

Anhang

Histologische Veränderungen bei den Aortenwunderkrankungen:

Die Abbildungen zeigen die konventionell histologisch erhobenen Mediaveränderungen im direkten Vergleich von Aortendissektion und Aortenaneurysma

Weiterhin finden sich im Anhang die angewendeten Färbe- und Nachweisreaktionen

Aortendisektion

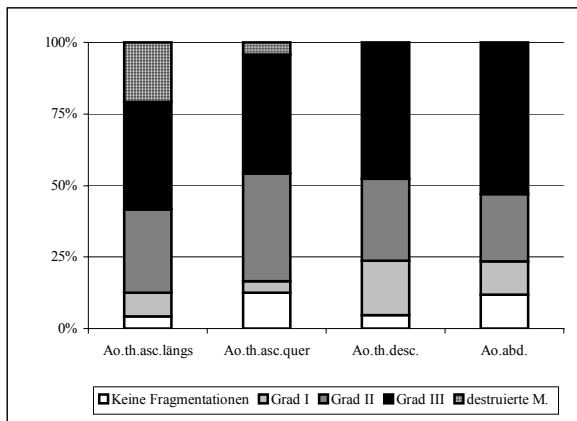


Abb. A1: Häufigkeit von Fragmentationen der T.media

Aortenaneurysma

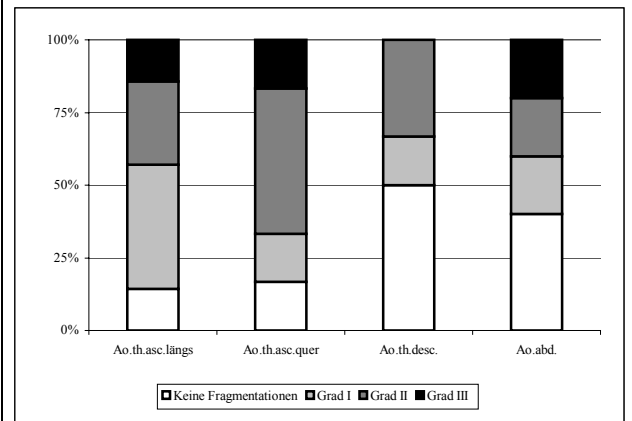


Abb. A2: Häufigkeit von Fragmentationen der T.media

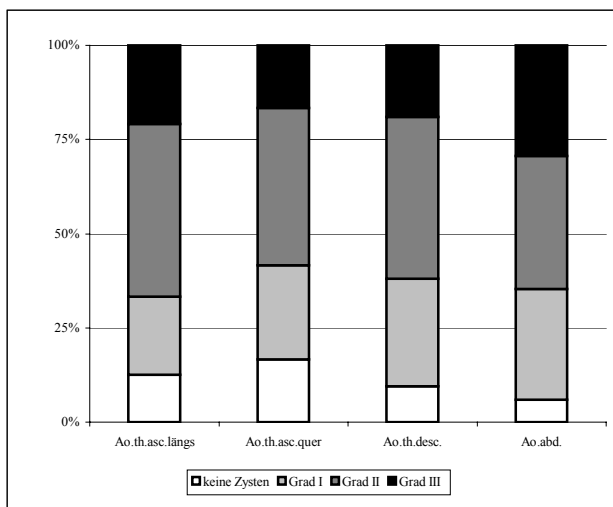


Abb. A3: Häufigkeit von zystischen Veränderungen

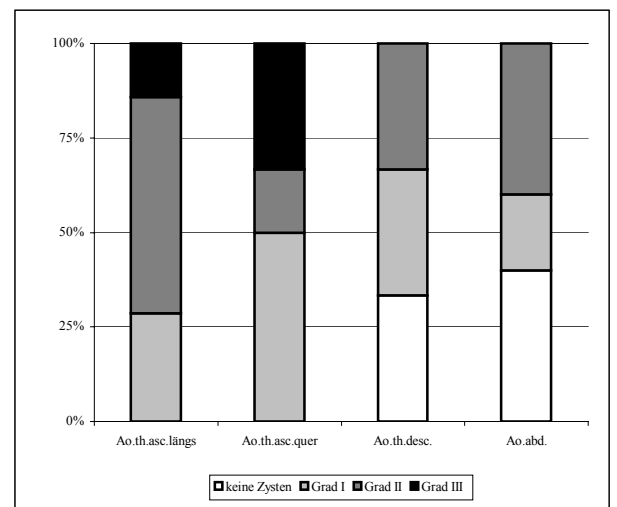


Abb. A4: Häufigkeit von kleinzystischen Veränderungen

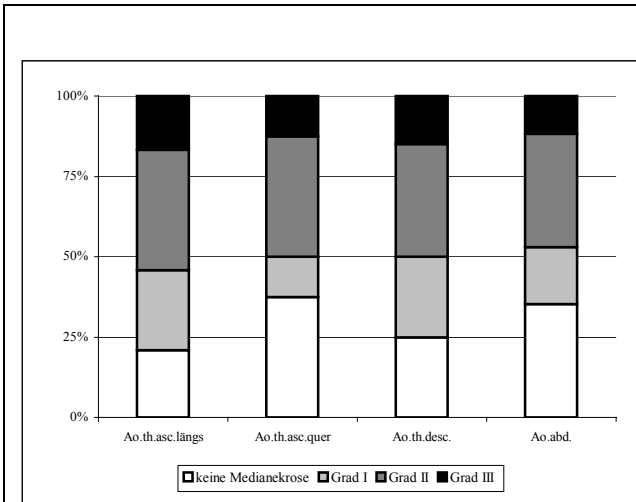


Abb. A5: Häufigkeit von Medianekrosen

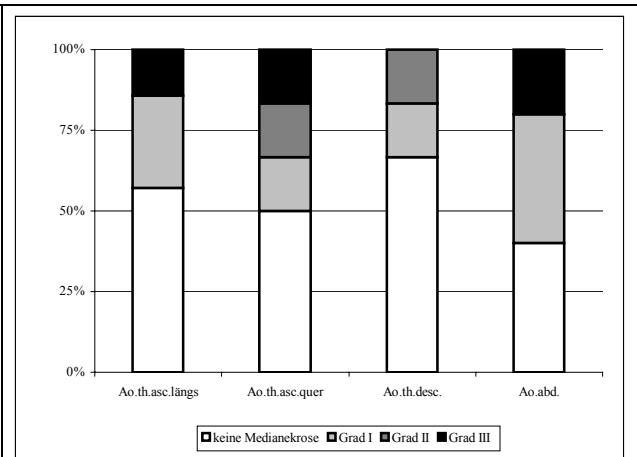


Abb. A6: Häufigkeit von Medianekrosen

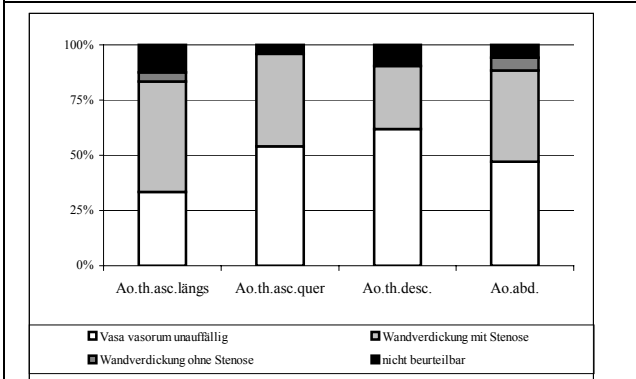


Abb. A8: Veränderungen der Vasa vasorum

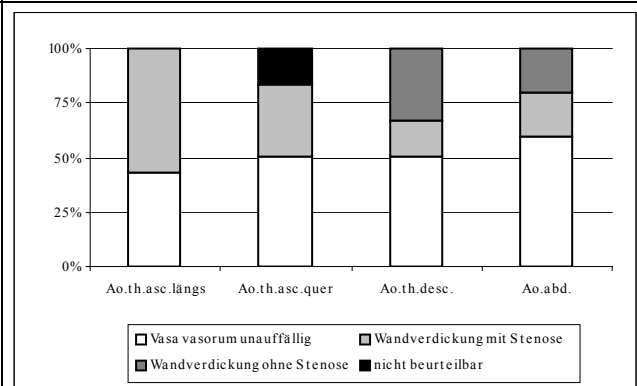


Abb. A8: Veränderungen der Vasa vasorum

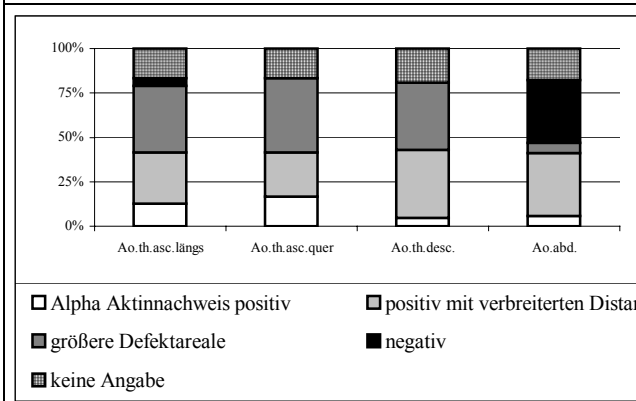


Abb. A9: Alpha- Aktinnachweis in der T. media

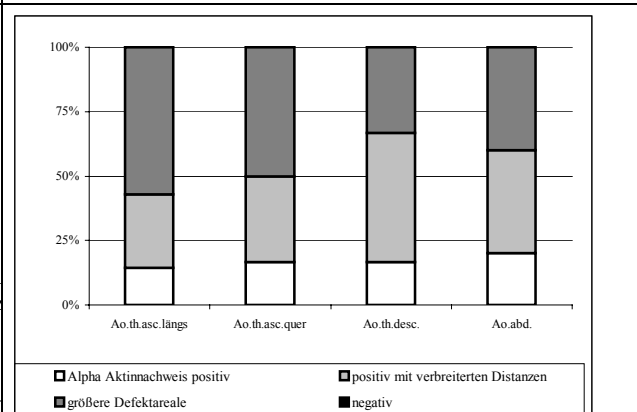


Abb. A10: Alpha- Aktinnachweis in der T. media

Aortendissektion

Aortenaneurysma

Angewandte Färbungen und Nachweisreaktionen

Vor dem eigentlichen Färbeprozess erfolgten grundsätzlich Entparaffinierung und Rehydrierung aller Präparate in Xylol, anschließend in der absteigenden Alkoholreihe (100-, 96-, 70%iger Alkohol) sowie Spülen in Aqua dest. (je 1 Minute).

Abschließend, nach der Färbung bzw. Nachweisreaktion wurden die Präparate in der aufsteigenden Alkoholreihe (96-, 96-, 100-, 100%iger Alkohol, Xylol) behandelt und mit CV Mount der Firma Leica eingedeckt (sog. Endbehandlung).

- *Übersichtsfärbung Hämalaun-Eosin:*

Die Übersichtsfärbung erfolgte über den Autostainer XL der Firma Leica:

4 Minuten Anfärben mit Hämalaun, 5 Sekunden Differenzierung mit HCL-Alkohol, 50 Sekunden Applikation von Eosin, Endbehandlung.

- *van Gieson (manuell):*

1 - 2 Minuten Färben in Eisen-Hämatoxylin, 5 Minuten Abspülen in Leitungswasser, Differenzieren in HCL-Alkohol, 5 Minuten Abspülen in Leitungswasser, Trocknen mit Filterpapier (wichtig), 1 Minute Färben mit Pikro-Fuchsin (von Chroma), Trocknen mit Filterpapier (wichtig), Endbehandlung.

- *Elastica-van Gieson nach Verhoeff (manuell):*

45 Minuten in Farblösung (400 ml alkalische Hämatoxylinlösung A + 60 ml Eisen(III)chlorid + 60 ml Lugolsche Lösung (von Merck)), Abspülen in Leitungswasser, Differenzieren in Eisen(III)chloridlösung (hier nur kurz eintauchen), Abspülen in Leitungswasser, Spülen in Aqua dest., 5 Minuten Thiazinrot, 5 Sekunden in 50%igen Alkohol (Beizen des roten Farbstoffes), Endbehandlung.

- *PAS (im Autostainer XL der Firma Leica) :*

10 Minuten Perjodsäure (2,5%), Spülen mit Aqua dest., 30 Minuten in Schiff-Reagens, 5 Minuten Gemisch (60 ml Kaliumdisulfid + 50 ml 1 n HCl auf 1000 ml Aqua dest), 10 Minuten Waschen in Aqua dest., 5 Minuten Färben mit Hämalaun (sauerer Hämalaun nach Mayer), 10 Minuten Waschen, 5 Sekunden Differenzieren in HCL-Alkohol, 5 Minuten Waschen in Aqua dest., Endbehandlung.

• *Alcianblau-PAS (manuell und im Autostainer XL der Firma Leica):*

Alcianblauvorfärbung (manuell): 5 Minuten in 3%iger Essigsäure, 45 Minuten Alcianblaulösung, Spülen mit Aqua dest., 1 Minute in 3%iger Essigsäure, 5 Minuten Spülen, anschließend (ab hier im Autostainer) 10 Minuten Perjodsäure (2,5%), Spülen mit Aqua dest., 30 Minuten in Schiff-Reagens, 5 Minuten Gemisch (60 ml Kaliumdisulfid + 50 ml 1 n HCl auf 1000 ml Aqua dest.), 10 Minuten Waschen in Aqua dest., 5 Minuten Färben mit Hämalaun (saueres Hämalaun nach Mayer), 10 Minuten Waschen, 5 Sekunden Differenzieren in HCL-Alkohol, 5 Minuten Waschen in Aqua dest., Endbehandlung.

• *Alcianblau-van Gieson (manuell):*

Alcianvorfärbung: 5 Minuten Essigsäure, 45 Minuten in Alcianblaulösung, Spülen in Aqua dest., 1 Minute in Essigsäure, Spülen in Aqua dest., 10 Minuten Kernechtrot, Spülen in Aqua dest., anschließend 1-2 Minuten Färben in Eisen-Hämatoxylin, 5 Minuten Abspülen in Leitungswasser, Differenzieren in HCL-Alkohol, 5 Minuten Abspülen in Leitungswasser, Trocknen mit Filterpapier (wichtig), 1 Minute Färben mit Pikro-Fuchsin (von Chroma), Trocknen mit Filterpapier (wichtig), Endbehandlung .

• *Berliner- Blau-Reaktion (manuell):*

20 Minuten Kaliumhexacyanoferrat-II-lösung 2%ig (zu gleichen Teilen mit 1%iger HCL-Lösung mischen), Spülen in Aqua dest., 5-10 Minuten Kernechtrotlösung 1%ig, Spülen in Aqua dest., Endbehandlung.

• *Immunhistochemischer Nachweis der glatten Muskelzellen- Alpha-Aktinnachweis (manuell):*

Die Darstellung der muskulären Anteile der Tunica media der Aortenwand erfolgte mittels spezifischer Alpha-Aktin Antikörper (antihumane Mausantikörper des Klons 1 A 4, Firma DAKO). Zur besseren Haftung der Schnitte wurden für die immunhistochemische Aufbereitung der Schnitte APES- beschichtete Objektträger (3-Aktinopropyltriethoxysilene) verwendet.

Immunhistochemische Nachweisreaktion:

Trocknen bei 37°C, Entparaffinierung, Rehydrierung, Spülen mit TRIS-Puffer (pH: 7,4) (Trihydroxymethylaminomethanol), Inkubation 30 Minuten mit dem Primärantikörper (antihumaner Mausantikörper des Klons 1 A 4, Firma DAKO), Spülung mit TRIS-Puffer, 30 Minuten Inkubation mit dem Brückenantikörper (biotinyliertes Immunglobulin G der Firma Biogenex), danach Spülung mit TRIS-Puffer, 10 Minuten APAAP, 10 Minuten Spülen mit TRIS-Puffer. 25 Minuten Färbung mit Neufuchsin, gründliches Spülen mit Aqua dest (wichtig), 30 Sekunden Gegenfärbung mit Hämalaun. Zum Schluß Bläuen der immunhistochemischen Proben in Leitungswasser und Eindecken mit Kaysers Glyzeringelatine.