in 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB) mit H₂O₂ in Aqua dest. für 10 bis 15 Minuten, je nach Farbentwicklung
- 13) Waschen der Schnitte in Aqua dest für 2 Minuten
- 14) Gegenfärben in Hämatoxylin für 1 bis 2 Minuten, anschließend unter fließendem Wasser Bläuen der Schnitte
- 15) Entwässern der Schnitte in der aufsteigender Alkoholreihe, anschließend in Xylol als Intermedium, Eindecken der Schnitte mit dem im KIT enthaltenen Mounting-Medium

3. 1. 4. 4 Immunhistochemische Kontrollen

Als Negativkontrollen dienten Pankreasschnitte mit Inselamyloid (Typ AE) von einer Salzkatze, einem Rotluchs und einem Waschbären, Schnitte von Herz- und Hirnhautamyloid

(Typ AS) von drei Wölfen sowie Leberschnitte von einer Graugans, in denen kein Amyloid enthalten war. Diese Schnitte wurden sowohl mit dem polyklonalen als auch mit dem monoklonalen Antikörper gegen Amyloid A inkubiert.

Als Positivkontrollen wurden Gewebsschnitte von Vögeln der Ordnung Anseriformes, Gruiformes und Phoenicopteriformes mit beiden Antikörpern gegen Amyloid A inkubiert, die schon von ZSCHIESCHE und LINKE (1989) mittels immunhistochemischer Charakterisierung als Typ AA identifiziert wurden.

Als weitere Kontrollen für die spezifische Bindung des monoklonalen bzw. polyklonalen Antikörpers dienten Leerpräparate. Diese wurden nicht mit dem Primärantikörper inkubiert, sondern während der Inkubation der restlichen Schnitte im Puffer belassen.

3. 1. 4. 5 Immunhistochemische Auswertung

Als positiv wurden in der Schnittebene liegende hell- bis dunkelbraun gefärbte Präzipitationsprodukte gewertet, die in den Kontrollschnitten nicht vorhanden waren.

Die Beurteilung der immunhistochemischen Reaktion erfolgte semiquantitativ nach folgendem Schema:

- = keine Farbreaktion
- # = unspezifische Braunfärbung nichtamyloider Strukturen
- + = schwache Färbung des Amyloids
- ++ = mäßige Färbung des Amyloids
- +++ = starke Färbung des Amyloids

3. 2 Ergebnisse

3. 2. 1 Aviäre Amyloidose

3. 2. 1. 1 Vorkommen und Häufigkeit

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden die Sektionsberichte von 8456 Vögeln aller vorhandenen Ordnungen analysiert. Grundlage dieser Untersuchungen bildeten die von 1970 bis 1992 in der damaligen Forschungsstelle für Wirbeltierforschung Berlin obduzierten Vögel.

Die Auswertung der Sektionsprotokolle in Hinblick auf Artzugehörigkeit, Geschlecht, Todesdatum mit besonderer Berücksichtigung der verschiedenen Jahreszeiten, Alter der Tiere (Jungtiere, subadulte und adulte Tiere), Haupt- und Nebenfunde führte zu folgenden Ergebnissen:

Im vorhandenen Sektionsgut wurde bei insgesamt 634 Tieren (7,5 %) eine Amyloidose diagnostiziert. Wie in Tabelle 8 dargestellt, traten in den einzelnen Vogelordnungen unterschiedliche Amyloidosehäufigkeiten auf. Eine hohe Amyloidose-Prävalenz zwischen 15 und 22 Prozent zeigten die Vögel der Ordnungen Anseriformes, Gruiformes, Charadriiformes und Phoenicopteriformes. Im Vergleich dazu stellten sich andere Vogelordnungen als relativ amyloidoseresistent dar, so z.B. Strigiformes mit 1,4 Prozent und Psittaciformes mit 0,9 Prozent. In 9 Ordnungen, die nur durch 2 (Gaviiformes) bis 40 Vögel (Piciformes) repräsentiert werden, fand sich kein Tier mit Amyloidose.

Innerhalb der höherfrequentierten Ordnungen sind einzelne Familien bzw. Gattungen bevorzugt von der Amyloidose betroffen. So zeichnen sich nach den vorliegenden Untersuchungen in der Ordnung Anseriformes vor allem die Gattungen Anserini (25,8 %) und Dendrocygnini (23,2 %) durch eine besonders hohe Amyloidhäufigkeit aus. Amyloidvorkommen zwischen 10,8 und 19,3 Prozent zeigen die Gattungen Aythyini, Mergini, Cairinini, Tadornini und Somateriini. Die Gattungen Anatini und Oxyurini weisen dagegen mit 5,6 bzw. 1,6 Prozent nur eine geringe Amyloidhäufigkeit auf (Tabelle 9).

Tab. 8 Festgestellte Häufigkeit der Amyloidose in verschiedenen Vogelordnungen

Ordnung		Gesamtzahl	Tiere mit Amyloidose	Prozent
Aves	Vögel gesamt	8456	634	7,5
Anseriformes	Gänsevögel	2573	389	15,1
Tinamiformes	Steißhühner	9	0	-
Phoenicopteriformes	Flamingos	230	51	22,2
Ciconiiformes	Stelzvögel	456	14	3,1
Pelecaniformes	Ruderfüßer	116	2	1,7
Struthioniformes	Laufvögel	122	3	2,5
Gaviiformes	Seetaucher	2	0	-
Podicipediformes	Lappentaucher	30	0	-
Sphenisciformes	Pinguine	231	7	3,0
Falconiformes	Greifvögel	341	9	2,6
Galliformes	Hühnervögel	840	29	3,5
Gruiformes	Kranichvögel	331	57	17,2
Charadriiformes	Wat-und	177	34	19,2
	Möwenvögel			
Columbiformes	Taubenvögel	222	5	2,3
Psittaciformes	Papageien	1181	10	0,9
Cuculiformes	Kuckucksvögel	32	0	-
Strigiformes	Eulen	222	3	1,4
Apodiformes	Seglervögel	7	0	-
Trochiliformes	Kolibris	3	0	-
Trogoniformes	Trogons	5	0	-
Coraciformes	Rackenvögel	20	0	-
Piciformes	Spechtvögel	40	0	-
Passeriformes	Sperlingsvögel	1266	21	1,7

Tab. 9 Amyloidhäufigkeit innerhalb der Ordnung Anseriformes

		*	**
Anserinae	Gänseverwandte		
Dendrocygnini	Pfeifgänse	23/99	23,2%
Anserini	Gänse	155/600	25,8%
Anatinae	Entenverwandte		
Tadornini	Halbgänse	50/263	19,0%
Anatini	Schwimmenten	24/429	5,6%
Somateriini	Eiderenten	12/62	19,3%
Aythiini	Tauchenten	46/424	10,8%
Cairinini	Glanzenten	52/302	17,2%
Mergini	Meerenten und Säger	23/150	15,3%
Oxyurini	Ruderenten	4/244	1,6%

* Tiere mit Amyloidose / Gesamtzahl

** Prozent

Eine geschlechtliche Prävalenz konnte bei diesen Untersuchungen ausgeschlossen werden. So lag bei insgesamt 634 untersuchten Vögeln mit Amyloidablagerungen der Anteil der männlichen Tiere bei 312 und der weiblichen bei 322.

In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich eine deutliche Altersprävalenz. Das heißt, bei einer Gesamtzahl von 634 Vögeln mit Amyloidose lag der Anteil der juvenilen bei 56 (8,8 %), der subadulten bei 35 (5,6 %) und der adulten Tiere bei 543 (85,6 %).

Bei Analyse der mit Amyloidose assoziierten Erkrankungen bzw. Todesursachen wurde zwischen häufig auftretenden Erkrankungen wie Tuberkulose, Mykosen, Gicht sowie anderen chronischen Entzündungen unbekannter Genese und anderen chronischen Infektionskrankheiten unterschieden. Die „anderen chronischen Entzündungen“ betrafen vor allem den Urogenitaltrakt, den Respirationstrakt sowie den Gastrointestinaltrakt (einschließlich Leber). Unter dem Begriff „sonstige chronische Infektionskrankheiten“ wurden alle sonstigen durch Viren, Bakterien und Parasiten verursachten chronischen Erkrankungen zusammengefaßt. Dem Begriff „idiopathische Amyloidosen“ wurden alle Fällen ohne erkennbare Begleiterkrankung zugeordnet.

Wie in Tabelle 10 dargestellt, ist die mit Abstand am häufigsten gefundene Erkrankung die aviäre Tuberkulose mit 21,3 Prozent, gefolgt von Mykosen mit 9,6 Prozent und Gicht mit 7,9 Prozent. Der Anteil anderer chronischer Entzündungen mit unbekannter Genese beträgt 17,4 Prozent und der sonstiger chronischer Infektionskrankheiten 15,4 Prozent.

Tab. 10 Häufigkeit der mit Amyloidose assoziierten Erkrankungen

Erkrankung	Anzahl	Prozent
Tuberkulose	135	21,3
Mykose / Aspergillose	61	9,6
Gicht	50	7,9
andere chronische Entzündungen	110	17,4
sonstige chronische Infektionen	98	15,4
Sekundäre Amyloidosen (gesamt)	454	71,6
Idiopathische Amyloidosen	180	28,4

Insgesamt liegt der Anteil von sekundären Amyloidosen mit einer Begleiterkrankung bei 71,6 Prozent. Demgegenüber steht der Anteil idiopathischer Amyloidosen ohne erkennbare Begleiterkrankung mit 28,4 Prozent.

Innerhalb der Gruppe „sonstige chronische Infektionskrankheiten“ spielen die durch Parasiten verursachten Erkrankungen mit einem Anteil von 58,1 Prozent (57 Tiere mit Parasitosen bei einer Gesamtzahl von 98 Tieren in dieser Gruppe) eine bedeutende Rolle. So konnte diese Erkrankungsgruppe nach Auswertung der Sektionsprotokolle in Ektoparasitosen und Endoparasitosen unterteilt werden. Die Ektoparasitosen wurden verursacht durch Milben bzw. Federlinge. Bei den Endoparasitosen konnte unterschieden werden zwischen:

- Drüsenmagenparasitosen, verursacht durch Nematoden (*Echinuria* spp., *Tetrameres* sp.) und Cestoden (*Gastrotaenia* spp.)
- Muskelmagenparasitosen, verursacht durch Nematoden (*Amidostomum* spp.)

- Darmparasitosen, verursacht durch Cestoden (*Dicrotaenia* spp., *Hymenolepis* spp.), Trematoden (*Notocotylus* spp., Askariden) und Protozoen

Unter den 57 Vögeln mit einer Parasitose als Begleiterkrankung befanden sich 31 Tiere mit einer Drüsenmagenparasitose, 2 Tiere wiesen Parasiten in Drüsenmagen und Muskelmagen und 6 Tiere in Drüsenmagen und Darm auf. Bei 3 Tieren wurde eine Muskelmagenparasitose und bei 12 Tieren eine Darmparasitose diagnostiziert. Bei lediglich 3 Tieren wurde die Parasitose durch Ektoparasiten verursacht. Der Befall mit Endoparasiten beschränkte sich auf Vögel der Ordnungen Anseriformes, Gruiformes und Phoenicopteriformes. Die Ektoparasitosen wurden bei einer Gouldamadine (Ordnung Sperlingsvögel), einem Waldkrapp (Ordnung Stelzvögel) und einem Ohrfasan (Ordnung Hühnervögel) diagnostiziert.

In Abbildung 1 ist noch einmal die Anzahl der durch die verschiedenen Endoparasiten verursachten Organveränderungen bei den untersuchten Vögeln dargestellt.

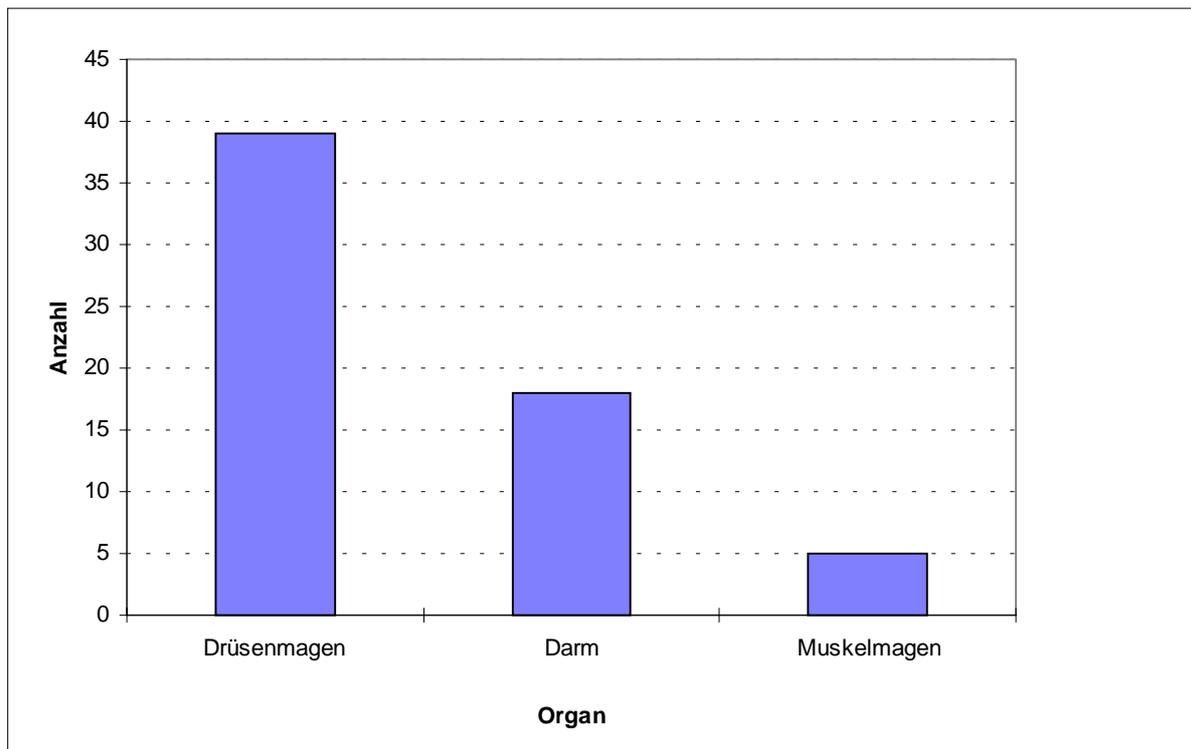


Abb. 1 Verteilung der durch Endoparasiten verursachten Organveränderungen

3. 2. 1. 2 Saisonalität

In Anlehnung an die Untersuchungen von ZSCHIESCHE und LINKE (1986) wurde bei Auswertung der Sektionsprotokolle der Ordnung Anseriformes das Todesdatum berücksichtigt. Um der Tatsache gerecht zu werden, daß sowohl juvenile als auch subadulte Vögel nur zu einem geringen Prozentsatz von Amyloidose betroffen sind, wurden die untersuchten Vögel zwei Altersgruppen (adult und juvenil/subadult) zugeordnet.

Abbildung 2 zeigt alle von 1970 bis 1992 seziierten adulten bzw. subadulten und juvenilen Anseriformes, geordnet nach dem jeweiligen Monat, in welchem die Obduktion durchgeführt wurde. Vergleichend dazu ist in Abbildung 3 die monatliche Verteilung der von 1970 bis 1992 seziierten Anseriformes mit befundeter Amyloidose, ebenfalls unterteilt in die Altersgruppen „adult“ und „subadult/juvenil“, dargestellt.

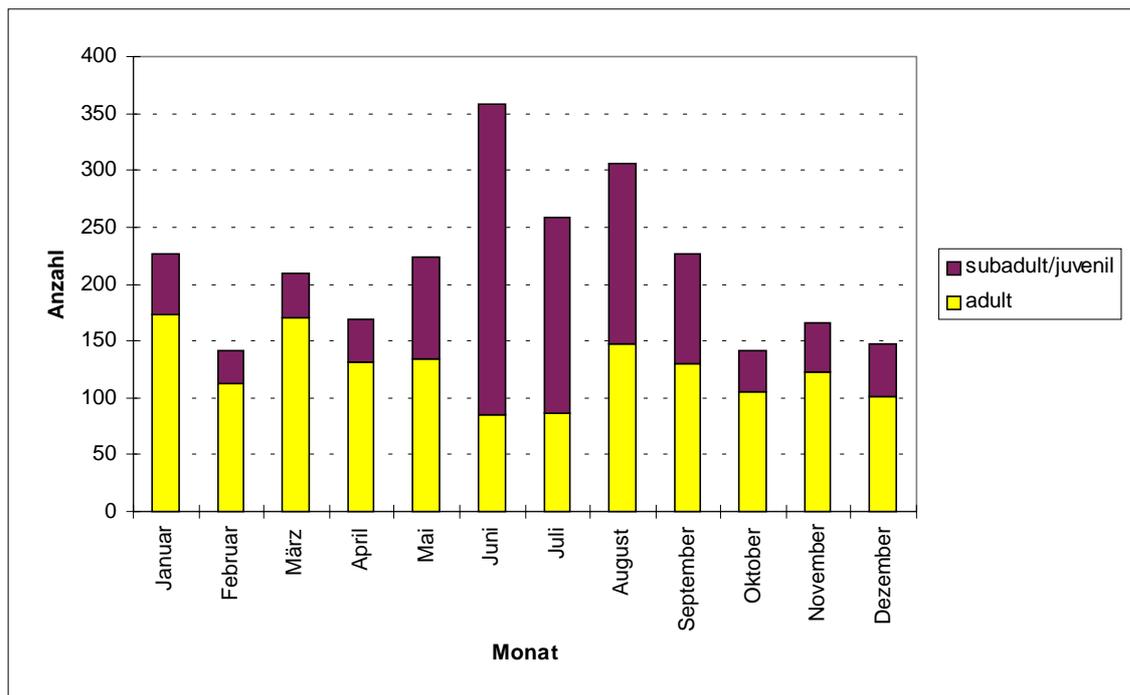


Abb. 2 Anzahl aller von 1970 bis 1992 obduzierten Anseriformes unter Berücksichtigung des Todeszeitpunktes sowie des Alters der Vögel

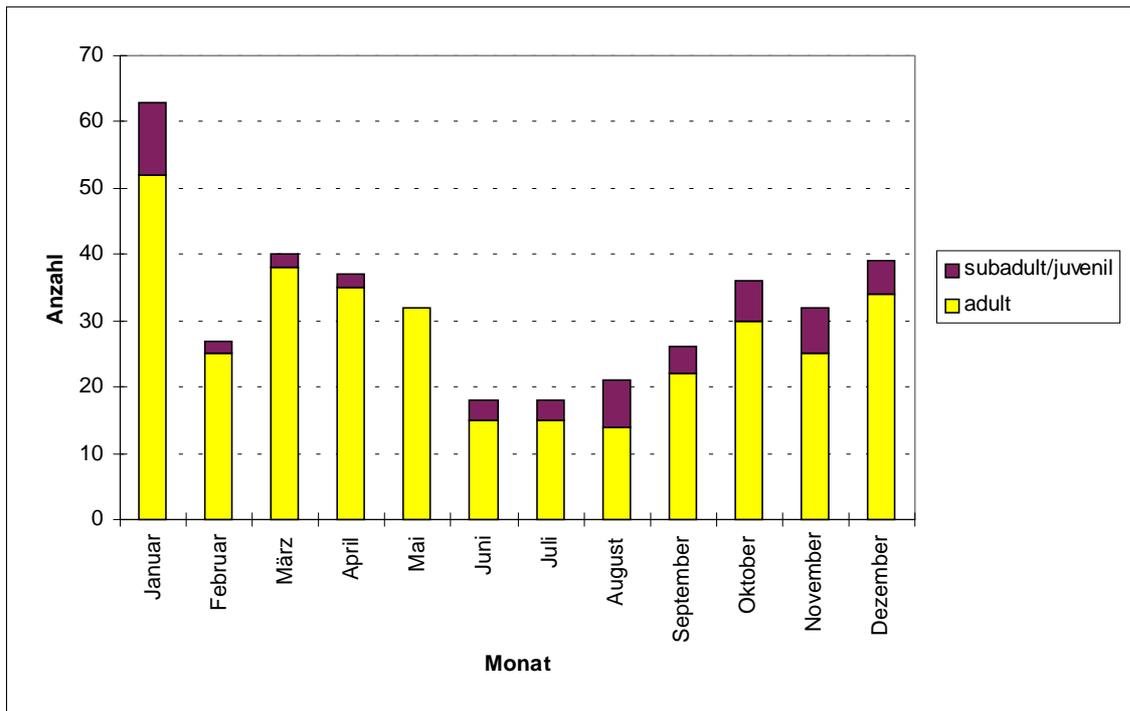


Abb.3 Anzahl aller von 1970 bis 1992 obduzierten Anseriformes mit dem Sektionsbefund „Amyloidose“ unter Berücksichtigung des Todeszeitpunktes sowie des Alters der Vögel

Wie aus Abbildung 2 ersichtlich, wurden in den Monaten Mai bis September insgesamt mehr Anseriformes seziiert als in den Wintermonaten, wobei der Anteil der subadulten bzw. juvenilen Tiere an der Gesamtzahl obduzierter Vögel in diesem Zeitraum ebenfalls höher liegt. Betrachtet man dagegen lediglich die saisonale Verteilung der Obduktionen adulter Vögel, ist ein Minimum in den Sommermonaten zu beobachten.

Abbildung 3 zeigt ein deutliches Maximum der Anzahl obduzierter Anseriformes mit dem Sektionsbefund „Amyloidose“ in den Winter- und Frühjahrsmonaten sowie ein Minimum in den Sommer- und Herbstmonaten.

3. 1. 2. 3 Amyloidlokalisation

Die Verteilung der von der Amyloidinfiltration am häufigsten betroffenen Organe zeigt die Abbildung 4.

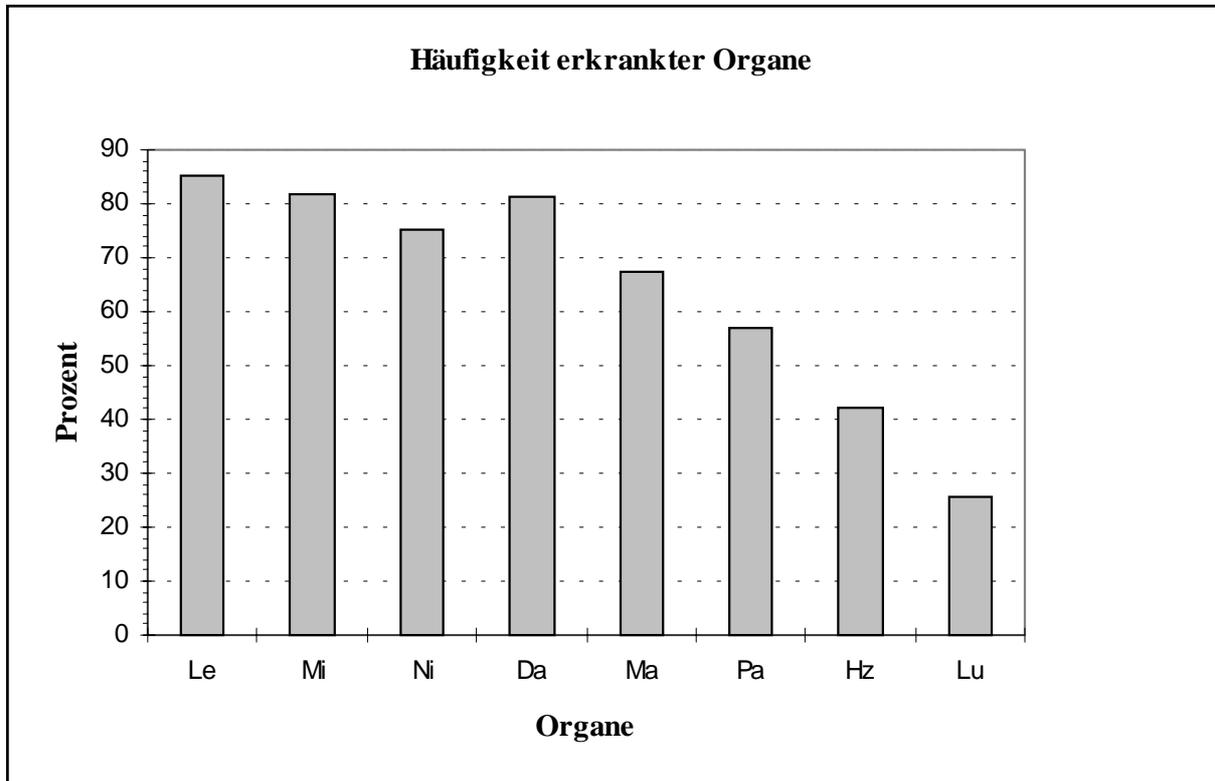


Abb. 4 Prozentuale Verteilung der Organlokalisationen der festgestellten Amyloidablagerungen

Amyloidablagerungen wurden häufig in Leber (siehe Anhang, Abb. 5-7), Milz, Nieren (siehe Anhang, Abb. 9-12), Gastrointestinaltrakt (siehe Anhang, Abb. 8) und Pankreas gefunden. Seltener waren Herz (siehe Anhang, Abb.13-14), Lungen, Schilddrüsen und Nebennieren betroffen. Als außergewöhnliche Lokalisationen seien hier Amyloidinfiltrationen in den Gefäßwänden der Leptomeninx und der Media von Hirngefäßen einer Rotkopfgans (siehe Anhang, Abb. 17) und eines Pfaus sowie in Gefäßwänden der Iris eines Chileflamingos (siehe Anhang, Abb. 15-16) genannt.

Die prozentuale Verteilung aller diagnostizierten Amyloidlokalisationen ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tab. 11 Amyloidhäufigkeit in untersuchten Organen

Organ	Zahl untersuchter Organe	Zahl mit Amyloidablagerungen	Inzidenz in Prozent
Leber	88	75	85,2
Milz	66	54	81,8
Darm	69	56	81,2
Nieren	77	58	75,3
Oesophagus	15	11	(73,3)*
Magen	46	31	67,4
Schilddrüse	16	10	(62,5)*
Pankreas	37	21	56,8
Herz	67	31	46,3
Lunge	51	13	25,5
Gehirn	46	2	4,4
Nebennieren	6	5	(83,3)*

* aufgrund der zu geringen Zahl untersuchter Organe nur grobe Näherungswerte

In der Leber fanden sich die Amyloidablagerungen in fortgeschrittenen Fällen sowohl diffus verteilt in den Disse'schen Räumen der Leberläppchen als auch herdförmig mit vorwiegend vaskulärer und perivaskulärer Verteilung. Bei beginnenden Amyloidinfiltrationen zeigten sich die Ablagerungen bevorzugt in den Wandungen arterieller und venöser Gefäßverzweigungen. Sehr starke Amyloidinfiltrationen waren oft mit Druckatrophie der Leberzellen und folglich mit Verdrängung und Untergang eines großen Teils des Leberparenchyms verbunden.

In der Milz traten bei geringgradigen Amyloidinfiltrationen die Ablagerungen fast nur in den Wänden arterieller Blutgefäße auf. In Fällen mit fortgeschrittener Amyloidinfiltration waren die Ablagerungen über die gesamte Pulpa verteilt.

In den Nieren traten die Amyloidablagerungen im interstitiellen Bindegewebe, in den Wänden der interlobalen Arterien, entlang der Basalmembran der renalen Tubuli oder in den Glomeruli auf.

In den Nebennieren waren die Amyloidablagerungen diffus im vaskulären und interstitiellen Gewebe verteilt, was zu einer Atrophie und manchmal zum Untergang der kortikalen Zellen führte.

Amyloidinfiltrationen wurden oft im Interstitium der Schilddrüse beobachtet. In fortgeschrittenen Fällen ging dabei die follikuläre Struktur der Schilddrüse aufgrund der Verdrängung durch die Amyloidmassen verloren.

In der Bauchspeicheldrüse waren die Amyloidinfiltrate bei minimaler Infiltration häufig nur in den Wänden kleiner Gefäße lokalisiert. In Fällen mit fortgeschrittener Amyloidinfiltration konnten die Ablagerungen herdförmig verteilt im Parenchym und seltener, bei massiven Infiltrationen, sogar in den Langerhansschen Inseln beobachtet werden.

Diffuse Amyloidablagerungen waren häufig in der Lamina propria, in der Submukosa und in den Gefäßwänden des Gastrointestinaltraktes auffindbar.

In Herz, Lunge und Gehirn waren die Ablagerungen in den meisten Fällen nur auf die Gefäßwände lokalisiert. In einigen seltenen Fällen war das Herz stärker betroffen, und die Ablagerungen zeigten sich auch zwischen einzelnen Muskelfasern.

3. 2. 2 Histopathologische Befunde

Die Ergebnisse der histopathologischen Untersuchung sind in Tabelle 12 zusammengefaßt.

Tab. 12 Ergebnisse der histopathologischen Untersuchung

Tier	Nr.	Le	Mi	Ni	Da	Ma	Pa	Hz	Sch	Ge	Lu	Oe	NN	sonst.
Anseriformes														
Kubapfeifgans	79/92	+++	+++											
Gelbe Pfeifgans	26/92	+++						-						
Herbstpfeifgans	751/90	+		-			-	-			-			
Höckerschwan	729/91	++												
Schwarzhalsschwan	431/90	+++		G	+++									
Singschwan	544/80	+++	+	+	+				++		-			
Schwanengans	252/79	++	+++	++							-			
Graugans	863/86	++			+++			++						
Bleßgans	868/87	+	++	+	+++	+		+			-	+		
Kanadagans	679/92		G											
Hawaiiigans	23/91		++	+++		+		+		-	+			
Paradieskasarka	188/86		++	++				G			+			
Austr.Kasarka	792/77	+++	+++		++		++	++			+	+		
Orinokogans	135/88	+++		+	G	G	G	+				-		
Rotkopfgans	616/92	+++												
Rotkopfgans	771/88	+++		-				+		++		++		
Kupferspiegelente	292/91	G	++	++	+	++		+			++			
Stockente	295/86	++	++	-	+++	++	+	-			-			
Spatelschnabelente	1163/92	G		G		-		-			-			
Eiderente	993/92	+	+++	+				+		-				
Peposakaente	701/83	++		+	+	+++	++	+	+++	-	++			
Rotaugenente	661/92		++	+++	++	+		+			+		+	
Halsringente	249/92			+	+		+			-				

Fortsetzung Tab. 12

Tier	Nr.	Le	Mi	Ni	Da	Ma	Pa	Hz	Sch	Ge	Lu	Oe	NN	sonst.
Am.Tafelente	755/79	++		-	+	-	-	-	-		-			
Kolbenente	865/92	++	+++	-	++		-				-			
Moschusente	1032/92	++	++	+	++			+			-			
Hartlaubente	119/79	+++	+++	++	++	++		+						
Mähnengans	61/79	+	++		++			-		-	-			
Brautente	216/77	++		+				-		-		-		
Schellente	1138/92	++	++	++	+++	++	++			-				
Büffelkopffente	255/86	+++		++				+		-				
Zwergsäger	386/86	-	++	-				-		-				
Mittelsäger	915/90	G		++	+++	+++	+++	G			-			
Gänsesäger	240/84	++			++			-		-	-			
Kuckucksente	795/83		+++	++	++			-			-			
Phoenicopteriformes														
Chileflamingo	19/89													Au ++
Chileflamingo	244/80		+++		+	++		++					++	
Rosa-Flamingo	124/81	++	+++	++	++	+++		++			++			
James-Flamingo	370/76	+++	+++	+++	+++	+++		+++						
Kubaflamingo	945/80	G		++	+++	++	+++		++	-				
Zwergflamingo	578/90	+	++			++	++	+	+	-				
Pelecaniformes														
Schlangenhalsvogel	624/72	-	+	-	-		-							
Ohrenscharbe	129/78	-	-		-		-	-		-				
Europ.Kormoran	131/78	+		-			-				-			
Kormoran	69/85	-	-	G	-	-	-	-		-	-			

Fortsetzung Tab. 12

Tier	Nr.	Le	Mi	Ni	Da	Ma	Pa	Hz	Sch	Ge	Lu	Oe	NN	sonst.
Ciconiiformes														
Kuhreiher	328/77	-		-		+					-			
Kuhreiher	301/77	+	-	+	-		-	-						
Nachtreiher	460/82	++		++	++			+		-				
Abdimsstorch	101/79	+	-		-	-	-			-	-			
Weißer Sichler	68/91	-	-		-	-	-	-	-		-			
Rosa Löffler	471/85	++	+++	+	+++	+	++	+		-	-	-		
Waldrapp	677/81	-	-	-		-		-			-			
Struthioniformes														
Nandu	723/74	+++		+++	++	++		+	+++					
Nandu	797/76	G		+	++			+		-	-			
Strauß	824/80	-						-		-	-			
Falconiformes														
Wüstenbussard	35/79	++	+++	++	-	-	G	-			-			
Keilschwanzadler	444/82	-	-	-	-		-	-				-		
Brahminenweih	624/78	++	++	++		-		-			-	+		
Sphenisciformes														
Humboldt-Pinguin	607/92	-	++	-	++	-				-	-			
Humboldt-Pinguin	747/92	++	++	++	++					-	-	++		
Humboldt-Pinguin	93/87			+	+	+		+		-		+		
Humboldt-Pinguin	544/88	++	++		++			+			-			Zu +++
Galliformes														
Arabisches Steinhuhn	602/90	+++	+++	+	+++	+++	+	+++			-			
Schwarzkehlsteinhuhn	1134/92	+	+++	-	++	+		-		-	-		-	

Fortsetzung Tab. 12

Tier	Nr.	Le	Mi	Ni	Da	Ma	Pa	Hz	Sch	Ge	Lu	Oe	NN	sonst.
Steinhuhn	30/90		+++	+	++	+++			++		+++			
Straußenwachtel	982/86	++		++	+++	+++		++						
Hauspute	628/70	G	-	-	-		-	-		-	-			
Brauner Ohrfasan	747/79	G	-		+	+	+	-	++	-				
Blauer Ohrfasan	17/76	++	+++	+	++	-	-	-		-				
Chin.Ringfasan	612/88	+++	++	+	+		+	-		-	+			
Pfau	822/91	G	+++	G	++					-				
Pfau	627/81	G	G	G	+	+			+	+		+		
Pfau	27/84	-	G	-	-	-	-	-						
Gruiformes														
Graukranich	242/90	G	++		+			-						
Lilfordkranich	768/78	+++	+++		-	-	-	-	-		?			
Jungfernkranich	576/88	++	+++	++		+++		-			-			
Grauhalskronenkranich	736/82	++	+++	++	+++	+			++	-				
Kronenkranich	658/80	++	+++	++	++				++					
Klunkerkranich	214/74	++		+						-	-			
Bleßhuhn	184/70	++	+++	++			+			-	-			
Großtrappe	358/91	++	+++	++	++									
Großtrappe	163/88	+	++	+		++		-	-	-				
Trappe	632/78	+	+++	-		+			-		-			
Gr.Brachvogel	905/84	++	+++	+++	+	++		-						
Charadriiformes														
Triel	140/71	++	++	++		+++		+						
Möwe	1131/92	+	+++	++	+++		++	++		-				

Fortsetzung Tab. 12

Tier	Nr.	Le	Mi	Ni	Da	Ma	Pa	Hz	Sch	Ge	Lu	Oe	NN	sonst.
Aztekenmöwe	239/77		-	++	++		+	-		-	-	-		
Lachmöwe	113/92	+	+++	++							-	+		
Columbiformes														
Taube	358/80	++	++		+++		-			-	+	++		
Steppenhuhn	693/80	-	-	-		-		-			-			
Strigiformes														
Schnee-Eule	586/76	-	-	G	-	-	-							
Waldohreule	28/71			+	++		+	+			+			
Passeriformes														
Kalabülbül	277/92	+	++	+	-			-		-				
Paradieswitwe	110/81	++			++			-		-	+	+		
Veilchenastrild	270/84	++		++	+			-	+++	-	+			
Gouldamadine	728/87	++		++	++		G	-		-				
Schwarzkopfnonne	380/74	++		-	+					-	-		++	
Grünfink	164/92	+++												
Blauflügelsonnenvogel	749/92	++	+	-	+			-				+		
Jap.Mövchen	256/86	G		++	+++	++		++						

Innerhalb der Ordnung Anseriformes waren alle untersuchten Vögel, die in Tabelle 6 aufgeführt sind, amyloidpositiv. Dabei zeigten sich die Amyloidablagerungen bei fast allen Tieren in mehr als nur einem Organ in unterschiedlicher Stärke.

Kein Amyloidnachweis gelang bei einer Ohrenscharbe (Ordnung Pelecaniformes), bei einem Abdimsstorch und einem Waldrapp (Ordnung Ciconiiformes), bei einem Strauß (Ordnung Struthioniformes) und einem Steppenhuhn (Ordnung Columbiformes). Bei allen anderen untersuchten Vögeln konnten unter dem Lichtmikroskop in den aufgeführten Organen rot bis orange gefärbte Amyloidablagerungen unterschiedlicher Intensität beobachtet werden, die bei Betrachtung im polarisierten Licht eine deutliche Doppelbrechung mit einem Farbumschlag in ein zweifarbiges Grün zeigten.

3. 2. 3 Histochemische Befunde

Parallel angefertigte Schnitte von allen in Tabelle 12 aufgeführten amyloidpositiven Organen wurden einer Oxidation mit Kaliumpermanganat unterworfen und anschließend mit Kongorot gefärbt. Dabei zeigten die mit Kaliumpermanganat behandelten Schnitte lichtmikroskopisch bei der Mehrzahl der Tiere einen vollständigen und bei den wenigen restlichen Tieren einen zu über 90%igen Verlust der Affinität der Amyloidablagerungen zum Kongorot. Auch der Doppelbrechungseffekt und Farbumschlag im polarisierten Licht gingen dabei verloren.

Demgegenüber wurden bei den als Negativkontrollen dienenden Pankreasinsel-Amyloidosen sowie Hirnhaut- und Herzamyloidablagerungen von ausgewählten Säugern kein Verlust der Affinität beobachtet. Alle Negativkontrollen zeigten auch nach Behandlung mit Kaliumpermanganat eine rote Farbe mit grünem Farbumschlag bei der Polarisation (vgl. Tabelle 13).

Tab. 13 Histopathologische und histochemische Ergebnisse der Kontrollschnitte

Kontrolltiere	Organ	Amyloidtyp	Kongorot	KMnO ₄
Waschbär	Pankreas	AE	++	++
Salzkatze	Pankreas	AE	++	++
Rotluchs	Pankreas	AE	++	++
Wolf	Ge, Hz	AS	++	++
Wolf	Ge	AS	+	+
Wolf	Ge, Hz	AS	+	+
Saiga-Antilope	Le	AA	++	-

3. 2. 4 Immunhistochemische Befunde

Von den in Tabelle 7 aufgeführten Vögeln und Organen wurden histologische Schnitte auf Amyloidablagerungen vom Typ AA mittels eines monoklonalen Antikörpers gegen humanes AA-Protein und eines polyklonalen Antikörpers gegen Enten-Amyloid-A untersucht.

Mit dem monoklonalen Antikörper, der in Verdünnungsstufen von 1 : 20 bis 1 : 320 eingesetzt wurde, konnte bei keinem der untersuchten Schnitte und mit keiner der angewandten Verdünnungsstufen ein positives Ergebnis erzielt werden. Bei den niedrigen Verdünnungsstufen waren die gesamten Schnitte unspezifisch braun gefärbt. Mit steigender Verdünnung verminderte sich die Braunfärbung, wobei sich jedoch auch die Amyloidstrukturen völlig entfärbten. Da auch die positiven Kontrollschnitte von einer Gans, einem Flamingo und einem Kranich negativ ausfielen, kann davon ausgegangen werden, daß keine Bindung zwischen dem monoklonalen DAKO®-Antikörper und dem Vogelamyloid auftrat.

Tab. 14 Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchung

Tier	Nr.	Le	Mi	Ni	Da	Ma	Pa	Hz	Sch	Ge	Lu	Oe	NN	sonst.
Anseriformes														
Kubapfeifgans	79/92	+++	+++								+++			
Schwarzhalssschwan	431/90	+++		+++	+++									
Schwanengans	252/79	++	++	-							++			
Graugans	863/86	+++			+++			+++						
Kasarka	792/77	++									#			
Orinokogans	135/88			+++	+++		++							
Rotkopfgans	771/88		+++							+++		-		
Rotkopfgans	616/92	++												
Eiderente	993/92	+++	+++					+++						
Hartlaubente	119/79	+++	++	+++	++	+++		+++						
Büffelkopfente	255/86	+++		+++				++		-				
Mittelsäger	915/90	+++		+++				++						
Kuckucksente	795/83		+++	+++	#		#							
Phoenicopteriformes														
Kubaflamingo	945/80	+		++	+++	++			+++	-				
Chileflamingo	244/80		++		+++	+++		++		-			++	
Rosaflamingo	124/81	++	++	++	+	++		++			#			
Jamesflamingo	370/76	++	++	++	+++	+++		+						
Chileflamingo	19/89													Au ++
Pelecaniformes														
Europ.Kormoran	131/78	+												
Ciconiiformes														
Nachtreiher	460/82	++						+						

Fortsetzung Tab. 14

Tier	Nr.	Le	Mi	Ni	Da	Ma	Pa	Hz	Sch	Ge	Lu	Oe	NN	sonst.
Kuhreiher	301/77	+	-	+										
Rosa Löffler	471/85	++	++			++	+++	++		-	-			
Struthioniformes														
Nandu	723/74	+++		+++	+++			++	+++					
Falconiformes														
Bussard	35/79	++	+	++	-			-						
Brahminenweih	624/78	++		+										
Sphenisciformes														
Humboldt-Pinguin	544/88		+++		+		-							Zu +++
Galliformes														
Arabisches Steinhuhn	1134/92	++	+++	#	+++	++		-					+++	
Schwarzkehlsteinhuhn	602/90	+++	+++	++	-	+++	+	++						
Straußenwachtel	982/86	++		++				++						
Blauer Ohrfasan	17/76	++	+++	++	++		+++							
Chin.Ringfasan	612/88	++	+	+	+		-	-		-	+			
Pfau	822/91	+	+++	+						-				
Gruiformes														
Lilfordkranich	768/78	+	++			+					++			
Kronenkranich	658/80		+	+	-				++	-				
Grauhalskronenkranich	736/82		++	++	++	+++			#	-				
Bleßhuhn	184/70	+++	+++	+++						-	-			
Großtrappe	163/88	#	++	#					-	-				
Trappe	632/78	#	++			+++			-					
Gr.Brachvogel	905/84	++	++	++	+	++		+						

Fortsetzung Tab. 14

Tier	Nr.	Le	Mi	Ni	Da	Ma	Pa	Hz	Sch	Ge	Lu	Oe	NN	sonst.
Charadriiformes														
Möwe	1131/92	++		++	#			+		-	#			
Atztekenmöwe	239/77			+++	+++			-		-		-		
Triel	140/71	+++		+++		+++		++			++			
Columbiformes														
Taube	358/80	++	++		++			-			+			
Strigiformes														
Schnee-Eule	586/76		-	+										
Passeriformes														
Kalabülbül	277/92	+		+	-			-		-	#			
Paradieswitwe	110/81	++			+			-		-	++			
Veilchenastrild	270/84	++	+	+	+			-		-	+			
Gouldamadine	728/87	++		+			+	-		-	++			
Schwarzkopfnonne	380/74	+++			#		#			#				
Grünfink	164/92	+												
Blauflügelsonnenvogel	749/92	++		+							#			
Kontrollen														
Saiga-Antilope	707/88	-												
Salzkatze	424/93						-							
Waschbär	96/96						-							
Wolf	10/95							-		-				
Wolf	325/85							-						

Der Antikörper gegen Enten-Amyloid-A wurde in Verdünnungsstufen von 1 : 200 bis 1 : 4000 getestet. Bei den niedrigen Verdünnungsstufen war der Anteil von unspezifischen Hintergrundfärbungen sehr hoch. Erst bei einer Verdünnung von 1 : 3000 konnte eine selektive Anfärbung des Amyloids erzielt werden. Die Verdünnung von 1 : 4000 zeigte nur noch eine sehr schwache Anfärbung der Amyloidstrukturen. In Tabelle 14 sind die Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchung mit dem Antikörper gegen Enten-Amyloid-A in einer Verdünnung von 1 : 3000 dargestellt.

Alle Schnitte, in denen schon mit Hilfe der Kongorotfärbung Amyloidablagerungen nachgewiesen wurden, reagierten bei immunhistochemischer Untersuchung positiv. Dabei gab es Unterschiede in der Stärke der positiven Reaktion. Amyloidablagerungen, die in der Kongorotfärbung schwach angefärbt waren, zeigten auch bei der immunhistochemischen Untersuchung nur eine hellbraune Färbung. Demgegenüber standen die kräftig rot gefärbten Amyloidablagerungen bei Kongorotfärbung, die bei immunhistochemischer Untersuchung als deutlich dunkelbraun gefärbtes Reaktionsprodukt darstellbar waren.

Organe mit starker Durchblutung (wie Lunge und Leber) zeigten bei immunhistochemischer Untersuchung z.T. unspezifische Hintergrundfärbungen, wodurch eine eindeutige Identifizierung des Amyloids nur schwer vornehmbar war.

Die positiven Kontrollschnitte reagierten bei diesen Untersuchungen eindeutig positiv, während bei keinem der negativen Kontrollschnitte Amyloid vom Typ AA nachgewiesen werden konnte. Auch die Amyloidablagerungen vom Typ AA in der Leber der Saiga-Antilope zeigten kein positives Ergebnis, wonach schlußfolgernd keine Kreuzreaktivität zwischen dem verwendeten Enten-Amyloid-Antikörper und dem Antilopenamyloid-Protein vorhanden war.

Betrachtet man die Lagerungsdauer des Paraffinmaterials anhand der Sektionsjahre, so kann festgestellt werden, daß selbst über 20 Jahre alte, in Paraffin eingebettete Gewebeproben noch stark positive Reaktionen aufzeigen. Die mit dem Antikörper reagierenden antigenen Strukturen sind demzufolge immer noch in reaktionsfähiger Form im Gewebe vorhanden und können auch noch Jahrzehnte nach dem Tod der Tiere retrospektiv mittels Immunhistochemie nachgewiesen werden.

Bei Vergleich der Ergebnisse der histopathologischen und der immunhistochemischen Untersuchung konnte beobachtet werden, daß die immunhistochemische Untersuchung im wesentlichen sensitiver als die Kongorotfärbung war. Mit Hilfe des Antikörpers konnten noch Amyloidablagerungen lokalisiert werden, die in kongorotgefärbten Schnitten nicht oder nur sehr schwach nachweisbar waren.

4 DISKUSSION

Die aviäre Amyloidose ist mit einer im untersuchten Material festgestellten Inzidenz von 7,5 Prozent eine relativ häufig auftretende Erkrankung bei Zoo- und Wildvögeln. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Untersuchungen verschiedener anderer Autoren, die über eine Amyloidhäufigkeit zwischen 4,1 und 8,3 Prozent berichteten (IPPEN und SCHRÖDER, 1972; KRAMER et al., 1980; ZSCHIESCHE und JAKOB, 1989). Amyloidvorkommen von unter 3,0 Prozent, wie sie von einigen Autoren beschrieben werden, könnten durch die geringe Anzahl untersuchter Tiere (CULJAK et al., 1983) bzw. durch den hohen Anteil von Vogelordnungen mit geringer Amyloidhäufigkeit im Untersuchungsgut zustande gekommen sein. So fand sich z.B. im Untersuchungsgut von GRINER (1983) wie auch von KRONBERGER und SCHÜPPEL (1972) ein sehr hoher Anteil von Vögeln der Ordnungen Psittaciformes und Passeriformes (vgl. auch Tabelle 4).

Tab. 15 Amyloidhäufigkeit bei Vögeln verschiedener Ordnungen

	1	2	3	4
Anseriformes	15,1%	16,4%	13,9%	5,2%
Phoenicopteriformes	22,2%	28,9%	-	0,0%
Gruiformes	17,2%	17,0%	5,6%	7,4%
Ciconiiformes	3,1%	3,3%	3,7%	1,1%
Galliformes	3,5%	6,2%	1,4%	0,6%
Falconiformes	2,6%	1,5%	2,0%	0,0%
Charadriiformes	19,2%	(11,1%)	-	1,1%
Columbiformes	2,3%	1,6%	1,6%	-
Passeriformes	1,7%	4,3%	0,0%	0,0%
Psittaciformes	0,9%	2,2%	0,0%	0,6%

1 - Eigene Untersuchungen

3 - Ippen, Schröder (1972)

2 - Zschiesche, Linke (1986)

4 - Fabian, Vetesi (1980)

In vorliegender Arbeit konnte die Amyloidose in 14 von insgesamt 23 untersuchten Vogelordnungen nachgewiesen werden. Ein Vergleich der eigenen Daten mit einigen Angaben aus der Literatur (Tabelle 15) zeigt Vogelordnungen mit jeweils hoher (z.B. Phoenicopteriformes und Anseriformes) und durchgehend niedriger Amyloidhäufigkeit (z.B. Psittaciformes,

Falconiformes und Passeriformes). Eine befriedigende Erklärung für die geringeren Amyloidvorkommen bei letztgenannten Ordnungen konnte bis heute nicht gegeben werden. Für bestimmte Ordnungen mit sehr niedriger Amyloidhäufigkeit bzw. ohne Amyloidvorkommen stand zudem nur ein zahlenmäßig geringes Untersuchungsmaterial zur Verfügung, so daß für diese Ordnungen keine zuverlässigen Angaben gemacht werden können.

Tab. 16 Amyloidosefrequenz innerhalb der Ordnung Anseriformes

	1	2	3	4
Anserinae				
Dendrocygnini	23,9%	5,6%	9,1%	20,0%
Anserini	25,8%	23,3%	24,9%	19,2%
Anatinae				
Tadornini	19,0%	21,4%	19,8%	17,5%
Anatini	5,6%	4,2%	4,4%	8,9%
Somateriini	19,3%	19,6%	13,6%	8,6%
Aythini	10,8%	12,3%	7,8%	4,7%
Cairinini	17,2%	20,0%	15,5%	10,1%
Mergini	15,3%	23,8%	23,5%	9,5%
Oxyurini	1,6%	4,3%	2,8%	3,3%

1 - Eigene Untersuchungen

2 - Zschesche, Linke (1986)

3 - Zschesche, Jakob (1989)

4 - Klös (1989)

Im untersuchten Sektionsgut konnte bei 15,1 Prozent der Ordnung Anseriformes eine Amyloidose diagnostiziert werden. In den Sektionsstatistiken anderer Autoren bewegt sich der Anteil der Amyloidose bei dieser Ordnung zwischen 2,9 Prozent (CULJAK et al., 1983) und 55,7 Prozent (SATO et al., 1981). ZSCHIESCHE und JAKOB (1989) beschrieben eine Amyloidhäufigkeit bei Anseriformes des Tierparks Berlin von 14,3 Prozent.

In vorliegender Untersuchung weisen die Gattungen Anserini (25,8 %), Dendrocygnini (23,9 %), Somateriini (19,3 %) und Tadornini (19,0 %) eine auffallend hohe Inzidenz auf. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Angaben anderer Autoren, die eine ähnliche Amyloidverteilung innerhalb der Ordnung Anseriformes beschreiben (Tabelle 16). Die abweichenden

Ergebnisse bei den Gattungen *Dendrocygnini* und *Mergini* von ZSCHIESCHE und LINKE (1986) und auch von ZSCHIESCHE und JAKOB (1989) könnten mit der Anzahl der untersuchten Tiere zusammenhängen. ZSCHIESCHE und LINKE untersuchten über einen Zeitraum von 4 Jahren 585 Vögel der Ordnung *Anseriformes* und ZSCHIESCHE und JAKOB über 6 Jahre 895 Vögel dieser Ordnung. Die eigenen Untersuchungen umfassen 2573 Vögel der Ordnung *Anseriformes* über einen Zeitraum von 23 Jahren.

SATO et al. (1981) stellten im Rahmen einer Untersuchung von 88 *Anatidae* eine höhere Amyloidhäufigkeit bei den *Anatinae* (Entenverwandte) als bei den *Anserinae* (Gänseverwandte) fest. In vorliegender Untersuchung konnte dagegen eine höhere Amyloidhäufigkeit bei den *Anserinae* als bei den *Anatinae* beobachtet werden (Tab. 16).

Übereinstimmend mit anderen Autoren (SATO et al., 1981; COWAN, 1968; KLÖS, 1989) ließ sich auch bei dieser Untersuchung keine Geschlechtsprädisposition feststellen. Männliche und weibliche Tiere waren zu gleichen Teilen von Amyloidablagerungen betroffen.

Demgegenüber konnte eine Altersprävalenz beobachtet werden. Küken und Jungvögel waren kaum betroffen. Diese Beobachtung deckt sich mit der von ESKENS et al. (1984), die eine Steigerung der Erkrankungen mit zunehmendem Lebensalter beschreiben und den Grund hierfür in der für die Krankheitsentstehung notwendigen Zeitdauer der Einwirkung amyloido-gener Faktoren vermuten.

Die Amyloidose der untersuchten Vögel tritt zu 71,6 Prozent als sogenannte sekundäre Form in Zusammenhang mit chronischen Erkrankungen auf. Am häufigsten wurde dabei in Übereinstimmung mit anderen Autoren (BRASSARD, 1965; SATO et al., 1981; KLÖS, 1989) die aviäre Tuberkulose beobachtet. Ebenfalls häufig in Verbindung mit Amyloidosen treten Mykosen, Gicht sowie andere chronische Infektionskrankheiten und Entzündungen auf. In der Gruppe der „sonstigen chronischen Infektionskrankheiten“ spielen die durch Parasiten verursachten Erkrankungen mit 58,1 Prozent eine große Rolle. Dabei konnte insbesondere bei den Ordnungen *Anseriformes*, *Gruiformes* und *Phoenicopteriformes* ein Befall mit Endoparasiten (Nematoden, Cestoden und Trematoden) festgestellt werden. Bevorzugtes Organ des Para-

sitenbefalls war in den meisten Fällen der Drüsenmagen mit Nematoden (*Echinuria* spp., *Tetrameres* sp.) und Cestoden (*Gastrotaenia* spp.).

Die Ergebnisse der Untersuchung zu den mit Amyloidose assoziierten Begleiterkrankungen scheinen die Theorie einer sekundären, systemisch reaktiven Amyloidose nach langandauernden, zehrenden Erkrankungen bei Vögeln zu bestätigen. Aufgrund der langen Verlaufs-dauer, sowohl der Amyloidose als auch der assoziierten Erkrankungen, ist jedoch nicht in jedem Fall abzuschätzen, ob letztere Ursache oder Folge der Amyloidose sind.

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von ZSCHIESCHE und LINKE (1986), die in ihrem Untersuchungsgut von einer Inzidenz der sogenannten idiopathischen Amyloidose zwischen 30 und 60 Prozent berichten, trat diese Form bei den von 1970 bis 1992 untersuchten Vögeln zu 28,4 Prozent auf. Als Ursache der idiopathischen Fälle sind zum Todeszeitpunkt nicht nachweisbare, infektiöse Erkrankungen oder andere morphologisch nicht erfaßbare Faktoren (Umwelteinflüsse, soziobiologische Faktoren) in Betracht zu ziehen. ZSCHIESCHE vermutete schon 1986, daß hinsichtlich der Amyloidgenese sowohl chronische Erkrankungen als auch psychosoziale Faktoren dem gleichen pathogenetischen Prinzip gehorchen. Letztere könnten ebenso über neuroendokrine Mechanismen wirksam werden, indem bei langdauernden Streßzuständen CRF (corticotropin-releasing-factor) ausgeschüttet wird, der über eine Aktivierung der Hypophysen-Nebennierenachse (ACTH - Cortison) zu einer Aktivierung von Makrophagen mit nachfolgender Interleukin-Freisetzung und damit zur vermehrten Bildung von Akute-Phase-Proteinen (einschließlich SAA) führt. Es erscheint daher auch unter dem Gesichtspunkt der immunhistochemischen Ergebnisse sinnvoll, sowohl die „sekundäre“ als auch die „idiopathische“ Amyloidose der Vögel als eine einheitliche reaktive Form aufzufassen.

Jahreszeitliche Erkrankungsgipfel, wie sie von ZSCHIESCHE und LINKE (1986) bzw. ZSCHIESCHE (1987) für die erste Jahreshälfte beschrieben wurden, konnten nach Zusammenfassung des Untersuchungszeitraumes 1970 bis 1992 ebenfalls beobachtet werden. Betrachtet man jedoch unter Berücksichtigung der Altersprävalenz der Amyloidose die Ergebnisse der Gesamtabduktionen in diesem Zeitraum, scheint die Aussage von ZSCHIESCHE und LINKE (1986) zum saisonalen Charakter der Amyloidose nicht gerechtfertigt, denn bei

der monatlichen Verteilung aller in diesem Zeitraum seziierten adulten Vögel zeigt sich auch ein Minimum in den Sommermonaten. Da die Amyloidose zudem ein chronischer Prozeß ist und die amyloidogenen Faktoren einen längeren Zeitraum auf die Tiere einwirken müssen, bevor sich Amyloidablagerungen manifestieren, kann bei der Sektion nicht sichergestellt werden, zu welchem Zeitpunkt sich die Amyloidfibrillen im Organismus abgelagert haben. Maßgebend für den Todeszeitpunkt waren außerdem in den meisten Fällen nicht die Amyloidose, sondern andere Erkrankungen, Traumata bzw. in einigen Fällen auch Euthanasien. ZSCHIESCHE und LINKE (1986) suchen die Ursachen für eine erhöhte Inzidenz im Winterhalbjahr in soziobiologischen (z.B. gesteigerte Populationsdichte im Winterquartier) bzw. physikalischen Einflüssen (z.B. verminderte Helligkeitsdauer am Tag für exotische Vögel und Zugvögel). Darüberhinaus scheint die Erkrankungsrate bei Tieren, die unter natürlichen Bedingungen einen hohen Anteil an tierischem Protein mit der Nahrung aufnehmen (Somateriini, Mergini), in Menschenobhut jedoch vorwiegend pflanzliches Futter erhalten, besonders hoch. Bekanntermaßen adaptionsfähige Gattungen wie Anatini und Oxyurini sind dahingegen oft frei von Amyloidose. Sollten einige der genannten Umweltfaktoren tatsächlich eine Rolle in der Pathogenese der Amyloidose spielen, wäre dies eine durchaus plausible Erklärung für einen Erkrankungsgipfel in den Winter- und Frühjahrsmonaten. Eine erhöhte Amyloidoseinzidenz in den Wintermonaten bei der Ordnung Charadriiformes, insbesondere bei Möwen, könnte mit dem Einzug dieser Vögel in die städtischen Gebiete in dieser Zeit zusammenhängen. Aufgrund des Lebensraumwechsels in den Wintermonaten (von Gewässern in die Städte) werden in dieser Zeit auch wesentlich mehr tote Tiere gefunden und zur Sektion gebracht. Damit werden in den Wintermonaten insgesamt mehr Sektionen von spontan verstorbenen Möwen durchgeführt, und der Anteil der Amyloidose steigt in diesem Zeitraum proportional an.

Die Lokalisation der Amyloidablagerungen im Untersuchungsgut unterscheidet sich nicht von den von anderen Untersuchern beschriebenen Lokalisationen (SATO et al., 1981; KLÖS, 1989). Die am häufigsten betroffenen Organe waren Leber, Milz, Gastrointestinaltrakt und Nieren, gefolgt von endokrinen Organen wie Schilddrüse, Pankreas und Nebennieren. Seltener fanden sich Ablagerungen in Herz und Lunge. Im Gehirn konnten trotz einer relativ hohen Anzahl untersuchter Organe nur bei zwei Vögeln Amyloidinfiltrationen nachgewiesen werden. Diese beschränkten sich auf die Gefäßwände der Leptomeninx und die Media von

Hirngefäßen. Die Amyloidablagerungen im Auge eines Flamingos müssen hier als Zufallsbefund gewertet werden, da bei keinem anderen Tier eine histologische Untersuchung der Augen auf Amyloid erfolgte. Dieser Befund zeigt, daß Amyloidablagerungen auch in diesem Organ vorkommen können, so daß bei Vorliegen einer generalisierten Amyloidose auch eine Mituntersuchung der Augen angezeigt erscheint. Dasselbe trifft auf die Organe Pharynx, Speicheldrüsen und Haut zu, die bei Routinesektionen im allgemeinen nicht histologisch untersucht werden und demzufolge für diese Untersuchungen nicht zur Verfügung standen.

Bei 85,4 Prozent der histopathologisch untersuchten Vögel traten die Amyloidablagerungen in mehr als einem Organ auf. Leber, Milz oder Nieren waren dabei mit Ausnahme eines Kuhu- reihers immer betroffen. Dieses Verteilungsmuster entspricht dem der systemischen Amy- loidose.

Amyloidablagerungen beginnen stets in den Gefäßwänden und dehnen sich dann auf das Parenchym der betroffenen Organe aus, bis eine diffuse Verteilung erreicht ist. Zu diesem Schluß kommt man bei Betrachtung der verschiedenen Stadien der Amyloidinfiltration. Bei Ablagerungen im Anfangsstadium (meist Leber bzw. Milz) sind ohne Ausnahme die Gefäß- wände betroffen. Betrachtet man fortgeschrittene Fälle, so finden sich neben Gefäßwand- infiltraten auch Ablagerungen im Parenchym der Organe, welche bei hochgradiger Infiltration zu Verdrängung und Druckatrophie des betreffenden Gewebes führen.

Die Charakterisierung des aviären Amyloidproteins wurde in dieser Untersuchung retro- spektiv an formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Organmaterial mittels histo- chemischer und immunhistochemischer Methoden vorgenommen. Schon ZSCHIESCHE und LINKE nutzten 1989 diese Methoden, um Amyloidprotein vom Typ AA bei 6 Vögeln der Ordnungen Anseriformes, Phoenicopteriformes und Gruiformes nachzuweisen. In vor- liegender Arbeit wurden zusätzlich zu diesen Ordnungen Vertreter weiterer 10 Vogelord- nungen auf Amyloidprotein A untersucht. Dabei zeigten bei der histochemischen Unter- suchung alle Vögel ein eindeutig positives Ergebnis, d.h., alle Schnitte verloren nach Kalium- permanganatoxidation zu mindestens 90 Prozent ihre Affinität zum Kongorotfarbstoff und konnten damit dem Amyloidtyp AA zugeordnet werden. Dieses Ergebnis wurde durch die immunhistochemische Untersuchung unter Verwendung eines Antikörpers gegen Enten-

Amyloid-A bestätigt, bei der alle untersuchten Amyloidablagerungen (sowohl „sekundäre“ als auch „idiopathische“) eine eindeutig positive Reaktion zeigten und demzufolge nach immunhistochemischen Kriterien als Typ AA charakterisiert werden konnten.

Die Farbreaktionen und auch die unspezifischen Hintergrundfärbungen fielen sowohl bei den verschiedenen Tieren als auch bei den untersuchten Organen eines Tieres unterschiedlich stark aus, was auf folgende Ursachen zurückgeführt werden kann:

Unspezifische Hintergrundfärbungen traten auf durch

- endogene Peroxidaseaktivität, vor allem in roten und weißen Blutkörperchen (Untersuchung sehr stark durchbluteter und entzündlich veränderter Organe),
- Anlagerung von Proteinen (Antikörper) an zu stark geladene Kollagen- und Bindegewebs-elemente der Präparate,
- Fixierung mit ungepuffertem Formalin und zu lange Fixierung,
- zu dicke Schnitte oder Gewebsartefakte, die zu Anlagerung der Reagenzien zwischen den Zellschichten führen (Notwendigkeit dickerer Schnitte sowie Auftreten von Gewebs-artefakten bei Material, das nicht frisch zur Sektion kam).

Ein falschpositives Ergebnis trat zudem bei nekrotischen oder zerquetschten sowie auto-lytischen Zellen und hämorrhagischem Gewebe auf, was aufgrund der Begleiterkrankungen relativ häufig vertreten war.

Bei Vergleich mit der Kongorotfärbung kann die Immunhistochemie als sensitiver betrachtet werden, da minimale Amyloidablagerungen, welche bei der polarisationsmikroskopischen Untersuchung kongorotgefärbter Schnitte nur schwer identifiziert werden konnten, mit immunhistochemischer Färbung klar erkennbar waren.

Die Immunhistochemie ist nach vorliegender Untersuchung eine routinemäßig anwendbare Methode zur sicheren Klassifizierung der Amyloidform und kann, sofern ein geeigneter Anti-körper zur Verfügung steht, auch retrospektiv über Jahrzehnte hinweg erfolgreich an Paraffin-schnitten angewendet werden. Da fast das gesamte autoptische Routinematerial an wissen-schaftlichen Institutionen fixiert vorliegt, ist die Anwendbarkeit dieser Methode an fixierten Paraffinschnitten besonders wichtig.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Hauptzielstellung dieser Arbeit war es, Aufschlüsse über Vorkommen und Verteilung der Amyloidose bei Zoo- und Wildvögeln zu gewinnen, deren Beziehungen zu anderen Erkrankungen und Einflüssen zu analysieren und das Amyloidprotein von Vögeln histochemisch und immunhistochemisch zu charakterisieren.

Für diese Untersuchungen, die am Institut für Zoo- und Wildtierforschung Berlin durchgeführt wurden, standen sowohl die Sektionsprotokolle als auch in Paraffin eingebettete Organproben aller zwischen 1970 und 1992 seziierten Vögel zur Verfügung.

Im ersten Teil der Arbeit wurden die Sektionsberichte von 8456 obduzierten Vögeln ausgewertet, die sich auf 23 Ordnungen verteilten. Die Sektionsprotokolle von Vögeln mit befundeter Amyloidose wurden in Hinblick auf Artzugehörigkeit, Geschlecht, Todesdatum, Alter sowie vorliegende Erkrankungen bzw. Todesursachen analysiert.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde versucht, das Amyloidprotein histochemisch und immunhistochemisch zu charakterisieren. Für die histochemische Untersuchung an 100 aus 13 Ordnungen ausgewählten Vögeln wurde die Kaliumpermanganatmethode nach WRIGHT et al. (1977) eingesetzt, mit der es möglich ist, das Amyloidprotein AA aufgrund des Verlustes der Kongorotbindung nach Kaliumpermanganatoxidation von anderen Amyloidproteinen abzugrenzen. Hierzu wurden die mit Kaliumpermanganat vorbehandelten Schnitte mit Kongorot gefärbt und anschließend mit kongorotgefärbten Parallelschnitten ohne vorherige Kaliumpermanganatoxidation verglichen. Ein Schnitt wurde bei 90 bis 100%igem Verlust der Kongorotfärbung als „kaliumpermanganat-sensitiv“ gewertet und konnte dementsprechend dem Amyloidtyp AA zugeordnet werden. Für die immunhistochemische Charakterisierung des Amyloidproteins an 50 ausgewählten Vögeln aus den 13 Ordnungen fand die Immunperoxidasetechnik Anwendung, wobei ein kommerziell erhältlicher monoklonaler Antikörper gegen humanes Amyloid A und ein gegen Entenamyloid A gerichteter polyklonaler Kaninchenantikörper zum Einsatz kamen. Als positiv wurden in der Schnittebene liegende hell- bis dunkelbraun gefärbte Präzipitationsprodukte gewertet.

Aus den Ergebnissen der durchgeführten Untersuchungen können folgende Schlußfolgerungen gezogen werden:

1. In teilweiser Bestätigung der Untersuchungen anderer Autoren sind von der Amyloidose bevorzugt die Ordnungen Anseriformes, Phoenicopteriformes, Gruiformes und Charadriiformes betroffen, wobei innerhalb dieser Ordnungen wiederum Häufungen in einzelnen Familien bzw. Gattungen auftreten.
2. Nach den Ergebnissen dieser Untersuchungen ist das Winter- und Frühjahrsmaximum sowie das Sommer- und Herbstminimum im Auftreten der Amyloidose nur ein scheinbarer Effekt. Da unter Berücksichtigung der Altersprävalenz der Amyloidose in den Sommermonaten auch weniger adulte Tiere als in den Wintermonaten obduziert wurden, sowie Beginn und Verlauf der Amyloidbildung aufgrund der Chronizität dieser Erkrankung bei der Autopsie nicht bestimmbar sind, läßt sich ein saisonaler Verlauf der Amyloidose mit einem Winter-/ Frühjahrgipfel nicht verifizieren.
3. Die aviäre Amyloidose tritt in der Mehrzahl der Fälle als sogenannte sekundäre Form in Zusammenhang mit einer chronischen Infektion oder Entzündung auf. Idiopathische Amyloidosen, ohne erkennbare Begleiterkrankung, wurden zu 28,4 Prozent beobachtet. Da nach bisherigen Erkenntnissen beide Formen hinsichtlich ihrer Entstehung einem gleichen oder ähnlichen pathogenetischen Mechanismus unterliegen dürften, erscheint es gerechtfertigt, beide Formen als reaktive Amyloidosen zu betrachten.
4. Das Verteilungsmuster der Amyloidablagerungen entspricht bei allen untersuchten Vögeln dem der systemischen Amyloidose. In der Mehrzahl der untersuchten Fälle traten die Amyloidablagerungen in mehr als einem Organ auf, wobei vorrangig Leber, Milz und Nieren betroffen waren.
5. Nach den histochemischen und immunhistochemischen Untersuchungen gehören die bisher untersuchten Amyloidosen der Vögel zum Typ AA, d.h., der Fibrillenanteil leitet sich in allen Fällen von dem Akute-Phase-Protein SAA ab.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die reaktive, systemische Amyloidose vom Typ AA die dominierende, bisher einzig bekannte Amyloidoseform bei Vögeln darstellt.

SUMMARY

Zöllner, A. (1997), Studies about amyloidosis in captive and wild birds, with special regard to the histochemical and immunohistochemical characterization of the avian amyloid protein.

The aim of these studies was to obtain more detailed information on the occurrence and distribution of amyloidosis in captive and wild birds, to analyse the relationship of amyloidosis to other diseases and influential factors, and to characterize the avian amyloid protein histochemically and immunohistochemically.

The studies were performed at the Institute for Zoo and Wildlife Research in Berlin. Their basis were post-mortem reports and a diversity of organ specimens embedded in paraffine wax from birds autopsied between 1970 and 1992.

The post-mortem reports on 8456 autopsied birds belonging to 23 avian orders were analysed in the first part of this study. All records on birds with the diagnose amyloidosis were evaluated in relation to species, sex, date of death, accompanying diseases and causes of death.

The object of the second part of this study was to performe a histochemical and immuno-histochemical characterization of the amyloid protein. For the histochemical examinations the potassium permanganat reaction (WRIGHT et al., 1977) was used on 100 selected birds from 13 orders. This method is suitable for distinguishing the amyloid protein AA from other varieties of amyloid on the basis of a strongly reduced or lost Congo red binding after exposure to potassium permanganate. For this distinction, tissue sections pretreated with potassium permanganat were stained with Congo red and compared with parallel sections without potassium permanganat exposure. Amyloid was considered permanganat-sensitive (and identified as amyloid AA protein) if all amyloid deposits present in the tissue section totally or nearly totally (with more than 90 % loss) lost their Congo red affinity. The immuno-peroxidase technique (with diaminobenzidine as the chromogen) was used for immuno-histochemical characterization of the amyloid protein on 50 selected birds from 13 orders. As primary antibodies a commercially available monoclonal human anti-AA antibody and a

polyclonal rabbit anti-duck amyloid-A antibody were applied. By using appropriate controls, all deposits in the tissue sections showing a light to dark brown colour were identified als amyloid-A positive.

The results of these examinations can be summarized as follows:

1. In partial confirmation of studies performed by other authors the avian orders *Anseriformes*, *Phoenicopteriformes*, *Gruiformes* and *Charadriiformes* were shown to be especially prone to amyloidosis. Differences in the incidence of amyloidosis were found also among families, genera and tribes within these orders.
2. According to the results of these studies, the somewhat higher incidence of amyloid occurrence in winter and spring, as compared with the summer and autumn months, can not be considered as evidence for a true seasonal variation, as it was claimed by some other authors. In considering the age of the birds, a distinctly higher proportion of young birds with a very low incidence of amyloidosis was generally autopsied in summertime as compared to wintertime. In addition, beginning and course of amyloidosis can not be determined at autopsy due to the chronicity of this disease. Taking into account all these circumstances, a seasonal character of amyloidosis with a peak value in winter and spring can not reliably be demonstrated with certainty.
3. Avian amyloidosis occurred as so-called secondary form associated with chronic diseases or inflammations in the majority of cases. Idiopathic amyloidosis without a recognizable accompanying disease was found in 28,4 % of all cases. According to present knowledge, the two formes can be identified as a reactive amyloidosis which seems to be caused by the same or a similar pathogenetic mechanism.
4. The distribution pattern of the amyloid deposits is consistent with that of the systemic amyloidosis. Amyloid deposits occurred in more than one organ in most cases. Primarily involved were liver, spleen and kidneys.
5. According to the histochemical and immunohistochemical studies the avian amyloid examined belongs to the type AA. That means that the amyloid fibrils are derived from the acute phase protein SAA in all cases.

In conclusion, it can be stated that all cases of amyloidosis in birds hitherto examined are of the reactive type or type AA.

6

ABBILDUNGEN

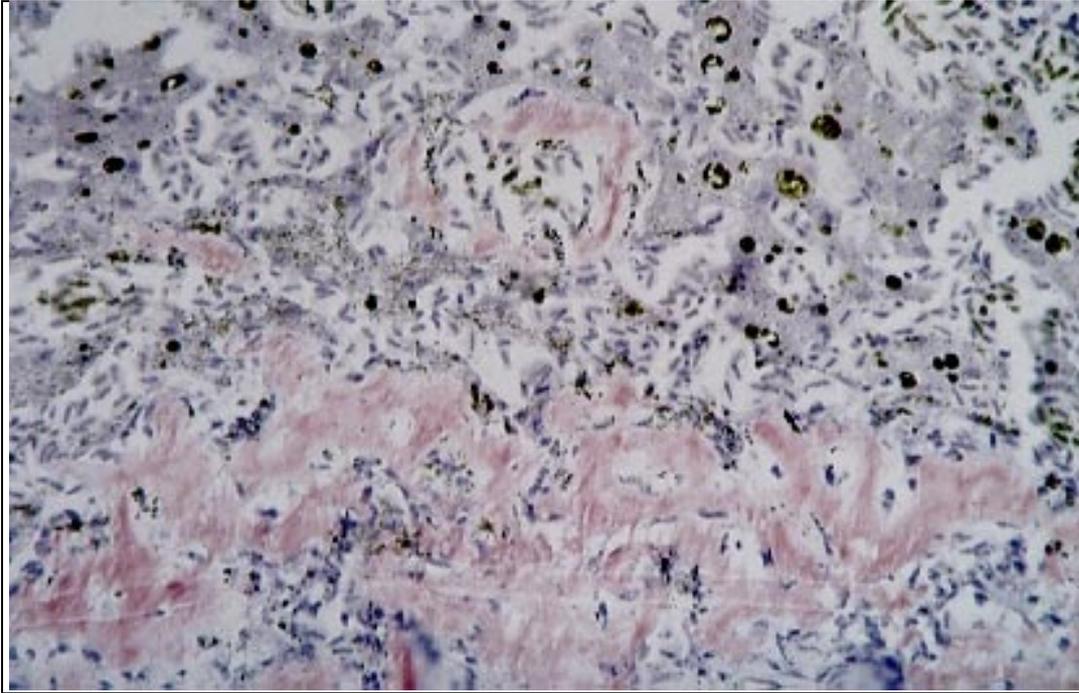


Abb. 5: Lichtmikroskopische Darstellung von mit Kongorot gefärbten Amyloidablagerungen in der Leber eines Mittelsägers (400fache Vergrößerung)

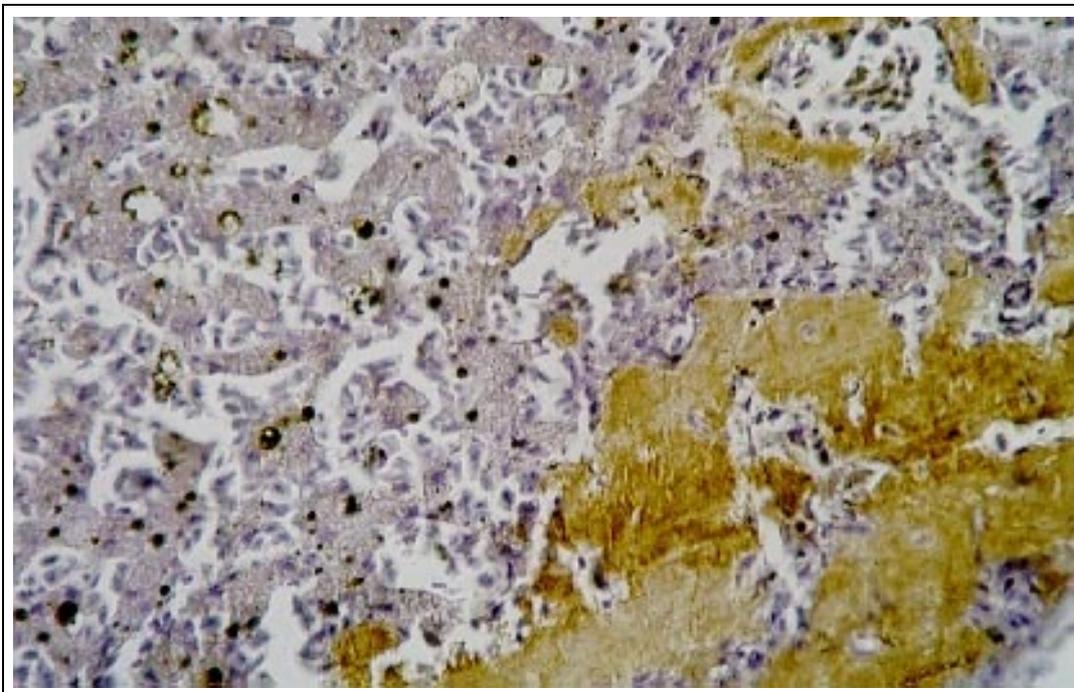


Abb. 6: Immunhistochemische Darstellung der Amyloidablagerungen desselben Falles (vgl. Abb.5)

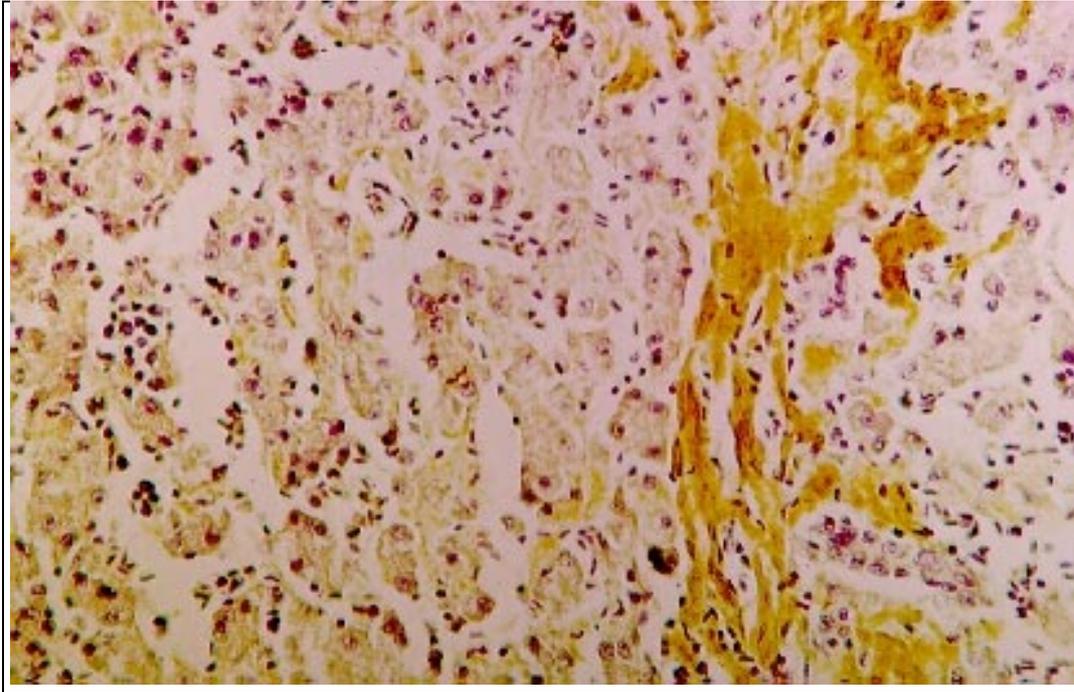


Abb. 7: Immunhistochemische Darstellung des Leberamyloids bei einem Astrild (400fache Vergrößerung)

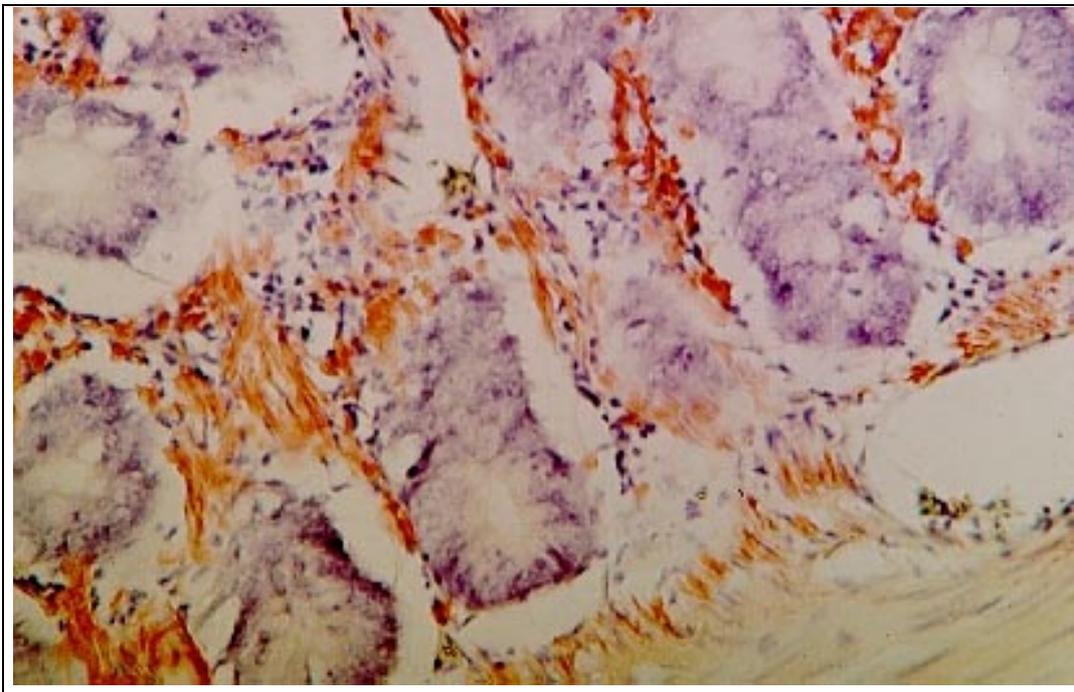


Abb. 8: Lichtmikroskopische Darstellung von Amyloidablagerungen in der Darmschleimhaut eines Schwarzhalsschwanes (Kongorotfärbung, 400fache Vergrößerung)

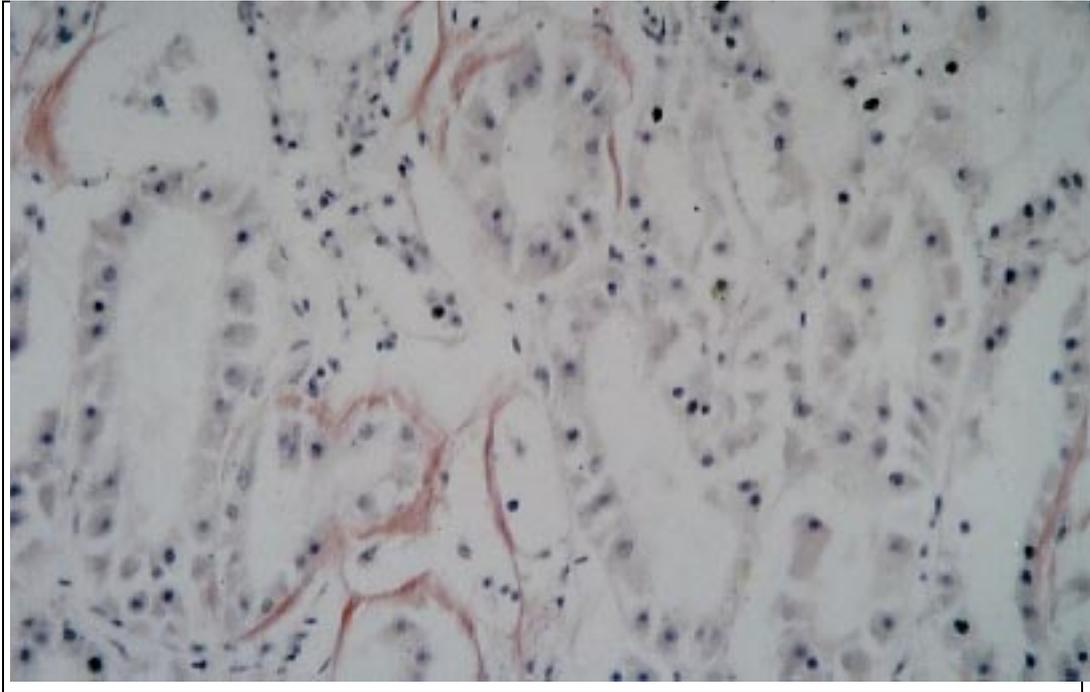


Abb. 9: Lichtmikroskopische Darstellung von Amyloidablagerungen entlang der Basalmembranen der Tubuli in der Niere eines Bussards (Kongorotfärbung, 400fache Vergrößerung)

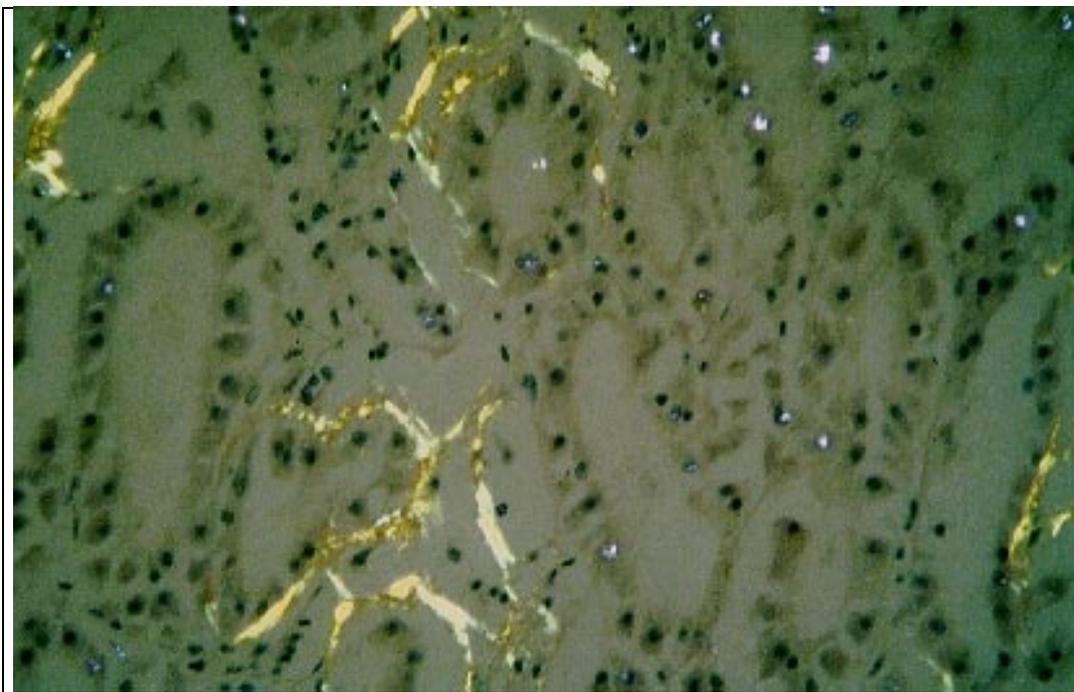


Abb. 10: Gleiche Lokalisation wie in Abb.9 bei Betrachtung unter dem Polarisationsmikroskop

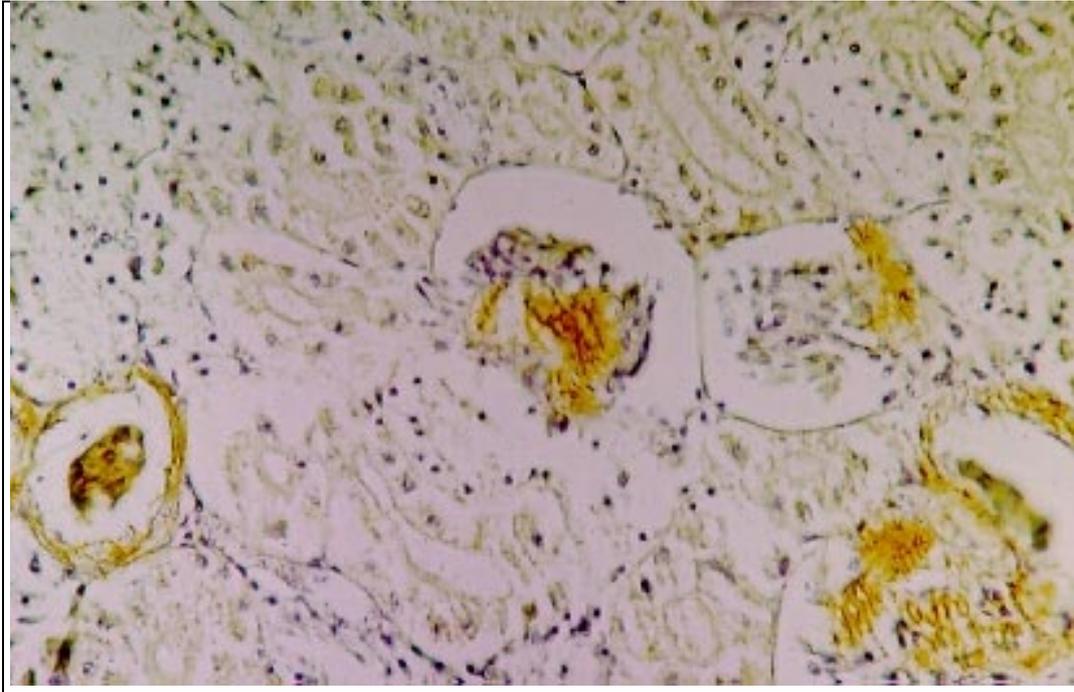


Abb. 11: Immunhistochemische Darstellung von Amyloidablagerungen in den Gefäßwänden und Glomeruli der Niere eines James-Flamingos (400fache Vergrößerung)

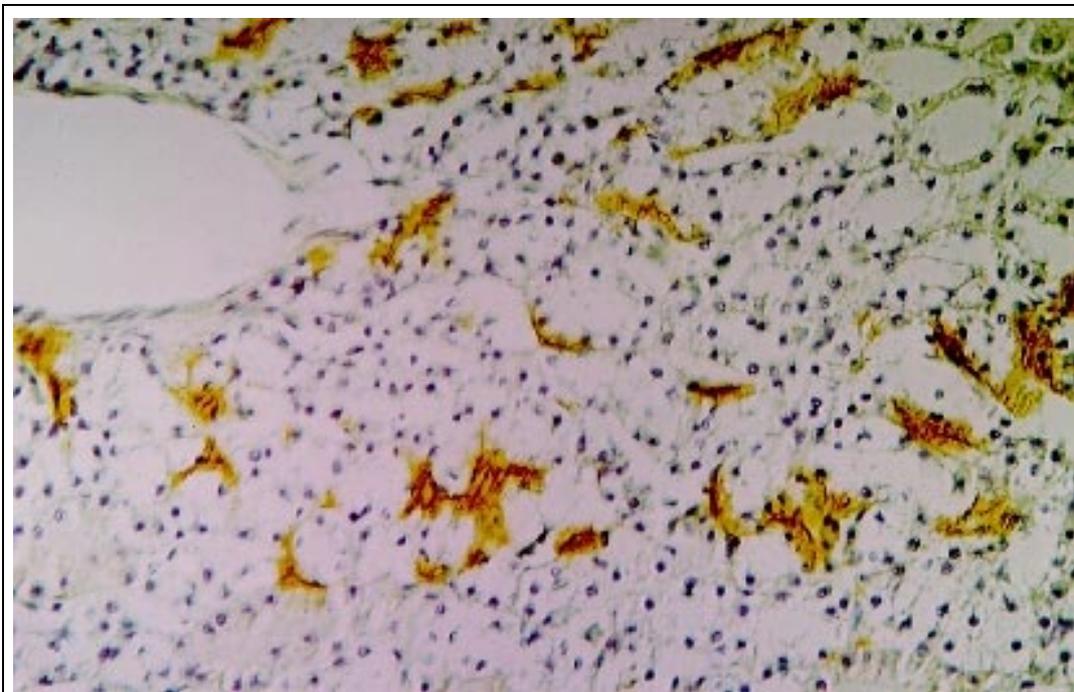


Abb. 12: Immunhistochemische Darstellung der Amyloidablagerungen entlang der Basalmembranen der Tubuli in der Niere eines Kappensägers (400fache Vergrößerung)

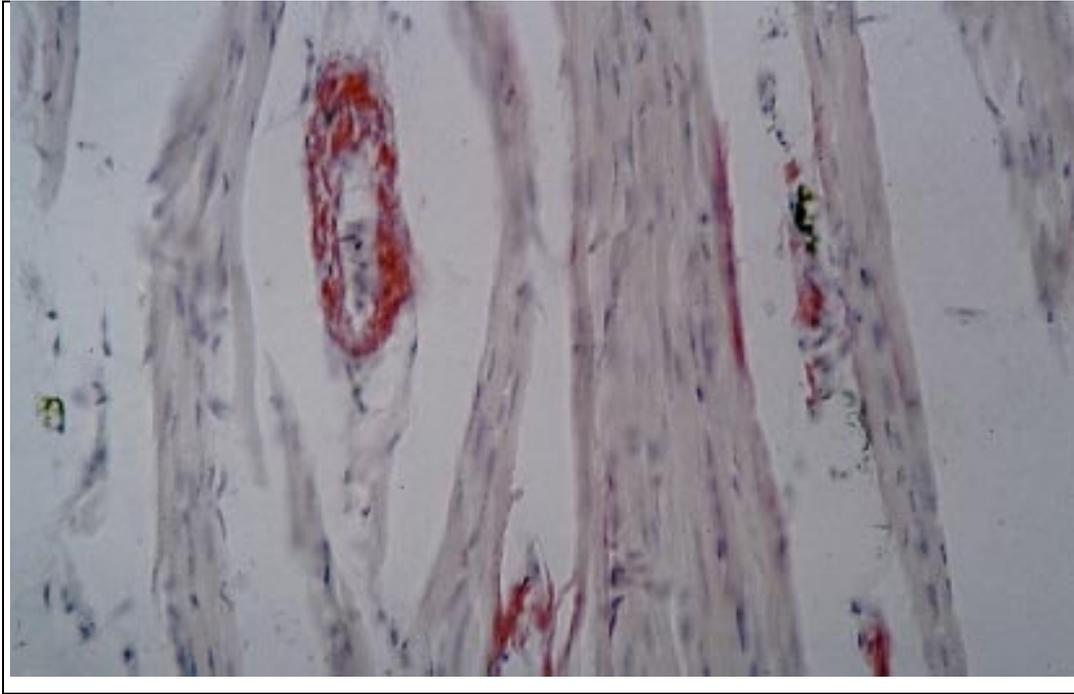


Abb. 13: Lichtmikroskopische Darstellung von Amyloidablagerungen im Herz eines Mittelsägers (Kongorotfärbung, 400fache Vergrößerung)

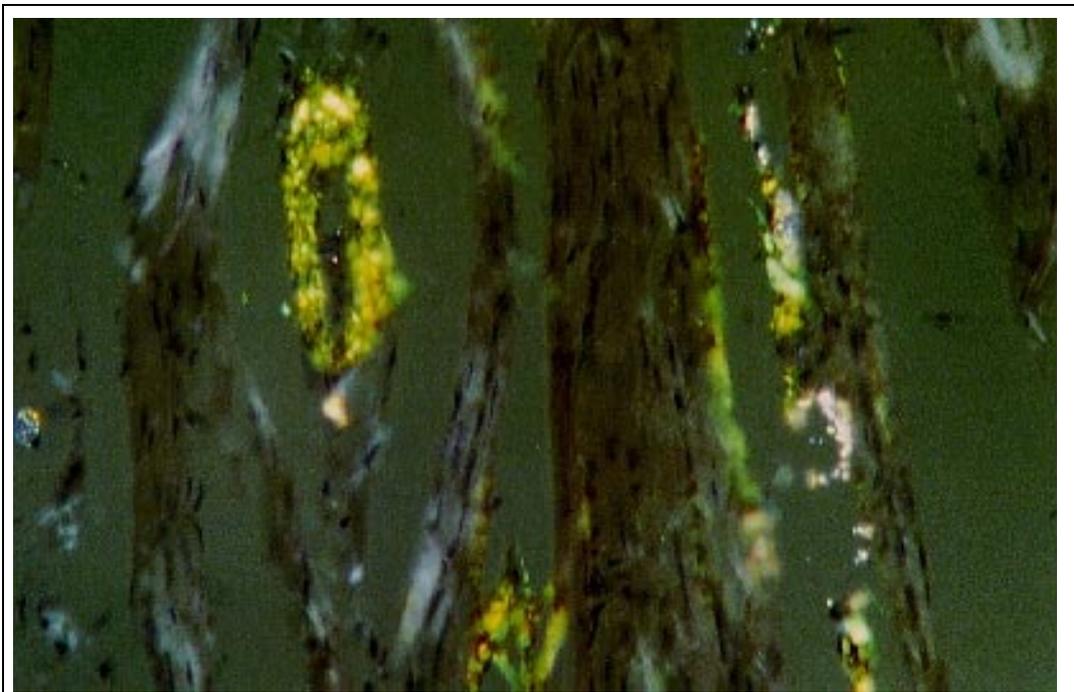


Abb. 14: Gleiche Lokalisation wie in Abb.13 bei Betrachtung unter dem Polarisationsmikroskop

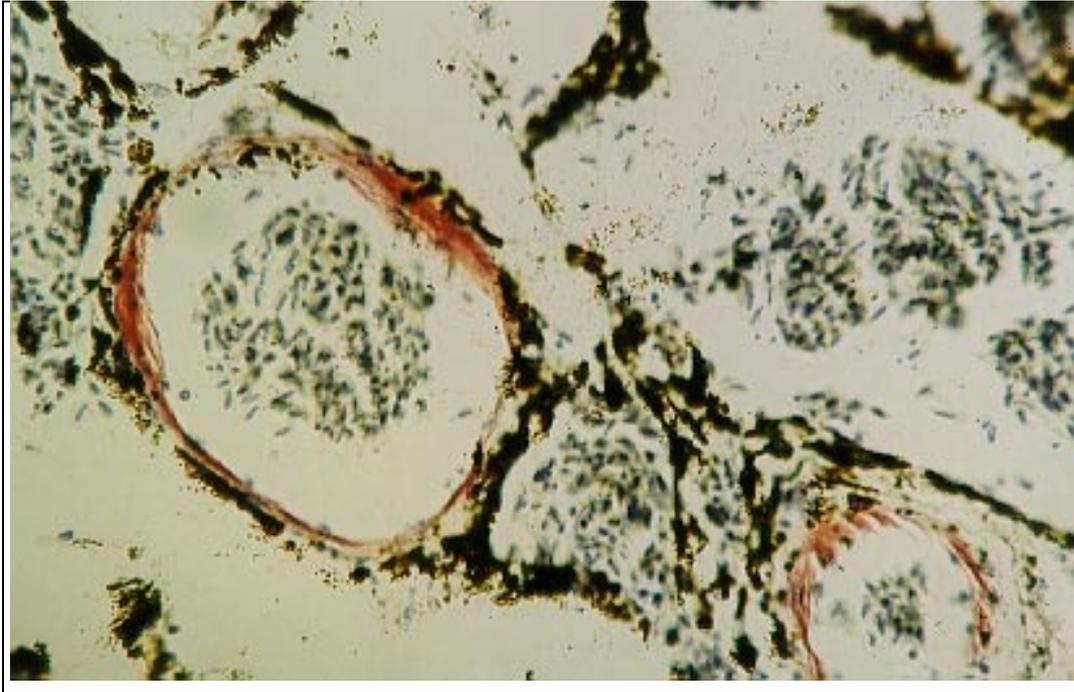


Abb. 15: Lichtmikroskopische Darstellung von Gefäßwandamyloid in der Iris eines Chile-Flamingos (Kongorotfärbung, 400fache Vergrößerung)

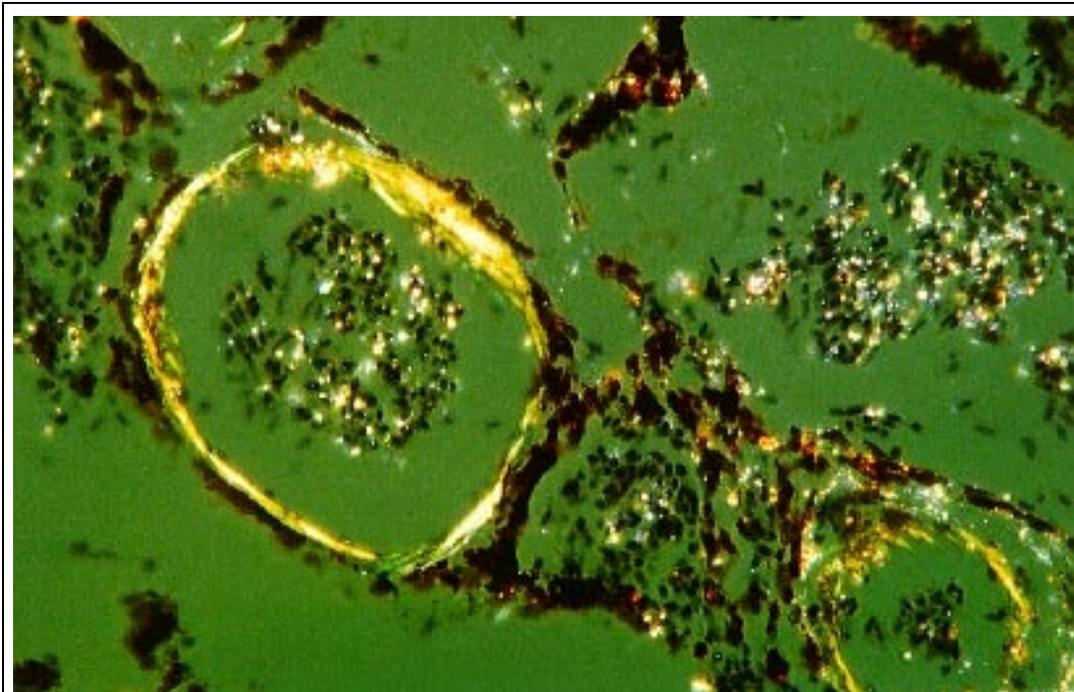


Abb. 16: Gleiche Lokalisation wie in Abb.15 bei Betrachtung unter dem Polarisationsmikroskop



Abb. 17: Immunhistochemische Darstellung von Amyloidablagerungen im Gehirn einer Rotkopfgans (400fache Vergrößerung)

7 LITERATURVERZEICHNIS

Benditt, E.P.; Eriksen, N. (1971)

The major proteins of human and monkey amyloid substance: common properties including unusual N-terminal amino acid sequences.

FEBS - Letters 19 : 169 - 173

Bennhold, H. (1932)

Eine spezifische Amyloidfärbung mit Kongorot.

Muenchen. Med. Wochenschr. 69 : 1537 - 1541

Boyce, J.T.; DiBartola, S.P.; Chew, D. J.; Casper, P.W. (1984)

Familial renal amyloidosis in Abyssinian cats.

Vet. Pathol. 21 : 33 - 38

Brandwein, S.R.; Skinner, M.; Cohen, A.S. (1981)

Isolation and characterization of spontaneously occurring amyloid fibrils in aged Syrian hamsters.

Fed. Proc. 40 : 789 - 793

Brassard, A. (1965)

Amyloidosis in captive anseriformes.

Canad. J. Comp.Med. Vet. Sci. 29 : 253 - 258

Breuer, W.; Geisel, O.; Linke, R.P.; Hermanns, W. (1994)

Lightmicroscopic, ultrastructural and immunohistochemical examinations of two calcifying epithelial odontogenic tumors (CEOT) in a dog and a cat.

Vet. Pathol. 31 : 415 - 420

Bruckmüller, A. (1869)

Lehrbuch der pathologischen Zootomie der Haustiere.

Wien: W. Braunmüller

Cheville, N.F. (1968)

Amyloidosis associated with cyclic neutropenia in the dog.

Blood 31 : 111 - 114

Chew, D.J.; DiBartola, S.P.; Boyce, J.T.; Casper, P.W. (1982)

Renal amyloidosis in related Abyssinian cats.

J. Am. Vet. Med. Ass. 181 : 139 - 142

Clark, L. & Seawright, A.A. (1969)

Generalized amyloidosis in seven cats.

Pathol. Vet. 6 : 117 - 134

Cohen, A.S.; Shirahama, T.S.; Sipe, J.D.; Skinner, M. (1983)

Amyloid proteins, precursors, mediators and enhancer.

Lab. Invest. 48 : 1 - 4

Cohen, A.S. & Connors, L.H. (1987)

Invited review : the pathogenesis and biochemistry of amyloidosis.

J. Pathol 151 (1) : 1 - 10

Cowan, D.F. (1968a)

Avian amyloidosis I. General incidence in zoo birds.

Pathol.Vet. 5 : 51 - 58

Cowan, D.F. (1968b)

Avian amyloidosis II. Incidence and contribution factors in the family Anatidae.

Pathol. Vet. 5 : 59 - 66

Cowan, D.F. & Johnson, W.C. (1970)

Amyloidosis in the white Peking duck. I. Relation to social enviromental stress.

Lab. Invest. 23 : 551 - 555

Culjak, K.;Kardum, P.; Sabocanec, R.; Kelemen, T.; Ramljak, D.; Milakovic-Novak, L.; Huber, I. (1983)

Weitere Sektionsbefunde bei Vögeln des zoologischen Gartens der Stadt Zagreb (1971 - 1981).

Verh.ber. Erkr. Zootiere 25 : 14 - 17

Dahme, E. & Schröder, B. (1990)

Allgemeine Stoffwechselstörungen: Amyloid - Amyloidose.

In: Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin.

Ed.: Schulz E.C., Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 1990, S. 179 - 183

De Armond, S.J.; McKinley, M.P.; Barry, R.A.; Braunfeld, M.B.; McColloch, J.R.;

Prusiner, S.B. (1985)

Identification of prion amyloid filaments in scrapie-infected brain.

Cell. 41 : 221 - 225

DiBartola, S.P.; Benson, M.D.; Dwulet, F.E. (1985)

Isolation and characterization of amyloid protein AA in the Abyssinian cat.

Lab. Invest. 52 : 485 - 489

DiBartola, S.P. & Benson, M.D. (1989)

The pathogenesis of reactive systemic amyloidosis.

J. Vet. Int. Med. 3 : 31 - 41

DiBartola, S.P.; Rutgers, H.C.; Zack, P.M.; Tarr, M.J. (1987)

Clinicopathologic findings associated with chronic renal disease in cats: 74 cases (1973-1984).

J. Am. Vet. Med. Ass. 190 : 1196 - 1202

Divry, P. & Florin, M. (1927)

Sur les propriétés obliques de l'amyloid.

C. R. Soc. Biol. 97 : 1808 - 1817

Dougherty, E. III; Rickard, C.G.; Scott, M.L. (1963)

Subacute and chronic liver diseases of white Peking duck.

Avian Dis. 7 : 217 - 234

Du, T. & Ali-Khan, Z. (1990)

Pathogenesis of secondary amyloidosis in an alveolar hydatid cyst model: histopathology and immuno/ enzymehistochemical analysis of splenic marginal zone cells during amyloidogenesis.

J. Exp. Pathol. 71 (3) : 313 - 335

Dunn, TB (1944)

Relationship of amyloid infiltration and renal disease in mice.

J. Natn. Cancer Inst. 5 : 17 - 28

Dunn, TB (1946)

Some observations on the normal and pathologic anatomy of the kidney of the mouse.

J. Natn. Cancer Inst. 9 : 285 - 301

Eanes, E.D. & Glenner, G.G. (1968)

X-ray diffraction studies on amyloid filaments.

J. Histochem. Cytochem. 16 : 673 - 677

Ericsson, L.H.; Eriksen, N.; Walsh, K.A. (1987)

Primary structure of duck amyloid protein A. The form deposited in tissues may be identical to it's serum precursor.

FEBS-Letters 218 : 11 - 16

Eriksen, N.; Ericsson, L.H.; Pearsall, N. (1976)

Mouse amyloid protein AA: homology with nonimmunoglobulin protein of human and monkey amyloid substance.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73 : 964 - 967

Eskens, U.; Burski, B.; Geisthövel, E. (1984)

Sekundäre Amyloidose bei weißen Pekingenten.

Tierärztliche Prax. 12 : 469 - 475

Fabian, L. & Vetesi, F. (1980)

Analyse der Vogelverluste (1971 - 1978) im Zoo Budapest.

Verh.ber. Erkr. Zootiere 22 : 215 - 221

Farnsworth, G.A. & Miller, S. (1985)

An unusual form of hepatic amyloidosis in a goat.

Vet. Pathol. 22 - 184 - 186

Fischer, J.L.; Cyran, J.; Linke, R.P. (1986)

Neue Aspekte der Klassifikation, Diagnostik und Therapie der Amyloidosen.

Internist 27 : 109 - 112

Fox, H. (1923)

Diseases in captive wild mammals and birds.

Philadelphia: J.B. Lippincott

Friedberger, G. (1874)

Eine Massenerkrankung unter den Fasanen der königlichen Fasanerie Moosach bei München.

Ztschr. Prakt. Vet. Wiss. 2 : 177 - 191

Friedreich, N. & Kekulé, A. (1859)

Zur Amyloidfrage.

Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med. 16 : 50 - 55

Geisel, O.; Grabner, A.; Stiglmaier-Herb, M.T.; Linke, R.P.; Hermanns, W. (1989)

Kutane Amyloidose vom Immunglobulin-Ursprung bei einem Pferd.

Pferdeheilkunde 5 : 299 - 304

Geisel, O.; Stiglmaier-Herb, M.T.; Linke, R.P. (1990)

Myelom associated with immunoglobulin lambda-light chain derived amyloid in a dog.
Vet. Pathol. 27 : 374 - 376

Glenner, G.G. (1980)

Amyloid deposits and amyloidosis I + II .
N. Engl. J. Med. 302 : 1283 - 1343

Glenner G.G.; Eanes, E.D.; Page D.L. (1972)

The relation of properties of congo red-stained amyloid fibrils to the beta-conformation.
J. Histochem. Cytochem. 20 : 821 - 826

Glenner, G.G; Terry, W.; Isersky, C. (1973)

Amyloidosis : Its nature and pathogenesis.
Semin. Hematol. 10 : 65 - 86

Glenner, G.G.; Eanes, E.D.; Bladen, H.A.; Linke, R.P.; Termine, J.D. (1974)

β -pleated sheet fibrils: a comparison of native amyloid with synthetic protein fibrils.
J. Histochem. Cytochem. 22 : 1141 - 1158

Glenner, G.G. & Page, D.L. (1976)

Amyloid, amyloidosis and amyloidogenesis.
Int. Rev. Exp. Pathol. 15 : 1 - 92

Glenner, G.G.; Costa, P.P.; Falcao de Freitas, A. (1980)

Amyloid and Amyloidosis.
Proceedings of the 3. Int. Symp. on Amyloidosis, Excerpta Medica 1980 - XIX , Amsterdam

Glenner, G.G. & Wong, C.W. (1984)

Alzheimers disease : Initial report of the purification and characterization of novel cerebro-vascular amyloid protein.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 120 : 885 - 890

Gorevic, P.D.; Greenwald, M.; Frangione, B. (1977)
The amino acid sequence of duck amyloid A protein.
J. Immunol. 118 : 1113 - 1118

Griner, L.A. (1983)
Pathology of zoo animals.
San Diego: Zoological Society

Grzimek, B.; Meise, W.; Niethammer, G.; Steinbacher, J. (1993)
Grzimeks Tierleben, Enzyklopädie des Tierreiches.
Band 7 - 9 , Vögel 1 - 3
Deutscher Taschenbuch Verlag GmbH und Co. KG München

Hermanns, W. & Geisel, O. (1993)
Zur Pathogenese der Amyloidose beim Pferd.
Kongreßbericht 12. Arbeitstagung DVG-Fachgruppe Pferdekrankheiten, Wiesbaden: 255-262

Hermanson, M.A.; Kuhn, R.W.; Walsh, K.A. (1972)
Amino acid sequence of monkey amyloid protein A.
Biochemistry 11 : 2934 - 2938

Heschl, R. (1875)
Eine hübsche à - vista Reaktion auf amyloid degeneriertes Gewebe
Wien. Med. Wochenschr. 25 : 713 - 718

Hjärre, A. (1933)
Über das Vorkommen der Amyloiddegeneration bei Tieren.
Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Suppl. XVI : 132 - 162

Hjärre, A. & Nordlund, I. (1942)
Om atypisk amyloidosis hos djuren.
Skand. Vet. Tidskr. 32 : 385 - 441

Husby, G.; Sletten, K. (1986)

Chemical and clinical classification of amyloidosis 1985.

Scand. J. Immunol. 23 : 253 - 265

Ippen, R. (1975)

Ein Beitrag zu einigen stoffwechselbedingten Veränderungen bei Zoo- und Wildtieren.

Verh.ber. Erkr. Zootiere 17 : 187 - 196

Ippen, R. & Jakob, W. (1968)

Metaplastische Ossifikation im Verlauf von generalisierter Amyloidose bei Ringelgänsen (Branta bernicla).

Zbl. Vet. Med. A 15 : 549 - 561

Ippen, R. & Schröder, H.D. (1972)

Ein Beitrag zu den Erkrankungen der Zoovögel.

Verh.ber. Erkr. Zootiere 14 : 1 - 27

Jakob, W. (1970a)

Untersuchungen über die Amyloidose der Karnivoren unter besondere Berücksichtigung der Altersamyloidose.

Zbl. Vet. Med. A17 : 818 - 829

Jakob, W. (1970b)

Untersuchungen über die Altersamyloidose der Katze.

Zbl. Vet. Med. A17 : 261 - 272

Jakob, W. (1971)

Spontaneous amyloidosis of mammals.

Vet. Pathol. 8 : 292 - 306

Johnson, R. & Jamison K. (1984)

Amyloidosis in six dairy cows.

J. Am. Vet. Med. Ass. 185 : 1538 - 1542

Jürgens, R. (1875)

Eine neue Reaction auf Amyloidkörper.

Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med. 65 : 189 - 195

Karstad, L. & Sileo, L. (1971)

Causes of death in captive wild waterfowl in the Kortright Waterfowl Park, 1967 - 1970.

J. Wildlife Dis. 7 : 236 - 241

King, L.S. (1948)

Atypical amyloid disease, with observations on a new silver stain for amyloid.

Am. J. Pathol. 24 : 1095 - 1115

Kitt, L.S. (1883)

Amyloide Infiltrationen bei der Tuberkulose des Geflügels.

Deutsche Ztschr. Tiermed. 9 . 174 - 179

Klee, R. (1901)

Krankheiten der Vögel.

Ellenberger-Schütz Jber. Vet. Med. 21 : 236 - 253

Klös, S.(1989)

Untersuchung der Krankheits- und Todesursachen von Anseriformes im Zoologischen Garten Berlin anhand der Obduktionen der Jahre 1952 - 1985 des Landesveterinäruntersuchungsamtes Berlin.

Inaug. Diss., FB Vet. Med., FU Berlin

Koremans, H. (1994)

Immunhistochemische Amyloid-Klassifizierung bei Hunden und Katzen aus dem Sektionsgut des Institutes für Tierpathologie der Ludwig-Maximilian-Universität München (1976 - 1990).

Inaug.Diss. , München

Kramer, J.M.; Montali, R.J.; Strandberger, J.D.; Fortner, J.H. (1980)

Avian amyloidosis. In: The comparative pathology of zoo animals.

Ed. Montali, J.R. & Migaki, G.: Smithsonian Inst. Press, Washington, D.C., pp. 317 - 325

Krawkow, N.P. (1895)

Über bei Thieren experimentell hervorgerufenes Amyloid.

Zentralbl. Allg. Pathol. Pathol. Anat. 6 : 337 - 342

Kronberger, H. & Schüppel, K.F. (1972)

Ergebnisse der postmortalen Untersuchung von 4000 Vögeln.

Verh.ber. Erkr. Zootiere 14 : 29 - 35

Kronberger, H. & Schüppel, K.F. (1976)

Todesursachen australischer Vögel.

Verh.ber. Erkr. Zootiere 28 : 63 - 67

Kuczynski, M. (1923)

Neue Beiträge zur Lehre von Amyloid.

Klin. Wochenschr. 2 : 727 - 230

Landmann, W.J.M.; Sletten, K.; Koch, C.A.M.; Tooten, P.C.J.; Gruys, E. (1996)

Chicken joint amyloid protein is of Typ AA: Characterization of the amyloid protein.

Scand. J. Immunol. 43 : 210 - 218

Leisering, A.G.T. (1886)

Den Tuberkeln ähnliche Faserknoten bei Hühnern mit amyloider Degeneration.

Ber. Über d. Vet.wesen im Königreich Sachsen 11 : 23 - 96

Letterer, E. (1958)

Über die geweblichen und humoralen Störungen des Eiweißstoffwechsels.

4. Franz. Volhard Gedächtnis-Vorlesung

In: Amyloidosis. Ed. E. Madema, L. Ruinen, J.H. Scholten, A.S. Cohen

Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1968, pp. 87 - 90

Linke, R.P. (1982)

Identification of amyloid AA with a monoclonal antibody.

Blut 45 : 407 - 409

Linke, R.P.; Hol, P.R.; Gruys, E.; Geisel, O.; Nathrath, W.B.J.; Trautwein, G. (1984)

Immunohistochemical identification and crossreaction of AA-fibril-protein in men and eleven other species.

J. Comp. Pahtol. 94 : 339 - 956

Linke, R.P. & Trautwein, G. (1989)

Immunglobulin lambda-lightchain-derived amyloidosis in two horses.

Blut 58 : 129 - 132

Linke, R.P.; Geisel, O.; Mann, K. (1990)

Equine cutaneous amyloidosis derived from an immunoglobulin-lambda-lightchain. Immunohistochemical, immunochemical and chemical results.

Biol. Chem. Hoppe-Seyler 372 : 835 - 843

Liu, M.R.J. (1985)

Survey of duck amyloidosis in culled breeding ducks in Taiwan.

J. Chin. Soc. Vet. Sci. 11 : 103 - 109

Lobstein (1829)

siehe Schwartz, P. (1970)

Lubarsch, O. (1929)

Zur Kenntnis ungewöhnlicher Amyloidablagerungen.

Virchows Arch. Path. Anat. Physiol. 271 : 867 - 889

Lucke, V.M. & Hunt, V.M. (1965)

Interstitial nephropathy and papillary necrosis in the domestic cat.

J. Pathol. Bacteriol. 89 : 723 - 728

Maury, C.P.J. (1984)

Reactive (secondary) amyloidosis and its pathogenesis.

Rheumatol. Int. 5 : 1 - 7

Missmahl, H.P. (1968)

Reticulin and collagen as important factors for the localization of amyloid: the use of polarization microscopy as a tool in the detection of the composition of amyloid.

In: Amyloidosis: Proc. of the Symposium on Amyloidosis, ed. Mandema, Ruinen; Amsterdam,

Excerpta Medica Foundation, 1968, pp. 22 - 31

Montali, R.J. (1987)

Comparison of disease of waterfowl in captive and free-living species.

Verh.ber. Erkr. Zootiere 29 : 7 - 12

Murray, M.; Rushton, A.; Selman, I. (1972)

Bovine renal amyloidosis : A clinicopathological study.

Vet. Rec. 90 : 210 - 216

Osborn, C.A.; Johnson, K.H.; Perman, V.; Schall, W.D. (1968)

Renal amyloidosis in the dog.

J. Am. Med. Ass. 154 : 1545 - 1560

Osserman, E.F.; Takatsuki, K.; Talal, N. (1964)

The pathogenesis of amyloidosis.

Semin. Hemat. 1 : 3 - 85

Page, D.L. & Glenner, G.G. (1972)

Social interaction and wounding in the genesis of „spontaneous“ murine amyloidosis.

Am. J. Pathol. 67 : 555 - 568

Paul, I. & Brinzoiu, M. (1965)

Aspecte morfologice ale amiloidozei la pasari (Morphologische Aspekte der Amyloidose bei Vögeln).

Morfol. Norm. si Pathol. 10 : 69 - 74

Paulicki, A. (1872)

Beiträge zur vergleichenden pathologischen Anatomie aus dem Hamburger Zoologischen Garten.

Magazin ges. Tierheilk. 38 : 1 - 117

Portal (1813)

siehe Schwartz (1970)

Pospischil, A.; Hähnichen, T.; Linke, R.P. (1987)

Amyloidbildende Carcinoide der Mamma bei zwei Hündinnen.

Tierärztl. Umschau 10 : 355 - 364

Prusiner, S.B. (1985)

Scrapie prions, brain amyloid, and senile dementia.

Curr. Top. Cell. Reg. 26 : 79 - 95

Puchtler, H.; Sweat, F.; Levine, M. (1962)

On the binding of congo red by amyloid.

J. Histochem. Cytochem. 10 : 355 - 364

Rabe, C. (1883)

Über amyloide Degeneration bei den Haustieren.

Jber. d. königlichen Tierarzneischule zu Hannover 16 : 114 - 127

Reimann, H.A.; Koucky, R.F.; Eklund, C.M. (1935)

Primary amyloidosis limited to tissue of mesodermal origin.

Am. J. Pathol. 11 : 977 - 988

Rigdon, R.H. (1961)

Amyloidosis: spontaneous occurrence in white Peking ducks.

Am. J. Pathol. 39 : 369 - 378

Rigdon, R.H. (1964)

Rupture of spleen in ducks with amyloidosis.

Arch. Pathol. 78 : 66 - 68

Rigdon, R.H. (1967)

Amyloid in the liver of ducks.

Poultry Sci. 46 : 698 - 705

Rigdon, R.H. (1974)

Occurrence and association of amyloid with disease in birds and mammals including man:
a review .

Texas Rep. Biol. Med. 32 : 665 - 682

Rigdon, R.H. & Schwartz, P. (1968)

Amyloid in the white Peking duck: a fluorescence microscopic study.

J. Am. Geriatr. Soc. 16 : 1126 - 1139

Rings, D.M. & Carry, F.B. (1988)

Amyloidosis associated with paratuberculosis in a sheep.

Comp. Cont. Ed. Pract. Vet. 10 : 381- 385

Röll, M.F. (1867)

Lehrbuch der Pathologie und Therapie der Haustiere.

3. Aufl., Wien: W. Braunmüller

Rokitansky, K.F.V. (1842)

Handbuch der pathologischen Anatomie.

Vol. 3 , Braumüller & Seidel , Vienna

Sato, A.; Koga, T.; Inoue, M.; Goto, N. (1981)

Pathological observations of amyloidosis in swans and other Anatidae.

Jap. J. Vet. Sci. 43 : 509 - 519

Schneider, R.R.; Hunter, D.B.; Waltner-Toews, D.; Barker, I.K. (1988)

A descriptive study of mortality at the Kortright Waterfowl Park.

Canad. J. Vet. 29 : 910 - 914

Schwartz, P. (1970)

Amyloidosis. Cause and Manifestation of senile deterioration.

Illinois : Charles C. Thomas . 1970 , Springfield , pp. 57 - 70

Sibley, W.K. (1890)

Tuberculosis in birds.

J. Comp. Med. Arch. 10 : 317 - 334

Sipos, J. (1930)

Zur Amyloidose der Serumpferde.

Jber. Vet. Med. 50 : 795 - 196

Selkoe, D.J.; Bell, D.S.; Podlisny, M.B.; Price, D.L.; Cork, L.C. (1987)

Conservation of brain amyloid proteins in aged mammals and humans with Alzheimer's disease.

Science 235 : 873 - 877

Shaw, D.P.; Gunson, D.E.; Evans, L.H. (1987)

Nasal amyloidosis in four horses.

Vet. Pathol. 24 : 183 - 185

Skinner, M.; Cathcart, E.S.; Cohen, A.S. (1974)

Isolation and identification by sequence analysis of experimentally induced guinea pig amyloid fibrils.

J. Exp. Med. 140 : 871 - 876

Slauson, D.O.; Gribble, D.H.; Russell, S.W. (1970)

A clinicopathological study of renal amyloidosis in dogs.

J. Comp. Pathol. 80 : 335 - 343

Sletten, K.; Westermark, P.; Natvig, J.B. (1976)

Characterization of amyloid fibril protein from medullary carcinoma of thyroid.

J. Exp. Med. 143 : 993 - 998

Sletten, K.; Husebekk, A.; Husby, G. (1987)

The amino acid sequence of an amyloid fibril protein AA isolated from the horse.

Scand. J. Immunol. 26 : 76 - 84

Stone, M.J. (1990)

Amyloidosis: a final common pathway for protein depositions in tissue.

Blood 75 (3) : 531 -545

Teilum, G. (1964)

Pathogenesis of amyloidosis, the two-phase cellular theory of local secretion.

Acta Pathol. Microbiol. Scand. 61 : 21 - 45

Termine, J.D.; Eanes, E.D.; Ein, D.; Glenner, G.G. (1972)

Infrared spectroscopy of human amyloid fibrils and immunoglobulin proteins.

Biopolymers 11 : 1103 - 1113

Twort, J.M. & Twort C.C. (1932)

Disease in relation to carcinogenic agents among 60.000 experimental mice.

J. Pathol. Bacteriol. 35 : 219 - 242

Van Rijswijk, M.H.; Van Heusden, C.W.G.J. (1979)

The potassium permanganat method - A reliable method for differentiating amyloid AA from other forms of amyloid in routine laboratory practice.

Amer. J. Pathol. 97 : 43 - 58

Vassar, P.S. & Culling, C.F.A. (1959)

Fluorescence stains, with special reference to amyloid and connective tissue.

Arch. Pathol. 68 : 487 - 489

Virchow, R. (1854)

Über eine im Gehirn und Rückenmark des Menschen aufgefundene Substanz mit der chemischen Reaktion der Cellulose.

Virchows Arch. Pathol. Anat. 6 : 135 - 137

Vos, H.J. & Gruys, E. (1985)

Amyloid in canine mammary tumors.

Vet. Pathol. 22 : 347 - 354

Waaen, K.; Sletten, K.; Husby G. (1980)

The primary structure of amyloid fibril protein AA in endotoxin induced amyloidosis of the mink.

Eur. J. Biochem. 104 : 407 - 412

Wegelius, O.; Pasternack, A. (1976)

Amyloidosis.

Proceedings of the 5. Sigrid-Julius-Foundation Symp.

ed. Wegelius, Pasternack, London ; Academic Press ,p. 605 , 1976

Westermarck, P.; Skinner, M.; Cohen, A.S. (1976)

The P-componente of amyloid of human islets of Langerhans.

Scand. J. Immunol. 4 : 95 - 97

Westermarck, P.; Johnson, K.H.; Sletten K. (1985a)

AA-amyloidosis in dogs: partial amino acid sequence of protein AA and immunohistochemical cross-reactivity with human and cow AA-amyloid.

Comp. Biochem. Physiol. 82 B : 211 - 215

Westermarck, P.; Johnson, K.H.; Pitkanen, P. (1985b)

Systemic amyloidosis : A review with emphasis on pathogenesis.

Appl. Pathol. 3 : 55 - 58

Westermarck, P.; Wernstedt, C.; Wilander, E.; Hayden, D.W.; O'Brion, T.D.; Johnson, K.H. (1987)

Amyloid fibrils in human insulinoma and islets of Langerhans of the diabetic cat are derived from a neuropeptid-like protein also present in normal islet cells.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 : 3881 - 3885

Wichmann, G. (1893)

Die Amyloiderkrankung.

Beitr. z. Pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. 13 : 487 - 628

Winkelmann, J.; Veltmann, E.; Trautwein, G. (1979)

Amyloidosis in chronic erysipilas polyarthritis in pigs.

DTW 86 : 131 - 138

Wisniewski, H.M.; Merz, P.A.; Kascsak, R.J.; Rubenstein, R.; Carp, R.L.; Lassmann, H. (1985)

Crossreactivity of SAF-protein and scrapie amyloid plaques.

J. Neuropath. Exp. Neurol. 44 : 363 - 368

Wright, J.R.; Calkins, E.; Humphrey, R.L. (1977)

Potassium permanganate reaction in amyloidosis. A histological method to assist in differentiating forms of this disease.

Lab. Invest. 36 : 274 - 281

Zipper, J. & Tamaschke, C. (1972)

Pathologische Schilddrüsenbefunde bei Vögeln.

Verh.ber. Erkr. Zootiere 14 : 113 - 122

Zschesche, W. (1986)

Environmental immunomodulatory factors in avian pathology.

Clin. Veterinaria 109 : 31 - 39

Zschesche, W. (1987)

Jahreszeitliche Abhängigkeit der Amyloidose bei Zoovögeln.

Biol. Zbl. 106 : 201 - 205

Zschesche, W. & Jakob, W. (1989)

Pathology of animal amyloidoses.

Pharmac. Ther. 41 : 49 - 83

Zschesche, W. & Linke, R.P. (1986)

Zur Amyloidose der Zoovögel unter besonderer Berücksichtigung des Wassergeflügels.

Verh.ber. Erkr. Zootiere 28 : 301 - 306

Zschesche, W. & Linke, R.P. (1989)

Immunohistochemical characterization of spontaneous amyloidosis in captive birds as AA-type, using monoclonal and polyclonal anti-AA-antibodies against mammalian amyloid.

Acta histochem. 86 : 45 - 50

Carl Roth GmbH, Karlsruhe

Ethanol, absolut

Methanol, reinst

Natriumhydroxid

Wasserstoffperoxid , 30 %

Laborchemie Apolda

Acidum oxalicum crist. ($C_2 H_2 O_4 + 2 H_2 O$)

Schwefelsäure, 3 %

8.2 Lösungen

a) Eiweiß-Glycerin

Eiklar und Glycerin im Verhältnis 1:1 mischen und durch Mull filtrieren, einige Thymolkristalle zugeben

b) Puchtler 1 - Stammlösung

80 % unvergälltes Ethanol

NaCl im Überschuß zugeben

24 h vor Gebrauch ansetzen

c) Puchtler 2 - Stammlösung

80 % unvergälltes Ethanol

NaCl im Überschuß zugeben

Kongorot-Pulver im Überschuß zugeben

24 h vor Gebrauch ansetzen

d) Lösung für Kaliumpermanganatoxidation

50 ml 0,3 % H_2SO_4

50 ml 5 % KMnO_4 -Lösung

ausreichend für die Behandlung von ca. 15 Objektträgern

e) 3 % - Wasserstoffperoxid-Lösung

10 ml 30% Wasserstoffperoxid

90 ml Methanol

Lösung immer frisch ansetzen !

8.3 Abkürzungsverzeichnis

Au	Auge
Da	Darm
Entz.	Entzündung (chronisch)
Ge	Gehirn
Inf.	Infektion (chronisch)
Hz	Herz
Le	Leber
Lu	Lunge
Ma	Drüsenmagen
Mi	Milz
Myk.	Mykose
Ni	Niere
NN	Nebenniere
Oe	Oesophagus
Pa	Pankreas
Sch	Schilddrüse
sonst.	sonstige
Tbc	Tuberkulose
vgl	vergleiche
z.T.	zum Teil

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich nicht versäumen, mich bei allen, die am Zustandekommen dieser Arbeit Anteil hatten, herzlich zu bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. W. Jakob für die Überlassung des Themas und seine stets gewährte freundliche Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. R.R. Hofmann möchte ich herzlich für die Aufnahme am Institut danken.

Frau Henne sei an dieser Stelle für die freundliche Unterstützung bei der methodischen Einführung zur Schnitttechnik, Histologie und Immunhistochemie gedankt .

Ebenfalls zu Dank verpflichtet fühle ich mich gegenüber Frau Rehahn, die mir bereitwillig bei der Lösung organisatorischer und technischer Fragen zur Durchführung meiner Laborarbeit zur Verfügung stand.

Allen anderen Angehörigen des Institutes sage ich meinen herzlichen Dank für die gute und freundliche Arbeitsatmosphäre, zu der alle beigetragen haben.

Lebenslauf

Name: Anne Zöllner

Geburtsdatum: 26.01.1969

Geburtsort: Großröhrsdorf / Oberlausitz

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: ledig

Schulbildung: 09/75 - 08/85 Mittlere Reife
09/85 - 08/88 Allgemeine Hochschulreife

Berufsbildung: 09/85 - 09/88 Facharbeiter für Rinderzucht

Studium: 09/88 - 09/92 Humboldt Universität Berlin
FB Veterinärmedizin
09/92 - 03/94 Freie Universität Berlin
FB Veterinärmedizin
04/94 Approbation als Tierärztin

Berufstätigkeit: 12/96 - Assistentin in Kleintierpraxis in Bremen