

## 2 Literaturübersicht

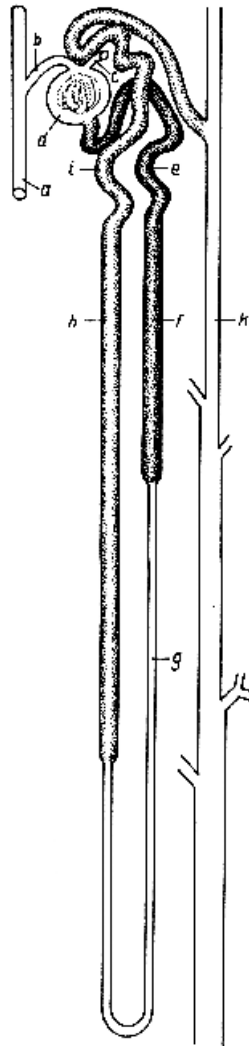
### 2.1 Morphologie der Hundenieren

Die Nieren sind paarig angelegte, zusammengesetzte, exkretorische Drüsen, die als ein zwischen Blutbahn und Außenwelt geschaltetes Ausscheidungsorgan fungieren (Michel und Smollich, 1992; Nickel et al., 1995). Das Nephron, die funktionelle Grundeinheit der Nieren, besteht aus dem *Glomerulum* und dem *Tubulussystem* (Preuss, 1993; Nickel et al., 1995). Die Nieren sind stark durchblutete Organe (Deetjen et al., 1976). Die Blutversorgung beträgt rund 20% des Herzzeitvolumens (Chmielewski, 1992; Preuss, 1993).

Die Nieren des Hundes liegen in der Lendengegend rechts und links der Medianebene, beidseits der Aorta und *V. cava caudalis*, ventral der Zwerchfellpfeiler und der Lendenmuskulatur. Die Nieren des Hundes sind einwarzige, glatte Nieren, die unmittelbar vom Nierenbecken umschlossen werden und in den Harnleiter münden. Man unterteilt das Organ in die Nierenrinde und das Nierenmark. Die Markschiicht gliedert sich in eine rötlich gefärbte Außenzone und eine weißliche innere Zone, welche mit der Papillenspitze in das Nierenbecken hineinreicht (Bulger et al., 1979; Hierholzer und Fromm, 1987; Nickel et al., 1995).

Das Nephron ist die funktionelle Grundeinheit der Nieren und besteht aus *Glomerulum*, proximalem und distalem *Tubulus* mit der Henleschen Schleife und dem Sammelrohr (Abb. 2.1). In der Rinde sind die *Glomerula* und die *Tubuli contorti proximales et distales* gelegen. Das äußere Mark enthält Teile der Henleschen Schleife und die Sammelrohre, die Innenzone beherbergt nur Sammelrohre (Nickel et al., 1995). In Abhängigkeit von der Lage der Glomerula (Innenzone oder Außenzone), kann das zugehörige Nephron als "*Long-looped*"- oder "*Short-looped*"-*Nephron* vorliegen: Kortikal gelegene *Nephron* verfügen über kurze Schleifen, während die *juxtamedullären Tubuli* lange Schleifen haben (Bulger und Dobyan, 1982; Chmielewski, 1992). Die Henlesche Schleife kehrt wieder zum *Glomerulum* zurück und bildet an der Kontaktstelle die *Macula densa* (Hierholzer und Fromm, 1987).

Abb: 2.1: Die Struktur des Nephrons



*a* A. Interlobularis, *b* Arteriola glomerularis afferens, *c* Arteriola glomerularis efferens, *d* Glomerulum, *e* Tubulus proximalis pars convoluta, *f* Tubulus proximalis pars recta, *g* Tubulus attenuatus, *h* Tubulus distalis pars recta, *i* Tubulus distalis pars contorta *k* Sammelrohr; (Michel und Smollich, 1992).

## 2.2 Histologie der Nieren

### 2.2.1 Histologische Struktur des Glomerulums

Das *Glomerulum* besteht aus einem arteriellen Gefäßknäuel, welches von der epithelialen Bowman Kapsel umgeben ist. Das Gefäßknäuel entspringt am Gefäßpol aus einer *afferenten* Arteriole und führt in eine *efferente Arteriole* zum Gefäßpol zurück (Smollich, 1992; Mundel und Kriz, 1995). Die Glomeruluskapillaren bestehen aus dem Gefäßendothel und der dreischichtigen Basalmembran (Michel und Smollich, 1992). Im Inneren der Basalmembran (BM) liegen die endothelialen und die mesangialen Zellen. Die Epithelzellen besitzen Podozyten, die außen an der Basalmembran anliegen. Die frei beweglichen Podozyten enden in den alternierend miteinander verzahnten Fußleisten. Zwischen den Fußleisten bilden sich sogenannte Schlitzporen, die vom Schlitzporendiaphragma überzogen werden. Die Schlitzporendiaphragmen enthalten ebenfalls Poren und stellen die feinste Filtrationsstruktur des Porenendothels dar (Mundel und Kriz, 1995; Mundel und Shankland, 1999). Die Podozytenfortsätze enthalten Actin, Myosin II,  $\alpha$ -Actinin sowie Talin und Vinculin, wodurch sie ihre Elastizität erhalten (Drenckhahn und Franke, 1988; Mundel und Kriz, 1995; Mundel und Shankland, 1999; Pavenstädt, 2000). Dadurch sind sie in der Lage, die glomeruläre Struktur zu stabilisieren, indem sie Dehnungen der glomerulären BM entgegenwirken. Durch die Podozyten erhalten die *Glomerula* ihre große Filtrationsoberfläche (Kriz et al., 1994; Drumond et al., 1994). Da sie nur sehr begrenzt zur Proliferation und Reparatur in der Lage sind, führen glomerulären Erkrankungen zu Schädigungen der Podozyten und zu Proteinurien (Mundel und Kriz, 1995; Mundel und Shankland, 1999; Pavenstädt, 2000).

### 2.2.2 Histologische Struktur des Tubulus

#### 2.2.2.1 Proximaler Tubulus (*Tubulus proximalis*)

Der proximale Tubulus besteht aus der gewundenen *Pars convoluta* (*proximal convoluted tubule* = PCT), die in den geraden Teil der *Pars recta* (*proximal straight tubule* = PST) übergeht (Forssmann, 1973; Kriz und Bankir, 1988; Smollich, 1992). Ultrastrukturell unterscheidet man die S1- bis S3- Segmente. Das S1-Segment umfaßt den Anfangs- und Mittelteil der *Pars convoluta*. Der Übergang in das S2-Segment ist fließend. Als S2-Segment bezeichnet man das Endstück der *Pars convoluta* sowie den Anfangsteil der *Pars recta*, während das S3-Segment den restlichen Teil der *Pars recta*

umfaßt (Kriz und Bankir, 1988). Das Hauptstück verfügt über isoprismatische Epithelzellen mit undeutlichen Zellgrenzen und einem dichten lumenseitigen Bürstensaum. Die Epithelzellen sind durch Schlussleisten (*Zonulae occludentes*) miteinander verbunden. Die Zellen enthalten wenige, nahezu runde Zellkerne. Supranukleär liegen der Golgi-Apparat, ein granuläres endoplasmatisches Retikulum, Lysosomen, Phagolysosomen und Peroxisomen. Durch die zahlreichen reihenförmig angeordneten Mitochondrien entsteht die typische basale Streifung der Epithelzellen (Forssmann, 1973; Bulger und Dobyan, 1982; Chmielewski, 1992; Smollich, 1992). Die Zellen des proximalen Tubulus sitzen breit auf der Basalmembran auf. Der große, kugelförmige Zellkern ist an der Basis der Zelle gelegen. Das Zytoplasma der Zellen des proximalen Tubulus ist stark eosinophil (Meadows, 1973).

#### **2.2.2.2 Intermediärer Tubulus (*Tubulus attenuatus*)**

Auf die *Pars recta* folgt das Überleitungsstück (*Tubulus attenuatus*) mit seinem engen Lumen (Smollich, 1992). Das Überleitungsstück stellt den dünnen Teil der Henleschen Schleife dar und umfaßt den absteigenden (*Pars descensens / descending thin limb* = DTL) und den aufsteigenden (*Pars ascendens / thin ascending limb* = TAL) Ast der Henleschen Schleife (Kriz und Bankir, 1988). Das Überleitungsstück verfügt über helle, sehr flache Epithelzellen, die nur wenige Zellorganellen enthalten. Im Bereich der Zellkerne wölben sich die Zellen gegen das Tubuluslumen vor. Wenige Mikrovilli deuten auf die Absorptionsfähigkeit des Überleitungsstückes hin (Forssmann, 1973; Smollich, 1992).

#### **2.2.2.3 Distaler Tubulus (*Tubulus distalis*)**

An den *Tubulus attenuatus* schließt sich das Mittelstück an, bestehend aus der *Pars recta* (*distal straight tubule* = DST oder *thick ascending limb* = TAL) und der *Pars contorta distalis* (*distal convoluted tubule* = DCT) (Kriz und Bankir, 1988). Das isoprismatische Epithel des Mittelstückes besitzt kugelförmige Zellkerne und zahlreiche reihenförmig angeordnete Mitochondrien, wodurch sich eine basale Streifung des Epithels ergibt (Meadows, 1973; Smollich, 1992.) Das basale Plasmalemm verfügt über zahlreiche tiefe Einfaltungen. Die Epithelzellen der Mittelstücke haben einige Mikrozotten, aber im Gegensatz zum Hauptstück keinen Bürstensaum. Die Epithelzellen des distalen Tubulus besitzen anders als die Hauptstückepithelzellen eine dichte Zellkernlage, eine intensivere Färbung der Zellkerne, flachere Zellen, engere Zellzwischenräume sowie ein weniger eosinophiles Cytoplasma (Meadows, 1973;

Forssmann, 1973; Smollich, 1992).

Die *Macula densa*-Zellen des distalen Tubulus gehören zusammen mit den juxtaglomerulären Zellen zum juxtaglomerulären Apparat. Die juxtaglomerulären Zellen synthetisieren und speichern das Enzym Renin, welches seinerseits die Bildung des Hormons Angiotensin 2 fördert (Hamlyn et al., 1992; Kurokawa et al., 1992).

#### **2.2.2.4 Sammelrohr (*Tubulus colligens*)**

Das Sammelrohrsystem setzt sich aus dem Verbindungsstück (*connecting tubulus* = CNT) und dem Sammelrohr (*collecting duct* = CT), bestehend aus dem kortikalen Sammelrohr (*Cortical Collecting Duct* = CCD) sowie dem äußeren (*Outer Medullary Collecting Duct* = OMCD) und dem inneren (*Inner Medullary Collecting Duct* = IMCD) medullären Sammelrohr zusammen (Kriz und Bankir, 1988).

Die Ultrastruktur der Sammelrohre unterscheidet sich deutlich von den anderen Strukturen des Nephrons. Das Sammelrohr ist mit iso- bis hochprismatischem einschichtigem bis mehrschichtigem Epithel ausgekleidet (Sandersleben et al., 1989).

Die Zellen sind durch ein helles Cytoplasma und deutliche Zellgrenzen charakterisiert. Die Epithelzellen weisen im Vergleich zu den proximalen und distalen Tubuli wenige Zellorganellen auf (Meadows, 1973). Das Verbindungsstück, das kortikale und das äußere medulläre Sammelrohr weisen zwei unterschiedliche Zellsorten auf:

1. die mitochondrienärmeren, "hellen" Hauptzellen (*light cells/principal cells*=*CD cells*)
2. die mitochondrien- und carboanhydrasereichen sogenannten "dunklen" Schaltzellen (*dark cells/intercalated cells* = *IC cells*). Das innere medulläre Sammelrohr besitzt lediglich die CD cells (Oliver, 1944; Myers et al., 1966; Kriz und Bankir, 1988).

### **2.3 Physiologie der Nieren**

Die Aufgabe der Nieren ist die Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen, die Konservierung der Bedarfsstoffe, die Regelung des Wasser- und Elektrolythaushaltes, des Säure-Basen-Haushaltes sowie die Bildung und Inaktivierung verschiedener Hormone (Hierholzer und Fromm, 1987). Die grundlegenden Prozesse werden durch die Filtration, Reabsorption und Sekretion gesteuert (Chmielewski, 1992; Preuss, 1993). Prinzip der Nierenfunktion ist es, von dem durchfließenden Blut in den Glomeruli ein Ultrafiltrat in die Nierentubuli abzapfen (Hierholzer und Fromm, 1987). Dieses Ultrafiltrat enthält nur noch 10 mg Albumin pro Liter, während der Albumingehalt des Plasmas 40 mg pro Liter beträgt (West, 1985; Preuss et al., 1991). Unter physiologischen Bedingungen wird ein eiweißarmes Ultrafiltrat in die Bowman Kapsel

abgepreßt. Mit dem Harn gesunder Individuen wird 30 bis 150 mg Protein pro Tag ausgeschieden (Hierholzer und Fromm, 1987). Auf dem Weg durch das Tubulussystem wird der Primärharn durch Resorption und Sekretion modifiziert, so dass der Harn in seiner endgültigen Konzentration entsteht (Preuss, 1993).

Die einzelnen Tubulussegmente haben verschiedene Funktionen. Die proximalen *Tubuli* sind stärker durchlässig und transportieren große Substanzmengen gegen kleine Konzentrationsgradienten, während im distalen *Tubulus* kleine Substanzmengen gegen große Konzentrationsgradienten transportiert werden. Nur 1/100 des Volumens des Primärharnes wird letztendlich als Endharn in das Nierenbecken ausgeschieden (Bulger und Dobyan, 1982; O'Connor, 1984; Greger, 1985; Hierholzer und Fromm, 1987; Maddox und Brenner, 1991).

### **2.3.1 Bildung des Ultrafiltrates**

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) wird vorwiegend durch die Höhe des Nephronplasmaflusses, den systemischen onkotischen Druck, den hydrostatischen Druckgradienten zwischen den glomerulären Kapillaren und dem Bowman Kapselspalt sowie durch den glomerulären Permeabilitätskoeffizienten bestimmt. Ein spezieller Autoregulationsmechanismus hält die GFR aufrecht (Baylis und Brenner, 1978; Blantz, 1980; Osgood et al., 1983). Dieser Regulationsmechanismus ist durch zwei verschiedene Effekte beeinflussbar: 1. Myogene Reflexe in den afferenten Arteriolen vermögen den kapillären Durchmesser dem entsprechenden Blutdruck anzupassen. 2. Beeinflussung der GFR durch verschiedene Hormone. Der juxtaglomeruläre Apparat ist an der Aufrechterhaltung des systemischen Blutdruckes und somit auch an der Regulierung des intraglomerulären Druckes und der glomerulären Filtration beteiligt (Chmielewski, 1992). Die *Macula densa* hat eine bedeutende Funktion im tubuloglomerulären Rückkopplungsmechanismus (Feedback). Bei einer Erhöhung der Strömungsrate im Bereich der *Macula densa* nimmt die Filtrationsrate im zugehörigen *Glomerulum* ab, da im proximalen Tubulus vermehrt Natrium-Chlorid aus dem Primärharn resorbiert wird. Durch diesen vermehrten Natrium-Chlorid-Transport wird über eine lokale Aktivierung von Angiotensin II die Gefäßkontraktion verstärkt. Angiotensin II senkt dadurch den glomerulären Permeabilitätskoeffizienten und führt somit zur Änderung des renalen Plasmaflusses (Baylis und Brenner, 1978; Thureau, 1980; Schnermann, 1980; Blantz, 1980). Angiotensin II vermag durch seine Fähigkeit zur Regulierung des Nephronplasmaflusses und der Reduzierung des glomerulären Permeabilitätskoeffizienten die glomeruläre Filtrationsrate zu beeinflussen. Neben Angiotensin II fungiert auch Vasopressin als Vasokonstriktor und senkt so die

Permeabilität (Mc Caa, Hall und Mc Caa, 1978; Kurokawa et al., 1992; Yoshimoto und Kurokawa, 1993). Dagegen wirkt Prostazyklin als Vasodilatator (Mc Caa et al., 1978; Hamlyn und Ludens, 1992). Die GFR ist außerdem abhängig von der Anzahl an arbeitenden Nephronen. Im Rahmen von Nierenerkrankungen und mit zunehmendem Alter reduziert sich die GFR (Lindemann und Preuss, 1986).

## **2.3.2 Tubulussystem**

### **2.3.2.1 Proximaler Tubulus**

Natrium wird im proximalen Tubulus im Symport mit Glukose, Galaktose, neutralen und sauren Aminosäuren, Phosphat, Sulfat, Mono- und Dikarboxylsäuren und im Antiport mit Wasserstoffionen resorbiert. Der Natrium-Transport wird weitestgehend durch 2 verschiedene Systeme geregelt: Im proximalen Tubulus erfolgt der Natrium-Transport durch die glomerulotubuläre Balance, während er in der *Pars convoluta* des distalen Tubulus vorwiegend durch das Hormon Aldosteron reguliert wird (Mc Caa et al., 1978; Hierholzer und Fromm, 1987; Kurokawa et al., 1992; Yoshimoto und Kurokawa, 1993). Das Aldosteron fördert im distalen Tubulus und in den kortikalen Sammelrohren die Natrium-Resorption durch die Steigerung der Anzahl an apikalen Natrium-Kanälen und durch die Förderung der Offen-Wahrscheinlichkeit der Kanäle (Mc Caa et al., 1978; Hierholzer und Fromm, 1987; Kurokawa et al., 1992; Yoshimoto und Kurokawa, 1993).

Im frühproximalen Tubulus wird bereits ein Großteil der Glukose und Aminosäuren resorbiert (Frömter und Gessner, 1974). Glukose wird unter physiologischen Bedingungen frei filtriert und vollständig resorbiert. Der Glukosetransport besteht aus dem apikalen Natrium-Kotransporter, der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase und dem basolateralen Glukose-Uniporter (Rohde und Deetjen, 1968; Rector, 1983; Hierholzer et al., 1990). Bestimmende Größen für die Höhe des renalen Glukosetransportes sind neben der Größe des resorbierenden Epithels, die Länge des proximalen Konvolutes, die Glukosekonzentration im Ultrafiltrat und die Elektrolyt- und Wasserresorption (Rohde und Deetjen, 1968).

Für Chlorid stehen im frühproximalen Tubulus drei Antriebsmechanismen zur Verfügung: 1. Diffusion durch die beim Natrium-Symport entstandene Lumen-negative Spannung. 2. Diffusion aufgrund der durch die Wasserresorption gestiegenen luminalen Chlorid-Konzentration. 3. Konvektion mit dem resorbierten Wasser. Neben den parazellulären Transportwegen für Chlorid bestehen auch zelluläre Transportwege (Frömter und Gessner, 1974; Kinne, 1991; Kokko und Baum, 1992).

Im spätproximalen Tubulus liegt die Chlorid-Konzentration um 30% höher als im frühproximalen Tubulus. Im Rahmen der Chlorid- und Bicarbonat-Resorption entsteht eine Lumen-positive transepitheliale Spannung, welche die Diffusion der Kationen ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) steigert und die der Anionen hemmt (Rector, 1983; Preuss et al, 1991; Kinne, 1991).

Im proximalen Tubulus werden 60 bis 70% des filtrierte Kaliums resorbiert. Die Resorption erfolgt überwiegend parazellulär. Es existieren 3 Mechanismen für die Kalium-Resorption:

1. Der parazelluläre Transport durch *solvent drag*, 2. der parazelluläre Transport durch Diffusion, 3. transzellulär durch primär aktiven Transport (Weinstein, 1988).

Das Kalium wird durch einen Kalium-Kanal in die Zelle aufgenommen, was möglicherweise mit einem Chlorid-Kotransport einhergeht (Weinstein, 1988; Wright und Giebisch, 1992).

90% des aufgenommenen Kalziums werden über die *Faeces* ausgeschiedenen, nur ein geringer Anteil wird über die Niere abgegeben. Der größte Teil (60%) des filtrierte Kalziums wird bereits im proximalen Tubulus wieder rückresorbiert, lediglich 1% wird mit dem Urin ausgeschieden (Kumar, 1991; Friedman und Gesek, 1993).

Die Kalziumresorption verläuft im proximalen Tubulus überwiegend parazellulär und wird hormonell gesteuert (Bindels, 1993; Bourdeau, 1993; Friedman und Gesek, 1993; Friedman et al., 1999). Während Parathormon die Kalzium-Resorption fördert, hemmt das Calcitonin die tubuläre Resorption von Kalzium (Di Stefano et al., 1990).

Für das Kalzium bestehen drei verschiedene renale Transportmechanismen:

1. über einen passiven Transport, 2. über einen primär aktiven Transport und 3. über einen sekundär aktiven Antiporter, bei dem 3 Natriumionen gegen 1 Kalziumion ausgetauscht werden (Bourdeau und Burg, 1979; Bourdeau und Lau, 1990; Dominguez et al., 1992; Friedman und Gesek, 1993).

Phosphat und Sulfat werden überwiegend im proximalen Tubulus resorbiert (Weinstein, 1988). Mit Hilfe eines elektroneutralen Natriumkotransporters werden sie gegen den elektrochemischen Gradienten in die Zelle transportiert und verlassen die Zelle wieder



über den auswärts gerichteten elektrochemischen Gradienten auf der basolateralen Seite (Hierholzer et al., 1990). Der Transport des Phosphats wird vom Phosphat-Plasmaspiegel und hormonell beeinflusst: Parathormon (PTH) und Calcitonin hemmen die Resorption von Phosphat und steigern dessen Ausscheidung. Dagegen führt Kalzitriol zur entgegengesetzten Wirkung (Hierholzer und Fromm, 1987; Di Stefano et al., 1990; Hamlyn und Ludens, 1992; Kurokawa, 1992).

Im proximalen Tubulus werden außerdem Harnstoff, Harnsäure, Oxalat sowie organische Anionen (z.B. Penicillin) und Kationen (z.B. Atropin und Morphin) transportiert (Ullrich, 1994).

Harnstoff wird zu 50% im proximalen Tubulus mit Hilfe von Diffusion und *solvent drag* resorbiert. Der distale Tubulus und das Sammelrohr sind, bis auf dessen letzten Teil, fast impermeabel für Harnstoff (Ullrich, 1994).

Im proximalen Tubulus wird die biologisch aktive Form des Vitamin D<sub>3</sub> gebildet (Takeyama et al., 1997; Friedman et al., 1999). Das 25(OH)D<sub>3</sub> wird an das Vitamin-D-Bindungsprotein (DBP) gekoppelt (Haddad, 1995) im Glomerulum filtriert und durch Megalin vermittelte Endocytose an der apikalen Zellmembran in den proximalen Tubulus aufgenommen (Nykjaer et al., 1999). Dort entsteht die biologisch aktive Form des Vitamin D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>) (Takeyama et al., 1997).

### **2.3.2.2 Henlesche Schleife**

Der dünne Teil der Henleschen Schleife ist wasserpermeabel. 25% des filtrierten Wassers werden durch passiven Transport resorbiert. Dieser passive Transport erfolgt aufgrund der steigenden Osmolalität des Interstitiums, welche durch das Gegenstromsystem aufgebaut wird (Ullrich et al., 1982; Hierholzer und Fromm, 1987; Preuss et al., 1991).

Der dicke aufsteigende Ast der Henleschen Schleife (TAL) ist wasserimpermeabel, da er über keine Wasserkanäle verfügt. Es werden nur Solute, aber kein Wasser resorbiert, wodurch es entlang des TAL zu einer Osmolalitätsabnahme der Tubulusflüssigkeit kommt (Hierholzer und Fromm, 1987; Preuss et al., 1991).

In den Epithelzellen des dicken aufsteigenden Astes der Henleschen Schleife wird das Tamm-Horsfall-Protein synthetisiert (McKenzie und McQueen, 1969; Schenk et al., 1971; Hoyer et al., 1974; Hunt et al., 1985; Hession et al., 1987; Kumar und Muchmore, 1990). Zahlreiche Studien vermuten, dass das Protein aufgrund seiner besonderen gelbildenden Eigenschaft für die Wasserimpermeabilität des TAL verantwortlich ist (Stevenson et al., 1971; Hoyer et al., 1979; Kumar und Muchmore, 1990).

Hier werden jedoch 25 bis 30% des filtrierten Natriums und Kaliums apikal durch einen

$\text{Na}^2\text{-Cl-K}$ -Kotransporter resorbiert. Für Kalium besteht apikal zudem ein Kalium-Kanal durch den das Kalium die Zelle verlässt und somit eine Lumen-positive Spannung erzeugt (Greger, 1985; Wright und Giebisch, 1992; Kokko und Baum, 1992).

Basolateral erfolgt die Abgabe von Natrium ins Interstitium mit Hilfe der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, die Abgabe von Chlorid erfolgt durch einen Kanal. Kalium verlässt die Zelle basolateral zusammen mit dem Chlorid über einen Kotransporter. Im dünnen absteigenden Ast der Henleschen Schleife erfolgt keine Kalium-Resorption (Rector, 1983; Greger, 1985; Di Stefano et al., 1990).

Kalzium wird im TAL sowohl zellulär als auch parazellulär transportiert, wobei der zelluläre Resorptionsmechanismus durch Parathormon und Calcitonin, der parazelluläre Weg durch die Resorption von Natrium gesteuert wird (Di Stefano et al., 1990; Bindels, 1993; Bourdeau, 1993; Friedman und Gesek, 1993; Friedman et al., 1999).

Magnesium wird zum größten Teil (50 bis 60%) im TAL resorbiert, da der proximale Tubulus nur wenig permeabel für Magnesium ist. Die Transportmechanismen für Magnesium sind noch nicht vollständig aufgeklärt (Burg, 1982; Peraino und Suki, 1982). Die Resorption ist abhängig von der beim Chlorid-Transport erzeugten positiven lumenseitigen Spannung (Bourdeau und Burg, 1979).

Der Magnesiumtransport wird durch seinen Plasmaspiegel und hormonell gesteuert: Antidiuretisches Hormon (ADH), Parathormon, Calcitonin, Glukagon und cAMP steigern die Magnesium-Resorption (De Rouffignac et al., 1983; Elalouf et al., 1984). Vermutlich existiert neben dem überwiegenden parazellulären auch ein transzellulärer Transportweg (Greger, 1985).

### **2.3.2.3 Distaler Tubulus**

Der gewundene Teil des distalen Tubulus verfügt über Natrium-Chlorid-Kotransporter in der apikalen Membran, wodurch etwa 10% der filtrierten Natrium- und Chlorid-Menge resorbiert werden. Aufgrund der hohen Wasserpermeabilität, wird vermehrt Wasser aus dem distalen Tubulus herausdiffundiert, sodass die Isotonie der Tubulusflüssigkeit zum Blutplasma wiederhergestellt ist (Greger, 1985; Hierholzer und Fromm, 1987; Preuss, 1993).

Die Kalium-Sekretion im distalen Tubulus und in den Hauptstücken der Sammelrohre erfolgt mittels eines passiven Transportes (Wright und Giebisch, 1992).

Das Kalium wird trans- und parazellulär mit Hilfe der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase durch die Kalium-

Kanäle oder die Schlussleisten transportiert. Die durch die Natrium-Resorption erzeugte epitheliale Lumen-negative-Spannung steigert bei vermehrter Kalium-Aufnahme die Kalium-Sekretion (Wright und Giebisch, 1992). Bei der Regulierung der Kaliumausscheidung spielen sowohl resorptive als auch sekretorische Mechanismen eine Rolle, sodass es je nach Hemmung der jeweiligen Transportwege zum Überwiegen der Sekretion oder der Resorption kommt. Verschiedene Parameter haben einen Einfluss auf den Kalium-Transport: Der pH-Wert des Blutes, die transepitheliale Spannung, eine Kalium-Diät, Kalium-sparende-Diuretika, eine gesteigerte Flussrate und Aldosteron (De Rouffignac et al, 1983; Hierholzer und Fromm, 1987; Wright und Giebisch, 1992; Kurokawa et al., 1992).

Kalzium wird im distalen Tubulus vollständig transzellulär resorbiert. Die Resorption wird durch Parathormon, Calcitonin und das  $1,25(\text{OH})_2$ Vitamin  $\text{D}_3$  gesteuert ( Di Stefano et al., 1990; Bindels, 1993; Bourdeau, 1993; Friedman und Gesek, 1993; Friedman et al., 1999).

#### **2.3.2.4 Sammelrohr**

Im Sammelrohr erfolgt die Resorption des filtrierten Natriums und Kaliums gegen ein starkes Konzentrationsgefälle. Hier werden nur noch 5% der filtrierten Menge an Natrium und Kalium rückresorbiert (Oliver, 1944; Myers et al., 1966; Hierholzer et al, 1990; Wright und Giebisch, 1992).

Im medullären Sammelrohr wird der restliche Harnstoff durch einen apikalen Harnstoff-*Carrier* resorbiert. Ein Teil des Harnstoffes diffundiert anschließend wieder in die Henlesche Schleife und gelangt somit in den Harnstoffkreislauf. Der Harnstofftransport im medullären Sammelrohr ist von der Menge an resorbiertem Wasser im distalen Tubulus abhängig. Eine verringerte Wasserausscheidung führt zu einer vermehrten Harnstoffausscheidung. Dadurch verursacht eine pathologische Einschränkung der GFR einen Anstieg der Harnstoffkonzentration im Plasma (Hierholzer und Fromm, 1987; Ullrich, 1994).

### 2.3.3 Renaler Peptidtransport

Neben diätetischen Peptidquellen entstehen Di- und Tripeptide durch die konstante Spaltung von endogenen Proteinen und Oligopeptiden sowie durch Ausschüttung aus zahlreichen Geweben (Daniel und Herget, 1997). 50% der zirkulierenden Plasmaamino­säuren sind peptidgebunden, wobei die Mehrheit dieser aus Di- und Tripeptiden besteht (Seal und Parker, 1991; Rerat et al., 1992; Daniel und Herget, 1997). Die Di- und Tripeptide werden glomerulär filtriert und gelangen so in das Tubuluslumen. Oligopeptide werden ebenfalls glomerulär gefiltert und anschließend durch membrangebundene Peptidhydrolasen in Di- und Tripeptide gespalten (Silbernagel, 1988). Die renalen Epithelzellen verfügen in ihren apikalen und basolateralen Membranen über Carriersysteme in Form von Membrantransportproteinen, welche für die zelluläre Aufnahme zahlreicher kurzkettiger Oligopeptide aus dem Blut und der tubulären Flüssigkeit verantwortlich sind. Der Peptidtransport verläuft Natrium-unabhängig mit Hilfe eines nach innen gerichteten transmembranen elektrochemischen Protonengradienten als treibende Kraft und eines nach innen gerichteten negativen Membranpotentials. Dies ermöglicht den Membrantransportproteinen, die Peptide gegen einen Konzentrationsgradienten zu transportieren (Ganapathy und Leibach, 1983; Ganapathy et al., 1987; Tiruppathi et al., 1990; Daniel und Herget, 1997). Hierbei handelt es sich um einen pH-abhängigen-Transport (Daniel, 1993; Ries et al., 1994; Naasani et al., 1995; Daniel und Herget, 1997).

Ergebnisse zahlreicher Studien deuten auf das Bestehen zweier verschiedener Transportsysteme mit unterschiedlichen Substrataffinitäten hin (Silbernagel et al., 1991; Daniel et al., 1991; Ries et al., 1994; Daniel und Herget, 1997). Man unterscheidet einen Transportweg mit hohen Substrataffinitäten zwischen 10 und 250  $\mu\text{M}$  (*high-affinity*) von einem zweiten Transportweg mit niedrigen Substrataffinitäten über 1 mM (*low-affinity*) für die selben Substrate. Während der *high-affinity*-Transportweg über eine maximale Transportgeschwindigkeit linear zum transmembranen elektrischen Spannungsgradienten verfügt, arbeitet das *low-affinity*-Transportsystem sowohl in Anwesenheit als auch in Abwesenheit eines Membranpotentials, wobei die treibende Kraft vorwiegend durch Substrate und Protonengradienten geschaffen wird (Daniel et al., 1991; Ries et al., 1994; Daniel und Herget, 1997).

### 2.3.4 Gegenstromprinzip

Die Osmolalität des Urins wird durch das Gegenstromsystem der Henleschen Schleifen reguliert. Die Fähigkeit der Niere zur Urinkonzentrierung beruht auf 3 Mechanismen:

1. durch den in den wasserimpermeablen dicken aufsteigenden Ast der Henleschen Schleife (*Thick ascending limb* = TAL) im äußeren Mark lokalisierten aktiven Natrium-Chlorid-Transport,
2. durch die passive Harnstoffzirkulation zwischen Mark und Rinde, die erheblich zur Ausbildung der hohen Osmolalität des Interstitiums im inneren Mark führt, und
3. durch die von ADH kontrollierte Einstellung der Wasserpermeabilität in den Sammelrohren.

Der Natrium-Chlorid-Transport in das Interstitium hat die Hypoosmolalität der tubulären Flüssigkeit zur Folge, wogegen das Interstitium hyperosmolal wird. Die tubuläre Flüssigkeit, die in den dünnen absteigenden Ast der Henleschen Schleife (DTL) einströmt, wird hyperosmolal. Mit Zunahme des Urinzeitvolumens sinkt die osmotische Gesamtkonzentration des Urins (Ullrich et al., 1982).

## 2.4 Vitamin A

### 2.4.1 Allgemeine Betrachtungen

Vitamin A ist ein fettlösliches Vitamin, welches im Körper in Form von verschiedenen Derivaten mit unterschiedlichen Funktionen und Stoffwechselwegen vorliegt (Sporn und Roberts, 1994). Man unterscheidet das *all-trans*-Retinol, das über das gesamte biologische Wirkungsspektrum von Vitamin A verfügt, von den Retinoiden, die alle natürlichen und synthetischen Vitamin-A-Derivate umfassen (Blomhoff et al., 1992; Sporn und Roberts, 1994). Retinol besteht aus einem  $\beta$ -Iononring und einer Isoprenoid-Seitenkette mit einer terminalen Alkoholgruppe. Neben dem Retinol besitzen außerdem Retinal, Retinsäure und Retinylester eine wichtige physiologische Bedeutung. Vitamin A liegt im tierischen Organismus vor allem in der Vitamin-A-1-Reihe vor, deren Verbindung aus dem *all-trans*-Retinol hervorgehen (Blomhoff et al., 1992). Die Vitamin-A-2-Reihe, die sich vom 3,4-Didehydroretinol ableitet, befindet sich vorwiegend in Süßwasserlebewesen, die es zum Aufbau ihrer Sehpigmente benötigen und in der humanen Epidermis (Wald, 1968; Valquist, 1980). Bedeutende natürliche Vitamin-A-Quellen sind neben Leber, Eiern und Milchprodukten auch Leberöle von Salzwasserräubern und Meeressäugern.

Wichtige Lieferanten für  $\beta$ -Carotin, dem wichtigsten Provitamin A, sind Möhren,

Gemüsepflanzen und Futtergräser (Olson, 1994). Die Struktur physiologisch bedeutsamer Vitamin-A-Verbindungen ist aus Abb. 2.2 zu entnehmen.

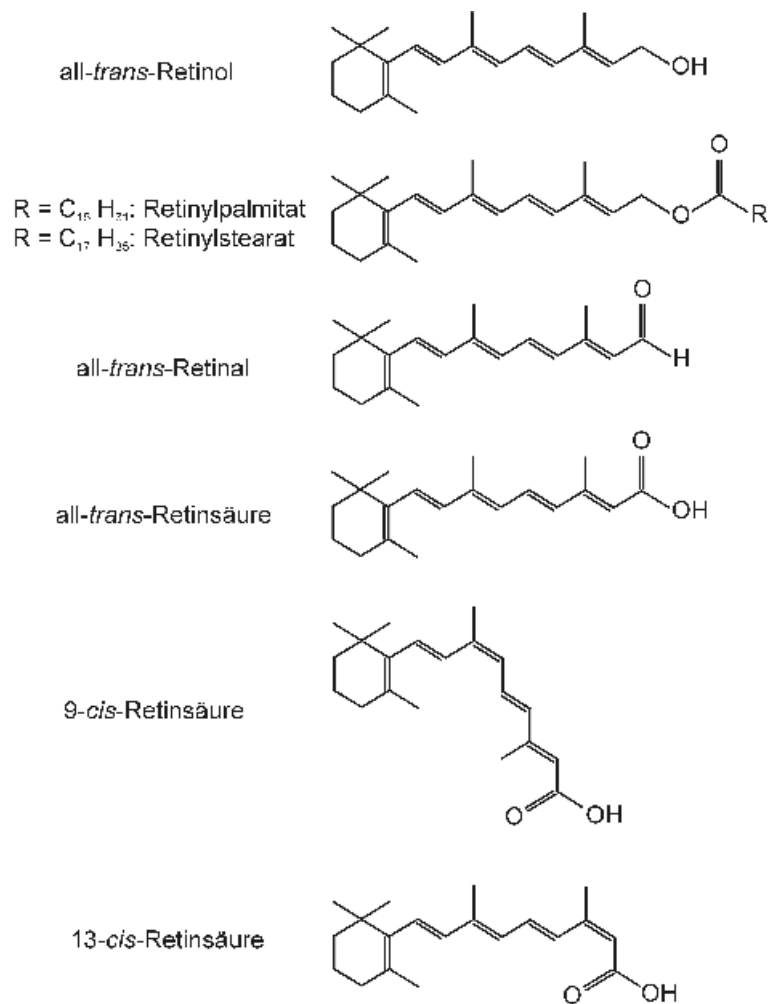


Abb. 2.2: Die Struktur physiologisch wichtiger Vitamin-A-Verbindungen

### **2.4.2 Funktion von Vitamin A**

Bereits 1925 entdeckten Wollbach und Howe die Bedeutung von Vitamin A für eine ungestörte Fortpflanzung. Später wiesen Mayer und Trevant (1949) auf den negativen Einfluss eines Vitamin-A-Mangels auf den Testosteron-Stoffwechsel hin. Wald konnte 1968 die Funktion des Vitamins A als Bestandteil des lichtabsorbierenden Chromophors der Sehpigmente im Rahmen des Sehzyklus bestätigen. Tickle und Mitarbeiter (1982) und Maden (1983) zeigten später in ihren Arbeiten die Effekte der Retinsäure bei der Regeneration der Amphibiengliedmaßen und bei der Differenzierung des Fingermusters in den Flügeln von Hühnerembryonen. Weitere Untersuchungen bestätigten den molekularen Wirkungsmechanismus von Vitamin A in der Regulation von Wachstums- und Differenzierungsvorgängen (Giguere et al., 1987; Petkovitch et al., 1987). Dabei fungiert die Retinsäure als Ligand für spezifische nukleäre Rezeptoren und kontrolliert so die Genexpression verschiedener Zellen. Im Rahmen der embryonalen Gewebedifferenzierung stellt die Retinsäure ein wichtiges Morphogen dar, welches die Ausbildung verschiedener morphologischer Strukturen steuert (Maden, 1994; Morris-Kay und Soklova, 1996).

Eine neuere Erkenntnis ist, dass Vitamin A außerdem die Immunabwehr sowie die Prävention und Therapie verschiedener Tumorerkrankungen positiv beeinflussen kann (Sommer, 1994; Willet und Hunter, 1994; Lotan, 1996; Tallmann et al., 1997).

### **2.4.3 Vitamin-A-Stoffwechsel**

Vitamin A wird als Retinylester aus tierischen Produkten oder als Carotinoid-Vorstufe aus den Pflanzen aufgenommen. Im Darmlumen erfolgt die enzymatische Spaltung der Retinylester durch eine unspezifische Pankreaslipase und eine im Bürstensaum der Enterozyten vorkommende spezifische Retinylester-Hydrolase in Retinol und Fettsäuren (Blomhoff et al., 1991; Blomhoff et al., 1992). Zusammen mit weiteren fettlöslichen Nahrungsbestandteilen wird das Retinol in den Enterozyten mittels erleichterter Diffusion absorbiert (Blomhoff, 1994). Die Menge des absorbierten Retinol ist einerseits von der Qualität und Quantität der zugeführten Fette, andererseits von einer entsprechenden Gallensekretion abhängig. Im Rahmen der Gallensekretion wird durch die Bildung mizellärer Lösungen die Voraussetzung zur Absorption der fettlöslichen Nahrungsbestandteile geschaffen (Hollander und Muralidhara, 1977). Die Carotinoide diffundieren passiv in die Mukosazellen des Dünndarmepithels (Hollander und Ruble, 1978) und werden dort entweder in Chylomikronen eingebaut oder unverändert an die Lymphe abgegeben bzw. enzymatisch in Retinol umgebaut (Olson

und Hayaishi, 1965; Goodman et al., 1967; Ganguly und Sastry, 1985; Blomhoff et al., 1992). Voraussetzung für die Aufnahme des Retinols in die Chylomikronen ist die erneute Veresterung mit langkettigen Fettsäuren. Dieser Prozess wird vom zellulären Retinol-Bindungsprotein II (CRBP II) gesteuert, welches ausschließlich in den Enterozyten des Dünndarmes lokalisiert ist. Nach Verpackung der Retinylester in die Chylomikronen werden diese mit der Darmlymphe ausgeschleust (MacDonald und Ong, 1987).

#### **2.4.4 Transport von Vitamin A zur Leber**

Retinylester werden zusammen mit anderen fettlöslichen Vitaminen und Verbindungen neben weiteren fettlöslichen Vitaminen und Verbindungen (z.B. Carotinoide und Triacylglyceride) in Chylomikronen verpackt und über die Darmlymphe ins Blut transportiert (Fidge et al., 1968; Ong et al., 1987; Blomhoff, 1994). Im Blutkreislauf erfolgt der Abbau der Chylomikronen durch die endotheliale Lipoproteinlipase in *Chylomikron-Remnants*. Dadurch können extrahepatische Gewebe mit hoher Differenzierung und intensiver Zellproliferation (z.B. Knochenmark, Milz, Nieren) Retinylester und Carotinoide für ihre Vitamin-A-Versorgung aufnehmen (Goodman et al., 1967; Blomhoff et al., 1982; Hussain et al., 1989a; Hussain et al., 1989b). Nach Bindung an den LDL- und Chylomikronenrezeptor (*Lipoprotein receptor-related protein*, LRP) der Leberparenchymzellen werden die *Chylomikron-Remnants* abgebaut (Mahley und Hussain, 1991). Dabei werden die Vitamin-A-Ester hydrolytisch in Retinol und Fettsäure gespalten. Katalysator der Hydrolyse ist eine subzelluläre Fraktion der Plasmamembran lokalisierten Gallensalz-unabhängigen-Retinylester-Hydrolase (Blomhoff et al., 1985; Harrison und Gad, 1989). In Abhängigkeit vom Vitamin-A-Status des Körpers wird das freigesetzte Retinol gespeichert oder in Verbindung mit dem Retinol-Bindungsprotein (RBP) als Retinol-RBP-Komplex (holo-RBP) erneut ins Blutplasma sezerniert (Smith und Goodman, 1976; Blaner, 1989; Blomhoff, 1994). Im Blutplasma erfolgt der Transport des Vitamin A auf zwei unterschiedlichen Wegen: Beim spezifischen Transport ist das Vitamin A an das RBP gekoppelt, während es beim unspezifischen Transport mit den Lipoproteinen des Blutes transportiert wird. Beim Hund ist der unspezifische Transport von Vitamin A ein physiologischer Vorgang und nicht wie bei anderen Tierarten als Anzeichen einer Vitamin-A-Intoxikation zu verstehen (Schweigert et al., 1990a).



#### 2.4.5 Spezifischer Transport von Vitamin A durch das RBP

Das RBP gehört zur Familie der lipidbindenden Proteine, die den Transport von verschiedenen hydrophoben Molekülen in wässrigem Milieu vermitteln (Godovac-Zimmermann, 1988; Banaszak et al., 1994). Plasma-RBP besteht aus einer Einzelpeptidkette mit einem Molekulargewicht von 21 kDa und wurde 1968 erstmals von Kanai und Mitarbeitern isoliert. Ein Molekül RBP besitzt eine Bindungsdomäne für ein Molekül all-*trans*-Retinol.

Daneben kann es aber auch andere Vitamin-A-Metabolite wie Retinal und Retinsäure binden, während langkettige Retinylester und andere Fette (z.B. Fettsäuren und Cholesterol) nicht an RBP gebunden werden können (Sivaprasadarao und Findlay, 1994). Im Blut bildet das RBP zusammen mit dem Plasmaprotein Transthyretin (TTR) einen 1:1 molaren Komplex von 76 kDa, der auf Grund seiner Größe vor der glomerulären Filtration geschützt ist (Blomhoff, 1994).

Die Aufnahme des Retinols in die Zielzelle wird bislang in zwei kontroversen Hypothesen diskutiert, wobei die erste Hypothese von einer zellulären Aufnahme des Retinols nach Bindung des Retinol-RBP-TTR-Komplexes an einen spezifischen Oberflächenrezeptor ausgeht (Pfeffer et al., 1986; Sivaprasadarao und Findlay, 1988; Shingleton et al., 1989; MacDonald et al., 1990; Ward et al., 1997). Die Existenz dieses spezifischen Rezeptors konnte aber bisher nicht bewiesen werden. Die zweite Hypothese postuliert eine zu anderen lipophilen Substanzen (Fettsäuren, Cholesterol, Steroidhormone) analoge einfache Diffusion durch die Lipid-Doppelmembran der Zelle (Noy und Xu, 1990a). Noy und Blaner (1991) entwickelten ein Modell für die Regulation der Rezeptor-unabhängigen-Retinolaufnahme. Danach erfolgt die Retinol-Aufnahme in Abhängigkeit von der Konzentration an ungebundenem zellulärem Retinol-Bindungsprotein (apo-CRBP). Der RBP-TTR-Komplex zerfällt nach der spontanen Dissoziation des Retinols (Noy und Blaner, 1991). Das verbleibende apo-RBP wird anschließend glomerulär filtriert und im proximalen *Tubulus* der Niere insbesondere in den S1- und S2-Segmenten (siehe Kap. 2.2.2.1: Der proximale *Tubulus*) rückresorbiert (Kato et al., 1984). Darüber hinaus stellt das apo-RBP, indem es den Retinolverbrauch der peripheren Gewebe anzeigt, ein Signal zur Ausschleusung des Retinol-RBP-Komplexes aus der Leber dar, weshalb Nierenerkrankungen zu Störungen des hepatischen Vitamin-A-Stoffwechsels führen können (Gerlach et al., 1988; Gerlach und Zile, 1990).

#### **2.4.6 Unspezifischer Vitamin-A-Transport**

Die Bindung von Retinol an das RBP sichert die Vitamin-A-Homöostase und ermöglicht so eine kontinuierliche und konstante Vitamin-A-Versorgung der peripheren Gewebe. Im Rahmen einer Vitamin-A-Unterversorgung fällt die Retinol-Konzentration im Blut erst ab, wenn die Speicher der Leber nahezu erschöpft sind (Gerlach et al., 1988). Dagegen wird bei einer chronischen Vitamin-A-Übersorgung die Transportkapazität des RBP sowie die Kapazität der Leberspeicher überschritten, so dass der spezifische Transport nicht mehr stattfinden kann und das Vitamin A zusammen mit den in der Leber synthetisierten Lipoproteinen transportiert wird.

Beim Menschen und bei der Ratte kommt es im Rahmen einer Vitamin-A-Intoxikation zum Anstieg der unspezifisch gebundenen Retinylester auf bis zu 60 % der gesamten Vitamin-A-Konzentration im Blut und zum Anstieg des molaren Verhältnisses des Gesamtvitamins A zum RBP mit den Folgen einer Vitamin-A-Intoxikation (Mallia et al., 1975; Smith und Goodman, 1976; Eckhoff et al., 1991; Ruotolo et al., 1992).

Im Gegensatz dazu treten beim Hund trotz hoher Konzentrationen an Lipoprotein-gebundenen-Retinylestern im Blut keine Symptome einer Vitamin-A-Intoxikation auf (Schweigert et al., 1990a). Der unspezifische Transport von Vitamin A ist beim Hund ein physiologischer Vorgang und nicht wie bei anderen Tierarten als Anzeichen einer chronischen Vitamin-A-Intoxikation zu verstehen.

#### **2.4.7 Besonderheiten im Vitamin-A-Stoffwechsel der Hunde**

Hunde und andere Carnivoren können im Gegensatz zum Menschen und anderen Tierarten das Vitamin A sowohl in Form von Retinol, als auch in Form von Lipoprotein-gebundenen-Retinylestern transportieren (Clausen et al., 1942; Wilson et al., 1987; Schweigert, 1988; Schweigert et al., 1990a). Carnivoren besitzen physiologischerweise einen besonders hohen Anteil an Vitamin-A-Estern. Auch die normale Vitamin-A-Gesamtkonzentration im Blut und in den Organen liegt über einem Vielfachen der normalen Vitamin-A-Werte für Menschen, Primaten, Herbivoren und Nagern (Schweigert et al., 1990a; Ribaya-Mercado et al., 1994; Schweigert und Thomann, 1993). Besonders in der Leber und in den Nieren von Hunden wurden auffällig hohe Vitamin-A-Konzentrationen nachgewiesen, jedoch nicht bei Fuchs und Marderhund (Schweigert und Thomann, 1993).

Eine weitere Besonderheit im Vitamin-A-Stoffwechsel von Hunden und anderen Caniden ist die regelmäßige und physiologische Ausscheidung von Vitamin A mit dem

Harn (Catel, 1938; Lawrie et al., 1941; Worden et al., 1955). Im Gegensatz dazu konnte im Harn von gesunden Menschen, Kaninchen, Ratten, Katzen, Rindern, Schafen und Pferden kein Vitamin A nachgewiesen werden (Catel, 1938; Lawrie et al., 1941; Heywood, 1967; Schweigert et al., 1991; Buchholz et al., 1993). Clausen und Mitarbeiter (1942) konnten erstmals Vitamin-A-Ester im Harn von Hunden nachweisen. Während im Blut das Retinylstearat über die anderen Vitamin-A-Ester-Fractionen dominiert, zeigt das Retinylpalmitat im Harn eine deutliche Dominanz über das Retinylstearat. Aufgrund dieser Tatsache wird vermutet, dass die renale Retinylesterausscheidung zuvor mit einer Hydrolyse und erneuten Veresterung einhergehen muss (Raila, 1999; Schweigert et al., 2002). Als Bestätigung hierfür wird das Auftreten verschiedener Retinylesterhydrolasen im Nierengewebe gesehen (Napoli et al., 1998). Die Ausscheidung von Retinol und Retinylestern waren selbst bei einer Vitamin-A-Zufuhr unter Bedarf ( $< 75$  IE/kg KG, NRC, 1985) noch in Spuren nachweisbar (Schweigert und Bok, 2000).

Als fettlösliche Verbindungen im wässrigem Milieu des Harnes müssen Retinol und Retinylester an ein oder mehrere Trägerproteine gebunden vorliegen (Lawrie et al., 1941; Schweigert et al., 1991; Schweigert et al., 2002).

Schweigert et al. (2002) gelang es dieses Trägerprotein für den Hund und andere Caniden zu isolieren und im weiteren Verlauf ihrer Studien als das Tamm-Horsfall-Protein (THP) zu charakterisieren.

## **2.5 Tamm-Horsfall-Protein (THP)**

Das canide THP besitzt ein Molekulargewicht von 100 kDa und ist damit um 5 kDa schwerer als das humane THP (Muchmore und Decker, 1985; Bachmann et al., 1985; Neßelhut et al., 1989; Raila, 1999). Das THP-Gen ist in allen Klassen der Wirbeltiere phylogenetisch konserviert und nachweisbar (Badgett und Kumar, 1998). Bisher wurde es im Harn von Hunden, Füchsen, Marderhunden, Katzen, Menschen, Ratten sowie Hamstern und Kaninchen gefunden (Hoyer und Seiler, 1979; Hörauf et al., 1989; Leopold-Temmler und Nolte, 1993; Meyer-Lindenberg et al., 1997; Raila, 1999).

THP wird in den Nieren in den Epithelzellen des dicken aufsteigenden Astes der Henleschen-Schleife (TAL) synthetisiert (Hunt et al., 1985; Hession et al., 1987; Pennica et al., 1987; Bachmann et al., 1990). Darüber hinaus konnte es immunhistologisch in den Epithelzellen des distalen gewundenen Tubulus (DCT) nachgewiesen werden (Hoyer et al., 1979; Sikri et al., 1979, 1981, 1982; Bachmann et al., 1985; Kumar et al., 1985; Peach et al., 1988; Raila, 1999). THP ist ein

membranständiges Protein, das durch das Glycosylphosphatidylinositol (GPI) verankert ist (Rindler et al., 1990). Das humane THP besitzt einen hohen (30%) Anteil an Kohlenhydratseitenketten (Williams und Marshall, 1984; Muchmore und Decker, 1985), welche essentiell für die zahlreichen verschiedenen physiologischen und pathophysiologischen Funktionen des Proteins sind (Muchmore und Decker, 1986; Hession et al., 1987; Sherblom et al., 1988). Das canide THP besitzt ebenfalls Kohlenhydrate (Raila, 1999).

### **2.5.1 Physiologie und Pathophysiologie des THP**

Die Struktur des THP, das einen hohen Anteil an Kohlenhydratseitenketten besitzt, ist bedeutend für die verschiedenen biologischen Aktivitäten des Proteins. Bisher sind jedoch nicht alle dieser Funktionen vollständig aufgeklärt.

Das THP spielt aufgrund seiner membranständigen Lokalisation sowie seiner Fähigkeit zur Viskosität eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der Wasserimpermeabilität im TAL. Die Eigenschaft zur Gelbildung beruht auf dem hohen Anteil an Kohlenhydratseitenketten, welche in der Lage sind, mit Wasser, Elektrolyten und anderen Glycoproteinen zu reagieren. In Anwesenheit von hochkonzentrierten Elektrolytlösungen besitzt das THP die Fähigkeit zur reversiblen Aggregation (Stevenson et al., 1971; Cleave et al., 1972; Morris und Rees, 1978). Bei der gleichzeitigen Resorption von Natrium- und Chloridionen wird ein osmotischer Gradient zwischen der interstitiellen Flüssigkeit und dem verdünnten Harn im Nierenmark aufgebaut. Durch diesen osmotischen Gradienten wird die Bildung eines konzentrierten Harnes ermöglicht (Hoyer et al., 1979; Sikri et al., 1979).

Bisher ist noch nicht geklärt, ob das THP im Rahmen der Pathogenese der Nephrolithiasis als Promotor oder als Inhibitor fungiert. THP stellt den Hauptbestandteil von hyalinen Zylindern in den Nephronen dar und wurde ebenfalls im Kern von Nierensteinen lokalisiert. Die Bildung der hyalinen Zylinder in den Nephronen wird im Zusammenhang mit der erhöhten Viskosität und Bereitschaft der Gelbildung des THP gesehen (Hoyer und Seiler, 1979; Kumar und Muchmore, 1990). Dabei resultieren die Faktoren, die zur Zylinderbildung führen, primär aus der Summation der Faktoren, die *in vitro* zur Gelbildung des THP führen: Wasserstoffionen, Elektrolyte und das THP selbst (McQueen und Engle, 1966). Unter extremen Bedingungen (z.B. hochgradige Dehydratation, akutes Nierenversagen) sind zahlreiche Tubuli sowie die Sammelrohre mit Kristallen, die vorwiegend aus THP bestehen, verstopft. Patel et al. (1964) sehen

hierin eine bedeutende Grundlage für die Entwicklung eines Nierenversagens.

Darüber hinaus gehen zahlreiche Untersuchungen davon aus, dass extratubulär Ansammlungen des THP durch Extravasationen eine pathogenetische Wirkung ausüben. Mehrere humanmedizinische Studien berichten von extratubulären THP-Ansammlungen im Zusammenhang mit medullären zystischen Erkrankungen, obstruktiven Uropathien mit vesikourethralem Reflux, Fibrose, chronischer Pyelonephritis und anderen Formen der interstitiellen Nephritis. Dabei konnte beobachtet werden, dass das extratubuläre THP von Entzündungszellen umgeben ist. Es wird vermutet, dass diese Ansammlung von Entzündungszellen eine Reaktion auf das THP darstellt (Resnick et al., 1978; Solez und Heptinstall, 1978; Zager et al., 1978).

Die von Muchmore und Decker (1985) beschriebene immunmodulatorische Eigenschaft des THP *in vitro* beruht auf der Fähigkeit des Proteins, verschiedene Zytokine (z.B. Interleukin-1 und -2, Tumornekrosefaktor) an die Kohlenhydratseitenkette zu binden (Muchmore, 1986; Muchmore und Decker, 1986; Sherblom et al., 1988). Das THP übt damit eine besondere Funktion in der renalen Clearance dieser Zytokine aus (Sherblom et al., 1988).

Israele et al. (1987) diskutieren eine mögliche Wirkung des THP in der urothelialen Abwehr als Schutzfaktor vor bakterieller Adhäsion durch *E. coli*.

Eine neuere Erkenntnis ist, dass das THP auch die Funktion eines Trägerproteins für Retinol und Retinylester im Harn von Caniden besitzt (Raila, 1999). Welche genaue Bedeutung dieser Lipid-Protein-Wechselbeziehung zukommt, bleibt noch zu klären.

## **2.6 Bedeutung der Nieren im Vitamin-A-Stoffwechsel des Hundes**

Hunde und andere Caniden nehmen auf Grund ihrer Besonderheiten im hämatogenen Vitamin-A-Transport sowie durch den Fütterungseinfluss auf den Vitamin-A-Blutspiegel und nicht zuletzt durch ihre Fähigkeit zur renalen Ausscheidung des Vitamins A eine Sonderstellung unter den Säugetieren ein. Im Vitamin-A-Stoffwechsel kommt den Nieren des Hundes eine besondere Bedeutung zu. Das belegen sowohl der hohe Vitamin-A-Gehalt der Nieren als auch die Fähigkeit zur Reabsorption von glomerulär filtriertem Vitamin A. Die Vitamin-A-Konzentrationen in den Nieren des Hundes liegen deutlich über den Werten, die für den Menschen und für die Ratte beschrieben wurden (Raica et al., 1972; Nagy et al., 1997; Raila, 1999).

Im Folgenden soll genauer auf die Bedeutung der Nieren für den Vitamin-A-Stoffwechsel des Hundes eingegangen werden:

Retinol wird in der Leber an das Retinol-Bindungsprotein (RBP) gekoppelt (Smith und Goodman, 1979; Blaner, 1989; Blomhoff, 1994). Im Blutplasma ist der Retinol-RBP-Komplex an das Transthyretin (TTR) gebunden, der aufgrund seiner Größe vor der glomerulären Filtration weitestgehend geschützt ist (Blomhoff, 1994).

Vier bis fünf Prozent des Retinol-RBP-Komplexes sind jedoch nicht an das TTR gebunden und werden so glomerulär filtriert und im proximalen Tubulus rückresorbiert (Kato et al., 1982; Kato et al., 1984; Green et al., 1985; Green und Green, 1994).

Verschiedene Studien an Ratten haben gezeigt, dass das Retinol mehrmals in das Blutplasma rezirkuliert wird, bevor es vollständig metabolisiert wird (Green et al., 1985; Blomhoff et al., 1991). Etwa 50% dieses Retinol-Recyclings finden in den Nieren statt. Im Rahmen von molekularbiologischen Studien, konnte mittels *in-situ*-Hybridisierung RBP-mRNA in den Nieren nachgewiesen werden, was bedeutet, dass RBP ebenfalls in den Nieren synthetisiert wird (Soprano et al., 1986; Makover et al., 1989). Ungeklärt ist aber bisher, warum die Synthese des RBP in den S3-Segmenten des proximalen Tubulus abläuft (Makover et al., 1989), während die Rückresorption des RBP in den S1- und S2-Segmenten stattfindet (Kato et al., 1982; Kato et al., 1984; Christensen et al., 1999).

Auch der weitere Weg des rückresorbierten Retinols ist bisher nur hypothetisch: Raila (1999) vermutet in der höheren Vitamin-A-Konzentration in der Nierenrinde eine mögliche Speicherung des Vitamin A, womit den Nieren abermals eine besondere Bedeutung in Form der Regulation der Vitamin-A-Speicherung und Hydrolyse zukommt. Im Anschluss an die tubuläre Resorption kann das Vitamin A sowohl erneut an das RBP gekoppelt oder als Lipoprotein-gebundene Retinylester ins Blut sezerniert werden (Raila, 1999; Christensen et al., 1999).

Die Resorption des Vitamin-A-RBP-Komplexes an der apikalen Membran der proximalen Tubuli wird durch das Rezeptorprotein Megalin vermittelt. Megalin ist ein 600 kD Protein (Kerjaschki et al., 1984; Christensen et al., 1999; Morelle et al., 2000), das zur LDL-Rezeptoren-Familie zählt (Raychowdhury et al., 1989; Saito et al., 1994; Hjälml et al., 1996). Studien an Megalin-defizienten-Mäusen zeigen, dass diese Tiere im Gegensatz zu den gesunden Vergleichstieren sowohl RBP als auch RBP-gebundenes-Retinol über den Harn verlieren (Christensen et al., 1999; Leheste et al., 1999). Christensen und Mitarbeiter (1999) schließen daraus, dass die Megalin-vermittelte Resorption des Vitamin-A-RBP-Komplexes vor renalen Retinolverlusten schützt.

Außerdem vermuten die Autoren, dass RBP im Anschluss an die endozytotische Aufnahme lysosomal abgebaut wird. Retinol wird mit neusynthetisiertem RBP gekoppelt und anschließend wieder sezerniert (Christensen et al., 1999). Für Hunde liegen darüber jedoch bisher keine Untersuchungsergebnisse vor.

Die Bedeutung der Nieren in der Regulation der Exkretion von THP und Vitamin A im Hundeharn ist bisher unklar. Es wird vermutet, dass die THP-Ausscheidung unabhängig vom Vitamin A erfolgt, da im SDS-Gel kein Zusammenhang zwischen der Intensität der THP-Proteinbande und dem Vitamin-A-Gehalt im Harn hergestellt werden konnte (Raila, 1999). Unterschiede konnten lediglich in der Variabilität der täglichen THP-Ausscheidung im Bezug auf die Gesamtproteinausscheidung im Harn festgestellt werden (Gokhale et al., 1997). Raila gelang im Rahmen seiner Studien die Isolierung eines nativen Vitamin-A-Proteinkomplexes (holo-Form) sowie einer Vitamin-A-freien Form (apo-Form) des Trägerproteins aus dem Harn von Caniden. Raila vermutet demnach eine Vitamin-A-unabhängige Synthese und Sekretion von THP durch die Epithelzellen des dicken aufsteigenden Astes der Henleschen Schleife (1999).

## **2.7 Pathologie der Hundenieren**

### **2.7.1 Allgemeine Betrachtung**

Die Nieren verfügen über eine extrem hohe Reservekapazität, so dass eine renale Erkrankung häufig erst in einem fortgeschrittenem Stadium klinisch manifest wird. Erst wenn mehr als 75 % der Nephronen nicht mehr funktionstüchtig sind, kommt es zum merkbaren Anstieg des Serumkreatinins und/oder des -Harnstoffes sowie zum Nierenversagen (Osborne et al., 1981; Bovee, 1984; Brown et al., 1985). Diese Tatsache macht die Diagnostik von Nephropathien sowie die Ermittlung des Grades des Funktionsverlustes und in der Charakterisierung und Lokalisierung der Nephropathie enorm schwierig (Osborne et al., 1981; Bovee, 1984; Chew und DiBartola, 1986; Michell, 1988; Polzin et al., 1989a).

## 2.7.2 Akutes Nierenversagen

Akutes Nierenversagen resultiert aus einem plötzlichen Zusammenbruch der Nierenfunktion. Ursache des akuten Nierenversagens sind in der Regel ischämische oder toxische Einflüsse auf das Nierenparenchym, welche insbesondere zur Schädigung der Epithelzellen des proximalen Tubulus und des dicken aufsteigenden Astes der Henleschen Schleife (TAL) führen. Hier verursachen diese Noxen Störungen in der Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes (Brown et al., 1985; Vaden et al., 1995; Behrend et al., 1996).

Während Nephrotoxine vorwiegend zu Schädigung und Zelltod der Tubuluszellen führen, schaden renale Ischämien insbesondere durch zelluläre Hypoxie und Substratmangel. Sekundäre Vasokonstriktion, in Folge von ischämischen oder toxischen Einwirkungen, vermindert die glomeruläre Filtration zusätzlich (Grauer et al., 1994; Grauer und Lane, 1995; Vaden et al., 1995).

Im Gegensatz zu den Nephronschädigungen beim chronischen Nierenversagen können tubuläre Schäden und Dysfunktionen im Rahmen eines akuten Nierenversagens durchaus reversibel sein, solange die tubuläre Basalmembran erhalten bleibt (Brown et al., 1985; Behrend et al., 1996; Brown et al., 1997).

Aufgrund ihrer einzigartigen anatomischen und physiologischen Eigenschaften sind die Nieren besonders anfällig für ischämische und toxische Einflüsse. Nicht zuletzt die starke Durchblutung der Nieren, insbesondere der Rinde, als auch die große Oberfläche des glomerulären Kapillarendothels sowie das Gegenstromprinzip der Nieren, welches die Konzentrierung der Gifte im Nierenmark zur Folge haben kann, prädisponieren die Nieren für ischämisch und toxisch induzierte Schäden (Brown et al., 1985; Behrend et al., 1996). Auch die hohe metabolische Rate des proximalen und distalen *Tubulus* machen die Nieren empfänglich für Hypoxien und Mangelversorgung. Die tubuläre Sekretion und Resorption führt zu einer weiteren intrazellulären Konzentration der Toxine (Brown, 1994; Grauer et al., 1995).

Megalin als endozytotischer Rezeptor wird auf der Oberfläche der proximalen Nierentubuli exprimiert und fungiert als zentraler Rezeptor für niedermolekulare Plasmaproteine (Raila et al., 2003), Kalzium (Friedman et al., 1999), Rezeptor-assoziiertes-Protein (RAP) (Christensen et al., 1992), Vitamin-B12-Carrier Transcobalamin, Vitamin-D-Bindungs-Protein (Nykjaer et al., 1999), Lipoproteine, Albumin und verschiedene, z.T. nephrotoxische Medikamente (Christensen et al., 1998; Christensen et al., 1999).

Bekannte potentielle Nephrotoxine sind Antibiotika wie Aminoglycoside,



Cephalosporine, Polymyxine, Sulfonamide und Tetracycline. Weitere Medikamente wie Amphotericin B, ein Fungizid, sowie Analgetika wie z.B. Piroxicam, Ibuprofen, Phenylbutazon und Naproxen können nephrotoxisch wirken. Aber auch Schwermetalle, organische Stoffe (vor allem Ethylenglycol), Pigmente (Hämoglobin, Myoglobin), Chemotherapeutika (Cisplatin, Doxorubizin) und Anästhetika (Methoxyfluran) haben potentiell nephrotoxische Wirkung (Rivers et al., 1996; Grauer, 1998).

Toxische Einwirkungen auf die Nieren sind häufig iatrogen durch die Gabe von nephrotoxischen Medikamenten bedingt. Dabei verursachen Gentamicin, Nicht-steroidale-Antiphlogistika (NSAID) und langandauernde Anästhesien mit unzureichender Flüssigkeitstherapie am häufigsten akutes Nierenversagen (Brown et al., 1985; Dunn et al., 1988; Grauer et al., 1994; Silverman und Khan, 1999).

Potentielle Ursachen für ischämisch bedingtes Nierenversagen sind Dehydratation, Blutungen, Hypovolämie, tiefe Anästhesien, Hypotension, Sepsis, Hypo- und Hyperthermie, Verbrennungen, Traumen, Thrombosen und Mikrothrombenbildung in renalen Blutgefäßen sowie Transfusionsreaktionen (Grauer und Lane, 1995; Grauer, 1998).

NSAIDs können im Zusammenhang mit einer Minderdurchblutung der Nieren zu einer renalen Papillennekrose führen. Im Rahmen einer Minderdurchblutung wie sie z.B. bei Tieren mit einer verringerten kardialen Auswurfleistung, vermindertem onkotischem Druck oder Dehydratation vorkommt, ist die Aufrechterhaltung der renalen Durchblutung von der prostaglandinvermittelten renalen Vasodilatation abhängig. Wird die Prostaglandinsynthese durch die Therapie mit NSAIDs verringert, so können die Vasopressoren (z.B. Epinephrin, Norepinephrin, Renin-Angiotensin) eine Vasokonstriktion hervorrufen, woraus ischämische Tubulusschäden resultieren (Dunn et al., 1988; Grauer, 1998; Silverman und Khan, 1999).

Im Rahmen der Pathogenese eines akuten Nierenversagens existieren verschiedene Risikofaktoren, welche die Entstehung eines Nierenversagens begünstigen. Dazu zählen Dehydratation, verminderter kardialer Auswurf, Sepsis, Pyometra, Fieber, Hepatopathien, Elektrolytverschiebungen wie Hypokaliämie und Hyperkalzämie, gesteigerte Proteinzufuhr, konkurrierende gleichzeitige Anwendung mehrerer Diuretika sowie die gleichzeitige Anwendung von potentiell nephrotoxischen Arzneimitteln (Vaden et al., 1995; Grauer und Lane, 1995; Grauer, 1998).

Akutes Nierenversagen findet man häufig bei Hunden mit Pyometra und einer zusätzlichen durch *E. coli* hervorgerufenen verminderten renalen Fähigkeit zur Harnkonzentration. Begünstigende Faktoren sind dabei vor allem eine unzureichende Flüssigkeitstherapie während und im Anschluss an die Ovariohysterektomie (Stone et al., 1988; Grauer, 1998). Das akute Nierenversagen wird von Azotämie, Proteinurie, Enzymurie (GGT, AP, Amylase), geringgradiger tubulointerstitieller Nephritis und einer verringerten glomerulären Filtrationsrate begleitet (de Schepper, 1987).

Tiere mit einem erhöhten Risiko für akutes Nierenversagen sowie Tiere, die potentielle Nephrotoxine erhalten, sollten genau überwacht werden. Dabei stellt die Messung der Urinproduktion eine wichtige Möglichkeit zur Überwachung von Risikopatienten dar (Behrend et al., 1996; Rivers et al., 1996).

Eine erhöhte Ausscheidung von Glucose, Zylinder oder Eiweißen können als frühe Anzeichen einer Nephrotoxizität angesehen werden. Eine Alternative zu klinischen Standarduntersuchungen bietet die Elektrophorese, welche durch eine qualitative Bestimmung der Proteinzusammensetzung Auskunft über die Art der Proteinurie und somit über den Ort der renalen Schädigung ermöglicht (Müller-Peddinghaus und Trautwein, 1978; Boesken, 1985; Schiwara und Spiller, 1989; Volpert et al., 1989; Boesken und Oser, 1993; Meyer-Lindenberg et al., 1997). Durch die Proteinanalyse ist die Früherkennung einer Nierenschädigung möglich (Rivers et al., 1996).

### **2.7.3 Proteinurie**

Im Tubulussystem wird nahezu die gesamte Menge des in den Glomerula abfiltrierten Proteins rückresorbiert. Daher finden sich im Endharn nur Spuren von Protein. Vorübergehend erhöhte Proteinkonzentrationen im Harn können physiologischerweise auftreten, während andauernde Proteinerhöhungen als krankhaft einzustufen sind. Zahlreiche Nephropathien gehen mit Proteinurien einher, daher gilt Protein im Harn als der wichtigste Indikator für eine Nephropathie (Barber, 1996). Die Proteinqualität ist für die Diagnose der Nephropathie von Bedeutung, weil dadurch Rückschlüsse auf den Ort der Schädigung der Nieren möglich sind. Man unterscheidet prä- und postrenale Proteinurien von renalen Proteinurien. Prärenale Proteinurien werden auch Überlaufproteinurien genannt, da die krankheitsbedingte Konzentrationserhöhung an niedrigmolekularen Proteinen (z.B. Hämoglobin, Myoglobin, Bence-Jones-Protein) hämatogen bedingt ist und die glomerulär filtrierte Menge die Rückresorptionskapazität des *Tubulus* übersteigt (Barber, 1996). Die postrenalen Proteinurien stammen z.T. physiologisch aus der Niere, den harnableitenden Wegen, den akzessorischen

Geschlechtsdrüsen bzw. aus dem Vaginaltrakt, aber auch aus Harnwegsblutungen (Balant et al., 1974; Büeler et al., 1995).

Die Natrium-Dodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) stellt eine geeignete, im Gegensatz zur Nierenbiopsie nicht invasive Methode zur qualitativen Proteinbestimmung im Harn dar (Müller-Peddinghaus und Trautwein, 1978; Boesken, 1985; Schiwara und Spiller, 1989; Volpert et al., 1989; Boesken und Oser, 1993; Meyer-Lindenberg et al., 1997). Im Unterschied zur klassischen Elektrophorese erfolgt die Trennung der Proteine nicht nach ihrer Ladung, sondern anhand der Größe der Proteine. Diese qualitative Proteinbestimmung erlaubt direkte Rückschlüsse auf die Lokalisation der renalen Schäden (Boesken und Oser, 1993).

Dabei wird berücksichtigt, dass glomeruläre Proteinurien durch ein Überwiegen makromolekularer Proteine mit einem Molekulargewicht höher als 65 kDa sowie durch eine starke Erhöhung der Eiweißausscheidung im Harn gekennzeichnet sind. Ursache glomerulärer Proteinurien ist eine gesteigerte Permeabilität des Glomerulums bei primär ungestörter Rückresorption. Bei der glomerulären Proteinurie sind die Immunglobuline, Transferrin und Albumin im Harn erhöht. Glomeruläre Proteinurien kommen im Rahmen von Glomerulopathien, membranösen Glomerulonephritiden und Amyloidnephrosen vor (Müller-Peddinghaus und Trautwein, 1978; Volpert et al., 1989).

Tubuläre Proteinurien werden durch eine verminderte Rückresorption, wie sie im Rahmen von Tubulopathien, Pyelonephritiden, Schwermetallvergiftungen und symptomatisch bei Fieber vorkommt, verursacht. Sie sind durch ein Dominieren der Mikroproteine (<65 kDa) im Endharn und eine geringgradig erhöhte Eiweißausscheidung gekennzeichnet und lassen sich mit Hilfe der SDS-Gelelektrophorese nachweisen. Dabei sind die Mikroproteine bis 10 kDa komplett erhöht, während Albumin und kleinere Proteine bis 40 kDa nur teilweise vermehrt im Harn auftreten (Müller-Peddinghaus und Trautwein, 1978; Volpert et al., 1989; Rivers et al., 1996). Der Nachweis von RBP im Harn dient zusammen mit anderen Mikroproteinen ( $\alpha$ 1-Mikroglobulin,  $\beta$ 2-Mikroglobulin, Apolipoprotein A1, Urinprotein 1) als diagnostischer Marker einer tubulären Proteinurie (Topping et al., 1986; Tomlinson et al., 1990; Raila et al., 1999).

Hunde scheiden, ähnlich wie der Mensch, physiologischerweise verschiedene Proteine mit dem Harn aus (Volpert et al., 1989; Leopold-Temmler und Nolte, 1993; Gekle, 1998). Das physiologische Proteinmuster besteht aus Albumin (65 kDa), einem weiteren Protein mit einer Größe von 80 kDa und aus dem Tamm-Horsfall-Protein (100 kDa) (Volpert et al., 1989; Leopold-Temmler und Nolte, 1993; Meyer-Lindenberg et al.,

1997). Erhöhte Exkretionen des Tamm-Horsfall-Proteins findet man u.a. beim nephrotischen Syndrom. Mit zunehmend eingeschränkter glomerulärer Filtrationsrate sinkt Menge an ausgeschiedenem THP (McKenzie et al., 1964). Rüden scheiden zusätzlich ein 30 kDa schweres, prostataspezifisches Protein mit dem Harn aus (Teifalt et al., 1999).

#### **2.7.4 Chronisches Nierenversagen**

Chronisches Nierenversagen entsteht in Folge eines Krankheitsprozesses, bei dem über Wochen, Monate oder Jahre irreversible Schäden am Nephron entstehen. Aufgrund der Abhängigkeit der vaskulären und tubulären Bestandteile des Nephrons führen irreversible Schädigungen, unabhängig davon, ob sie glomerulären oder tubulären Ursprungs sind, zum Funktionsverlust des gesamten Nephrons (Finco et al., 1992; Grauer und Lane, 1995).

Irreversibel geschädigte Nephrone heilen durch Fibrose und Atrophie. Im Verlauf der Erkrankung erfolgt eine kompensatorische Hypertrophie der nicht geschädigten Nephrone in Form von glomerulärer Hyperfiltration, Hypertension und Hypertrophie (Brown et al., 1997). Sind die hypertrophierten Nephrone schließlich nicht mehr in der Lage, die Nierenfunktion aufrecht zu erhalten, kommt es zum chronischen Nierenversagen ( Finco et al., 1985; Grauer, 1998; Finco et al., 1998).

Da die histopathologischen Veränderungen nicht krankheitsspezifisch sind, ist die Primärursache häufig unbekannt. Die häufigste Primärursache chronischen Nierenversagens sind glomeruläre Störungen. Weitere potentielle Ursachen eines chronischen Nierenversagens sind renale Ischämien, Nephrotoxine, Amyloidosen, Neoplasien, entzündliche oder infektiöse Ursachen wie Pyelonephritiden, Leptospirose oder Nierensteine sowie immunologische Störungen in Form von *Lupus erythematoses*, Glomerulonephritis und Vaskulitiden. Zahlreiche Hunderassen leiden unter familiären hereditären und kongenitalen Nephropathien (z.B. Lhasa Apso, Shi Tsu, Rottweiler, Berner Sennenhund, Chow Chow, Neufundländer, Bull Terrier, Welsh Corgi, Shar Pei, Dobermann, Golden Retriever, Pudel, Cocker Spaniel, Beagle und Cairn Terrier). Zudem können chronische Nierenerkrankungen idiopathisch bedingt sein (Grauer und Lane, 1995; Grauer, 1998). (Siehe Legende 2.1)

## Legende 2.1: Potentielle Ursachen chronischen Nierenversagens beim Hund

### Immunologische Störungen

- Systemischer *Lupus erythematodes*
- Glomerulonephritis

### Amyloidose

### Neoplasien

- Primäre Neoplasien
- Sekundäre Neoplasien

### Renale Ischämien

### Nephrotoxine

### Inflammatorische und infektiöse Ursachen

- Pyelonephritis
- Nierensteine
- Leptospirose

### Hereditäre und kongenitale Störungen

- Renale Hypoplasie oder Dysplasie
- Polyzystische Nierenerkrankungen
- Familiäre Nephropathien

(Beagle, Bedlington Terrier, Berner Sennenhund, Bull Terrier, Chow-Chow, Cocker Spaniel, Dobermann Pinscher, Golden Retriever, Lhasa Apso, Neufundländer, Pudel, Rottweiler, Samojede, Shi Tsu, Welsh Corgi)

### Harnwegsobstruktionen

### Idiopathisch

Bislang wird kontrovers darüber diskutiert, ob chronische Nierenerkrankungen progressiv und "selbst-angetrieben" verlaufen, wenn die renale Masse auf einen bestimmten, "kritischen Level" reduziert ist. Anhänger dieser Hypothese vermuten, dass sich die Nierenfunktion progressiv bis zur Endstadiumurämie verschlechtert (Hostetter et al., 1981; Brenner et al., 1982; Hostetter et al., 1982; Brenner, 1985). Demnach führt eine anfängliche Nierenerkrankung zur Verringerung der glomerulären Filtrationsrate (GFR), welche solange durch kompensatorische, maladaptive Mechanismen teilweise wiederhergestellt werden kann, bis ein Punkt erreicht ist, an dem die kompensatorischen Mechanismen zur Selbstzerstörung des übrigen Nierengewebes führen (Brenner et al., 1982).

Dagegen vermuten Brown et al. (1997) und Finco et al. (1998) das Bestehen zweier

gegensätzlicher Mechanismen, die einerseits zur Verringerung und andererseits zur Steigerung der GFR führen und so die GFR trotz der Koexistenz von strukturellen renalen Schäden im Verlaufe einer chronischen Nierenerkrankung stabil halten.

Die klinischen Anzeichen eines chronischen Nierenversagens sind oft relativ schwach ausgeprägt gemessen an der Schwere der bestehenden Azotämie. Chronisches Nierenversagen wird von Gewichtsverlust, schlechter körperlicher Verfassung sowie Polyurie und Polydipsie begleitet. Weiterhin können eine nichtregenerative Anämie sowie eine progressive Azotämie und Veränderungen der Harnqualität auf das Vorliegen eines chronischen Nierengeschehens hinweisen. Im Ultraschall sind kleine, unregelmäßig geformte Nieren zu beobachten (Finco et al., 1985; Grauer und Lane, 1995; Grauer, 1998).

## **2.8 Einteilung der Nephropathien**

Nierenversagen ist eine häufige Krankheits- und Todesursache beim Hund (Brown et al., 1997). Verschiedene Nephropathien können zu akutem oder chronischem Nierenversagen führen. Dabei lassen sich die Nephropathien nach folgendem Schema einteilen (Osborne et al., 1972; Weiss, 1999):

*Legende 2.2: Einteilung der Nephropathien*

### Kreislaufstörung

- Hyperämie
- Blutung
- Infarkt
- Nekrosen

### Nephritis

- Hämatogene Nephritis
- Urinogene Nephritis

### Nephrose

- Glomerulonephrose
- Tubulonephrose

### Tumor

- Primär
- Sekundär

Die Einteilung der Nephritiden ist Legende 2.3 zu entnehmen:

*Legende 2.3: Einteilung der Nephritiden*

#### Hämatogene Nephritis (eitrig/nichteitrig)

- Glomerulonephritis
- Interstitielle Nephritis
- Granulomatöse Nephritis

#### Urinogene Nephritis

- Pyelonephritis

### **2.8.1 Kreislaufstörungen**

#### **2.8.1.1 Hyperämie**

Man unterscheidet die aktive und die passive Hyperämie. Die aktive Hyperämie ist häufig auf das Nierenmark beschränkt und tritt v.a. im Rahmen bakterieller Septikämien und akuter Nierenentzündungen auf (Weiss, 1999). Hauptursache der passiven Hyperämie ist akutes Herzversagen. Die passive Hyperämie wird seltener durch örtliche Kreislaufstörungen wie Thrombosen oder Kompressionen der Nierenvenen verursacht. Mikroskopisch sind die Gefäße und Kapillaren, v.a. die *Glomerula*, intensiv mit Erythrozyten gefüllt (Grauer und Lane, 1995; Weiss, 1999).

#### **2.8.1.2 Blutungen**

Häufig findet man in der Niere Blutungen, die von punktförmigen petechialen Blutungen über Ekchymosen bis zu subkapsulären Massenblutungen reichen können. Als Ursache für Petechien kommen Infektionskrankheiten (z.B. *Herpesvirus-canis*- Infektion), Intoxikationen (z.B. Dicumarol) und hämorrhagische Diathesen in Betracht (Carmichael, 1970; Burrows, 1977; Pospischil, 1981; Weiss, 1999). Weiterhin kann es auch in Folge von Traumen und während der Agonie zur Entstehung von Blutungen kommen (Grauer und Lane, 1995). Histopathologisch ist die starke Durchtränkung der Gefäße und Kapillaren sowie des umgebenden Gewebes nachweisbar (Pospischil, 1981; Weiss, 1999).

### 2.8.1.3 Infarkt

Niereninfarkte sind beim Hund von untergeordneter Bedeutung (Crowell und Finco, 1974; Müller-Peddinghaus et al., 1977). Ischämische Nekrosen infolge Arterienverschlusses sind bei Haustieren vorwiegend embolisch-thrombotischer Natur. In Folge der starken Durchblutung der Nieren werden Emboli besonders häufig in die Nieren eingeschwenkt. Die Emboli gelangen meist im Gefolge einer Endocarditis, seltener von anderen Bakteriämien und Pneumonien in die Aorta oder werden dort direkt im Rahmen einer *Endocarditis verminosa thromboticans* gebildet. Innerhalb der Nieren erfolgt die Festsetzung der Emboli in den Endarterien, wodurch es schließlich zur Ausbildung anämischer Infarkte kommt (Ham und Tange, 1969).

Größe, Form und Lage der Infarkte sind abhängig von der Lage der verstopften Arterie. Bei Verschluss der *A. subcorticalis* entstehen keilförmige bis in die Papille reichende Infarkte, während die Infarkte durch Verlegung der *A. corticalis radiata* nur innerhalb der Nierenrinde liegen. Bei Verlegung kleinerer Äste (z.B. Glomerula, intertubuläre Kapillaren) entstehen herdförmige Nekrosen mit resorptiver Entzündung. Sind die *Aa. interlobares* betroffen entstehen ischämische Nekrosen großer Parenchymbereiche. Bei einseitiger Verlegung der *A. renalis* kommt es nach und nach zur Schrumpfung der Niere (inkompletter Infarkt) durch die langsame Verminderung der Durchblutung (Weiss, 1999).

Am frischen anämischen Infarkt unterscheidet man die zentrale Nekrose, welche von einem Granulozytendemarkationswall, teilweisem Gewebsuntergang und einem hyperämischen Randsaum umgeben ist. Die Grenze zum gesunden Nierengewebe ist verschwommen (Sandersleben, 1989).

### 2.8.1.4 Nekrosen

Man unterscheidet die bilaterale Nierenrindennekrose von der Papillennekrose. Letztere tritt bilateral auf und kann im Rahmen von Diabetes, Infektionen, Obstruktionen der harnableitenden Wege, einer Schrumpfniere, Amyloidnephrose sowie bei toxischen Tubulopathien junger Hunde beobachtet werden. Papillennekrosen können außerdem als Komplikation einer renalen Venenthrombose entstehen (Gunther, 1937; Mallory et al., 1940; Swartz und Hoogstraten, 1959; Ham und Tange, 1969). Papillennekrosen in Folge Anwendung von nichtsteroidalen Antiphlogistika entstehen durch die Arzneimittelinduzierte Hemmung der Prostaglandin-Synthese, was zur verringerten Prostaglandinsynthese ( $\text{PGE}_2$ ,  $\text{PGI}_2$ ) und herabgesetzten arteriellen Vasodilatation



sowie schließlich zur Ischämie der Gefäße führt (Dunn et al., 1988; Silverman und Khan, 1999). Die Papillennekrose ist durch einen hyperämischen Randsaum, Granulozyteneinwanderung, Abstoßung des nekrotischen Gewebes sowie bindegewebiger Verhärtung gekennzeichnet. Die verminderte Anzahl der verbleibenden Tubuli ist erweitert (Ham und Tange, 1969; Sandersleben, 1989).

## **2.8.2 Nephritiden**

Nephritiden teilt man danach ein, welche Struktur zuerst und am stärksten entzündet ist. Im weiteren Verlauf der Entzündung können häufig sekundär auch andere Strukturen geschädigt werden (Weiss, 1999). In der folgenden Übersicht soll die Einteilung der Nierenentzündung nach Weiss (1989) deutlich gemacht werden:

*Legende 2.4: Einteilung der Nephritiden (Weiss, 1989)*

### Glomeruläre Nephritis

- Diffuse glomeruläre Nephritis
- Herdförmige glomeruläre Nephritis

### Interstitielle Nephritis

- Diffuse nichteitrig interstitielle Nephritis
- Herdförmige nichteitrig interstitielle Nephritis
- Herdförmige embolisch-eitrig interstitielle Nephritis
- Pyelonephritis
- Granulomatöse Nephritis

### **2.8.2.1 Glomerulonephritis**

Glomerulonephritis (GN) ist eine der häufigsten Ursachen für chronisches Nierenversagen und ist in der Regel immunkomplex bedingt (Chew und DiBartola, 1986; Reinacher und Frese, 1991; Grauer und DiBartola, 1995). Glomerulonephritiden kommen zum großen Teil unabhängig von chronisch-interstitiellen Nephritiden vor (Müller-Peddinghaus et al., 1976). Zahlreiche infektiöse und entzündliche Erkrankungen treten im Zusammenhang mit immunvermittelten Glomerulonephritiden auf. Dazu zählen verschiedene infektiöse Ursachen: Canines Adenovirus 1, Bakterielle Endokarditis, Brucellose, Dirofilariose, Ehrlichiose, Leishmaniose, Pyometra, Borreliose und chronische bakterielle Infektionen.

Glomerulonephritiden treten außerdem zusammen mit Pankreatitis, systemischem *Lupus erythematoses*, Neoplasien, Hyperadrenokortizismus, Langzeittherapie mit Glukokortikoiden, idiopathisch sowie bei *Diabetes mellitus* auf ( MacDougall et al., 1986 Grauer et al., 1989; Grauer, 1992). Die Äthiologie der GN bleibt in den meisten Fällen ungeklärt. Zur Zeit werden beim Hund vor allem die Pyometra und die *Hepatitis contagiosa canis*, aber auch der systematische *Lupus erythematoses* und die Dirofilariose als mögliche Äthiologie diskutiert (Reinacher und Frese, 1991). Bei einigen Rassen, wie z.B. beim Samojeden, Cocker-Spaniel und beim jungen Berner Sennenhund, konnte eine hereditäre Genese eindeutig nachgewiesen werden (Chew und DiBartola, 1986; Reusch et al., 1991).

Bei der diffusen Glomerulonephritis (GN) sind nahezu alle Glomerula unterschiedlich stark betroffen und sie tritt vorwiegend bei älteren Tieren auf. Dagegen kommt die fokale GN, bei der nur die Glomerula in einem bestimmten Nierengebiet erkrankt sind, insbesondere bei jüngeren Hunden vor. Die Entzündung kann sowohl das gesamte Glomerulum (panglomerulär), sowie auch nur Segmente des Glomerulums (segmental) umfassen (Macdougall et al., 1986; Reinacher und Frese, 1991). Die panglomeruläre GN tritt ebenfalls vor allem bei älteren Hunden auf, während die segmentale Form eher jüngere Tiere betrifft. Reinacher und Frese (1991) schließen daraus, dass eine fokale und segmentale GN mit zunehmendem Alter häufig in eine diffuse und panglomeruläre GN übergeht.

Histopathologisch lassen sich die GN in folgende Formen einteilen: Die membranöse GN ohne Spikes zeichnet sich durch eine diffuse Verdickung der Basalmembran aus, während bei der membranösen GN mit Spikes durch subepithelial abgelagerte Immunkomplexe die typischen Oberflächenprojektionen an der kapillären Basalmembran entstehen.

Bei der GN mit mesangialer Sklerose findet eine Vermehrung der Interzellulärsubstanz statt, und sie ist die am häufigsten vorkommende Form, während die GN mit mesangialer Proliferation durch eine Zellvermehrung im Mesangium charakterisiert ist. Die membranoproliferative GN ist eine Mischform, bei der die kapilläre Basalmembran verdickt und aufgefasert ist und außerdem eine Zellproliferation oder eine Sklerose im Mesangium vorkommt (Müller-Peddinghaus und Trautwein, 1977; Reinacher und Frese, 1991).

Beim chronischen Verlauf der Glomerulonephritis treten Reparation und Sklerose der *Glomerula* (Glomerulosklerose, sklerosierende Formen der Glomerulonephritis) auf. Irreversibel geschädigte Glomerula verlieren ihre Funktionstüchtigkeit und werden durch fibröses Narbengewebe ersetzt. Mit Zunahme der Nephronschäden nimmt die glomeruläre Filtrationsrate ab und häufig treten Elektrolytstörungen sowie Hypertension auf. Hyperfiltration, systemischer Bluthochdruck und ein hoher diätetischer Proteinbedarf fördern die Entwicklung der glomerulären Hyalinisierung und Sklerose. Sekundär entstehen tubuläre Speicherungsneuroprien, Nephron-atrophien, interstitielle Entzündungen und Fibrosen (Schrumpfniere) (Müller-Peddinghaus et al, 1976; Grauer, 1998).

Klinisch ist die GN vorwiegend durch ein nephrotisches Syndrom mit Proteinurie (Makroproteinurie > 65 kDa), Hypoproteinämie, insbesondere Hypoalbuminämie und Ödembildung gekennzeichnet. Später folgt eine Urämie und Azotämie (MacDougall et al., 1986; Reinacher und Frese, 1991; Grauer und DiBartola, 1995). Die klinischen Symptome reichen von anfänglich unspezifischem Gewichtsverlust und Lethargie über Ödeme und Aszites bis hin zu den schweren Symptomen einer Azotämie, die mit Polydipsie, Polyurie, Anorexie, Übelkeit und Erbrechen einhergeht (Müller-Peddinghaus et al, 1976; Grauer, 1992; Grauer und DiBartola, 1995).

### **2.8.2.2 Interstitielle Nephritis**

Die chronisch interstitielle Nephritis (IN) kommt beim Hund häufig vor (Wright et al., 1976; Müller-Peddinghaus und Trautwein, 1977). Müller-Peddinghaus und Trautwein (1977) konnten in einer Studie bei 71 % der untersuchten Nieren eine interstitielle Schädigung nachweisen.

Man unterscheidet primäre Entzündungen des Nierenparenchyms von sekundären Entzündungen in Folge einer Primärschädigung der *Glomerula*, der *Tubuli* oder der Gefäße (Sandersleben, 1989; Weiss, 1999). Die diffuse nichteitrig IN betrifft das gesamte Nierenparenchym und tritt beim Hund im Rahmen einer Leptospiroseinfektion, einer bakteriellen Intoxikation sowie idiopathisch auf. Die fokale nichteitrig IN betrifft häufig beide Nieren und ist vorwiegend idiopathischer Genese, kann aber auch durch eine Hepatitis contagiosa canis verursacht werden (Müller-Peddinghaus et al., 1976; Burrows, 1977; Pospischil, 1981). Die fokale embolisch-eitrig IN entsteht durch eine hämatogene Einschwemmung von Eitererregern (z.B. *E.coli*; Streptokokken, Staphylokokken, *A. pyogenes*) (Sandersleben, 1989).

Leptospireninfektionen können ebenfalls chronischen IN hervorrufen, wobei die Infektionshäufigkeit mit *Leptospira canicola* und *Leptospira icterohaemorrhagiae* infolge der bivalenten Impfung gegen diese beiden Serovaren an Bedeutung abgenommen hat und nur noch relativ selten vorkommt (Renk, 1972; Müller-Peddinghaus et al., 1976; Adin und Cowgill, 2000). Neuere Studien zeigen jedoch die ansteigenden Infektionen mit anderen Serovaren, insbesondere mit *Leptospira pomona* und *bratislava* auf, welche vor allem in endemischen Gebieten, bevorzugt im Zuge von Überschwemmungen vorkommen. Sie verursachen akutes Nierenversagen, was mit Erbrechen, Lethargie, Anorexie, skleraler Injektion, abdominalem Schmerz, plötzlicher Azotämie und Thrombozytopenie einhergeht (Adin und Cowgill, 2000).

Die Veränderungen im Rahmen einer chronisch IN reichen von geringgradig herdförmig oder diffusen interstitiellen Entzündungen über interstitielle Entzündung mit Parenchymuntergang bis hin zu ausgeprägter Fibrosierung, Nephronverlust und adaptativen Tubuliveränderungen (Müller-Peddinghaus et al., 1976). Die chronische IN ist gekennzeichnet durch interstitielle lymphoplasmazelluläre Infiltrate sowie durch hochgradige interstitielle Fibrose, welche die Nierenkapsel und das Mark zum Teil strangartig durchziehen. Innerhalb dieser Stränge sind die Glomerula hochgradig atrophiert und durch Narbengewebe ersetzt und die Tubuli sind hochgradig zerstört. Im Nierenmark sind die Tubuli zystisch dilatiert. In den Kapillaren und den Kapselspalten der Glomerula befinden sich Fibrinablagerungen (Wright et al., 1976). Die IN kommt vor allem bei älteren Hunden vor. Hochgradig chronisch IN gehen mit den Symptomen einer Urämie und Anämie sowie mit einem erniedrigten spezifischen Gewicht einher (Müller-Peddinghaus et al., 1976; Müller-Peddinghaus und Trautwein, 1977).

### 2.8.2.3 Pyelonephritis (PN)

Häufig gehen IN mit einer Nierenbeckenentzündung (Pyelitis) einher und sind demnach als Pyelonephritis einzustufen. Diese, beim Hund häufig auftretende Form der IN, nimmt mit dem Lebensalter der Hunde zu und betrifft beide Geschlechter gleichermaßen (Renk, 1971; Müller-Peddinghaus et al., 1976). Die PN verläuft in der Regel subakut bis chronisch, selten akut. Sie kann ein- oder beidseitig auftreten und hat einen herdförmig destruktiven Charakter (Renk, 1971; Müller-Peddinghaus et al., 1976; Müller-Peddinghaus et al., 1977). Die PN des Hundes ist durch sektor- oder streifenförmige lymphoplasmazelluläre Infiltrate der Submukosa im Nierenbecken sowie eine Hyperplasie der Schleimhautepithelzellen gekennzeichnet, die mit einer Destruktion der *Tubuli* einhergehen und zur Narbenbildung führen. Sie betrifft insbesondere die Nierenbeckenschleimhaut der Papille, die Nierenkelchwinkel und die Schleimhaut über den gefäßführenden Gewebspfeiler (Müller-Peddinghaus et al., 1977). Pyelonephritiden treten gehäuft im Zusammenhang mit Zystididen, Prostatiden und Pyometren auf und sind oftmals für das Entstehen einer chronisch IN verantwortlich (Grapetin, 1968; Müller-Peddinghaus et al., 1976). Die Nierenbeckenentzündung ist überwiegend bakteriell bedingt, wobei bei den Hündinnen *E.coli* dominiert, während bei den Rüden vor allem Streptokokken und *Staphylococcus aureus* nachzuweisen sind (Müller-Peddinghaus et al., 1977). Für die Entwicklung einer PN sind Harnwegsobstruktionen, vesiko-ureteraler Reflux, Lymphblockaden, Virusinfektionen sowie Diabetes mellitus von pathogenetischem Einfluss (Gärtner, 1967; Zollinger, 1966; Osborne et al., 1972; Müller-Peddinghaus et al., 1977).

Klinisch macht sich die PN mit Polyurie, Polydipsie, Albuminurie und erhöhter Leukozyten und Keimzahl im Harnsediment bemerkbar (Müller-Peddinghaus et al., 1977; Grauer und Lane, 1995). Bei Nichtausheilung der Pyelonephritis entsteht die pyelonephritische Schrumpfniere, welche durch das Konfluieren des Narbengewebes gekennzeichnet ist (Weiss, 1999).

## 2.9 Hydronephrose

Die Hydronephrose kann beim Hund ein- oder beidseitig aufgetreten, angeboren oder erworben sein (Osborne et al., 1972; Breitschwerdt et al., 1982; Gentle und English, 1985). Die angeborene Hydronephrose resultiert aus mono- oder bilateralen Obstruktionen, die durch Ureteratresien oder -stenosen verursacht werden, während die erworbene Hydronephrose vorwiegend durch ein- oder beidseitige Obstruktionen des Urethers oder durch Obstruktionen distal der vesikourethralen Apertur verursacht

werden (Weaver, 1965; Hurov et al., 1966; Johnston, 1969; Osborne et al., 1972). Diese erworbenen Obstruktionen entstehen durch Calculi, Neoplasien sowie iatrogen (Osborne, 1972).

Die klinischen Symptome einer Hydronephrose reichen von klinischer Inapparenz bis zu Anorexie, Mattigkeit, Polyurie, Polydipsie, Fieber und abdominalem Palpationsschmerz (Osborne et al., 1972; Madewell et al., 1975; Gentle und English, 1985; Knottenbelt et al., 1988). Der abgesetzte Harn ist alkalisch, proteinreich und hat ein niedriges spezifisches Gewicht. Im Sediment lassen sich neutrophile Granulozyten, Erythrozyten und Epithelzellen nachweisen (Osborne et al., 1972; Madewell et al., 1975; Knottenbelt et al., 1988). Die Hunde zeigen eine Neutrophilie mit Linksverschiebung und eventuell eine Urämie. Makroskopisch ist die betroffene Niere blass und flüssigkeitsgefüllt. Histologisch erscheinen die *Glomerula* hyperzellulär mit dilatierten Bowman Kapseln und *Tubuli*. Die kortikalen *Tubuli* sind atrophiert und fibrosiert (Osborne et al., 1972; Knottenbelt et al., 1988). Hydronephrosen werden häufig von einer Pyelonephritis begleitet (Finco et al., 1971; Madewell et al., 1975).