

Aus dem Institut für Anatomie und Zellbiologie an der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. agr. B. Fischer)



Ultrastrukturelles Verteilungsmuster von elastischen Fasern in der menschlichen Tuba uterina

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Jana Böck
geboren am 13.02.1974 in Halle/Saale

Gutachter:

1. Prof. Dr. sc. med. R. Schultka
2. Prof. Dr. rer. nat. habil. A. Stiefel
3. Prof. Dr. med. W. Linß

Befunde hatten gezeigt (Schultka et al. 1996, Göpel et al. 1997), daß dicke reife elastische Fasern in der äußeren Tubenwandung und mikrofibrillenreiche Anteile mehr in Mucosa und Muscularis vorkommen. Die jetzt durchgeführten elektronenmikroskopischen Untersuchungen waren deshalb darauf gerichtet, zu erkunden, wo genau sich die Komponenten in den einzelnen Schichten befinden, wie sie sich verteilen und welche Beziehungen sie zu anderen Strukturen, z.B. zur glatten Muskulatur, herstellen. Dazu wurde Elastin mit Hilfe von Tanninsäure, angewandt in der Pre- und Post-embedding-Technik, selektiv kontrastiert.

Für die Analyse wurden Organstückchen der Pars ampullaris und des Isthmus von 12 operativ gewonnenen Tuben 24- bis 70jähriger Frauen verwendet. Diese wurden in cacodylat-gepuffertem Glutar- und Paraformaldehyd fixiert, teilweise in gepuffertem Osmiumtetroxid nachfixiert und in Durcupan ACM eingebettet. Ultradünne Schnitte wurden hergestellt und anschließend mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert.

Mikrofibrillen liegen parallel zueinander und bilden Bündel. Diese werden als Oxytalanfasern bezeichnet. In der Mucosa finden sie sich besonders zahlreich unter der Basalmembran. Sie lassen sich auch in enger Nachbarschaft zu den Fibrozyten nachweisen, wobei sie parallel zu ihnen verlaufen, sich von ihnen entfernen und zur nächsten Zelle ziehen, so daß der Eindruck entsteht, als ob sie diese miteinander verbinden. Auch zu den Muskelzellen haben die Mikrofibrillen einen engen Kontakt. Muskelbündel werden von Elastin-haltigen, aber Mikrofibrillen-reichen Strukturen, sogenannten Elauninfasern, eingefasst. Stark Tanninsäure-kontrastierte elastische Fasern mit weniger peripher liegenden Mikrofibrillen sind vorwiegend in den Wänden der Arterien und Venen und ihrer Umgebung lokalisiert. Dabei steigt ihr Faseranteil mit zunehmendem Kaliber des Gefäßes. Diese Fasern kommen vor allem in der Gefäß-Muskelschicht vor.

Elastin-haltige Fasern wirken regulierend bei Dehnung im Bindegewebe des Eileiters. Dagegen sind Mikrofibrillen-reiche Strukturen an der Übertragung von Kräften beteiligt und schützen so ihre Umgebung bei Einwirkung von Druck und Zug.

Böck, Jana: Ultrastrukturelles Verteilungsmuster von elastischen Fasern in der menschlichen Tuba uterina. 1999, 79 Seiten, Halle, Univ., Med. Fak., Diss.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung und Zielstellung	1
2. Das elastische Fasersystem	4
2.1. Das elastische Fasersystem der Tuba uterina	4
2.2. Elastische Fasern in anderen Organen	6
2.3. Reife elastische Fasern; Elastin	6
2.3.1. Entstehung und Veränderungen von elastischen Fasern	7
2.4. Mikrofibrillen	9
2.5. Oxytalanfasern	11
2.6. Elauninfasern	12
2.7. Nachweisverfahren	12
2.7.1. Lichtmikroskopie	12
2.7.2. Elektronenmikroskopie	13
3. Material und Methoden	16
3.1. Fixierung	16
3.1.1. Pre-embedding-Technik	19
3.1.2. Post-embedding-Technik	19
3.1.3. Fixierung ohne Tanninsäure	20
3.2. Nachfixierung mit Osmiumtetroxid	20
3.3. Einbettung	21
3.4. Kontrastierung	21
3.4.1. Selektive Kontrastierung mit Tanninsäure nach der Einbettung	21
3.4.2. Doppelkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat	22
3.5. Elektronenmikroskopie	22

4.	Ergebnisse	23
4.1.	Tanninsäure zur selektiven Kontrastierung von Elastin	23
4.1.1.	Pre-embedding-Technik	23
4.1.2.	Post-embedding-Technik	23
4.2.	Lokalisation und Verteilung der Komponenten des elastischen Fasersystems	24
4.2.1.	Oxytalanfasern	25
4.2.2.	Elauninfasern	26
4.2.3.	Reife elastische Fasern	28
5.	Diskussion	50
5.1.	Elektronenmikroskopie der elastischen Fasern	50
5.2.	Zur Verteilung des elastischen Fasersystems in den Schichten des Eileiters und die funktionelle Bedeutung der Fasern	51
5.2.1.	Schleimhaut	52
5.2.2.	Muskelschicht	54
5.2.3.	Gefäß-Muskelschicht	55
5.3.	Funktionelle Bedeutung von elastischen Fasern in anderen Organen	56
5.4.	Verfahrenstechnische Aspekte	60
6.	Zusammenfassung	62
7.	Literaturverzeichnis	63

1. Einleitung und Zielstellung

Die Tuba uterina gliedert sich in die Pars ampullaris und den Isthmus. Ihre Aufgabe besteht einerseits darin, die ovulierte Eizelle zur Gebärmutter zu transportieren und andererseits günstige Bedingungen für den tubaren Aufenthalt der Keimzellen und den Befruchtungsvorgang zu schaffen. Zum Zeitpunkt der Ovulation ermöglicht die Kontraktion der Tubenmuskulatur, daß sich das Infundibulum mit seinen Fimbrien über den sprungreifen Follikel zum Auffangen der Eizelle stülpen kann. Während sich der Eileiter dabei auf das Doppelte verlängert (Brökelmann und Denker 1993), kommt es zu Verschiebungen und Streckungen im Bindegewebe. Der Eitransport wird durch die Zilienaktivität (Borell et al. 1957) unterstützt, unterliegt aber hormonellen Einflüssen. Östrogenrezeptoren, über die strukturelle und funktionelle Veränderungen hervorgerufen werden, sind in den Zellkernen von Epithelzellen, Fibrozyten der Lamina propria mucosae und Muskelzellen in allen Abschnitten der Tube zu finden (Hunter 1988, Breckwolfdt 1994), wobei ihre Verteilung unterschiedlich ist (Schultka 1989). Ruhezustand und Fortbewegung der Eizelle werden zusätzlich durch den Tonus und die Kontraktilität der tubaren Muskulatur beeinflußt (Black und Asdell 1958, Black und Davis 1962, Murcott und Carpenter 1977). Als Übertragungsglied ist der Bindegewebsapparat von Mucosa und Muscularis anzusehen. In Abhängigkeit davon ändert sich der Spannungszustand der Fasern in den Schleimhautfalten (Schultka 1980, 1981 a). In der Literatur findet man nach wie vor nur wenige Angaben über Lokalisation und Verteilung kollagener, retikulärer und elastischer Fasern, über ihre quantitativen Anteile sowie ihre Architektur im tubaren Bindegewebe. Im Rahmen von Untersuchungen zur Biomorphose der menschlichen Eileiterschleimhaut hat Schultka (1980; 1981 b, c) dieses Problem aufgegriffen. Im Faltenstroma fand der Autor Fasern, die sich mit Aldehydfuchsin nachweisen lassen. Sie breiten sich in der Tubenmucosa von Neugeborenen in Form eines mehrdimensionalen Netzwerkes aus. Im Senium verdickt sich dieses Fasergeflecht und konzentriert sich auf subepitheliale Bezirke. Faserstrukturen, die von Aldehydfuchsin tingiert werden, sind schwefelhaltigen Faserproteinen zugeordnet, welche Disulphid- und Cystinbrücken enthalten. Diskutiert wird, ob

sie nicht-kollagene Glycoproteine, Oxytalanfasern oder Typ III-Kollagen darstellen. Mit ansteigendem Lebensalter werden diese Strukturen mehr und mehr durch ein säurefuchsinaffines Fasergerüst ersetzt. Das bedeutet eine Zunahme von Kollagen Typ I (Schultka et al. 1993, Göpel 1994). Der Eileiter kann somit auch zu denjenigen Organen gerechnet werden, die während ihres Alterswandels eine „Organkollagenisierung“ erfahren (Bilkenroth 1995, Schultka et al. 1996). Dieser Vorgang findet vorwiegend im Faltenapparat des Oviducts statt (Schultka et al. 1986). Zeichen für eine Organalterung der Tuben sind neben der Kollagenfaserzunahme eine Zunahme des elastischen Fasergehaltes (Lindner 1972). Zur Klärung dieser Frage konzentrierten sich Schultka et al. (1996) auf das elastische Fasersystem des Eileiters. Dies ist, abhängig vom Elastingehalt, eingeteilt in Oxytalanfasern, Elauninfasern und reife elastische Fasern (Gawlik 1965). Sie unterscheiden sich in ihrem Verhältnis von Elastin zu mikrofibrillären Anteilen (Ross 1973). Zum Nachweis dieser Fasern wurden klassische Färbemethoden (Aldehydfuchsin, Verhoeffsches Eisenhämatoxylin, Orcein) sowie immunhistochemische Verfahren angewandt. Die Befunde zeigen (Schultka et al. 1996, Göpel et al. 1997, Gotthardt 1998), daß dicke reife elastische Fasern in der äußeren Tubenwandung und mikrofibrillenreiche Anteile mehr in Mucosa und Muscularis vorkommen. Dünne Fasern liegen nahe der Oberfläche von glatten Muskelzellen und begleiten diese. Hinsichtlich ihres Auftretens und ihrer Verteilung lassen sich keine Unterschiede zwischen Tuben verschiedener Altersstufen feststellen. Die dicken elastischen Fasern sind eher zwischen den Muskelzügen lokalisiert. Sie kommen am zahlreichsten in der äußeren Zone der autochthonen Muskulatur vor; insbesondere im Isthmus und vor allem in jüngeren Altersstufen. Trotz Anwendung von immunhistochemischen Verfahren konnte Elastin an bzw. unter der Basalmembran nicht verlässlich nachgewiesen werden. Der Vitronektinnachweis ähnelt dem Elastin-haltiger Fasern (Schultka et al. 1996). Die Fibronektinverteilung entspricht hingegen nur den Elastin-armen und Mikrofibrillen-reichen Vertretern (Oxytalanfasern und Elauninfasern [Baba et al. 1988]). Es konnte nachgewiesen werden, daß der Gehalt an Vitronektin, ebenso wie der von Elastin, vom Infundibulum zum Isthmus sowie von der inneren zur äußeren autochthonen Muskelschicht zunimmt (Gotthardt 1998). Vitronektin fördert die Zelladhäsion und Zellmotilität (Suzuki et al. 1984).

Es assoziiert an elastische (Dahlbäck et al. 1986) und kollagene Fasern (Gebb et al. 1986).

So treten in diesem Zusammenhang noch weitere Fragen auf. Es liegt nahe, durch elektronenmikroskopische Untersuchungen zu erkunden, wo genau sich die Komponenten des elastischen Fasersystems in den einzelnen Schichten befinden, wie sie sich verteilen und welche Beziehungen sie zu anderen Strukturen, z.B. zur glatten Muskulatur und zu den Fibrozyten, herstellen. Von weiterem Interesse ist die Verteilung und die Anordnung der Fasern in der Muskulatur und der Schleimhaut. Um diese Fragen beantworten zu können, bestand das Ziel darin, die Hautkomponente der elastischen Fasern - das Elastin - selektiv nachzuweisen. Tanninsäure hat sich stets zur selektiven Kontrastierung von Elastin bewährt (Tabelle 3, Seite 15). Deshalb wurde sie in Pre- und Post-embedding-Techniken angewandt.

Zur Charakterisierung des Alternswandels des Bindegewebes wurden Organstückchen operativ gewonnener Tuben 24- bis 70jähriger Frauen verwendet.

Um ein besseres Verständnis der angegebenen Zielstellung und der sich daraus ergebenden ultrastrukturellen Analysen zu ermöglichen, wird zunächst ein kurzer Überblick über Zusammensetzung und Aufbau der Komponenten des elastischen Fasersystems gegeben. Es soll insbesondere auf ihr Vorkommen im Eileiter und in anderen Organen eingegangen werden.

2. Das elastische Fasersystem

2.1. Das elastische Fasersystem der menschlichen Tuba uterina

Buchstab (1897) fand elastische Fasern in der tubaren Subserosa von Neugeborenen. In der Kindheit werden sie dann dicker und länger. Sie kommen in der tubaren Lamina propria auch im Lebensalter zwischen 14 bis 17 Jahren vor. Nachfolgende Untersuchungen ergaben hinsichtlich der Lokalisation unterschiedliche Befunde (Tabelle 1). Elastische Fasern wurden mit histochemischen Verfahren und durch Anwendung klassischer Elastica-Färbungen in Muscularis, Gefäßschicht und Subserosa nachgewiesen; in den Falten indes nur in Gefäßen und ihrer unmittelbaren Umgebung (Schenk und Austerlitz 1903, Schridde 1910, Geist 1913, Tietze 1932, Dubreuil 1946). Spätere Veröffentlichungen (Sani 1950) belegen, daß elastische Fasernetze auch in der Mucosa existieren. Diese werden in den tubaren Schichten von innen nach außen immer dichter. Ihr Anteil in der Schleimhaut steigt mit zunehmendem Alter bis zum 40. Lebensjahr an. Im Greisenalter ist das Faltenbindegewebe frei von elastischen Faseranteilen und - bis auf die Gefäße - besteht es vorwiegend aus kollagenem Material.

Tabelle 1: Vorkommen elastischer Fasern in den Schichten der menschlichen Tuba uterina (modifiziert nach Gotthardt 1998)

Autoren	Schichten			
	Mucosa	Muscularis	Gefäß-Muskelschicht	Subserosa
Buchstab (1897)	+	+	+	+
Schenk und Austerlitz (1903)	-	+	+	+
Schridde (1910)	-	+	+	+
Geist (1913)	-	+	+	+
Tietze (1932)	-	+	+	+
Dubreuil (1946)	-	+	+	+
Sani (1950)	+	+	+	+
Schultka et al. (1996)	-	+	+	+

Später untersuchten Schultka et al. (1996) unter Anwendung klassischer Färbemethoden (Aldehydfuchsin, Verhoeffsches Eisenhämatoxylin und Orcein) sowie immunhistochemischer Verfahren das elastische Fasersystem der Tuba uterina. Die Befunde zeigen, daß reife elastische Fasern in der äußeren Schicht der Blutgefäße und an glatten Muskelbündeln zu finden sind. Feine Fasern dagegen kommen vorwiegend in der autochthonen Muskulatur sowie in der subepithelialen Zone der Tubenmucosa vor (Tabelle 2). Sie können nur durch Vorbehandlung mit Oxon oder Thiosulphatierung in Kombination mit Aldehydfuchsin- oder Orcein-Färbung sichtbar gemacht werden. Cotta-Pereira et al. (1976 a) charakterisiert Elaunin- und Oxytalanfasern als feine Fasern. Der Nachweis dieser Fasern mit Aldehydfuchsin nach Oxon-Oxidation und Thiosulphatierung spricht dafür, daß hier Disulphid-Bindungen existieren. Sie spielen nach den Ergebnissen von Maddox et al. (1989) und Keene et al. (1991) eine Hauptrolle bei der Aufrechterhaltung der Integrität des Fibrillin-enthaltenden Mikrofibrillen-Netzwerkes.

Tabelle 2: Ergebnisse histochemischer Untersuchungen zur Verteilung des elastischen Fasersystems in der menschlichen Tuba uterina (Gotthardt 1998)

Schichten	Reife elastische Fasern	Elauninfasern	Oxytalanfasern
Schleimhaut	-	(+)	+++
Muskulatur	Pars ampullaris:	Pars ampullaris:	Pars ampullaris:
	+	+++	+
	Isthmus:	Isthmus:	Isthmus:
	+++	++	+
Gefäß-Muskelschicht	+++	++	+

- +++ reichlich
- ++ mittel
- + wenig
- (+) kaum
- keine

2.2. Elastische Fasern in anderen Organen

Elastische Fasern können Kräfte, die durch Dehnung und Kompression auftreten, abfangen, so z.B. im Uterus, wo der Druck durch den wachsenden Fetus immer größer wird. Dort findet man elastische Fasern in Form von Membranen. In der Cervix uteri kommen sie dagegen in fischnetzähnlicher Anordnung vor (Leppert und Shiu 1991).

Auch in der tiefen retikulären Schicht der Dermis existieren elastische Fasern. Sie stehen mit tieferliegenden Elauninfasern in Verbindung, die wiederum mit Oxytalanfasern der papillären Dermis verknüpft sind (Cotta-Pereira et al. 1976 a). Elastische Fasern kommen weiterhin im Peritoneum (Knudsen 1991) und in Bandscheiben (Mikawa et al. 1986) vor. Diese sind schmaler und unregelmäßiger angeordnet als solche, die in den Ligamenta flava vorkommen (Yong-Hing und Kirkaldy-Willis 1976).

Das parodontale elastische Maschenwerk besteht aus Elastinlamellen, die von Oxytalanfasern umgeben sind. Elauninfasern schließen dagegen Blutgefäße, Nerven und Kollagenfaserbündel ein. Die Verbindung mit dem Zement, dem Alveolarknochen, den Blutgefäßen und kollagenen Fasern stellen Mikrofibrillen her (Johnson und Pyllypas 1992).

2.3. Reife elastische Fasern; Elastin

Histochemische Analysen von reifen elastischen Fasern ergaben, daß ihr Durchmesser 35 bis 40 Å beträgt (Gotte et al. 1974). Charakteristische Merkmale sind reversible Dehnbarkeit um 100–150% und schlechte Wasserlöslichkeit (Ross und Bornstein 1971). Wolpers (1944) beobachtete als erster eine fibrilläre Substruktur in elastischen Fasern. Spätere Untersuchungen (Hall et al. 1952) bestätigen, daß elastische Fasern aus zwei Komponenten bestehen. Die Hauptkomponente macht das amorphe Protein Elastin aus, welches im Zentrum der Faser lokalisiert ist. Den geringeren Anteil bilden in der Peripherie liegende Mikrofibrillen (Ross und Bornstein 1969). Elastin hat ein Molekulargewicht von 67 kDa (Mecham et al. 1988) und kann eine tripelhelikale Struktur oder andere molekulare Konformationen wie α -Helices oder β -turns aufweisen (Gotte et al. 1974). Zwischen den Aminosäureketten existieren

Kreuzverbindungen, die durch oxydierte Lysinreste zwischen den α -Helix-Regionen der Tropoelastinketten entstehen (Thomas et al. 1963). Die sich wiederholenden Aminosäuresequenzen (Urry 1983) sind [Valin-Prolin-Glycin-Valin-Glycin]_n und [Valin-Alanin-Prolin-Glycin-Valin-Glycin]_n (Guantieri et al. 1990).

In elastischen Fasern sind Lysyloxidaseaktivitäten nachweisbar (Serafini-Fracassini et al. 1981, Trackman et al. 1990). Außerdem enthalten sie ein 115-kDa Glykoprotein (Bressan et al. 1983, Colombatti et al. 1985). Aufgrund seiner Lokalisation an der Grenze zwischen Elastin und Mikrofibrillen wird es als Emilin (Elastin microfibril interface located protein) bezeichnet (Bressan et al. 1993).

Die Eigenschaften der elastischen Fasern sind auf Struktur und Aufbau von Elastin zurückzuführen (Ross und Bornstein 1970). Ross (1973) vermutet ionische Wechselwirkungen, die aufgrund der positiven Ladung der Elastinoberfläche und der negativen Ladung der Mikrofibrillen entstehen. Ein aus 5 nm-Filamenten aufgebautes dreidimensionales Netzwerk beschreiben Pasquali-Ronchetti et al. (1995). Bei Einwirkung äußerer Kräfte kommt es darin zu einer Umorientierung der Wirkungsrichtung, zu einem sogenannten „random-coil“-Zustand. Von anderen Autoren werden die elastischen Eigenschaften durch weitere Modelle, wie die klassische Gummitheorie (Hoeve und Flory 1958), das „liquid drop“-Modell (Weis und Anderson 1970) und das „oiled coil“-Modell (Gray et al. 1973) diskutiert.

2.3.1. Entstehung und Veränderungen von elastischen Fasern

Cotta-Pereira et al. (1977) und Bradamante und Svajger (1977) setzen die drei Komponenten des elastischen Fasersystems (Oxytalanfasern, Elauninfasern und reife elastische Fasern) in Beziehung zu den einzelnen aufeinanderfolgenden Phasen der Elastogenese. Sie postulieren, daß ein Faktor existieren muß, der den Entwicklungsprozeß unterbricht, so daß kein amorphes Material sezerniert wird. Auch Porto et al. (1990) sehen die Entstehung von Elauninfasern als eine Unterbrechung in der Entwicklung reifer

elastischer Fasern an. Mikrofibrillen können schon im fetalen Gewebe nachgewiesen werden (Gawlik 1965).

Bei Analyse von embryonalen Bändern und Sehnen wurde kein amorphes Material der elastischen Fasern gefunden, sondern nur Aggregate parallel gelagerter Mikrofibrillen (Ross und Bornstein 1971). Sie schaffen ein Gerüst für die Tropoelastindeponierung und dienen der Ausrichtung der Kreuzungsstellen im Elastin (Ross et al. 1977).

Elastin wird durch ein Gen kodiert, welches sich auf dem langen Arm von Chromosom 7 befindet. Die Expression des Elastin-Gens kann von verschiedenen Faktoren, wie z. B. dem transformierenden Wachstumsfaktor β (TGF β), dem Tumornekrosefaktor α sowie dem Vitamin D3 moduliert werden (Mecham 1995).

Elastin-produzierende Zellen sezernieren Tropoelastin (70 kDa) in den Extrazellularraum (Mecham und Heuser 1991). Der c-terminale Teil von Tropoelastin vermittelt über die Interaktion mit mikrofibrillen-assoziierten Proteinen die Elastin-Polymerisation. Über die Domäne des N-terminalen Endes kommt es zu einer Interaktion mit dem MAGP (Microfibrillar associated glycoprotein). Kreuzverbindungen bilden sich dabei nicht zufällig, sondern spezifisch aus (Brown-Augsburger et al. 1996). Domänen müssen während des Polymerisationsprozesses erst ausgerichtet werden (Gray et al. 1973, Brown-Augsburger et al. 1995).

Tropoelastin setzt sich aus alternierenden hydrophoben Abschnitten und Kreuzungsstellen zusammen. Es existieren sechzehn potentielle Kreuzungsstellen, die alle zwei bis drei Lysinreste enthalten, separiert durch intervenierende Aminosäuren. Kreuzverbindungen entstehen, wenn die ϵ -Aminogruppe von Lysin durch die Lysyloxidase oxidiert und mit einem weiteren Lysin unter Bildung einer kovalenten Bindung kondensiert wird. Dies geschieht in oder zwischen Tropoelastinmonomeren (Brown-Augsburger et al. 1996).

Auch elastische Fasern unterliegen einem Alternswandel. Wenn sie ihre volle Reife erreicht haben, beträgt der Anteil der amorphen Komponente mehr als 90% (Ross 1973). Im weiteren Verlauf werden die peripheren Mikrofibrillen in den amorphen Anteil inkorporiert (Braverman und Fonferko 1982). Bei älteren

Individuen können die peripheren Mikrofibrillen fast vollständig fehlen (Ross 1973).

2.4. Mikrofibrillen

Feine extrazelluläre Filamente im Gewebe sind seit langem bekannt. Die Bezeichnung Mikrofibrillen wurde erstmals von Battig und Low ([1961], s. auch Low [1962]) für diese Art von Gewebestandteilen vorgeschlagen. Gemäß seiner Auffassung sind mikrofibrilläre Strukturen aus Filamenten mit einem Durchmesser von weniger als 20 nm aufgebaut. Sie weisen keine Querstreifung auf, wie sie in kollagenen Fibrillen zu finden sind. An Lymphgefäßen anheftende Filamente lassen allerdings eine unregelmäßige Periodizität erkennen (Leak und Burke 1968). Auf eine ähnliche Strukturierung verweisen Karrer et al. (1961, 1958), Fahrenbach et al. (1966), Bruns et al. (1968), Hanak und Böck (1971), aber auch Haust (1965), der vermutet, daß diese Periodizität durch kettenähnliche Aggregationen sehr kleiner runder bis ovaler Vesikel zustande kommt. Auch Ross und Bornstein (1969) sind dieser Auffassung.

Elastin-assoziierte Mikrofibrillen werden von verschiedenen Fibroblastenzelltypen und glatten Muskelzellen exprimiert. Sie umgeben den Elastinkern und sind zum Teil inkorporiert (Cleary und Gibson 1983). Chemisch-morphologische Untersuchungen (Carmichael und Fullmer 1966) zeigen, daß Mikrofibrillen keine Vorstufen von Kollagenfibrillen darstellen. Mehrere Untersuchungen weisen darauf hin, daß vor allem in fetalem Gewebe typische Mikrofibrillen zu finden sind (Frederickson et al. 1977, Jones et al. 1980). Die in reifen elastischen Fasern peripher gelegenen Fibrillen sind im Durchmesser über 110 Å dick (Ross und Bornstein 1971). Haust (1965) beschreibt sie als 80 Å dicke Strukturen und mit einer Aufhellung im Inneren. Im Rindernackenband beträgt ihr Durchmesser 13 nm (Sear et al. 1978). Nach Low (1962) sind sie mit 10 bis 14 nm die wichtigste Komponente der elastischen Fasern in Blutgefäßwänden und Lunge.

Immunelektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, daß Mikrofibrillen mit Fibronectin-Antikörpern markiert werden können (Mayer et al. 1981). Natali et al. (1981) weisen ebenfalls darauf hin, daß Fibronectin mit elastischen Fasern der Arterienwand assoziiert ist. Fibronectin hat aber nach Analysen von Gibson

und Cleary (1987) eine andere Lokalisation wie Tropoelastin und elastinassoziierte Mikrofibrillen. Typ IV-Kollagen ist dagegen immunhistochemisch ähnlich verteilt wie mikrofibrilläre Glykoproteine (Rosenbloom et al. 1997). Nach Roark et al. (1995) ist auch Fibulin 1 in Mikrofibrillen und Elastin nachweisbar.

Biochemische und elektronenmikroskopische Ergebnisse belegen eindeutig, daß Mikrofibrillen aus Glykoproteinen bestehen (Ross und Bornstein 1969). Zu ihnen gehören das Fibrillin, ein 350 kDa-Glykoprotein (Sakai et al. 1986) sowie das Mikrofibrillen-assoziierte Glykoprotein (MAGP), ein kleineres 31 kDa-Protein, bei dem die O-Glieder glykosyliert und Tyrosin sulphatiert sind (Gibson et al. 1996, Tomasini et al. 1993). MAGP ist ein Substrat für die Transglutaminase-Kreuzverbindung, das die Mikrofibrillenstruktur weiter stabilisieren kann (Brown-Augsburger et al. 1994, 1996).

Mikrofibrillen enthalten noch weitere Glykoproteine. Dazu zählen das MFP I (Microfibrillar protein [M = 150000]), MFP II [M = 300000] (Sear et al. 1981), MAGP 2 (Gibson et al. 1991), ein 25 kDa-Glykoprotein als bovine Form von Fibrillin 1 (Lee et al. 1991, Sakai et al. 1991) und die microfibrillar associated proteins MFAP 1 [57 kDa], MFAP 2 [31 kDa], MFAP 3 [41 kDa] (Zhang et al. 1994) und MFAP 4 [36 kDa] (Kobayasi et al. 1989).

Nach Breathnach et al. (1989) ist Amyloid P assoziiert an mikrofibrilläre Strukturen in elastischen Fasern.

Hanak und Böck (1971) gehen davon aus, daß Mikrofibrillen bei einer Kontraktion den Anfangsdruck elastisch abfangen können. Sie interpretieren diese Strukturen als mechanische Verankerung von Muskelendigung und Sehnenanfang, bei denen die Kraft von den an der Innenseite der Plasmamembran ansetzenden Aktinfilamenten auf die Kollagenfibrillen der Sehne weitergeleitet wird. Nach Leak und Burke (1968) übertragen Mikrofibrillen die durch den Turgor der interstitiellen Gewebes auftretenden Zugkräfte direkt auf das Plasmalemm und halten so das Gefäßlumen offen.

2.5. Oxytalanfasern

Oxytalanfasern wurden zuerst von Fullmer und Lillie (1958) entdeckt. Ultrastrukturell erscheinen sie als Ansammlung von typischen Mikrofibrillen, die einen Durchmesser von 10-12 nm besitzen (Carmichael und Fullmer 1966). Im Gegensatz zu elastischen Fasern sind sie nicht an amorphes Material assoziiert. Unter mechanischer Beanspruchung können sie sich nicht verlängern (Ferreira et al. 1987). Sheetz et al. (1973) fassen Elastin-freie Oxytalanfasern als eigenständige Strukturkomponenten auf. Die Autoren ordnen sie dennoch dem elastischen Fasersystem zu. Kobayasi (1968) verwendet eine andere Bezeichnung für diese Art von Fasern. Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen fand er elastische Fasern in der papillären Dermis, die nur aus Mikrofibrillen bestehen; er bezeichnet sie als „elastische Fibrillen“. Briggaman und Wheeler (1975) bestätigen diese Befunde; sie bezeichnen die Strukturen als „dermale Mikrofibrillenbündel“.

Zum Nachweis derartiger feiner Matrixbestandteile verwendet Fullmer (1958) Aldehydfuchsin, Resorcinfuchsin und Orcein. Aber nur in histologischen Präparaten, die mit oxidierenden Agentien vorbehandelt sind, können diese Strukturen sichtbar gemacht werden. Durch Anwendung von β -Glucuronidase und Elastase nach Oxidationsvorbehandlung lassen sich Oxytalanfasern nicht mehr nachweisen (Fullmer 1960). Aufgrund ihrer starken Resistenz gegenüber Säuren nennt man sie Oxytalanfasern¹.

Sie lassen sich auch im dermal-epidermalen Grenzbereich der Haut (Hasegawa 1960, Cotta-Pereira et al. 1976 a), nahe der Basallamina (Tsuji 1980), in Sehnen (Kewley et al. 1977), Faszien (Rodrigues et al. 1990), der Adventitia von Blutgefäßen (Ushiki 1992, Davis 1993, Lethias et al. 1987), in der Mucosa des Magens (Kawaguchi et al. 1989), des Colon (Wakui et al. 1991), der Trachea und der Bronchien (Böck und Stockinger 1984) nachweisen. Oxytalanfasern kommen dort vor, wo das Bindegewebe hohen mechanischen Beanspruchungen ausgesetzt ist.

¹ griech.: οξυς [Säure], ταλας [widerstehend]

Vor allem gebündelt vorkommende Mikrofibrillen gewährleisten eine hohe mechanische Widerstandsfähigkeit. Daß die Zonulafasern des Ciliarkörpers des Auges aus Oxytalanfasern (Streeten und Licari 1983) bestehen, bestätigt dies. Oxytalanfasern kommen im Parodontium von als Brückenpfeiler dienenden Zähnen mit größerem Durchmesser und höherer Anzahl vor. Ursache dafür sind, durch veränderte Kraftübertragungen infolge der Brücke, entstehende Druck- und Zugbelastungen (Fullmer 1959).

2.6. Elauninfasern

Elauninfasern¹ wurden zuerst von Gawlik (1965) beschrieben. Er entdeckte sie, als er im Gewebe Oxytalanfasern und reife elastische Fasern mit histochemischen Verfahren untersuchte. Elektronenmikroskopisch stellen Elauninfasern Bündel von Mikrofibrillen dar, die mit einer geringen Menge von amorphem Material ausgestattet sind. Das erklärt, warum sie gleichermaßen Eigenschaften von Oxytalan- und reifen elastischen Fasern aufweisen (Ferreira et al. 1987). In Sehnen sind Elauninfasern schmaler und kürzer (Ghadially 1988) als elastische Fasern, indes im Kaliber größer als Oxytalanfasern. Sie lassen sich mit Orcein ohne vorherige Oxydation nachweisen, benötigen aber für eine Anfärbung mit Aldehydfuchsin eine vorausgehende Oxidierung.

2.7. Nachweisverfahren

2.7.1. Lichtmikroskopie

Zur selektiven lichtmikroskopischen Darstellung elastischer Fasern werden sogenannte Elastica-Farbstoffe herangezogen. Dazu gehören Verhoeffsches Eisenhämatoxylin (1908), Aldehydfuchsin, Resorcinfuchsin, Orcinol-Neufuchsin und Orcein, das erstmalig von Unna (1890) zum Nachweis elastischer Fasern verwendet wurde.

¹ lat.: elauno [ich dehne]

Neben den aufgezählten Möglichkeiten zur selektiven Darstellung dieser Matrixbestandteile in der Lichtmikroskopie existieren zahlreiche andere Methoden (s. in Gotthardt 1998). Immunhistochemische Analysen konnten Elastinvorkommen an oder unter der Basalmembran nicht verlässlich nachweisen. Dafür sind elektronenmikroskopische Verfahren geeignet, mit denen der selektive Nachweis möglich ist.

2.7.2. Elektronenmikroskopie

Beide Komponenten der elastischen Fasern haben verschiedene Affinitäten zu kationischen und anionischen Farbstoffen, die in der Elektronenmikroskopie angewendet werden. Elastin hat eine auffällige Affinität zu Säureanionen, während die Mikrofibrillen dabei ungefärbt bleiben. Diese werden durch Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert (Grenlee et al. 1966).

Die in der Elektronenmikroskopie amorph erscheinende Komponente Elastin weist eine niedrige Elektronendichte auf und ist bei Untersuchungen mit konventionellen Methoden nicht sichtbar. So wurden bisher verschiedene Analysen durchgeführt, um Elastin kontrastreicher erscheinen zu lassen und mit einschlägigen Methoden selektiv nachzuweisen. Bei der Dunkelfeldmikroskopie erscheint Elastin dichter, während Mikrofibrillen und Glycoproteine nicht markiert sind (Böck und Stockinger 1984).

Ultrastrukturell haben eine Reihe chemischer Verbindungen und Farbstoffe eine hohe Affinität zu Elastin. Dazu gehören Silber-tetra-phenylsulphonate (Albert und Fleischer 1970), modifiziertes Verhoeffsches Eisenhämotoxylin (Brissie et al. 1975), Tanninsäure (Cotta-Pereira et al. 1976 b, Kajikawara et al. 1975), Orcein (Nakamura et al. 1977), Palladiumchlorid (Morris et al. 1978), Osmiumtetroxid in Kombination mit Kalium-Eisencyanid (Goldfischer et al. 1981) und in Methanol gelöst Uranylacetat (Franc et al. 1984).

Von den eingesetzten Farbstoffen und Verbindungen wurde Tanninsäure am häufigsten zum ultrahistochemischen Nachweis von elastischen Fasern verwendet (Tabelle 3, Seite 15).

Um 1800 isolierte Seguin (Chaplin 1985) eine Komponente aus Eichenrinde, die er Tanninsäure¹ nannte. Sie verkörpert einen spezifischen Ester der Glucose. Kommerziell erhältliche Tanninsäuren sind Komplexe phenolischer Mixturen mit der empirischen Formel $C_{76} H_{52} O_{46}$ [M = 1701]. Aufgrund ihres Gehaltes an phenolischen Hydroxylgruppen sind sie wasserlöslich.

Schon früher erkannte man ihre Eigenschaften. Hippokrates wendete Eichenrinde als Adstringensmittel an (Chaplin 1985).

Mizuhira und Futaesaku (1972) fixierten damit biologische Membranen wie Ribosomen, Zellmembranen, Mitochondrien, Golgi-Apparate und das endoplasmatische Retikulum. Unter Zusatz von Tanninsäure zur Glutaraldehyd-Fixierung erzielt man eine deutliche Darstellung des amorphen Materials aufgrund des hohen Anteils von Elastin. Auch die mikrofibrilläre Komponente kann damit sichtbar gemacht werden (Cotta-Pereira et al. 1977). Somit sind auch Oxytalan- und Elauninfasern darstellbar.

Die Verwendung einer erhöhten Konzentration von Tanninsäure ergibt einen stärkeren Kontrast, führt darüber hinaus zur Darstellung sonst unklarer feiner Details. Es wird empfohlen, die Wasserstoffionenaktivität nicht über pH = 7 einzustellen, da es sonst zu einer Verminderung der Tinktion kommen kann. Tanninsäure zur selektiven Kontrastierung ist nur effektiv, wenn eine anschließende Behandlung mit Uranylacetat oder Bleicitrat oder beidem erfolgt (Dingemans und Van Den Bergh Weerman 1990). In der Scanningelektronenmikroskopie wird Tanninsäure zum Schutz von Zellstrukturen verwendet (Katsumoto et al. 1981).

¹ Gerbsäure

Tabelle 3: Nachweis elastischer Fasern mit unterschiedlichen Verfahren

Elastische Fasern enthaltende Strukturen	Ultrastrukturelle Nachweisverfahren
Menschliche Haut (Cotta-Pereira et al. 1976 a)	Tanninsäure
Mucosa des Rindermagens (Kawaguchi et al. 1989)	Tanninsäure
Lymphknoten der Maus (Hayakawa et al. 1990)	Tanninsäure
Menschliche Leber (Porto et al. 1990)	Tanninsäure und Immunoperoxidasetechnik
Menschliche Fascia transversalis (Rodrigues et al. 1990)	Tanninsäure
Mucosa des Colon der Ratte (Wakui 1991)	Tanninsäure
Myometrium des Uterus der Ratte (Nishinaka und Fukuda 1991)	Tanninsäure
Aorta der Ratte (Ushiki 1992)	Tanninsäure und Scanningelektronenmikroskopie
Aorta der Maus (Davis 1993)	Tanninsäure
Epiphyse (Gigante et al. 1996)	Tanninsäure
Menschliches Myokard (DE Carvalho et al. 1996)	Tanninsäure
Menschliche Stimmbänder (Hammond et al. 1997)	Tanninsäure
Nackenband vom Rind (Kewley et al. 1977)	Scanningelektronenmikroskopie
Mucosa der Trachea und der Bronchien des Menschen (Böck und Stockinger 1984)	kombinierte Dunkelfeld- und Hellfeldmikroskopie
Blutgefäße der Ratte (Lethias et al. 1987)	Protein A-Gold Technik
Uterus und Cervix (Leppert und Shiu 1991)	Scanningelektronenmikroskopie
Parodontium der Maus (Johnson und Pylypas 1992)	HID (high iron diamine) und Scanningelektronenmikroskopie
Menschliche fetale Membranen (Hieber et al. 1997)	Scanningelektronenmikroskopie

3. Material und Methoden

Untersucht wurden 12 operativ gewonnene Eileiter von Frauen im Lebensalter von 24 bis 70 Jahren (Tabelle 4). Um die Tuben analysieren zu können, wurde das Einverständnis der Patientinnen eingeholt.

Unmittelbar post operationem wurden Gewebeproben der Pars ampullaris und des Isthmus tubae uterinae entnommen und für die Transmissionselektronenmikroskopie fixiert.

3.1. Fixierung

Tanninsäure wird häufig zur selektiven Kontrastierung von Elastin eingesetzt (Tabelle 3). Es werden Pre- und Post-embedding-Techniken angewandt. Bei der Pre-embedding-Technik (Tabelle 5) wird Tanninsäure in unterschiedlicher Konzentration als Zusatz zur Fixierung hinzugegeben. Es kann mit Phosphat-gepuffertem Glutaraldehyd und 0,25%iger Tanninsäure (Cotta-Pereira et al. 1976 b, Rodrigues et al. 1990, DE Carvalho et al. 1994) fixiert werden oder mit Cacodylat-gepuffertem Paraform- und Glutaraldehyd und 0,1%iger Tanninsäure (Gigante et al. 1996). Beide Verfahren wurden in vorliegender Studie eingesetzt.

Unter der Post-embedding-Technik (Tabelle 5) versteht man, daß Tanninsäure zur Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat nach der Einbettung hinzugegeben wird (Kajikawara et al. 1975). Die Fixierungen können unterschiedlicher Art sein. Bei den durchgeführten Untersuchungen wurde mit Cacodylat-gepuffertem Glutaraldehyd, mit Cacodylat-gepuffertem Paraform- und Glutaraldehyd sowie mit Cacodylat-gepuffertem Paraform- und Glutaraldehyd ohne Nachfixierung mit Osmiumtetroxid fixiert. Die Kontrastierung bestand aus 5%iger Tanninsäure, 5%igem Uranylacetat und Bleicitrat.

Tabelle 4: Angaben zum Untersuchungsmaterial

Nr.	Alter [a]	Klinische Diagnose	OP-Datum	Art der OP	Histologie des Uterus	Menstruation Dauer [d]; Abstand [d]	Menopause [a]
1	24	1. Cervixkarzinom 2. Peritonealzyste, Ovarialzyste	12 / 1995	1. Wertheim ohne Adnexen 2. Laparatomie mit Adnexexstirpation rechts	Proliferationsphase	3-4; 28	
2	32	Adenokarzinom der Cervix	05 / 1995	Wertheim	Sekretionsphase	6; 23	
3	37	Cervixkarzinom	02 / 1995	Abdominale Hysterektomie	Sekretionsphase	5-6; 28 Blutung seit Nov 94	
4	40	Cervixkarzinom	03 / 1995	Wertheim	Proliferationsphase	3; 28	
5	42	Cervixkarzinom	02 / 1995	Wertheim	Sekretionsphase	5-6; A 28	
6	43	Ovarialzyste links bei Endometriose	01 / 1995	Abdominale Hysterektomie, Adnexexstirpation links	Sekretionsphase	5-6; 28 Dysmenorrhoe	
7	48	Cervixkarzinom	03 / 1995	Wertheim	Sekretionsphase	5; 28	
8	51	Uterus myomatosus	02 / 1996	Abdominale Hysterektomie, Adnexexstirpation links	Sekretionsphase	8; 28-35 Hypomenorrhoe	
9	54	Adenokarzinom der Cervix uteri	11 / 1994	Wertheim mit Adnexexstirpation beidseitig	Endometrium flach und glatt		1994
10	59	Glandulär-zystische Hyperplasie des Korpusendometrium	12 / 1994	Abdominale Hysterektomie	Endometrium alteriert und drüsenreich		1991
11	66	Endometriumkarzinom	01 / 1996	Abdominale Hysterektomie, Adnexexstirpation beidseitig	Endometrium papillenförmig umgebaut		1977
12	70	Endometriumkarzinom	11 / 1995	Abdominale Hysterektomie	Endometrium mit atrophischen Drüsen		1979

Tabelle 5: Übersicht über angewandte Techniken

	Pre-embedding-Technik		Post-embedding-Technik		
Fixierung	4% Glutaraldehyd und 0,25% Tanninsäure in 0,12 mol/l Phosphat-Puffer (Millonig-Puffer)	4% Paraformaldehyd, 2% Glutaraldehyd und 0,1% Tanninsäure in 0,1 mol/l Natrium-Cacodylat-Puffer	3% Glutaraldehyd in 0,1 mol/l Natrium-Cacodylat-Puffer	4% Paraformaldehyd, 2% Glutaraldehyd in 0,1 mol/l Natrium-Cacodylat-Puffer	4% Paraformaldehyd, 2% Glutaraldehyd in 0,1 mol/l Natrium-Cacodylat-Puffer
Nachfixierung	1% Osmiumtetroxid in 0,1 mol/l Natrium-Cacodylat-Puffer				Keine Nachfixierung mit Osmiumtetroxid als Kontrollansatz
Einbettung	Durcupan ACM				
Kontrastierung	5% Uranylacetat und Bleicitrat		5% Uranylacetat und Bleicitrat	5% Tanninsäure , 5% Uranylacetat und Bleicitrat	

3.1.1. Pre-embedding-Technik

3.1.1.1. Glutaraldehyd mit Tanninsäure

Cotta-Pereira et al. (1976 b) folgend, wurden Tubenstückchen in Phosphat-gepuffertem Glutaraldehyd und Tanninsäure (4%iges Glutaraldehyd und 0,25%ige Tanninsäure in 0,12 mol/l Phosphat-Puffer) fixiert, $t = 16$ h bei $T = 4$ °C. Die Stammlösung des Puffers setzt sich aus Natriumhydrogenphosphat und Natriumhydroxid zusammen und hat einen $pH = 7,4$ (Millonig 1961, Robinson und Gray 1990). Dazu mußte zuerst Tanninsäure und anschließend 25%iges Glutaraldehyd hinzugegeben werden (Cotta-Pereira et al. 1976 b).

3.1.1.2. Paraform- und Glutaraldehyd mit Tanninsäure

In Anlehnung an Gigante et al. (1996) wurde ein Teil der Eileiter in gepuffertem Paraform- und Glutaraldehyd mit Zusatz von Tanninsäure (Fluka, Seelze) (4%iges Paraformaldehyd, 2%iges Glutaraldehyd und 0,1%ige Tanninsäure in 0,1 mol/l Cacodylatpuffer) fixiert, $t = 16$ h bei $T = 4$ °C.

3.1.2. Post-embedding-Technik

3.1.2.1. Glutaraldehyd

Ein Teil der Tuben wurde in gepuffertem Glutaraldehyd (Merck, Darmstadt) (3%iges Glutaraldehyd in 0,1 mol/l Natrium-Cacodylat-Puffer $pH = 7,4$) fixiert, $t = 2$ h bei $T = 4$ °C. Anschließend erfolgte eine kurze Spülung in Cacodylat-Puffer.

Natrium-Cacodylat-Puffer verwendeten schon Sabatini et al. (1965). Die Stammlösung enthält Dimethylarsinsäure (Merck, Darmstadt), die in Aqua bidest. gelöst und mit Chlorwasserstoffsäure auf $pH = 7,4$ eingestellt wird.

3.1.2.2. Paraform- und Glutaraldehyd mit und ohne Nachfixierung mit Osmiumtetroxid

Organstückchen einer weiteren Gruppe von Eileitern wurden in gepuffertem Paraformaldehyd (Merck, Darmstadt) und Glutaraldehyd (4%iges Paraformaldehyd und 2%iges Glutaraldehyd in 0,1 mol/l Cacodylat-Puffer) fixiert, t = 2 bzw. 16 h bei T = 4 °C. Abschließend wurden sie zweimal in Pufferlösung gewaschen, t = 15 min.

3.1.3. Fixierung ohne Tanninsäure

3.1.3.1. Glutaraldehyd ohne Tanninsäure

Als Kontrollansatz wurden Tubenstückchen in gepuffertem Glutaraldehyd (3%iges Glutaraldehyd in 0,1 mol/l Natrium-Cacodylat-Puffer, pH = 7,4) fixiert, t = 2 h bei T = 4 °C. Anschließend erfolgte eine kurze Spülung in Cacodylat-Puffer.

Bei diesem Ansatz wurde im weiteren Verlauf eine Nachfixierung mit Osmiumtetroxid und eine Kontrastierung, aber ohne Verwendung von Tanninsäure, durchgeführt.

3.2. Nachfixierung mit Osmiumtetroxid

Unter der Wirkung von Osmiumtetroxid wird das Zytoplasma in elektronentransparentes Gel überführt. Im Gewebe bilden sich zwischen den Molekülen durch Quervernetzung Brücken. Die Konzentration von Osmiumtetroxid muß so gewählt werden, daß Mikrofilamente und Zellen nicht zerstört werden. Sie darf nicht mehr als 1 bis 2% betragen (Robinson et al. 1985).

Die Tubenstückchen wurden in gepuffertem Osmiumtetroxid (1%iges Osmiumtetroxid in 0,1 mol/l Cacodylat-Puffer) nachfixiert, t = 2 h bei Raumtemperatur, und zweimal in Pufferlösung gewaschen, t = 30 min.

Zur Kontrolle der Wirkung von Osmiumtetroxid wurde Organmaterial, das in 4%igem Paraform- und 2%igem Glutaraldehyd in 0,1 mol/l Cacodylat-Puffer (s. 3.1.2.2.) fixiert worden ist, nicht nachfixiert.

3.3. Einbettung

Über eine Aceton- bzw. Propylenoxidreihe mit aufsteigender Konzentration wurden die Gewebestückchen über Nacht entwässert. Das ist notwendig, da das Einbettungsmedium nicht wasserlöslich ist.

Sämtliche Tubenstückchen wurden in Durcupan ACM (Fluka, Buchs) eingebettet. Die Überführung der Tuben aus Aceton bzw. Propylenoxid (Merck, Darmstadt) in Durcupan erfolgte in folgenden Schritten, bei $T = 40 - 45 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabelle 6):

Tabelle 6: Ablauf der Einbettung

Gemisch	Verhältnis	Einwirkungszeit [t in min]
Propylen-Durcupan	3:1	60
Propylen-Durcupan	1:1	60
Propylen-Durcupan	1:3	über Nacht; $T = 48 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Für die Einbettung wurden Silikon-Kautschuk-Formen mit eingearbeiteter Numerierung verwendet. Semidünnschnitte ($0,25 \text{ }\mu\text{m}$) und Ultradünnschnitte (50nm) wurden mit dem Ultramikrotom (Reichert Ultracut, Leica, Wien) angefertigt. Als Trägermaterial für die Ultradünnschnitte dienten Kupfer-, Gold- und Nickelgrids (Plano, Wetzlar).

3.4. Kontrastierung

3.4.1. Selektive Kontrastierung mit Tanninsäure nach der Einbettung

Die ultradünnen Schnitten wurden dreimal in Aqua bidest. gespült, je $t = 5 \text{ min}$, und anschließend in 5%ige Tanninsäure gebracht, $t = 15 \text{ min}$. Danach erfolgte wieder Spülung in Aqua bidest. in drei Stufen, je $t = 3 \text{ min}$, bevor sie unter Abdunkelung in Uranylacetat (Serva, Heidelberg) gelegt wurden, $t = 60 \text{ min}$ bei $T = 4 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Nach erneuter Spülung in drei Schritten in Aqua bidest., $t = 3 \text{ min}$, wurden die Schnitte unter Abdunkelung in Bleicitrat (Leica, Bensheim) kontrastiert, $t = 1 \text{ min}$. Abschließend wurde nochmals in sechs Stufen in Aqua bidest. gespült, $t = 12 \text{ min}$.

3.4.2. Doppelkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat

Da eine Erhöhung des Kontrastes im Gewebe erreicht werden sollte, erfolgte an den auf Netzchen aufgezogenen Ultradünnschnitten, die nach der Pre-embedding-Technik fixiert wurden, eine Positivkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat. Die Kontrastmittel werden dabei selektiv im Gewebe gebunden, so daß es elektronendichter erscheint. Bleicitrat bewirkt eine Kontrasterhöhung von Membranen, Proteinen und Nukleinsäuren.

Die ultradünnen Schnitte wurden zweimal in Aqua bidest. gespült, je $t = 3$ min, und danach unter Abdunkelung in 5%iger Uranylacetatlösung kontrastiert, $t = 1$ h bei $T = 4$ °C. Anschließend erfolgte in drei Schritten eine Spülung in Aqua bidest., $t = 3$ min, und die Bleicitratkontrastierung bei Abdeckung, $t = 1$ min.

Beachtet werden mußte, daß die Atmosphäre CO_2 -arm ist, damit keine Bleicarbonatniederschläge auf dem Präparat ausfallen. Zur Bindung des Kohlendioxids wurden deshalb Natriumhydroxidplättchen verwendet.

Abschließend wurde fünfmal mit Aqua bidest. gespült, $t = 5$ min. Getrocknet wurden die Schnitte auf Filterpapier.

Alle Lösungen sind vor ihrer Verwendung durch Spritzenfilter gegeben worden.

3.5. Elektronenmikroskopie

Die Durchmusterung der Schnitte erfolgte in einem Elektronenmikroskop EM 902 (Zeiss, Oberkochen). Die Ergebnisse wurden mit einer integrierten Kamera (Electron mikroskope film-4489 Kodak) dokumentiert.

Die Tuben vom 24. bis zum 40. Lebensjahr lassen sich der Geschlechtsreife zuordnen. In die Prämenopause gehören die Eileiter von 42- bis 51jährigen Frauen. Die Frauen von 54 bis 70 Jahren befinden sich in der (Tabelle 4) Postmenopause. Diese Zuordnung wurde durchgängig bei der Auswertung der Ergebnisse eingehalten (Tabelle 6 a, b; 7 a, b).

4. Ergebnisse

Mit dem Ziel, Elastin selektiv zu kontrastieren, wurde Tanninsäure in Pre- und Post-embedding-Techniken angewandt. Zunächst soll auf den Einfluß von Tanninsäure auf die Strukturen bei Anwendung dieser Techniken eingegangen werden.

4.1. Tanninsäure zur selektiven Kontrastierung von Elastin

Um die kontrastierende Wirkung von Tanninsäure zu kontrollieren, wurden Proben nur in Cacodylat-gepuffertem Glutaraldehyd fixiert. Elastin-haltiges Material des elastischen Fasersystems läßt sich nicht selektiv nachweisen, da Elastin nicht tingiert wird. Mikrofibrillen sind hingegen sichtbar (Abb. 1, 6, 8).

4.1.1. Pre-embedding-Technik

Mit 0,1- und 0,25%iger Tanninsäure als Zusatz zur Fixierung (Pre-embedding-Technik) läßt sich Elastin in den Elaunin- (Abb. 13) und reifen elastischen Fasern (Abb. 2) selektiv kontrastieren. Bei beiden Konzentrationen werden Zellen und das interstitielle Bindegewebe stärker tingiert, was eine klare Unterscheidung der Strukturen und eine Abgrenzung von Mikrofibrillen und kollagenen Fibrillen erschwert. Im interstitiellen Bindegewebe erscheinen feine Granula, bei denen es sich möglicherweise um Artefakte handelt (Abb. 2). Dies ist für die Beurteilung von Interzellularräumen insbesondere in Mucosa und Muscularis ungünstig, da sich die feinen Granula teilweise nicht von Mikrofibrillen unterscheiden lassen (Abb.18).

4.1.2. Post-embedding-Technik

Die andere Möglichkeit, Elastin selektiv darzustellen, ist die Post-embedding-Technik, bei der 5%ige Tanninsäure nach Einbettung und Herstellung der Schnitte für die Kontrastierung der Strukturen eingesetzt wird. Elastin wird bei dieser Methode wesentlich stärker tingiert (Abb. 3). Mikrofibrillen, kollagene Fibrillen und Zellmembranen sind durch die Nachfixierung mit Osmiumtetroxid

und die Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastreicher dargestellt. Da das Interstitium keine Granula aufweist, lassen sich im Gegensatz zur Pre-embedding-Technik Bindegewebsstrukturen eindeutig voneinander abgrenzen (Abb. 3). So können Kontakte von Mikrofibrillen an der Basalmembran des Tubenepithels und an den Zellmembranen besser studiert werden. Vor allem die mit der Post-embedding-Technik erhaltenen Ergebnisse dienen der Befundung und Auswertung.

Mit den verwendeten Cacodylat- und Phosphatpuffern lassen sich reproduzierbare Ergebnisse erzielen. Das gleiche gilt für die eingesetzten Fixierungen; Glutaraldehyd ist mit und ohne Paraformaldehyd zur Erhaltung der Strukturen gut geeignet. Beeinträchtigungen sind nicht beobachtet worden.

Der Einsatz von Glutaraldehyd ohne Osmiumtetroxid ergibt jedoch einen stark reduzierten Kontrast, der die Unterscheidung und Beurteilung einzelner Komponenten des Tubengewebes unmöglich macht. Der geringe Kontrast läßt auch keine Zuordnung der Strukturen zu Tubenschichten zu. Da diese Tubenstückchen mit Tanninsäure nach der Post-embedding-Technik behandelt wurden, kann Elastin als einzige Struktur nachgewiesen werden. Das zeigt, daß die anderen Strukturen erst durch Osmiumtetroxidbehandlung stärker tingiert werden. Aufgrund des zu schwachen Kontrastes konnten die damit erzielten Ergebnisse nicht ausgewertet werden.

4.2. Lokalisation und Verteilung der Komponenten des elastischen Fasersystems

Von jeder Tube wurden die Pars ampullaris und der Isthmus untersucht. Schleimhaut, Muskulatur und Gefäß-Muskelschicht wurden in bezug auf Lokalisation und Verteilung von Oxytalan-, Elaunin- und reifen elastischen Fasern analysiert.

4.2.1. Oxytalanfasern

4.2.1.1. Lokalisation und Verteilung

Oxytalanfasern sind als Ansammlungen zahlreicher, parallel gelagerter Mikrofibrillen ohne erkennbaren elektronendichten, amorphen Elastinanteil zu beobachten. In der Mucosa kommen Oxytalanfasern unter dem Epithel (Abb. 5) und in unmittelbarer Nähe von Fibrozyten (Abb. 6 a, b) vor. Sie unterscheiden sich in ihrer Länge und ihrem Durchmesser. Je dicker sie sind, desto mehr Mikrofibrillen besitzen sie (Abb. 4). Die unterschiedliche Länge ergibt sich hingegen durch den jeweiligen Anschnitt. Eine Aussage über den Verlauf von Oxytalanfasern kann nur getroffen werden, wenn sie längs angeschnitten sind. Von den parallel zur Basalmembran verlaufenden Oxytalanfasern ziehen einige Mikrofibrillen senkrecht zu ihr und bilden so den Übergang von der Lamina propria zum Epithel. Dadurch wird die an diesen Orten aus kollagenen Fibrillen bestehende subepitheliale Schicht unterbrochen (Abb. 6 a, b; 7).

Oxytalanfasern lassen sich auch in enger Nachbarschaft zu den Fibrozyten nachweisen, wobei sie parallel zu ihnen verlaufen, sich von ihnen entfernen und zur nächsten Zelle ziehen, so daß der Eindruck entsteht, als ob sie diese miteinander verbinden (Abb. 6 a, b). Diese Tatsache läßt sich häufiger nahe der Basalmembran beobachten als am Übergang zur Muskulatur. Dort befinden sich mehr kollagene Fasern (Abb. 4). Auch mit diesen haben Oxytalanfasern direkten Kontakt, wobei sie senkrecht oder parallel zu ihnen verlaufen (Abb. 9 a, b).

Oxytalanfasern befinden sich nahe an Muskelfasern, zu denen sie senkrecht angeordnet sind (Abb. 8). In der Mucosa liegen sie hingegen parallel zu den Fibrozyten. Am Rand von Muskelbündeln bilden Oxytalanfasern einen Übergang zur kollagenen Faserschicht (Abb. 10). In der Muskulatur sind sie zwischen Kollagenfibrillen seltener zu sehen.

In der Gefäßschicht ließen sich keine Oxytalanfasern nachweisen.

4.2.1.2. Regionale Unterschiede

Oxytalanfasern kommen in Mucosa und Muscularis von allen untersuchten Tuben sehr zahlreich vor. Sowohl in der Mucosa des Isthmus als auch in der Pars ampullaris sind sie am häufigsten unter der Basalmembran und an den Fibrozyten zu sehen. Unterschiede in der Lokalisation konnten in der

Muscularis beider Abschnitte nicht festgestellt werden. Nur die mengenmäßige Verteilung unter Berücksichtigung des Lebensalters der Frauen ist verschieden.

4.2.1.3. Altersunterschiede

Im Isthmus nimmt die Anzahl von Oxytalanfasern in der Mucosa mit dem Alter zu. Sie erreicht um die Menopause einen Gipfel und nimmt dann wieder ab. In der Pars ampullaris kommen hingegen auffällig viele Fasern in der tubaren Mucosa von den beiden jüngsten Frauen und der 54jährigen Frau vor (Abb. 29). Die Verteilung in allen anderen Tuben ist etwa gleich. Nur die Pars ampullaris zusammen mit dem Isthmus von einer 24- und einer 54jährigen Frau enthalten viel mehr Oxytalanfasern in der Schleimhaut als die der anderen Frauen und stellen somit eine Ausnahme dar (Abb. 4, 11, 29, 30).

Die Verteilung der zahlreich in der Muskulatur vorkommenden Oxytalanfasern ist in Isthmus und Pars ampullaris unregelmäßig und altersunabhängig (Abb. 31, 32).

4.2.2. Elauninfasern

4.2.2.1. Lokalisation und Verteilung

Elauninfasern sind Bündel parallel gelagerter Mikrofibrillen mit einem Anteil amorphen Materials, der geringer ist als in reifen elastischen Fasern. Auffällig ist ihr variierender Durchmesser (Abb. 12 a, b, c; 13). Ebenso wie dieser unterscheidet sich auch der Gehalt an Elastin in den Fasern (Abb. 12 b, 13). So haben einige mehrere kleine Stellen und andere dafür einzelne große Areale an Elastin. Dies wurde in Mucosa und Muscularis beobachtet. Der Mikrofibrillenanteil überwiegt in allen Elauninfasern, wodurch sie sich eindeutig von reifen elastischen Fasern unterscheiden lassen (Abb. 13).

Elauninfasern findet man nicht direkt am oder nahe dem Epithel, sondern inmitten der Mucosa (Abb. 11, 14) oder am Übergang zur Muscularis. Sie sind in der Mucosa schmaler als jene in der Muskulatur (Abb. 12 b, c; 15, 20). Ihr Elastingehalt ist ebenfalls geringer (Abb. 16). Aufgrund dessen läßt sich kein direkter Vergleich zwischen Elauninfasern der Mucosa und der Muscularis anstellen.

Während man Elauninfasern in der Schleimhaut in Assoziation mit Fibrozyten (Abb. 5, 16) oder seltener zwischen kollagenen Fasern beobachtet (Abb. 18), sind sie in der Muskulatur vorwiegend zwischen Muskelbündeln (Abb. 20) anzutreffen. Seltener kommen sie zwischen den Muskelzellen (Abb. 17) vor, zu denen sie eine parallele Lagebeziehung aufweisen (Abb. 11 b).

In der Gefäßschicht konnten keine Elauninfasern nachgewiesen werden.

4.2.2.2. Regionale Unterschiede

Elauninfasern sind in der Schleimhaut der Pars ampullaris und des Isthmus nur direkt in Verbindung mit Fibrozyten zu sehen. Sie sind nur bei einem Drittel aller untersuchten Tuben nachweisbar (Abb. 29, 30) und kommen in der Pars ampullaris häufiger als im Isthmus vor. Dabei enthalten vorwiegend die Tuben der jüngsten Frauen und derer um die Menopause eine geringe Anzahl Elauninfasern.

Ihr Gehalt in der Muscularis des Isthmus entspricht dagegen etwa dem der Pars ampullaris. Auffällig ist das geringere Vorkommen von Elauninfasern im Tubenisthmus von Frauen in der Prämenopause. Zum Zeitpunkt der Menopause treten diese in der Muskulatur wieder zahlreicher auf (Abb. 32).

4.2.2.3. Altersunterschiede

In der Schleimhaut von Tuben der Frauen um die Menopause und in der geschlechtsreifen Phase sind Elauninfasern ganz vereinzelt anzutreffen. In den Tuben von den Frauen in der Postmenopause kommen sie regelmäßig in beiden Abschnitten vor. Eine Ausnahme in der jüngsten Altersgruppe bildet die Mucosa des Isthmus von einer 24jährigen Frau, bei der als einzige auffällig viele Elauninfasern enthalten sind (Abb. 14).

Der Anteil von Elauninfasern in der Muskulatur schwankt in den einzelnen Altersstufen. Keine der untersuchten Tuben hat auffällig mehr Elauninfasern in der Muskulatur beider Abschnitte als die anderen.

4.2.3. Reife elastische Fasern

4.2.3.1. Lokalisation und Verteilung

Reife elastische Fasern erkennt man daran, daß Elastin die ganze Faser aufbaut und Mikrofibrillen ausschließlich den Randbereich bilden. Im Anschnitt der Fasern ist das geschlossene Elastin-Areal besonders gut zu sehen (Abb. 3, 19). Alle Fasern mit elektronenopaquen Arealen sind den Elauninfasern zugeordnet worden, wenn sich in einer Faser mehrere Elastinanteile befanden und diese durch Mikrofibrillen getrennt waren (Abb. 12 a, 20). Eine klare Abgrenzung von Elauninfasern ist ausschließlich durch Vergleich des Größenverhältnisses von Elastinarealen zu Mikrofibrillen möglich. Dies konnte mit der Pre- und Post-embedding-Technik realisiert werden.

In den Gefäßwänden ist aber im Gegensatz zu Fasern der Muscularis die Mikrofibrillenanzahl im Randbereich noch viel geringer (Abb. 3, 13). Die Befunde der Post-embedding-Technik weisen darauf hin, daß in Media und Intima vorkommende reife elastische Fasern kaum Mikrofibrillen aufweisen (Abb. 3) und der zentrale Elastinanteil teilweise unterbrochen erscheint.

Zarte reife elastische Fasern kommen in der Schleimhaut vor (Abb. 21). Ihr Durchmesser nimmt über die Muscularis zur Gefäß-Muskelschicht hin zu. Während sie als feine Fäserchen in der Umgebung von Gefäßen der Schleimhaut (Abb. 22) sichtbar sind, sieht man sie in der Muskulatur mit etwas größerem Durchmesser zwischen Muskelbündeln (Abb.13).

Reife elastische Fasern sind in Arterien und Venen unterschiedlich lokalisiert. Sie erscheinen besonders auffällig als Lamina elastica interna in großen (Abb. 23), mittleren (Abb. 24) und kleinen Arterien (Abb. 25). Je größer die Arterie, desto breiter die Lamina elastica interna. In Venen ist diese Zone gar nicht vorhanden (Abb. 1, 26). In großen Venen dominieren reife elastische Fasern in der Media (Abb. 2, 19, 26). Sie kommen dagegen in der Media von Arterien in geringerer Anzahl als in Interna und Externa vor (Abb. 24). Der Fasergehalt der Media nimmt bei Venen und Arterien mit der Größe des Gefäßes zu. Kleine Arterien besitzen in der Media keine reifen elastischen Fasern (Abb. 25). Im Querschnitt der Arterien ist gut zu beobachten, daß die Elastin-reichen Laminae elasticae interna und externa längs und in der Media zirkulär (Abb. 19) zum Gefäßlumen verlaufen.

Die Adventitia enthält dicke reife elastische Fasern in der Lamina elastica externa (Abb. 3). Von ihr strahlen weitere Fasern aus, die dann wellenförmig die Zellen umgeben und sich dem Verlauf von kollagenen Fibrillen anpassen. Reife elastische Fasern erreichen in Venen nicht die Größe von jenen in Arterien (Abb. 27). In der Adventitia von mittelgroßen Arterien sind etwa genauso viele reife elastische Fasern wie in der Interna enthalten (Abb. 24). Bei mittleren und kleinen Venen hingegen ist die Adventitia die Schicht mit dem höchsten Anteil an diesen Fasern (Abb. 27).

4.2.3.2. Regionale Unterschiede

Reife elastische Fasern kommen in der Schleimhaut der Pars ampullaris und des Isthmus von Tuben jüngerer Frauen und jener um die Menopause ausschließlich in und um Gefäßen vor (Abb. 22). Sie können in der Adventitia in Form kleiner Fasern zwischen den kollagenen Fasern ausgemacht werden. In großen Arterien bauen sie die Lamina elastica interna auf.

In der Mucosa sind sie selten dicht an den Fibrozyten zu finden und dann auch nur in geringer Anzahl (Abb. 21). Bemerkenswert ist, daß diese Beobachtung in beiden Abschnitten gleichermaßen gemacht wurde. Reife elastische Fasern befinden sich in diesen Tuben genau wie Elauninfasern eher am Übergang zur Muskulatur. Direkt unter dem Epithel konnten sie nicht ausgemacht werden.

Reife elastische Fasern sind in der Muskulatur von Isthmus und Pars ampullaris nur in Eileitern von geschlechtsreifen Frauen zu finden (Abb. 31, 32). Sie befinden sich zwischen Muskelbündeln und weisen einen kleineren Durchmesser auf als jene der Gefäßschicht. Nur in der Pars ampullaris von einer Frau in der Prämenopause (Tube von einer 42jährigen Frau) wurden ebenfalls reife elastische Fasern gefunden. In der Muskulatur des Isthmus kamen diese Fasern lediglich in Tuben von geschlechtsreifen Frauen vor.

In der Gefäßschicht von Isthmus und Pars ampullaris befinden sich Arterien und Venen mit unterschiedlichem Kaliber. Ihr Gehalt an reifen elastischen Fasern nimmt mit der Größe des Gefäßes zu (Tabelle 8 a, b).

Die Venen weisen nur in der Adventitia auffällig viele elastische Fasern auf (Abb. 27). In der Media sind diese je nach Gefäßgröße nur selten (Abb. 2, 26). Eine Lamina elastica interna ist in Venen nicht vorhanden (Abb. 28).

Bei allen Arterien, gleich welchen Kalibers, kommen die meisten reifen elastischen Fasern in der Lamina elastica interna vor. Ihre Präsenz in der Media ist gefäßgrößenabhängig (Abb. 24). Die Adventitia ist mit zahlreichen elastischen Fasern durchsetzt (Abb. 3).

4.2.3.3. Altersunterschiede

Bei Frauen ab dem 60. Lebensjahr, sind reife elastische Fasern in der Schleimhaut auch ohne Beziehung zu Blutgefäßen nachweisbar (Abb. 21) und zwar in Isthmus und Pars ampullaris. Die tubare Mucosa aller anderen Altersstufen enthält reife elastische Fasern ausschließlich in und nahe den Blutgefäßen.

Reife elastische Fasern sind in der Muscularis nur bei den jüngeren Frauen und dann in sehr geringer Anzahl anzutreffen. Der Isthmus von der 66jährigen Frau bildet eine Ausnahme. Er enthält ebenfalls reife elastische Fasern.

Das Vorkommen reifer elastischer Fasern in den Gefäßen ist abhängig vom Gefäßdurchmesser. Je größer das Kaliber des Gefäßes, desto mehr reife elastische Fasern kommen vor. Diese quantitativen Unterschiede sind im Isthmus und Pars ampullaris altersunabhängig.

Eine Übersicht über die Verteilung der Komponenten des elastischen Fasersystems in der Pars ampullaris und im Isthmus liefern die Tabellen 7 a und b. Wie die reifen elastischen Fasern in den Gefäßen der Pars ampullaris und des Isthmus verteilt sind, kann den Tabellen 8 a und b entnommen werden. Diese Ergebnisse sind zur besseren Übersicht in den Abb. 29 bis 32 semiquantitativ zusammengefaßt. Sie sind Ausdruck jener Verhältnisse, die ultrastrukturell sichtbar gemacht und beurteilt werden konnten.

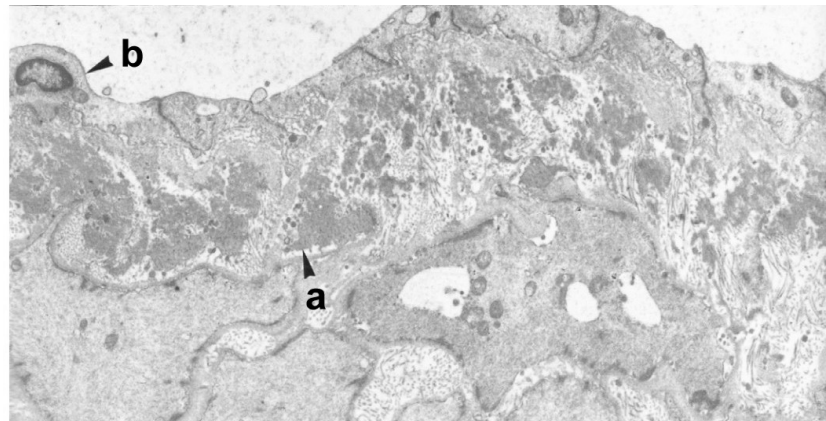


Abb. 1

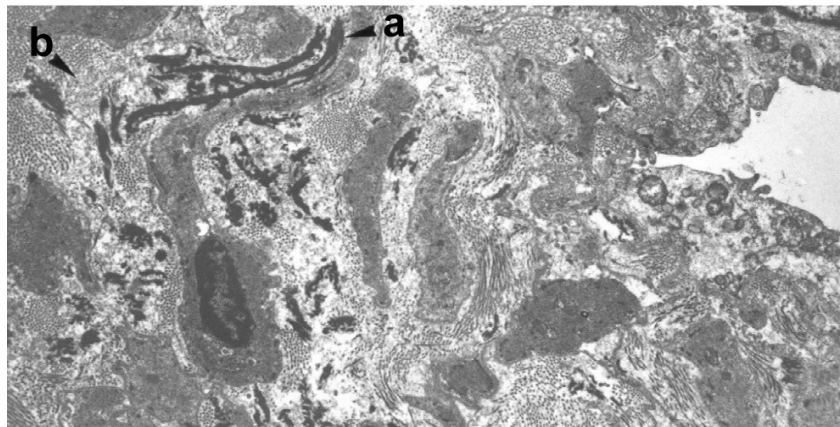


Abb. 2

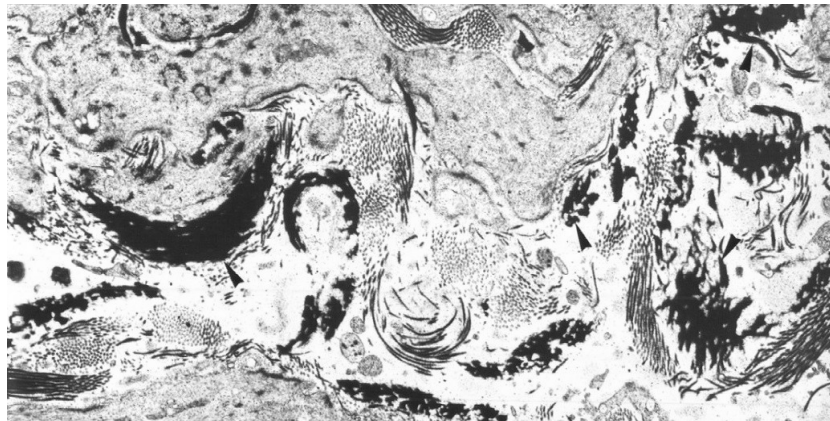


Abb. 3

- Abb. 1: Ohne Tanninsäure läßt sich Elastin in den reifen elastischen Fasern (a) einer Arterie nicht selektiv darstellen (b - Endothelzelle).
Gefäß-Muskelschicht des Isthmus von einer 48jährigen Frau, Cacodylatgepuffertes Glutaraldehyd ohne Tanninsäure, 4480:1
- Abb. 2: Eine große Vene mit reifen elastischen Fasern in der Media (a). Feine Granula (b) befinden sich im Interstitium.
Gefäß-Muskelschicht des Isthmus von einer 48jährigen Frau, Phosphatgepuffertes Glutaraldehyd mit Tanninsäure (Pre-embedding-Technik), 3400:1
- Abb. 3: In großen Arterien bilden die reifen elastischen Fasern (Pfeile) eine Lamina elastica externa. Sie passen sich dabei dem Verlauf der Zellen der Gefäßwand an.
Gefäß-Muskelschicht der Pars ampullaris von einer 37jährigen Frau, Cacodylatgepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 4480:1

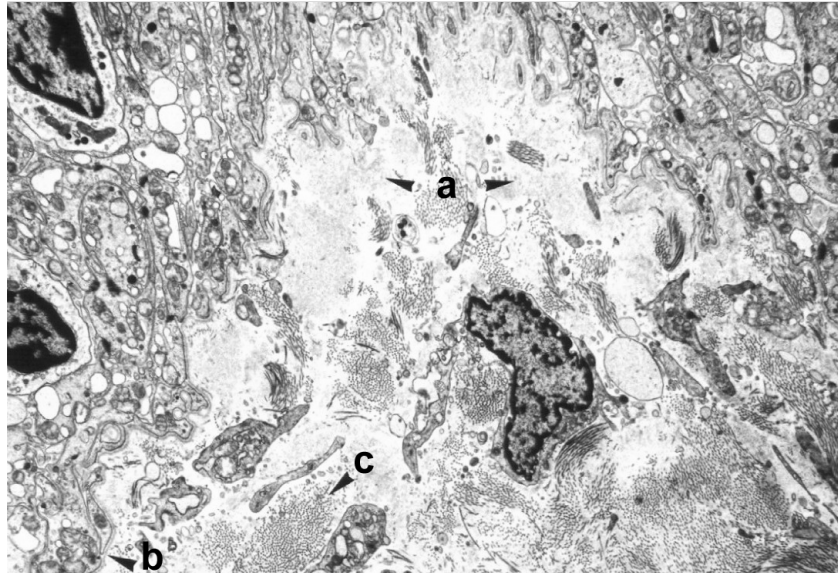


Abb. 4

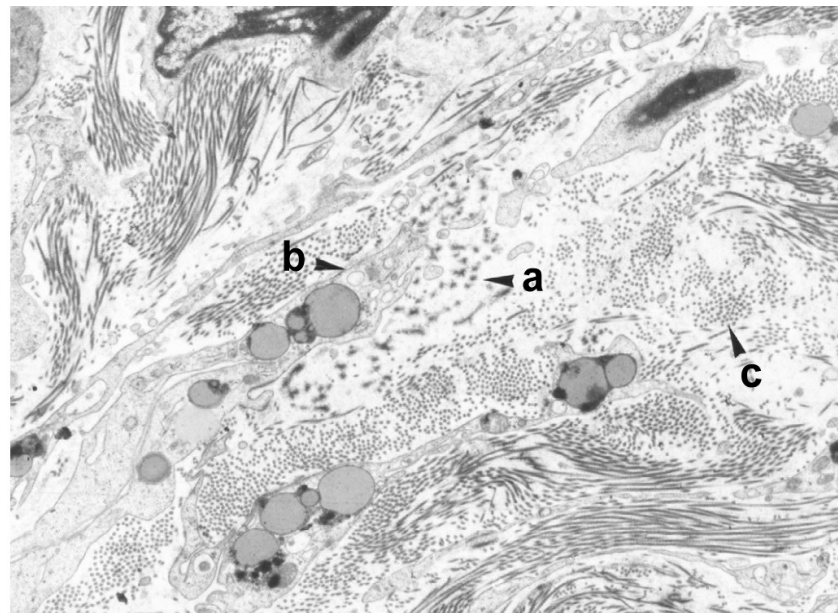


Abb. 5

Abb. 4: In Tuben von jüngeren Frauen bilden die Oxytalanfasern (a) eine breite Schicht direkt unter dem Epithel (b). Dabei unterscheiden sich die Durchmesser der Fasern (c - kollagene Fasern).

Mucosa des Isthmus von einer 24jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 3400:1

Abb. 5: Elauninfasern (a) haben in der Mucosa einen geringeren Elastingehalt als jene in der Muscularis. Sie sind in der Nähe von Fibrozyten (b) lokalisiert (c - kollagene Fasern).

Mucosa der Pars ampullaris von einer 32jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 4480:1

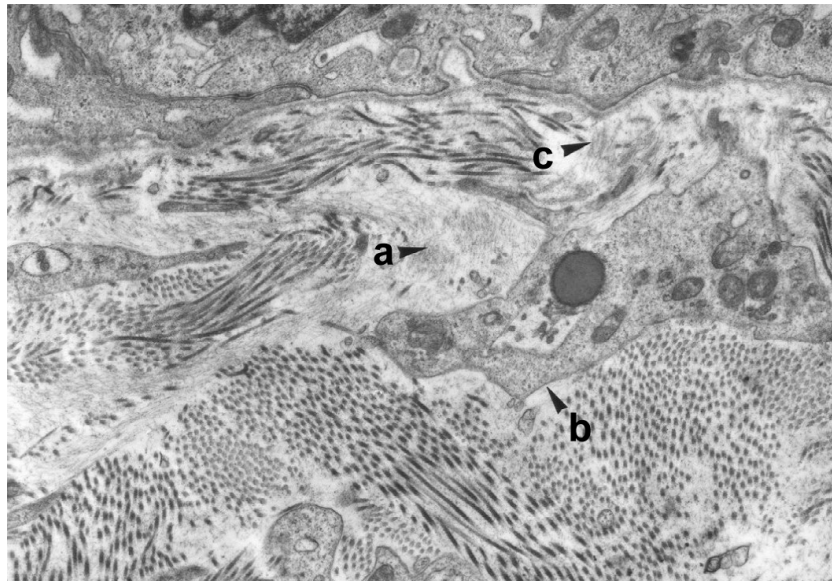


Abb. 6 a

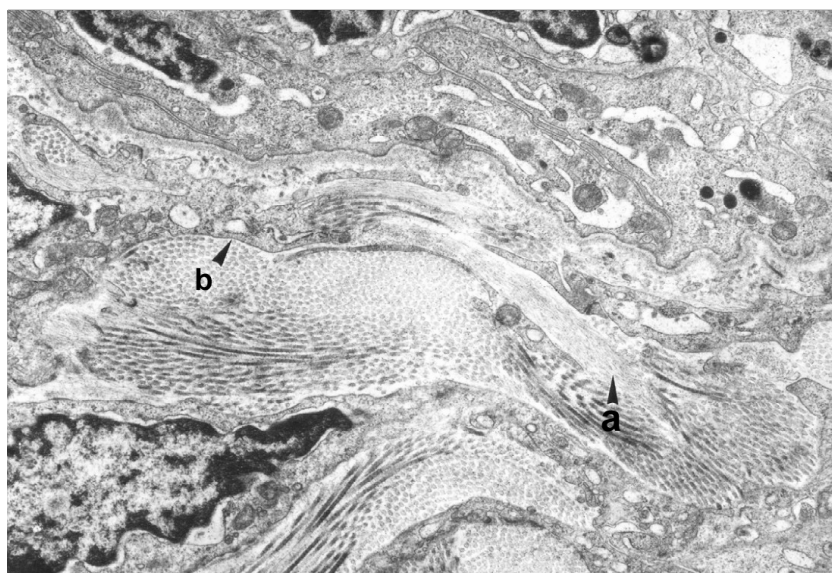


Abb. 6 b

Abb. 6 a: Oxytalanfasern (a) befinden sich nahe den Fibrozyten (b). Sichtbar ist ihre Verbindung zur Basalmembran (c).
Mucosa der Pars ampullaris von einer 32jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Glutaraldehyd ohne Tanninsäure, 7000: 1

Abb. 6 b: Oxytalanfasern (a) liegen parallel zu Fibrozyten (b), entfernen sich von ihnen und ziehen zur nächsten Zelle.
Mucosa der Pars ampullaris von einer 32jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Glutaraldehyd ohne Tanninsäure, 7000: 1

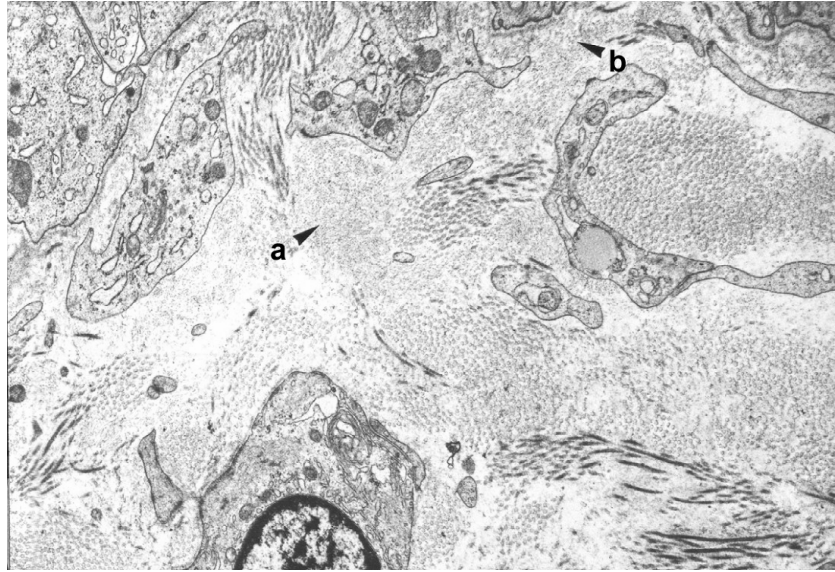


Abb. 7

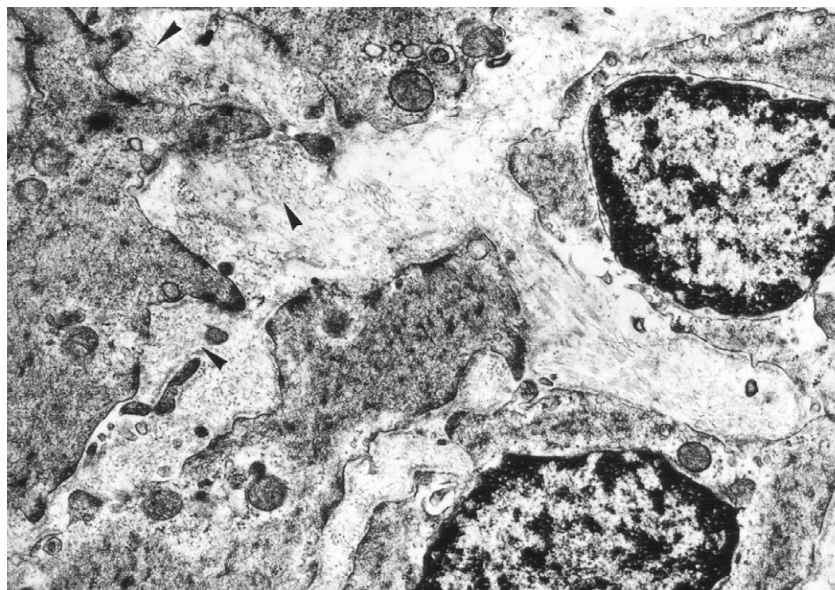


Abb. 8

Abb. 7: Oxytalanfasern (a), die subepithelial lokalisiert sind, haben über einzelne Mikrofibrillen (b) eine Verbindung zur Basalmembran des Epithels.
Mucosa des Isthmus von einer 32jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 7140:1

Abb. 8 : In weiten Interzellularräumen läßt sich der Verlauf von Mikrofibrillen (Pfeile) besonders gut beobachten. Sie treffen die Zellmembran der Muskelzellen senkrecht.
Muscularis des Isthmus von einer 66jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Glutaraldehyd ohne Tanninsäure, 13000:1

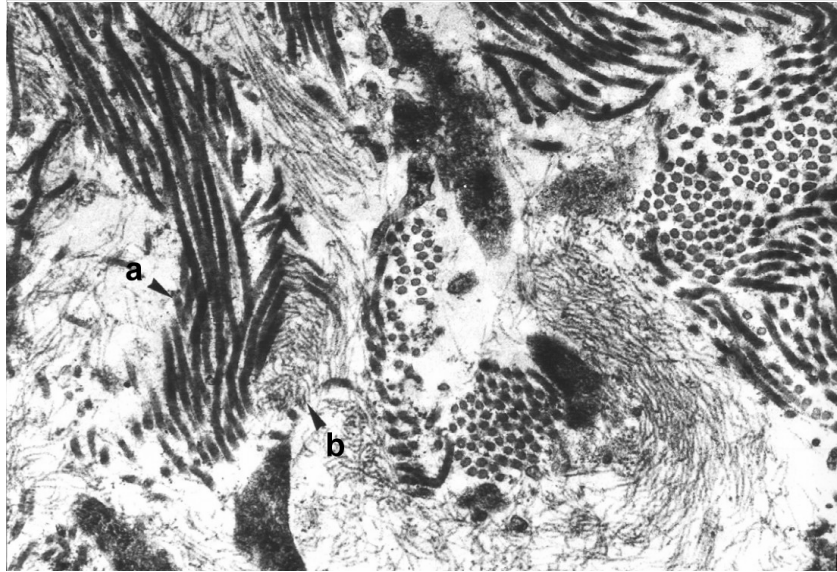


Abb. 9 a



Abb. 9 b

Abb. 9 a: Kollagene Fibrillen (a) haben Kontakt zu Oxytalanfasern (b).
Mucosa des Isthmus von einer 42jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes
Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 12000:1

Abb. 9 b: Oxytalanfasern (a) verlaufen senkrecht oder parallel zu kollagenen Fibrillen (b).
Mucosa der Pars ampullaris von einer 43jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes
Glutaraldehyd ohne Tanninsäure, 6272:1

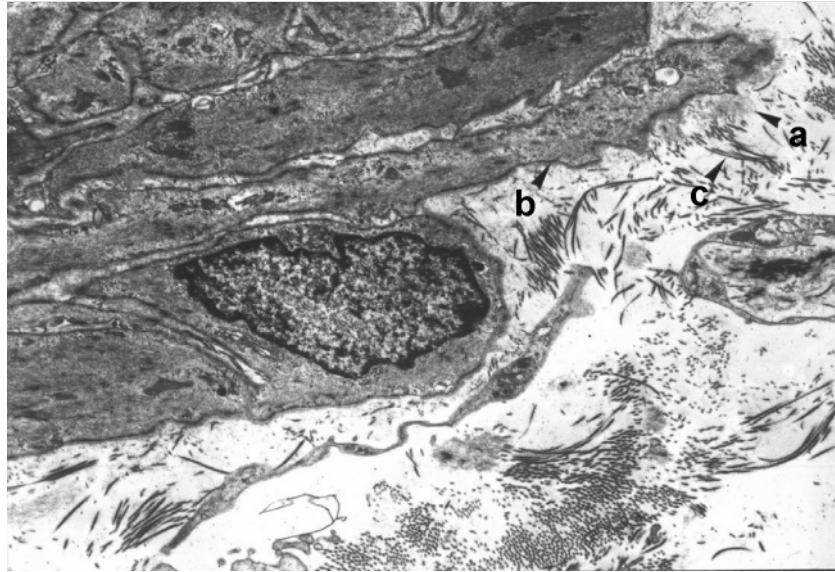


Abb. 10

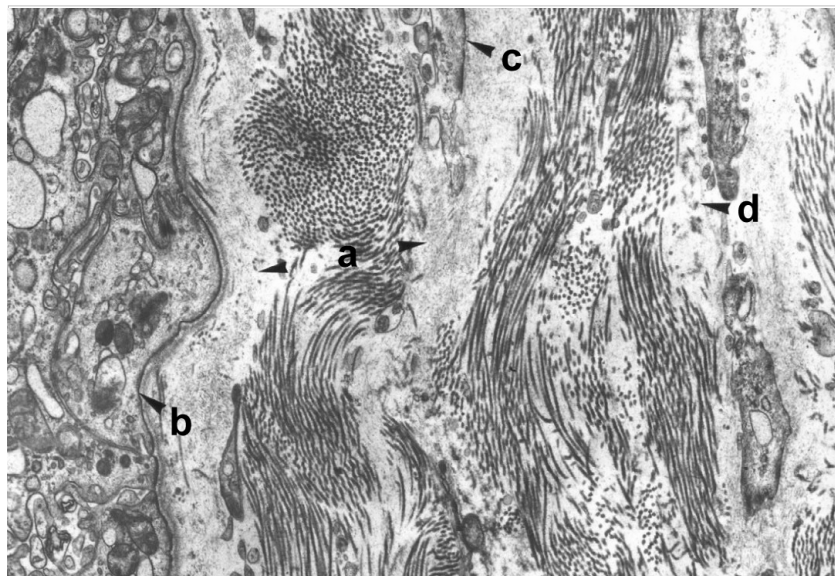


Abb. 11

Abb. 10: Über Mikrofibrillen (a) sind Muskelzellen (b) untereinander und mit umgebenden kollagenen Fibrillen (c) verbunden.
Muscularis der Pars ampullaris von einer 42jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 4480:1

Abb. 11: Der Schnitt durch die Mucosa zeigt die Lage von Oxytalanfasern (a) direkt unter dem Epithel (b) und ihre Beziehung zu den Fibrozyten (c). Elauninfasern (d) liegen dagegen nicht subepithelial, sondern inmitten der Mucosa .
Mucosa des Isthmus von einer 24jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 7000:1

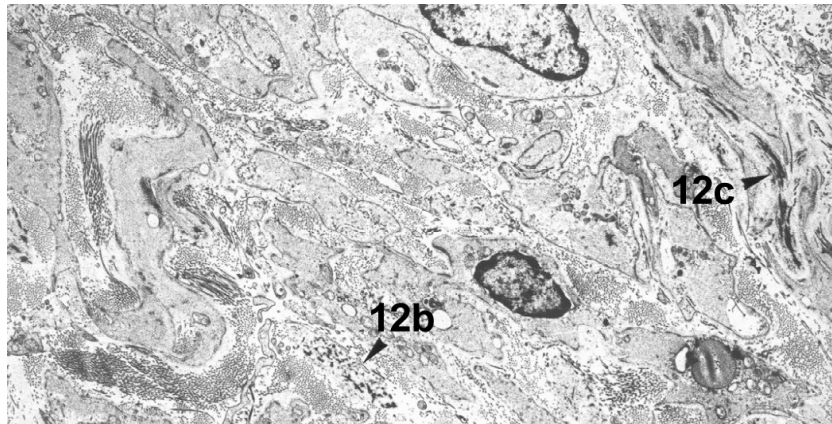


Abb. 12 a

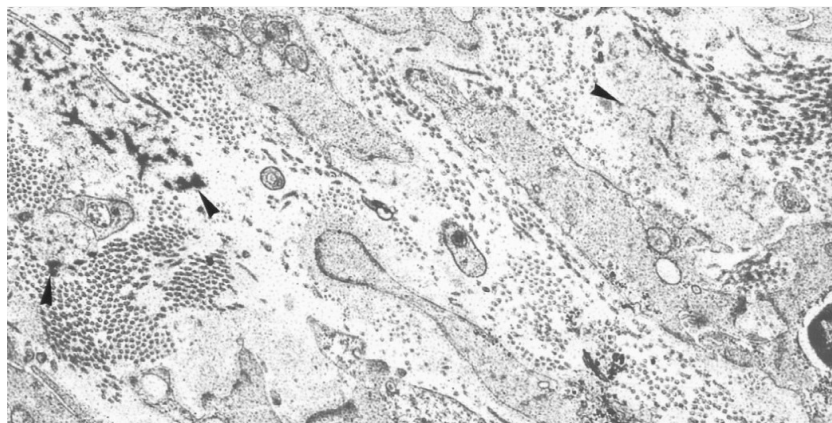


Abb. 12 b

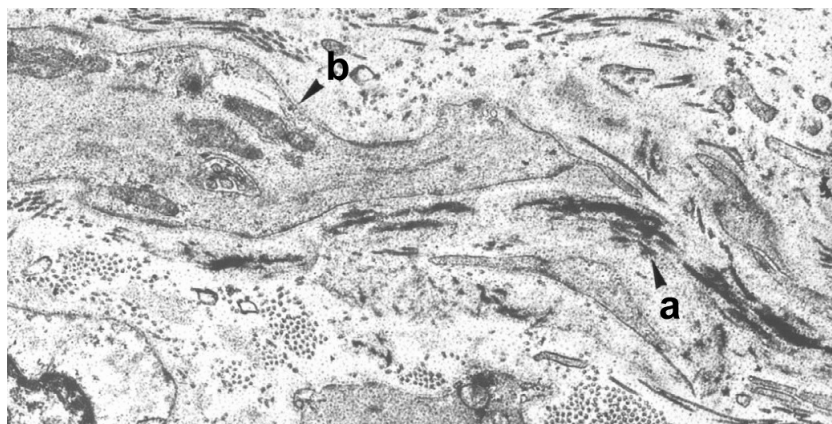


Abb. 12 c

- Abb. 12 a: In dem Ausschnitt aus der Muskulatur mit quer und längs angeschnittenen Elaunifasern ist das Tanninsäure-tingierte Elastin selektiv kontrastiert. 3400:1
- Abb. 12 b: Der unterschiedliche Gehalt an Elastin in den Elaunifasern ist am besten bei quer angeschnittenen Fasern zu erkennen. 9520:1
- Abb. 12 c: Die parallele Lagebeziehung von Elaunifasern (a) zu Muskelzellen (b) lässt sich bei längsangeschnittenen Fasern besser beurteilen. 9520:1
- Abb. 12 a - c: Muscularis des Isthmus von einer 51jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik)

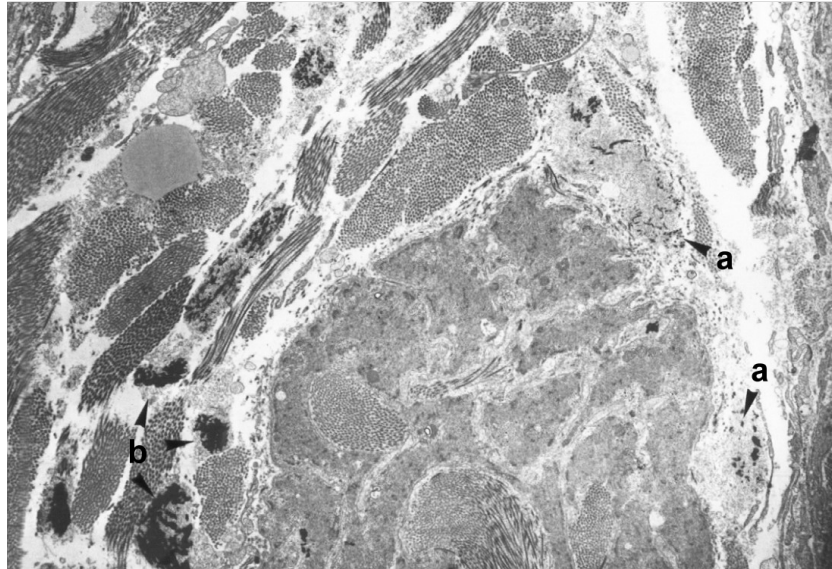


Abb. 13

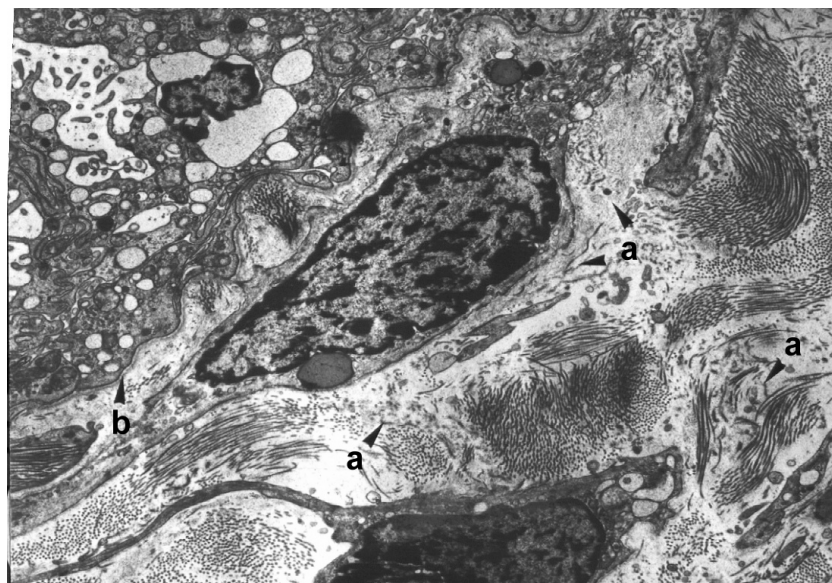


Abb. 14

- Abb. 13: Elauninfasern (a) und reife elastische Fasern (b) sind um Muskelbündel lokalisiert und bilden den Übergang zur Umgebung. Der Elastingehalt von Elauninfasern ist verschieden.
 Muscularis des Isthmus von einer 42jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd mit Tanninsäure (Pre-embedding-Technik), 7000:1
- Abb. 14: Elauninfasern (a) kommen selten in der Schleimhaut vor. Im Eileiter von einer 24jährigen Frau findet man sie hingegen häufig, aber ohne Kontakt zum Epithel (b).
 Mucosa des Isthmus von einer 24jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 4480:1

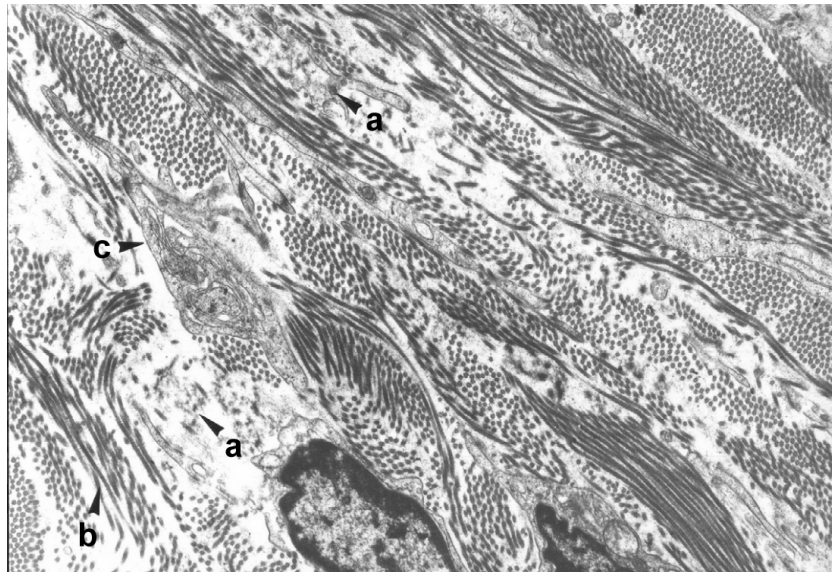


Abb. 15

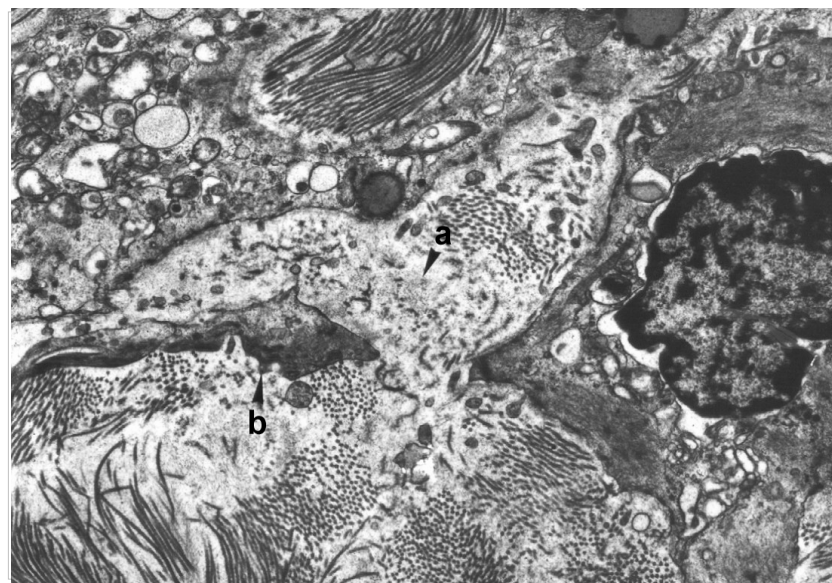


Abb. 16

Abb. 15: Kleine Elauninfasern (a) liegen in der Schleimhaut zwischen kollagenen Fasern (b) und Fibrozyten (c).
Mucosa des Isthmus von einer 32jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 7000:1

Abb. 16: In der tubaren Schleimhaut von einer geschlechtsreifen Frau sind viele Elauninfasern (a) an den Fibrozyten (b) nachweisbar.
Mucosa des Isthmus von einer 24jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 7000:1

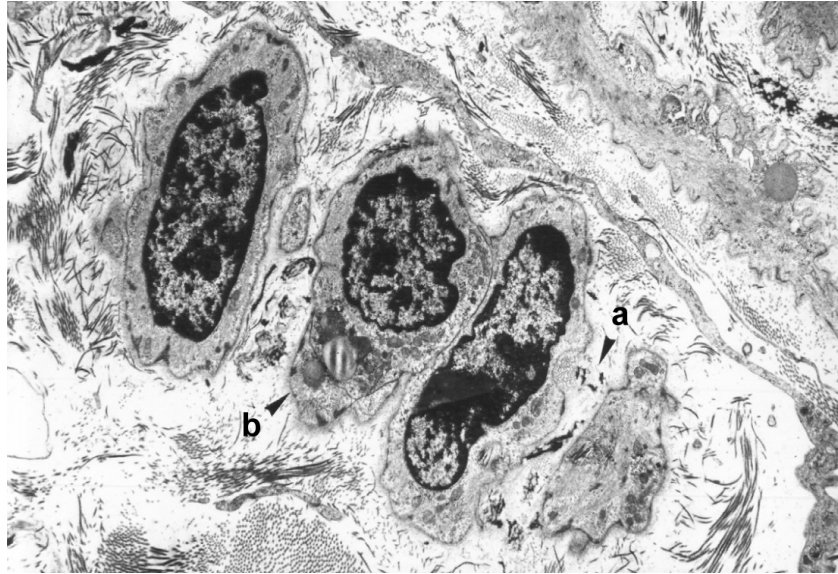


Abb. 17

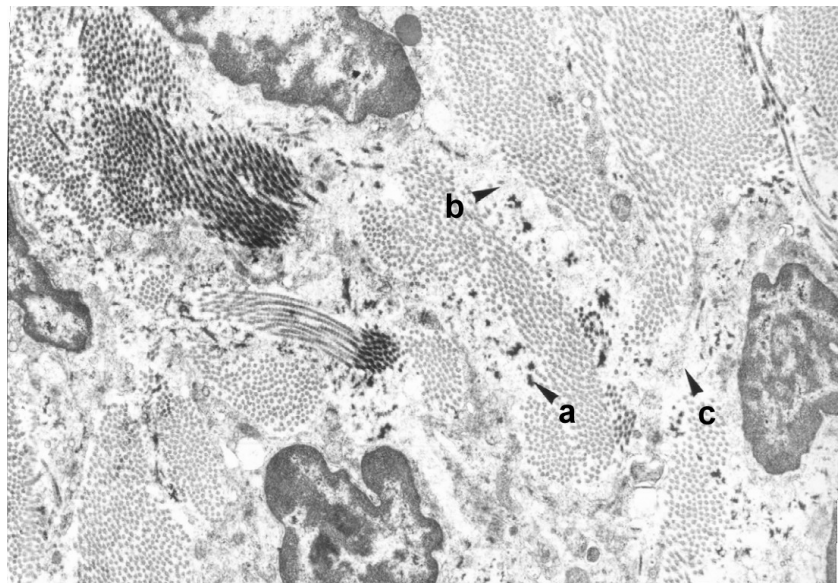


Abb. 18

Abb. 17: Selten sind Elauninfasern (a) zwischen den Muskelzellen (b) zu finden. Muscularis des Isthmus von einer 42jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 3400:1

Abb. 18: Elauninfasern (a) mit geringem Elastingehalt liegen in der Schleimhaut nahe von Fibrozyten. Mikrofibrillen (b) sind mit dieser Technik nicht eindeutig von granulärem Material im Interstitium (c) zu unterscheiden. Mucosa des Isthmus von einer 48jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd mit Tanninsäure (Pre-embedding-Technik), 7000:1

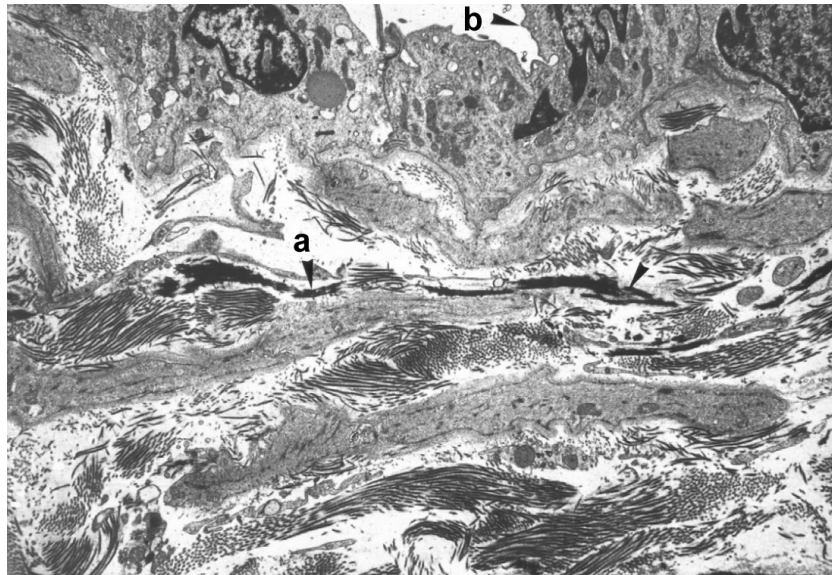


Abb. 19

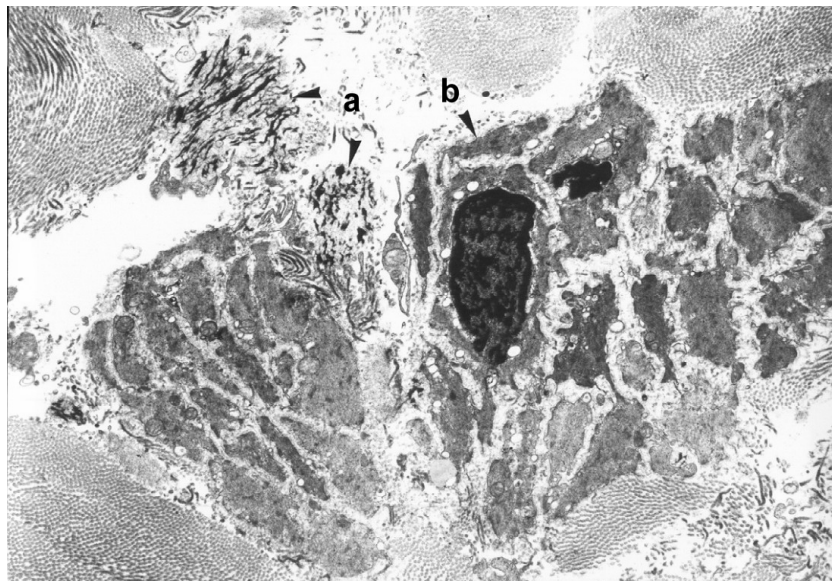


Abb. 20

Abb. 19: Die reifen elastischen Fasern (a) verlaufen in der Media der Vene zirkulär durch das Gefäß (b - Endothelzellen).
 Gefäß-Muskelschicht der Pars ampullaris von einer 42jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 3400:1

Abb. 20: Elauninfasern (a) umgeben Muskelbündel (b) und trennen sie voneinander.
 Muscularis des Isthmus von einer 32jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 4480:1

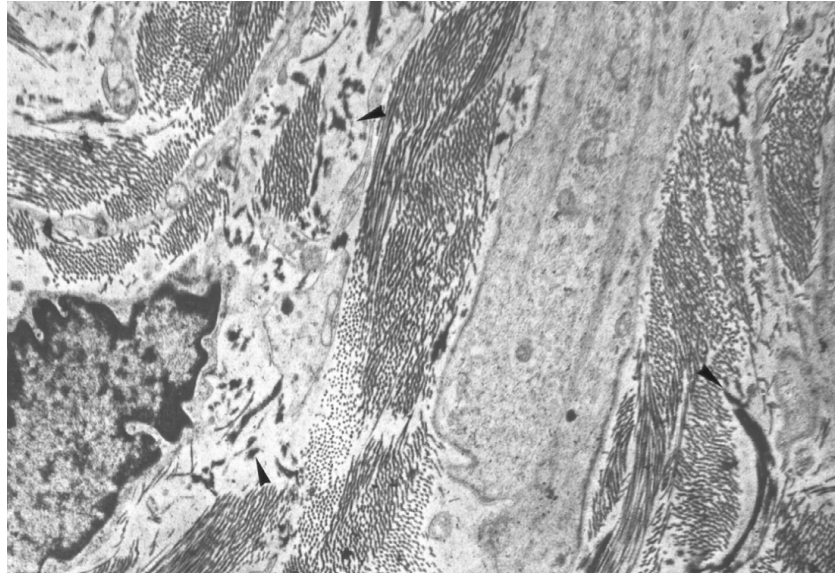


Abb. 21

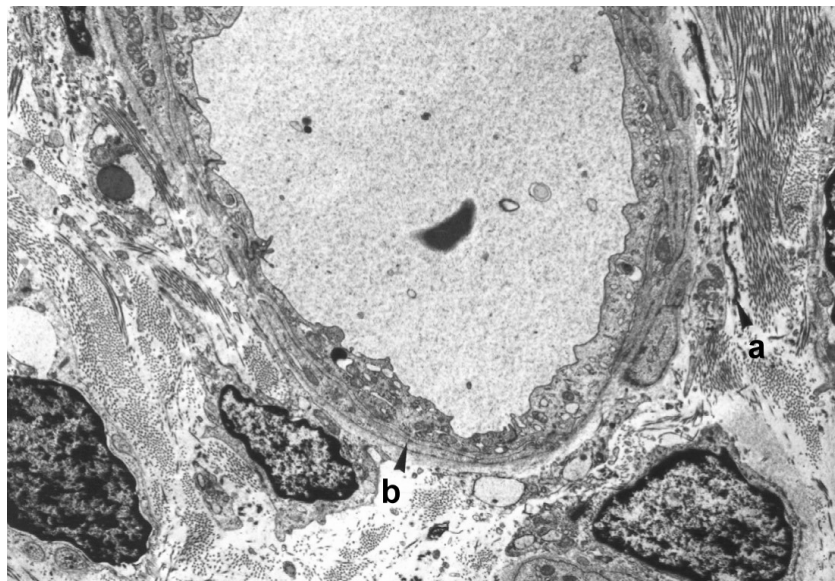


Abb. 22

Abb. 21: Nur in Tuben von Frauen in der Postmenopause sind reife elastische Fasern (Pfeile) auch in der Schleimhaut anzutreffen.
Mucosa der Pars ampullaris von einer 70jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 5440:1

Abb. 22: Reife elastische Fasern (a) sind in der Mucosa unmittelbar um die kleinen Gefäße (b) nachweisbar.
Mucosa des Isthmus von einer 40jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 3400:1

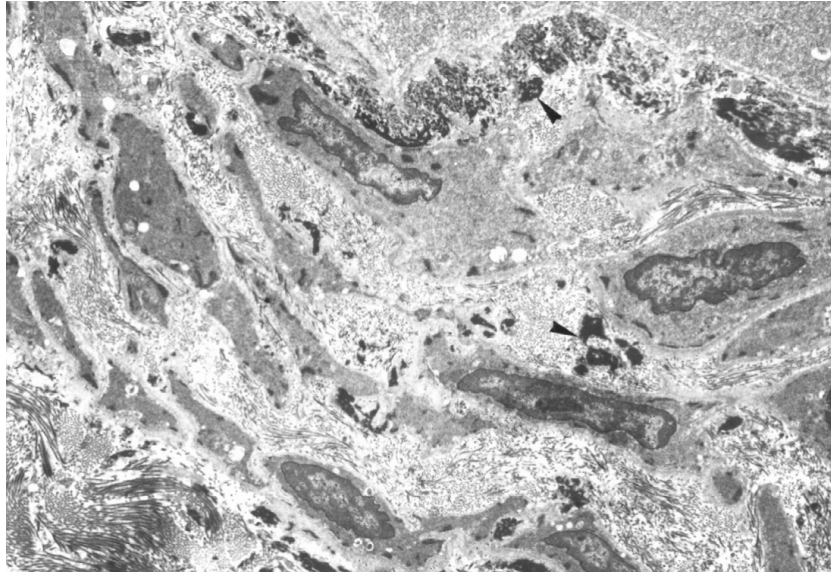


Abb. 23

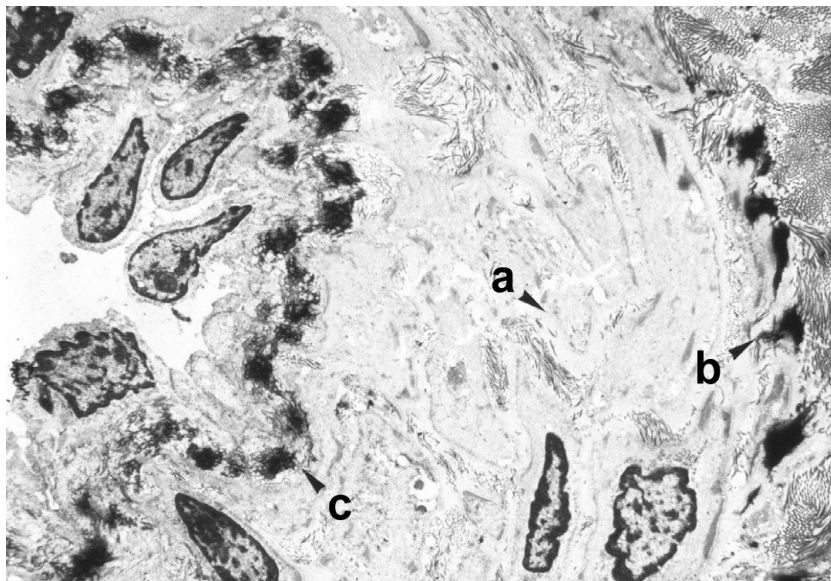


Abb. 24

Abb. 23 Dicke reife elastische Fasern (Pfeile) lassen sich in Arterien auch durch Anwendung von Tanninsäure als Zusatz zur Fixierung nachweisen. Gefäß-Muskelschicht der Pars ampullaris von einer 48jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd mit Tanninsäure (Pre-embedding-Technik), 3400:1

Abb. 24: In einer mittelgroßen Arterie hat die Media (a) nur einen geringen Elastingehalt. Die Lamina elastica externa (b) und interna (c) sind hingegen stark Tanninsäure-tingiert. Gefäß-Muskelschicht der Pars ampullaris von einer 24jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 3400:1

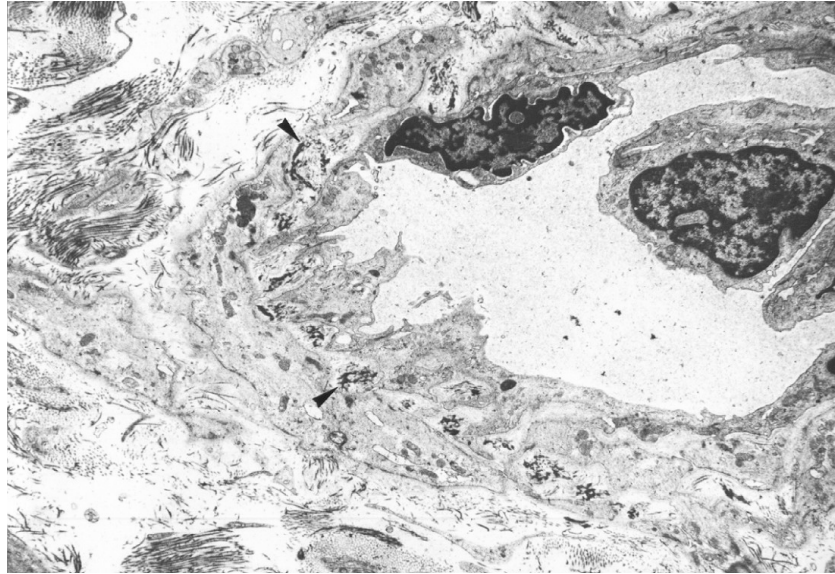


Abb. 25



Abb. 26

Abb. 25: Auch in mittelgroßen Arterien ist die Lamina elastica interna (Pfeile) stark ausgeprägt. Das lässt sich am besten in quer angeschnittenen Gefäßen beurteilen.

Gefäß-Muskelschicht des Isthmus von einer 40jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 3400:1

Abb. 26: Eine mittelgroße Vene mit dicken reifen elastischen Fasern (a) in der Media. Die Fasern liegen zwischen den Zellen und Kollagenfibrillen (b - Endothelzelle).

Gefäß-Muskelschicht der Pars ampullaris von einer 42jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 3400:1

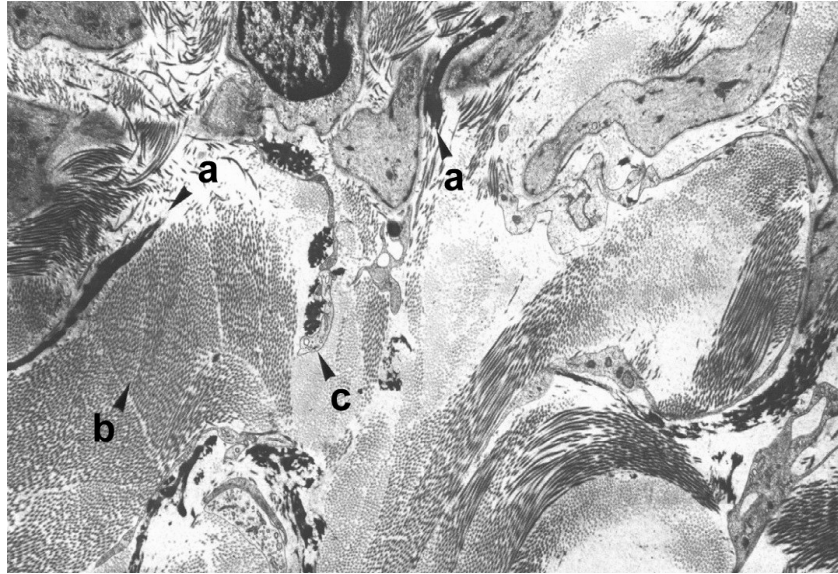


Abb. 27

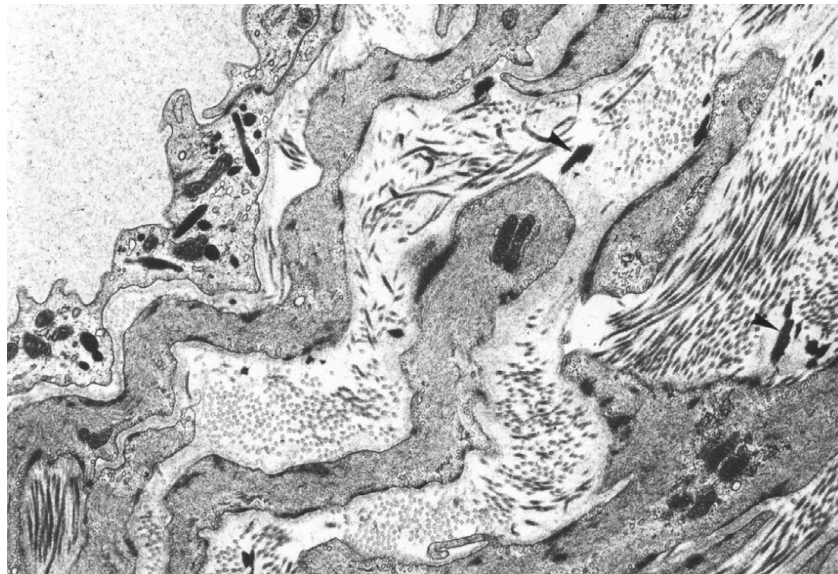


Abb. 28

Abb. 27: Reife elastische Fasern (a) verlaufen in der Adventitia wie die Kollagenfibrillen (b) oder befinden sich direkt an den Zellen (c). Gefäß-Muskelschicht des Isthmus von einer 32jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 3400:1

Abb. 28: Die Media von Venen enthält teilweise kleine reife elastische Fasern (Pfeile). Eine Lamina elastica interna ist hingegen nicht zu finden. Gefäß-Muskelschicht des Isthmus von einer 32jährigen Frau, Cacodylat-gepuffertes Paraform- und Glutaraldehyd (Post-embedding-Technik), 7000:1

Tabelle 7 a: Verteilung der Komponenten des elastischen Fasersystems in der Pars ampullaris

Alter	Schleimhaut			Muskulatur		
	[a] Oxytalanfasern	Elauninfasern	Reife elastische Fasern	Oxytalanfasern	Elauninfasern	Reife elastische Fasern
24	+++	+	-	+++	++	+
32	+++	++	-	+++	+	+
37	++	-	-	+	++	-
40	++	+	-	+++	++	+
42	++	-	-	+++	+++	-
43	++	++	-	++	+++	-
48	++	+	-	++	++	-
51	++	-	-	++	++	-
54	+++	+	-	++	++	-
59	++	-	-	++	+	-
66	++	+	+	++	+++	+
70	+	+	+	++	++	-

Tabelle 7 b: Verteilung der Komponenten des elastischen Fasersystems im Isthmus

Alter	Schleimhaut			Muskulatur		
	[a] Oxytalanfasern	Elauninfasern	Reife elastische Fasern	Oxytalanfasern	Elauninfasern	Reife elastische Fasern
24	+++	+++	-	++	+++	+
32	+	-	-	++	++	-
37	+	-	-	+++	+	+
40	++	-	-	+++	+	-
42	++	-	-	++	+	++
43	++	-	-	++	++	-
48	++	+	-	++	++	-
51	+++	+	-	+++	+++	-
54	+++	+	-	++	++	-
59	+++	-	-	+	+++	-
66	++	+	+	+	++	-
70	++	+	+	+++	++	-

Bewertung:

- keine auffindbar
- + teilweise zu finden
- ++ zahlreich vorkommend
- +++ auffällig häufig anzutreffen

Tabelle 8 a: Verteilung reifer elastischer Fasern in den Gefäßen der Pars ampullaris

Alter	Arterien			Venen	
	[a] Lamina elastica interna	Media	Adventitia	Media	Adventitia
24	+++	+	++	-	++
32	+++	++	++	++	++
37	+++	++	+++	+	++
40	++	+	++	-	++
42	+++	+	++	-	+++
43	+	-	++	-	+
48	+++	+++	+++	-	++
51	+++	++	++	-	++
54	+++	+++	++	+	++
59	+++	++	+++	+	+++
66	+++	++	++	-	+
70	+++	+++	+++	+	++

Tabelle 8 b: Verteilung reifer elastischer Fasern in den Gefäßen des Isthmus

Alter	Arterien			Venen	
	[a] Lamina elastica interna	Media	Adventitia	Media	Adventitia
24	+++	+	++	-	+
32	+++	++	+++	-	+++
37	++	+++	+++	+	++
40	+++	++	++	-	+++
42	+++	++	+++	-	+++
43	+++	+	++	-	++
48	+++	+	+++	-	+
51	+	+	++	+	+++
54	+++	+	+	+++	+++
59	+++	+	++	-	+++
66	+++	++	++	-	+++
70	+++	++	++	-	++

Bewertung:

- keine auffindbar
- + teilweise zu finden
- ++ zahlreich vorkommend
- +++ auffällig häufig anzutreffen

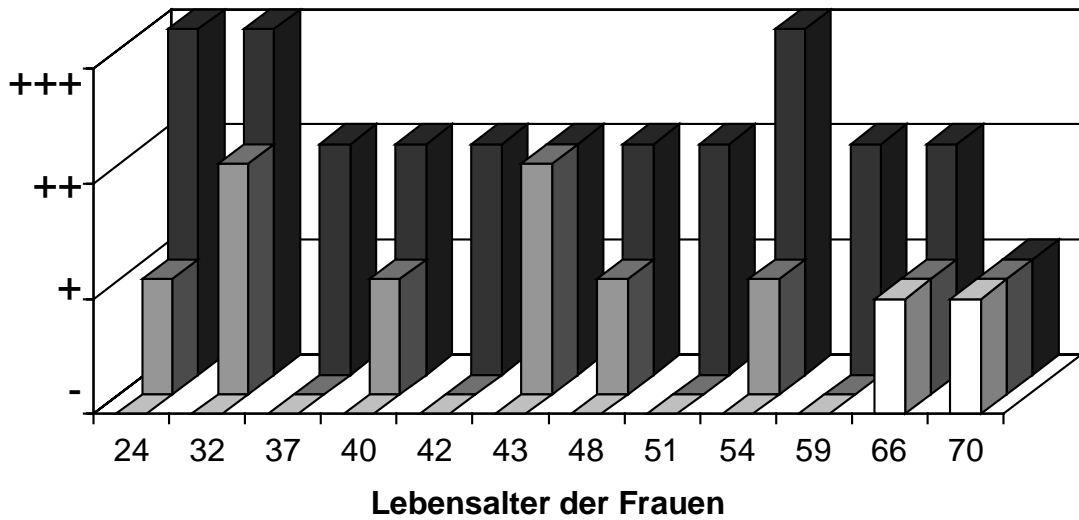


Abb. 29: Verteilung der Komponenten des elastischen Fasersystems in der Schleimhaut der Pars ampullaris in den untersuchten Tuben (s. Tabelle 7 a)

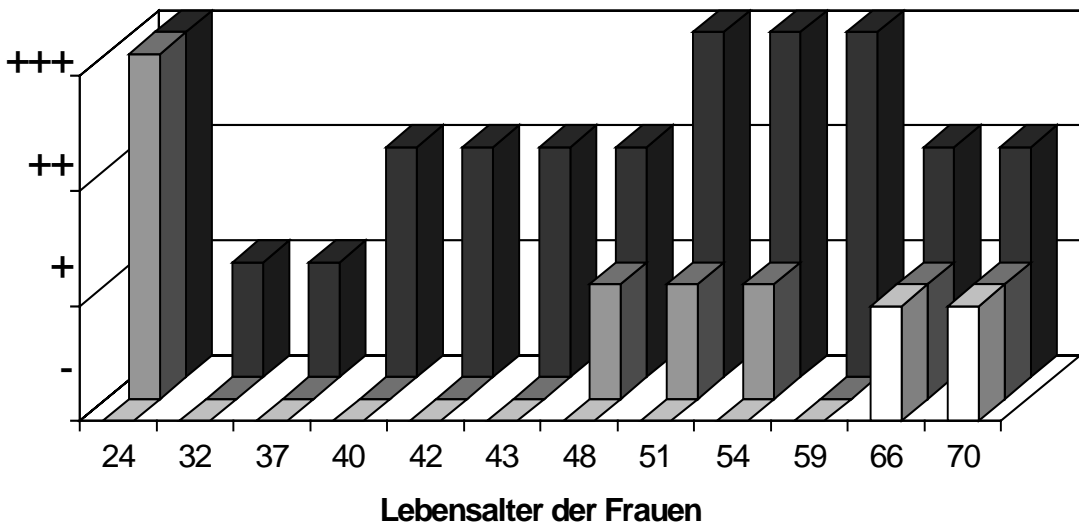
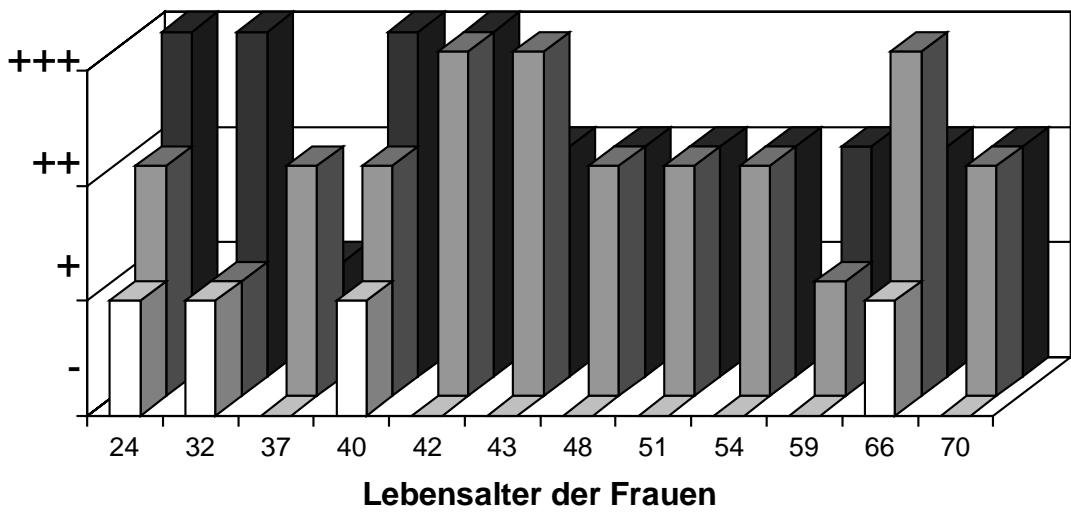


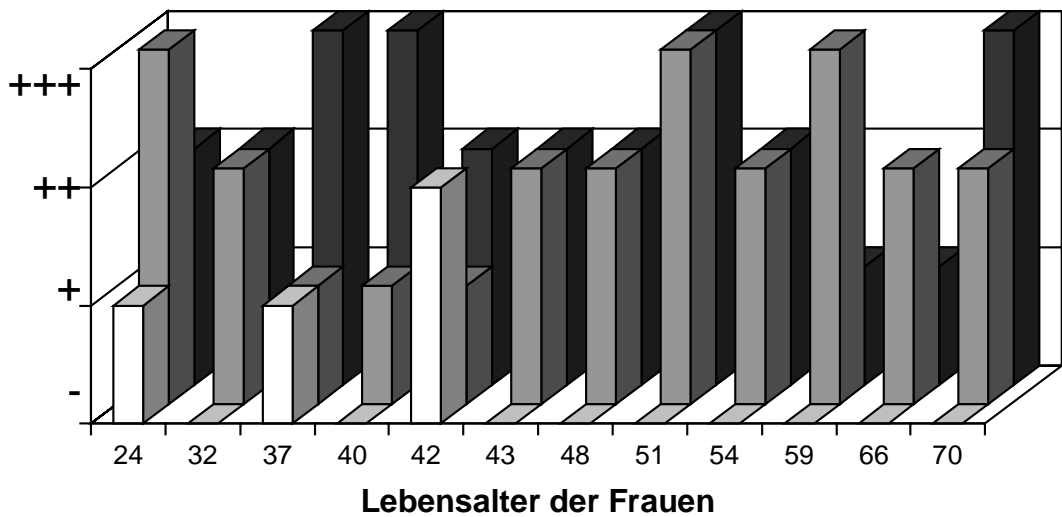
Abb. 30: Verteilung der Komponenten des elastischen Fasersystems in der Schleimhaut des Isthmus in den untersuchten Tuben (s. Tabelle 7 b)



□ Reife elastische Fasern ■ Elauninfasern ■ Oxytalanfasern

+ teilweise zu finden ++ zahlreich vorkommend +++ auffällig häufig anzutreffen

Abb. 31: Komponenten des elastischen Fasersystems in der Muskulatur der Pars ampullaris in den untersuchten Tuben (s. Tabelle 7 a)



□ Reife elastische Fasern ■ Elauninfasern ■ Oxytalanfasern

+ teilweise zu finden ++ zahlreich vorkommend +++ auffällig häufig anzutreffen

Abb. 32: Komponenten des elastische Fasersystems in der Muskulatur des Isthmus in den untersuchten Tuben (s. Tabelle 7 b)

5. Diskussion

5.1. Elektronenmikroskopie der elastischen Fasern

Elastische Fasern konnten bisher in Muscularis, Gefäß-Muskelschicht und Subserosa der Tuba uterina mit histochemischen Verfahren und durch Anwendung klassischer Elastica-Färbungen nachgewiesen werden. In der Mucosa sind diese nur in Gefäßen und ihrer unmittelbaren Umgebung vorzufinden (Schenk und Austerlitz 1903, Schridde 1910, Geist 1913, Tietze 1932, Dubreuil 1946). Andere Untersuchungen (Sani 1950) belegen jedoch, daß elastische Fasernetze in der Mucosa existieren. Später untersuchten Schultka et al. (1996) unter Anwendung klassischer Färbemethoden (Aldehydfuchsin, Verhoeffsches Eisenhämatoxylin und Orcein) sowie immunhistochemischer Verfahren die Lokalisation und Verteilung von Elastin im menschlichen Eileiter. Dieses konnte in der Mucosa nicht nachgewiesen werden (Gotthardt 1998). Das Verhältnis von Elastin zu Mikrofibrillen, deren Beziehung zum umliegenden Bindegewebe und den Zellen konnten mit den von Gotthardt angewandten Methoden ebenfalls nicht festgelegt werden. Die Aufklärung der ultrastrukturellen Verhältnisse des Bindegewebes der Tuba uterina ist noch nicht erfolgt. Deshalb war es Ziel der vorliegenden Arbeit, durch elektronenmikroskopische Techniken das Verteilungsmuster der Oxytalanfasern, Elauninfasern und reifen elastischen Fasern in der Tuba uterina zu untersuchen.

Tanninsäure zur selektiven Kontrastierung von Elastin hat sich in vielen Untersuchungen, wie auch in vorliegender Studie, bewährt (Tabelle 3, Seite 15). Die Komponenten des elastischen Fasersystems konnten in allen Abschnitten der Tuba uterina nachgewiesen und die Beziehungen zwischen Elastin und den Mikrofibrillen genau untersucht werden. Die reifen elastischen Fasern bestehen überwiegend aus Elastin und sind umgeben von „elastische Faser-Mikrofibrillen“ (Ross und Bornstein 1969). Überwiegt der mikrofibrilläre Anteil und sind nur wenige Stellen mit Elastinmaterial besetzt, so werden diese Fasern den Elauninfasern, erstmals beschrieben von Gawlik (1965), zugeordnet. Die Abgrenzung zu den reifen elastischen Fasern gestaltete sich in Mucosa und Muskulatur schwierig, da auch der zentrale Elastinanteil besonders

bei feineren Fasern von Mikrofibrillen durchsetzt war. Elauninfasern weisen hingegen mehrere kleine Areale mit Elastin auf, die nicht miteinander in Verbindung stehen.

Weiterhin konnten Ansammlungen mehrerer parallel gelagerter Mikrofibrillen in Mucosa und Muscularis nachgewiesen werden. Sie entsprechen den Beschreibungen von Carmichael und Fullmer (1966), die diese Strukturen als Oxytalanfasern bezeichneten. Ihre Unterscheidung gegenüber den Elaunin- und reifen elastischen Fasern bereitete aufgrund der selektiven Darstellung von Elastin und dem dadurch erhöhten Kontrast keine Schwierigkeiten. Im tubaren Bindegewebe wurde Elastin in Oxytalanfasern nicht beobachtet. Von einigen Autoren sind hingegen geringe Elastinmengen in Oxytalanfasern beschrieben worden (Fukuda et al. 1984, Schwartz und Fleischmajer 1986, Werth et al. 1996).

5.2. Zur Verteilung des elastischen Fasersystems in den Schichten des Eileiters und die funktionelle Bedeutung der Fasern

Zum Nachweis der Faserstrukturen war die Anwendung von Tanninsäure in der der Post-embedding-Technik die günstigste Methode. Damit konnten Oxytalan-, Elaunin- und reife elastische Fasern in der Pars ampullaris und im Isthmus selektiv nachgewiesen und unterschieden werden. Ihr Verteilungsmuster (Tabelle 7 a, b, Seite 46) spiegelt die verschiedenen Belastungen der einzelnen Schichten wieder, da jede Faserart eine andere funktionelle Bedeutung hat.

Die Kraft der tubaren Muskelkontraktion kann durch Oxytalanfasern abgefangen werden. Elaunin- und reife elastische Fasern bilden hingegen eine Energieübertragungskette, so daß die entstehende Kraft bis zur Mucosa weitergeleitet wird und Einfluß auf den Ruhezustand und die Fortbewegung der Eizelle nehmen kann.

5.2.1. Schleimhaut

In der Pars ampullaris und im Isthmus konnten in der Schleimhaut Oxytalanfasern lokalisiert werden. Sie sind in der Lage, hohe mechanische Beanspruchungen abzufangen, wie im Parodontium (Fullmer und Lillie 1958), der dermo-epidermalen Verbindungszone (Cotta-Pereira et al. 1976 a) und dem Knorpel (Cotta-Pereira et al. 1984). Sie haben funktionelle Bedeutung für die Widerstandsfähigkeit des Organes (Cotta-Pereira et al. 1976 a). Cotta-Pereira und Iruela-Arispe (1989) klärten die Funktion von Oxytalanfasern in der Zonula ziliaris auf, wo sie die Kraft des Ziliarmuskels, die während der visuellen Akkommodation auf die Linse wirkt, abfangen und übertragen.

Oxytalanfasern kommen, nach den vorliegenden Befunden, gehäuft in der Nähe des Tubenepithels vor, wo sie parallel zur Basalmembran zu finden sind. Verbunden mit dieser sind sie über einzelne Mikrofibrillen, die senkrecht die Basalmembran erreichen. Mikrofibrillenbündel befinden sich besonders nahe an Fibrozyten, liegen parallel zu ihnen und verbinden die Zellausläufer der Fibrozyten miteinander. Das konnte in der tubaren Mucosa von Pars ampullaris und Isthmus gleichermaßen beobachtet werden. Mikrofibrillenbündel treffen Kollagenfibrillen senkrecht oder verlaufen parallel zu ihnen. Aus dieser Anordnung kann die funktionelle Beanspruchung der Oxytalanfasern gefolgert werden. Innerhalb der Lamina propria mucosae ist eine Funktion in Form von Spannungskompensation und -verteilung zwischen den Zellen und kollagenen Fasern denkbar.

In der tubaren Mucosa waren keine quantitativen Unterschiede auffällig. Andere Autoren (Gogly et al. 1997) konnten durch morphometrische Analysen zeigen, daß der Durchmesser von Oxytalanfasern in der Haut und in der Gingiva im Laufe des Lebens konstant bleibt, ihre Länge aber signifikant abnimmt.

Elauninfasern erscheinen in der Mucosa unregelmäßig. In der Pars ampullaris und im Isthmus der Tuben von Frauen in der Geschlechtsreife und in der Menopause sind sie direkt zwischen kollagenen Fasern und Fibrozyten nachweisbar. Sie berühren die Basalmembran nicht. Es ist anzunehmen, daß wie in der Haut (Cotta-Pereira et al. 1976 a) eine Verbindung über Oxytalanfasern und Mikrofibrillen zum Epithel besteht.

In der vorliegenden Untersuchung konnten keine reifen elastischen Fasern in der Lamina propria mucosae nachgewiesen werden. Eine Ausnahme bilden die Tuben von einer 66- und 70jährigen Frau. Diese enthalten in der Mucosa der Pars ampullaris und des Isthmus schmale reife elastische Fasern (Tabelle 7 a, b, Seite 46; Abb. 21, Seite 42; Abb. 29, 30, Seite 48). Hörmann (1908) beschreibt in der Tubenmucosa von einer 70jährigen Frau die Fasern als „plump und geschwollen“. Sie treten während der Entwicklung anstelle der feinen Fasern, die in fetalen und geschlechtsreifen Tuben vorkommen. Auch Schenk und Austerlitz (1903) fanden vereinzelt feine elastische Fasern in der Mucosa nach der Menopause, die sonst nur in der Muscularis und Serosa anzutreffen waren. Geist (1913), der ebenfalls feine Fasern in der Schleimhaut lokalisierte, meint, daß sie den Gefäßen zuzuordnen wären. Er ist der Meinung, daß diese, reife elastische Fasern enthaltende Schicht eine Umwandlung der inneren Muskelschicht sein könnte. Eine andere Überlegung ist die Umwandlung von Elauninfasern zu reifen elastischen Fasern durch Abnahme der Anzahl von Mikrofibrillen. Braverman und Fonferko (1982) stellten fest, daß während der Entwicklung der elastischen Fasern die peripher liegenden Mikrofibrillen incorporiert werden, also die mikrofibrilläre Zone schmaler wird. Die Zahl der assoziierten Mikrofibrillen in den reifen elastischen Fasern nimmt auch in der Haut ab (Quaglino et al. 1996). Bei älteren Individuen können die elastischen Faser-Mikrofibrillen fast vollständig fehlen (Ross 1973). Eine Beeinflussung durch hormonelle oder andere Faktoren ist noch ungeklärt. Alterung der Haut, wie auch starke funktionelle Belastung, führen zu einem veränderten Aussehen der elastischen Fasern. Imayama und Braverman (1989) beobachteten, daß Oberflächenveränderungen, wie Überdehnungen der Haut, ein verändertes Erscheinungsbild hervorrufen. So erklärt sich der Elastizitätsverlust im Laufe des Lebens. Der Durchmesser von reifen elastischen Fasern in Haut und Gingiva nimmt im Laufe des Lebens zu, ihre Länge hingegen sinkt signifikant (Gogly et al. 1997).

5.2.2. Muskelschicht

In der Muskelschicht von Pars ampullaris und Isthmus kommen ebenfalls Oxytalanfasern vor. Ihre Anzahl gleicht der Faseranzahl in der Mucosa. Bis auf Tuben von Frauen in der Geschlechtsreife sind Oxytalanfasern in allen Altersstufen verteilt (Tabelle 7 a, b, Seite 46; Abb. 31, 32, Seite 49). Sie kommen vorwiegend zwischen Muskelzellen und am Übergang von Muskelbündeln zu kollagenen Fibrillen vor. In ihrem Verlauf treffen sie senkrecht auf die Zelloberfläche. Es hat den Anschein, als ob sie die Zellen untereinander und mit den Kollagenfibrillen verbinden, was Hanak und Böck (1971) am Skelett- und Herzmuskel schon nachweisen konnten. Die Autoren zeigten, daß Mikrofibrillen einerseits mit der Zellmembran und andererseits mit Bündeln von Kollagenfibrillen Kontakt aufnehmen. Mikrofibrillen sollen die mechanisch wirksame, zugfeste Komponente der Muskel-Sehnen-Verbindung darstellen. Sie übertragen indirekt die Kraft von Aktinfilamenten der Muskelzellen auf kollagene Fasern der Sehne und können so den Anfangsdruck bei einer Kontraktion mildern. Mikrofibrillen schützen so das umliegende Gewebe vor Überdehnung (Montes 1996), da sie sich ohne Elastingehalt nicht elongieren können (Ross 1973).

Im Vergleich zur Schleimhaut kommen Elauninfasern in der Muskelschicht viel zahlreicher vor. Sowohl in Ampulla als auch im Isthmus ist ihr Vorkommen in jeder Altersstufe konstant. Beachtenswert ist die ungleichmäßige Verteilung von Elauninfasern in den Tuben von Frauen in der Geschlechtsreife (Tabelle 7 a, b, Seite 46; Abb. 31, 32, Seite 49).

Es wurde festgestellt, daß Elauninfasern Muskelbündel umgeben und sie voneinander trennen. Sie scheinen ein Polster zwischen Muskelbündeln zu bilden und liefern der Muskulatur eine elastische Vorspannung. Diese Aufgaben erfüllen sie auch in der Grenzregion zwischen zwei verschiedenen Kollagentypen (Montes 1996). Ihre elastischen Eigenschaften liegen zwischen denen der reifen elastischen und Oxytalanfasern (Souza et al. 1991). Elaunin- und Oxytalanfasern modulieren die Elastizität (Cotta-Pereira und Irula-Arispe 1989), wie es z.B. zwischen dem ovalen Fenster (Fenestra vestibuli) des Gehörorgans und dem Stapes notwendig ist.

In Tuben von Frauen in der Geschlechtsreife muß eine größere Dehnung und Kontraktion der Muskulatur möglich sein. Deshalb weisen die Muskelschichten

dieser Tuben besonders viele reife elastische Fasern auf. Ab der Prämenopause sind die reifen elastischen Fasern bis ins hohe Alter in der Muscularis nicht mehr anzutreffen. Die Pars ampullaris der Tube von einer 66jährigen Frau, in der reife elastische Fasern zu finden sind, stellt sicherlich eine Ausnahme dar (Tabelle 7 a, Seite 46; Abb. 31, Seite 49). Die Frage, ob dabei hormonelle oder andere Faktoren eine Rolle spielen, ist bisher ungeklärt. Gotthardt (1998) wies hingegen in Tuben von Frauen bis zum 60. Lebensjahr reife elastische Fasern in der Muscularis nach. Aufgrund seiner Untersuchungen teilte er die Muskelschicht in eine innere und äußere autochthone Zone ein. Diese wiesen unterschiedliche Farbreaktionen bei Anwendung von Elastica-Farbstoffen auf. Kräftige elastische Fasern fand er in den äußeren Schichten der Muskulatur des Isthmus. In den inneren Zonen der autochthonen Muskulatur konnte er kräftige Fasern nur in den Eileitern der jüngsten Frauen nachweisen. Diese lichtmikroskopisch getroffene Aussage kann aufgrund der viel höheren Vergrößerung elektronenmikroskopisch nicht ohne weiteres bestätigt werden. Für ultrastrukturelle Studien an extrazellulären Komponenten ist deshalb eine vorausgehende Orientierung im Präparat mit dem Lichtmikroskop notwendig.

5.2.3. Gefäß-Muskelschicht

Die Zone mit dem höchsten Gehalt an reifen elastischen Fasern in Arterien ist die Lamina elastica interna. Venen besitzen keine Lamina elastica interna. Die Größe der Lamina elastica interna nimmt proportional mit dem Durchmesser des Gefäßes zu. Im Querschnitt ist besonders gut zu sehen, daß die reifen elastischen Fasern längs im Gefäß verlaufen (Abb. 25, Seite 44).

Nur in mittleren und großen Gefäßen weist die Media von Venen und Arterien reife elastische Fasern auf. In dieser Zone kann der Faserverlauf weder im Quer- noch im Längsschnitt bestimmt werden.

Venöse Gefäße weisen die größte Anzahl reifer elastischer Fasern in der Adventitia auf. In Arterien verläuft die Lamina elastica externa als gewellte Membran zirkulär um das Gefäß. Dadurch wird die Media nach außen begrenzt. Ausgehend von der Lamina elastica externa strahlen die Fasern in die Umgebung der Gefäße ein. Sie verlaufen, gewunden zwischen den kollagenen

Faserbündeln, in allen Richtungen. Diese ausgereiften elastischen Fasern lassen nur bei sehr hohen Vergrößerungen einen zarten peripheren mikrofibrillären Saum erkennen. In bezug auf den Fasergehalt in Pars ampullaris und Isthmus bestehen zwischen den untersuchten Tuben keine Unterschiede.

Fasern mit geringerem Elastingehalt, Elaunin- und Oxytalanfasern sind in der Gefäßschicht, im Gegensatz zu den Ergebnissen von Gotthardt (1998), nicht nachweisbar.

Aufgabe der elastischen Fasern in den Gefäßen ist es, eine Dehnung der Gefäßwand und einen Druckausgleich zum umgebenden Gewebe zu ermöglichen. Grobe Druck- und Zugkräfte werden elastisch abgefangen. Zusätzlich wird die Tube in Längsrichtung gedehnt, wenn sie sich zum Zeitpunkt der Ovulation mit ihren Fimbrien über den sprungreifen Follikel zum Auffangen der Eizelle stülpt (Brökelmann und Denker 1993). Die reifen elastischen Fasern sind für eine Rückkehr in den Ausgangszustand verantwortlich.

Während der Entwicklung der Aorta treten zuerst Oxytalanfasern und anschließend Elauninfasern auf, die dann von reifen elastischen Fasern abgelöst werden (Cotta-Pereira und Iruela-Arispe 1989). In der adulten Aorta sind aber noch einzelne Mikrofibrillen nachweisbar (Haust et al. 1965). In den Gefäßen aller untersuchten Eileiter konnten hingegen keine Oxytalan- und Elauninfasern nachgewiesen werden.

5.3. Funktionelle Bedeutung von elastischen Fasern in anderen Organen

Das Verteilungsmuster der elastischen Fasern der Tuba uterina unterscheidet sich von dem einiger anderer Organe. Dies ist auf ein unterschiedliches Funktionsmuster zurückzuführen. Fahrenbach et al. (1966) fanden in fetalem Rindernackenband nur Bündel von Mikrofibrillen vor. Erst mit steigendem Alter und damit einhergehender Reifung elastischer Fasern erscheint im Zentrum die amorphe Komponente Elastin. Bei sehr jungen Patienten wurden auch in der Fascia transversalis überwiegend nur Mikrofibrillen nachgewiesen (Rodrigues et al. 1990). In den Gefäßen der Epididymis konnten bei präpubertalen Individuen keine Elaunin- und reifen elastischen Fasern nachgewiesen werden (Tedeschi

und Sommers 1961). Die Autoren vermuten einen mechanischen Einfluß auf die Produktion von Elastin, da das Auftreten reifer elastischer Fasern an den Beginn der tubulären Kontraktion gebunden ist.

Die drei Komponenten Oxytalan-, Elaunin- und reife elastische Fasern bilden die aufeinanderfolgenden Stadien der Elastogenese (Montes 1992). Daß die einzelnen Komponenten noch bis ins hohe Alter der Individuen nachweisbar sind, interpretieren Cotta-Pereira et al. (1976 a) als Unterbrechung in den Entwicklungsphasen der elastischen Fasern. Fullmer (1960) verwendete den Begriff Oxytalanfaser nur für Mikrofibrillenbündel in älteren Lebewesen und prä-elastische Faser für das sich entwickelnde Gewebe. Die Verteilung von Oxytalanfasern scheint auf das Bindegewebe begrenzt zu sein, das mechanischem Streß ausgesetzt ist. Sie schützen die Strukturen vor Überdehnung. Die elastischen Eigenschaften von Fasern hängen von ihrem Gehalt an Elastin ab. Elauninfasern haben deshalb Eigenschaften von Oxytalan- und reifen elastischen Fasern.

Aufgrund ihrer Funktionen ergeben sich unterschiedliche Lokalisationsmuster in den verschiedenen Organen. Cotta-Pereira et al. (1976 a) fanden Oxytalanfasern unter der Basalmembran und an der dermal-epidermalen Verbindung der Haut. Sie sind über tieferliegende Elauninfasern mit den reifen elastischen Fasern der retikulären Dermis verbunden. Das beschriebene Verteilungsmuster wurde in der Mucosa des Respirationstraktes (Böck und Stockinger 1984), in den Lymphkapillaren (Gerli et al. 1990), in der Gingiva (Chavier 1990) und in den Stimmbändern (Hammond et al. 1997) nachgewiesen. Die vorliegende Studie zeigt, daß dieses Muster auch in den Schichten der Tuba uterina zu finden ist. Oxytalanfasern sind über einzelne Mikrofibrillen direkt mit der Basalmembran verbunden. In der Pars ampullaris und Isthmus liegen die meisten Elauninfasern in der Muscularis (Tabelle 7 a, b, Seite 46). Reife elastische Fasern finden sich vorwiegend in der Gefäß-Muskelschicht. Mikrofibrillen haben Kontakt zu kollagenen Fibrillen, Muskelzellen, Fibrozyten und der Basalmembran. Sie verbinden die einzelnen Schichten miteinander.

Wahrscheinlich haben die Oxytalanfasern in Verbindung mit den Elauninfasern eine Aufgabe bei der Modulation der Elastizität, wie Cotta-Pereira und Iruela-Arispe (1989) nach Untersuchungen an der Basis des Stapes und der Grenze

des ovalen Fensters vermuten. Diese beiden Fasertypen kommen in mechanischem Druck und Zug ausgesetzten Organen wie Knorpel (Cotta-Pereira et al. 1984) und dem Parodontium (Fullmer und Lillie 1958) vor, wobei Oxytalanfasern schon in den Zahnanlagen, angrenzend an das äußere Schmelzepithel, gefunden wurden (Fullmer 1959). Sie wirken mit den Elauninfasern an der Verbindung zwischen beweglicher (Zahn) und unbeweglicher Schicht (Alveolarknochen) und schaffen dort die notwendige Elastizität (Johnson und Pylypas 1992). In den Nervenfasern wurden keine reifen elastischen Fasern, sondern nur Oxytalanfasern im Endoneurium und Elauninfasern im Perineurium nachgewiesen (Ferreira et al. 1987). Ausschließlich Elauninfasern sind um die Ausführungsgänge der Schweißdrüsen (Cotta-Pereira et al. 1975) und als „elastische Sehne“ in den menschlichen Musculi arrectores pilorum lokalisiert (Rodrigo et al. 1975). Damit läßt sich das häufige Vorkommen der Elauninfasern zwischen den Muskelbündeln der Tubenwand erklären, wo die Kontraktionskräfte weitergeleitet und reguliert werden müssen. Die ultrastrukturellen Ergebnisse zeigen, daß der Isthmus trotz seiner stärkeren Muskelschicht die gleiche Anzahl Elauninfasern enthält wie die Muscularis der Pars ampullaris. Auch Unterschiede in Größe und Durchmesser der Fasern konnten nicht gefunden werden. Gotthardt (1998) zeigt hingegen, daß der Anteil an reifen elastischen Fasern in der äußeren autochthonen Muskelschicht in Richtung Uterus zunimmt.

Fibroblasten und glatte Muskelzellen nehmen auf die gleiche Art mit Elastin Kontakt auf. Endothelzellen senden dagegen Pseudopodien aus, welche die Fasern einschließen (Perdomo et al. 1994). Neben dem engen Kontakt der elastischen Fasern zu den Bindegewebszellen wurden in der Leber (Porto et al. 1990), den Bronchiolen (Karrer 1958) und in der Sklera (Marshall 1995) Interaktionen mit kollagenen Fasern beobachtet. Eine Verflechtung von elastischen und kollagenen Fasern erlaubt den elastischen Fasern, eine höhere Belastung zu tragen (Ross 1973). In der Lamina elastica peritonei liegen die reifen elastischen Fasern in verschiedenen Winkeln zueinander, was ihre Beanspruchung in alle Richtungen widerspiegelt (Knudsen 1991). Auch in der tubaren Mucosa finden sich Kontakte der Mikrofibrillen in Oxytalanfasern mit kollagenen Fasern. Diese liegen, wie in der Placenta (Graf et al. 1996), meist

senkrecht und parallel zueinander. In der Muscularis stellen Mikrofibrillen eine Verbindung zwischen Muskelzellen und kollagenen Fasern her. Ihre Aufgabe ist es, die Kraft von der an den Innenseiten der Plasmamembran ansetzenden Aktinfilamenten auf die Kollagenfibrillen zu übertragen und so den Anfangsdruck bei der Kontraktion zu reduzieren (Hanak und Böck 1971). Oxytalanfasern wurden in Tuben vor der Pubertät bisher nicht untersucht. Eine Aussage über einen mechanischen Einfluß auf ihre Entstehung ist nicht möglich.

Daß Mikrofibrillen für die Resistenz des Bindegewebes verantwortlich sind, konnten Mikuni et al. (1994) an der aus Mikrofibrillenbündel bestehenden Basilarmembran der Cochlea nachweisen. Diese ist für die Aufnahme und Weiterleitung von Tonschwingungen verantwortlich. In menschlichen fetalen Membranen, wie z.B. in amniotischer und choriotischer Basalmembran sowie Dezidua, fanden Malak und Stephen (1994) kein Elastin, aber ein mikrofibrillenreiches Netzwerk mit enger Beziehung zu kollagenen Fasern. Oxytalan- und Elauninfasern liegen in der Tuba uterina nahe an Bindegewebszellen von Mucosa und Muscularis. In den Ductuli efferentes und im Ductus epididymidis des Menschen stehen Oxytalanfasern ebenfalls mit den Muskelzellen in direktem Kontakt (Lopez und Breuer 1986). In der Aorta sind Mikrofibrillen in enger Nachbarschaft zu kollagenen Fasern und der Zellmembran der glatten Muskelzellen lokalisiert. Die reifen elastischen Fasern bilden Lamellen, die in Honigwabenstruktur angeordnet sind (Haust et al. 1965). Elastin als Hauptkomponente elastischer Fasern ist für die Widerstandsfähigkeit des Gewebes verantwortlich. Im Uterus sind elastische Membranen in einer Dicke von 0,1 bis 0,4 μm nachgewiesen worden. Ihre flächenhafte Anordnung ist durch die Funktion des Organes, den wachsenden Druck durch den Fetus abzufangen, bedingt. Deshalb weisen die Membranen eine Art Honigwabenstruktur auf. Damit wird eine Dehnung in alle Richtungen und anschließende Rückstellung des Gewebes ermöglicht. Einlagerung und Resorption von Elastin scheint im Gegensatz zu den Blutgefäßen und der Lunge durch einen kontinuierlichen, dynamischen Wechsel reguliert zu werden (Sharrow et al. 1989). Leppert und Shiu (1991) vermuten, daß es eine Interaktion zwischen glatten Muskelzellen und Elastin zur Steigerung der Bildung elastischer Membranen gibt. Diese Beziehung, die durch einen

spezifischen Adhäsionsmechanismus realisiert wird, bestätigen auch Perdomo et al. (1994). Sie spielt eine Rolle in der Morphogenese Elastin-reichen Gewebes sowie der Streß-bezogenen Modifizierung der Matrix.

5.4. Verfahrenstechnische Aspekte

Bisher wurden elastische Fasern in der Tuba uterina nur histochemisch nachgewiesen (Schultka et al. 1996, Gotthardt 1998). Das dazu verwendete Verhoeffsche Eisenhämatoxylin stellt reife elastische Fasern dar, aber keine Oxytalanfasern. Außerdem werden Pseudoelastika, Zellkerne und Myelinscheiden tingiert (Puchtler und Waldrop 1979). Mit Resorcinfuchsin lassen sich reife elastische Fasern (Puchtler und Sweat 1960), Elauninfasern und Pseudoelastika anfärben (Puchtler et al. 1976). Die Tinktion der einzelnen Komponenten des elastischen Fasersystems mit Aldehydfuchsin ist abhängig von der Vorbehandlung der Schnitte. Orcein färbt reife elastische Fasern an, wobei der unterschiedliche Elastingehalt Kontrastunterschiede verursacht (Gotthardt 1998). Das Verhältnis der Menge an Mikrofibrillen zum amorphen Anteil kann damit aber nicht bestimmt werden.

Eine eindeutige Trennung von Elaunin- und reifen elastischen Fasern ist erst mit ultrastrukturellen Verfahren möglich. Zur Darstellung von Elastin verwendeten Albert und Fleischer (1970) Silbertriphosphorsulphonate, was Haust und More (1967) hingegen nicht als geeignet betrachten. Auch Verhoeffsches Eisenhämatoxylin in Kombination mit anschließender Bleicitratkontrastierung wurde in der Elektronenmikroskopie zur Darstellung von elastischen Fasern verwendet (Brissie et al. 1975). Nakamura et al. (1977) empfehlen die Anwendung von Orcein als ein Verfahren, das schnell durchzuführen ist.

Die zentral liegende amorphe Komponente Elastin wird durch ihre Affinität zu anionischen Säuren markiert, während die peripheren Mikrofibrillen ungefärbt bleiben. Mit kationischen Uranylacetat oder Bleicitrat lassen sich dagegen Mikrofibrillen sichtbar machen (Ross 1973). So konnten Müller und Firsching (1992) mit Magnesium keine Oxytalanfasern, sondern nur Elastin nachweisen, was auch mit Palladiumchlorid (Morris et al. 1978) und Tanninsäure möglich ist. Die Literatur (Tabelle 3, Seite 15) der letzten Jahre zeigt, daß Tanninsäure oft

zur selektiven Kontrastierung von Elastin verwendet wird. Es können so auch Zellmembranen stärker kontrastiert werden. Das erleichtert die Orientierung und Beurteilung des Gewebes (Mizuhira und Futaesaku 1972). Tanninsäure wurde als Zusatz zur Fixierung (Pre-embedding-Technik) oder nach Einbettung und Herstellung der Schnitte mit Uranylacetat und Bleicitrat (Post-embedding-Technik) zur Kontrastierung von Elastin verwendet. In Verbindung mit der Glutaraldehydfixierung wird die amorphe Komponente selektiv dargestellt. Auch Mikrofibrillen können damit deutlich sichtbar gemacht werden (Cotta-Pereira et al. 1977). Dies ist notwendig, um Oxytalan-, Elaunin- und reife elastische Fasern eindeutig voneinander unterscheiden zu können. Kajikawara et al. (1975) verwendeten Tanninsäure nach der Post-embedding-Technik und erzielten damit gute Resultate. Sie vertraten die Meinung, daß Tanninsäure während der Fixierung nicht tief genug in das Gewebe eindringt. Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Untersuchung beide Verfahren angewandt. Cotta-Pereira et al. (1976 b) testeten unterschiedliche Konzentrationen von Tanninsäure in Verbindung mit Glutaraldehyd und folgerten, daß mit 0,25%iger Tanninsäure die elastischen und kollagenen Fasern optimal unterschieden werden können.

Die Ergebnisse der Pre- und Post-embedding-Technik unterscheiden sich bezüglich der Lokalisation und Verteilung elastischer Fasern kaum voneinander. Aufgrund des besseren Kontrastes ist die Post-embedding-Technik Grundlage für die Auswertung der Ergebnisse.

6. Zusammenfassung

Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie konnten Lokalisation und Verteilung der Komponenten des elastischen Fasersystems in den Schichten des ampullären und isthmischen Abschnittes der Tuba uterina genauer bestimmt werden. Elastin ließ sich bei Anwendung von Tanninsäure mit der Post-embedding-Technik am besten kontrastieren. Auch die mikrofibrilläre Komponente der elastischen Fasern stellte sich damit gut dar.

Mikrofibrillenbündel, auch als Oxytalanfasern bezeichnet, sind in Mucosa und Muscularis zu sehen. In der Lamina propria mucosae besteht über einzelne Mikrofibrillen eine Verbindung zur Basalmembran. Auffällig ist ihr enger Kontakt zu den Fibrozyten. Zu ihnen sind sie parallel gelagert, entfernen sich von ihnen und ziehen zu den nächsten. So entsteht der Eindruck, als ob sie diese miteinander verbinden. Nach der Menopause nimmt die Anzahl an Oxytalanfasern ab. In der Muscularis bilden sie eine Brücke zwischen den Muskelzellen und am Übergang zu den kollagenen Fasern.

Mikrofibrillenreiche, Elastin-haltige Fasern, bekannt als Elauninfasern, finden sich um Muskelbündel. Im Querschnitt erkennt man ihren unterschiedlichen Elastingehalt. Bei Tuben von Frauen in der Prämenopause kommen Elauninfasern auch in der Schleimhaut vor. Sie liegen dort in der Nähe von Fibrozyten.

Reife elastische Fasern enthalten hingegen nur wenige Mikrofibrillen. Sie kommen fast ausschließlich in den Wänden und der Umgebung von Arterien und Venen aller Schichten vor. Auffällig ist die kräftige Lamina elastica interna der Arterien, die bei den Venen nicht nachgewiesen werden kann. Der Elastingehalt der Media nimmt mit der Größe der Gefäße zu.

7. Literaturverzeichnis

1. Albert EN, Fleischer E: A new electron dense stain for elastic tissue. *J Histochem Cytochem* 18 (1970) 697-708
2. Baba T, Tagaki M, Kagami A, Hishikawa H, Hosokawa Y: Ultrastructural cytochemical properties of elastin-associated microfibrils and their relation to fibronectin. *Histochem J* 20 (1988) 688-696
3. Battig CG, Low FN: The ultrastructure of human cardiac muscle and its associated tissue space. *Am J Anat* 108 (1961) 199-230
4. Bilkenroth U: Untersuchungen zum Kollagengehalt der menschlichen Tuba uterina unter Berücksichtigung ihrer Biomorphose. MLU Halle-Wittenberg, Med. Fak., Diss., 111 S., 1995
5. Black DL, Asdell SA: Transport through the rabbit oviduct. *Am J Phys* 192 (1958) 63-67
6. Black DL, Davis J: A blocking mechanism in the cow oviduct. *J Reprod Fert* 4 (1962) 21-26
7. Böck P, Stockinger L: Light and electron microscopic identification of elastic, elaunin and oxytalan fibers in human tracheal and broncheal mucosa. *Anat Embryol* 170 (1984) 145-153
8. Borell U, Nilsson O, Westman A: Ciliary activity in the rabbit fallopian tube during oestrus and after copulation. *Acta Obst Gyn Scandinavica* 36 (1957) 22-28
9. Bradamante Z, Svajger A: Pre-elastic (oxytalan) fibers in the developing elastic cartilage of the external ear of the rat. *J Anat (London)* 123 (1977) 735-743
10. Braverman IM, Fonferko E: Studies in cutaneous aging: I. The elastic fiber network. *J Invest Dermatol* 78 (1982) 434-443
11. Breathnach SM, Pepys MB, Hintner H: Tissue amyloid P component in normal human dermis is non-covalently associated with elastic fibre microfibrils. *J Invest Dermatol* 92 (1989) 53-58
12. Breckwoldt M: Geschlechtsspezifische Funktion und ihre Störungen. In: Martius G, Breckwoldt M, Pfeleiderer A (Hrsg): *Lehrbuch der Gynäkologie und Geburtshilfe*. Thieme, Stuttgart, New York, 1994, S. 348

13. Bressan GM, Castellani J, Colombatti A, Volpin D: Isolation and characterization of a 115,000-dalton matrix associated glycoprotein from chick aorta. *J Biol Chem* 258 (1983) 13262-13267
14. Bressan GM, Daga-Gordini D, Colombatti A, Castellani I, Marigo V, Volpin D: Emilin, a component of elastic fibers preferentially located at the elastin-microfibrils interface. *J Cell Biol* 121 (1993) 201-212
15. Briggaman RA, Wheeler CE: The epidermal-dermal junction. *J Invest Dermatol* 65 (1975) 71-84
16. Brissie RM, Spicer SS, Thompson NT: The variable fine structure of elastin visualized with Verhoeff's iron hematoxin. *Anat Rec* 181 (1975) 83-94
17. Brökelmann J, Denker HW: Weibliche Geschlechtsorgane. In: Drenckhahn D, Zenker W (Hrsg): *Benninghoff Anatomie. Bd. 2.* Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1993, S 128-131
18. Brown-Augsburger P, Broekelman T, Sloan C, Mecham RP: Identification of an elastin cross-linking domain that joins three peptide chains. Possible role in uncleated assembly. *J Biol Chem* 270 (1995) 17778-17783
19. Brown-Augsburger P, Broekelmann T, Mecham L, Mercer R, Gibson MA, Cleary EG, Abrams WR, Rosenbloom J, Mecham RP: Microfibril-associated glycoprotein binds to the carboxyl terminal domain of tropoelastin and is a substrate for transglutaminase. *J Biol Chem* 269 (1994) 28443-28449
20. Brown-Augsburger P, Broekelmann T, Rosenbloom J, Mecham RP: Functional domains on elastin and microfibril associated glycoprotein involved in elastic fibre assembly. *Biochem J* 318 (1996) 149-155
21. Bruns RR, Press W, Engvall E, Timpl R, Gross J: Type VI collagen in extracellular, 100nm periodic filaments and fibrils - Identification by immunoelectron microscopy. *J Cell Biol* 103 (1986) 393-404
22. Buchstab A: Das elastische Gewebe in den Eileitern der Frau in normalem und pathologischem Zustand. *Zbl Gynäkol* 28 (1897) 89-901. *Zit Schultka* (1981a)
23. Carmichael GG, Fullmer HM: The fine structure of the oxytalan fibers. *J Cell Biol* 28 (1966) 33-36

24. Chaplin AJ: Tannic acid in histology: an historical perspective. *Stain Technol* 60 (1985) 219-231
25. Chavrier C: The elastic system fibres in healthy human gingiva. *Arch Oral Biol* 35 (1990) 223-225
26. Cleary EG, Gibson MA: Elastin-associated microfibrils and microfibrillar proteins. *Int Connect Tissue Res* 10 (1983) 197-209
27. Colombatti A, Bressan G, Castellani J: Glycoprotein 115, a glycoprotein isolated from chick blood vessels, is widely distribute in connective tissue. *J Cell Biol* 100 (1985) 18-26
28. Cotta-Pereira G, Del-Caro L, Montes GS: Distribution of elastic system fibers in hyaline and fibrous cartilages of the rat. *Acta Anat* 119 (1984) 80-85
29. Cotta-Pereira G, Guerra Rodrigo F, Bittencourt-Sampaio S: Oxytalan, elaunin, and elastic fibers in the human skin. *J Invest Dermatol* 66 (1976 a) 143-148
30. Cotta-Pereira G, Guerra Rodrigo F, David-Ferreira JF: The elastic system fibers. In: Sandberg LB Gray WR, Franzblau C (Eds): *Advances in experimental medicine and biology*. Vol. 79. Elastin and elastic tissue. Plenum Press, New York, 1977, S. 19-30
31. Cotta-Pereira G, Guerra Rodrigo, David-Ferreira JF: The use of tannic-glutaraldehyde in the study of elastic and elastic-related fibers. *Stain Technol* 51 (1976 b) 7-11
32. Cotta-Pereira G, Iruela-Arispe ML: Extracellular matrix: functional significance of oxytalan, elaunin and elastic fibers. *Prog Clin Biol Res* 295 (1989) 101-107
33. Cotta-Pereira G, Rodrigo FG, Bittencourt-Sampaio G: Ultrastructural study of elaunin fibres in the secretory coil of human eccrine sweat glands. *Br J Dermatol* 93 (1975) 623-629
34. Dahlbäck K, Löfgren H, Dahlbäck G: Localization of vitronectin (S-Protein of complement) in normal human skin. *Acta Derm Venerol (Stockh)* 66 (1986) 461-467
35. Davis CE: Smooth muscle cell to elastic lamina connections in developing mouse aorta role in aortic medial organization. *Lab Invest* 68 (1993) 89-99

36. DE Carvalho FET, DE Carvalho CAF, Souza de RR: Age related changes in elastic fibers of human heart. *Gerontol* 42 (1996) 211-217
37. DE Carvalho FH, Neto JL, Taboga SR: Microfibrils: neglected components of pressure-bearing tendons. *Ann Anat* 176 (1994) 155-159
38. Dingemans KP, Van Den Bergh Weerman MA: Rapid contrasting of extracellular elements in thin sections. *Ultrastruct Pathol* 14 (1990) 519-527
39. Dubreuil G: *Les trompes de fallope chez la femme*. Vigot, Paris, 1946 Zit. Schultka (1981a)
40. Fahrenbach WH, Sandberg LB, Cleary EG: Ultrastructural studies on early elastogenesis. *Anat Rec* 155 (1966) 563-575
41. Ferreira JMC, Caldini EG, Montes GS: Distribution of elastic system fibers in the peripheral nerves of mammals. *Acta Anat (Basel)* 130 (1987) 168-173
42. Franc S, Garrone R, Bosch A, Franc JM: A routine method for contrasting elastin at the ultrastructural level. *J Histochem Cytochem* 32 (1984) 251-256
43. Frederickson RG, Morse DE, Low FN: High-voltage electron microscopy of extracellular fibrillogenesis. *Am J Anat* 150 (1977) 1-33
44. Fukuda Y, Ferrans VJ, Crystal RG: Development of elastic fibers of nuchal ligament, aorta and lung of fetal and postnatal sheep: An ultrastructural and electron microscopic study. *Am J Anat* 170 (1984) 597-629
45. Fullmer HM, Lillie RD: The oxytalan fiber: a previously undescribed connective tissue fiber. *J Histochem Cytochem* 6 (1958) 425-430
46. Fullmer HM, Sheetz JH, Narkates AJ: Oxytalan connective tissue fibers: a review. *J Oral Pathol* 3 (1974) 291-316
47. Fullmer HM: A comparative histochemical study of elastic, pre-elastic and oxytalan connective tissue fibers. *J Histochem Cytochem* 8 (1960) 290-295
48. Fullmer HM: Differential staining of connective tissue fibers in areas of stress. *Science* 127 (1958) 1240-1244
49. Fullmer HM: Observations on the development of oxytalan fibers in the periodontium of man. *J Dent Res* 38 (1959) 510-518

50. Fullmer HM: Observations on the development of oxytalan fibers in dental granulomas and radicular cysts. *Am Arch Pathol* 70 (1960) 59-67
51. Gawlik Z: Morphological and morphochemical properties of the elastic system in the motor organ of man. *Folia Histochem Cytochem* 3 (1965) 233-251
52. Gebb C, Hayman E, Envall E, Ruoslathi E: Interaction of vitronectin with collagen. *J Biol Chem* 261 (1986) 16698-16703
53. Geist SH: Die senile Involution des Eileiters. *Arch Mikrosk Anat* 81 (1913) 220-232 Zit Schultka (1981a)
54. Gerli R, Ibbá L, Fruschelli C: A fibrillar elastic apparatus around human lymph capillaries. *Anat Embryol* 181 (1990) 281-286
55. Ghadially FN: Extracellular matrix (extracellular components): Ultrastructural pathology of the cell and matrix. 3rd ed Butterworths, London, 1988, S.1252-1259
56. Gibson MA, Cleary EG: The immunohistochemical localization of microfibril-associated glycoprotein (MAGP) in elastic and non-elastic tissues. *Immunol Cell Biol* 65 (1987) 345-356
57. Gibson MA, Hatsinikolas G, Kumaratilake JS, Sandberg LB, Nicholl JK, Sutherland GR, Cleary EG: Further characterization of proteins associated with elastic fiber microfibrils including the molecular cloning of MAGP-2 (MP 25). *J Biol Chem* 271 (1996) 1096-1103
58. Gibson MA, Sandberg LB, Grosso LE, Cleary EG: Complementary DNA cloning establishes microfibril-associated glycoprotein (MAGP) to be a discrete component of the elastin-associated microfibrils. *J Cell Biol Chem* 266 (1991) 7596-7601
59. Gigante A, Specchia N, Nori S, Greco F: Distribution of elastic fiber types in the epiphyseal region. *J Orthoped Res* 14 (1996) 810-817
60. Gogly B, Godeau G, Gilbert S, Legrand JM, Kut C, Pellat B, Goldberg M: Morphometric analysis of collagen and elastic fibers in normal skin and gingiva in relation to age. *Clin Oral Invest* 1 (1997) 147-152
61. Goldfischer S, Kress Y, Coltoff-Schiller B, Berman J: Primary fixation in osmium-potassium ferrocyanide: the staining of glycogen, glycoproteins, elastin, an intranuclear reticular structure and intracisternal trabeculae. *J Histochem Cytochem* 29 (1981) 1105-1112

62. Göpel C, Schultka R, Schuppan D: Altersabhängige Verteilung von Kollagen und Glycoproteinen in den Blutgefäßen der menschlichen Tuba uterina. *Ann Anat* 179 (1997) 83-88
63. Göpel C: Immunhistochemische Untersuchungen zu Nachweis und Lokalisation von Matrixproteinen in der menschlichen Tuba uterina - Ein Beitrag zur Biomorphose des Eitransportorgans. MLU Halle Wittenberg, Med. Fak., Diss., 103 S., 1994
64. Gotte L, Giro MG, Volpin D, Horne RW: The ultrastructural organization of elastin. *J Ultrastruct Res* 46 (1974) 23-33
65. Gotthardt M: Über das Elastische Faser-System der menschlichen Tuba uterina - histochemische und immunhistochemische Untersuchungen unter Berücksichtigung biomorphotischer Veränderungen. MLU Halle-Wittenberg, Med. Fak., Diss., 79 S., 1998
66. Graf R, Neudeck H, Gossrau R, Vetter K: Elastic fibers are an essential component of human placental stem villous stroma and an integrated part of the perivascular contractile sheath. *Cell Tissue Res* 283 (1996) 133-141
67. Gray WR, Sandberg LB, Foster JA: Molecular model for elastin structure and function. *Nature* 246 (1973) 461-466
68. Grenlee TK Jr, Ross R, Hartman JL: The fine structure of elastic fibers. *J Cell Biol* 30 (1966) 59-71
69. Guantieri V, Grando S, Pandolfo L, Tamburro AM: Synthetic fragments and analogues of elastin. I. The synthesis. *Biopolymers* 29 (1990) 845-854
70. Hall DA, Reed R, Tunbridge RE: Structure of elastic tissue. *Nature (London)* 170 (1952) 264-266
71. Hammond TH, Zhong R, Hammond EH, Pawlak A, Gray SD: The intermediate layer: a morphologic study of the elastin and hyaluronic acid constituents of normal human vocal folds. *J Voice* 11 (1997) 59-66
72. Hanak H, Böck P: Die Feinstruktur der Muskel – Sehnenverbindung von Skelett- und Herzmuskel. *J Ultrastruct Res* 36 (1971) 68-85
73. Hasegawa J: „Oxytalan” fibers of the dermal-epidermal junction. *Arch Dermatol* 82 (1960) 250-252
74. Haust MD, More RH, Bencosme SA, Balis JU: Elastogenesis in human aorta: an electron microscopic study. *Exp Mol Pathol* 4 (1965) 508-524

75. Haust MD, More RH: Electron microscopy of connective tissue and elastogenesis. In: *The Connective Tissue* (Hrsg. D. Smith, B. Wagner) Williams and Wilkins, Baltimore, 1967
76. Haust MD: Fine fibrils of extracellular space (microfibrils). Their structure and role in connective tissue organization. *Am J Pathol* 474 (1965) 1113-1137
77. Hayakawa M, Kobayashi M, Hoshino T: Microfibrils: a constitutive component of reticular fibers in the mouse lymph node. *Cell Tissue Res* 262 (1990) 199-201
78. Hieber AD, Corcino D, Motosue J, Sandberg LB, Roos PJ, Yu SY, Csiszar K, Kagan HM, Boyd CD, Bryant-Greenwood GD: Detection of elastin in the human fetal membranes: proposed molecular basis for elasticity. *Placenta* 18 (1997) 301-312
79. Hoeve CAJ, Flory PJ: The elastic properties of elastin. *J Am Chem Soc* 80 (1958) 6523-6531
80. Hörmann, K: Über das Bindegewebe der weiblichen Geschlechtsorgane. II. Die Bindegewebsfasern in der Tube. *Arch Gynäkol* 84 (1908) 161-181
81. Hunter RHF: *The fallopian tubes - Their role in fertility and infertility.* Springer, Berlin, 1988
82. Imayama S, Braverman IM: A hypothetical explanation for the aging of skin. Chronologica alteration of the three-dimensional arrangement of collagen and elastic fibers in connective tissue. *Am J Pathol* 134 (1989) 1019-1025
83. Johnson RP, Pylypas SP: A re-evaluation of the distribution of the elastic meshwork within the periodontal ligament of the mouse. *J Periodont Res* 27 (1992) 239-249
84. Jones CJ, Sear CH, Grant ME: An ultrastructural study of fibroblasts derived from bovine ligamentum nuchae and their capacity for elastogenesis in culture. *J Pathol* 131 (1980) 35-53
85. Kajikawara K, Yamagushi T, Katsuda S, Miwa A: An improved electron stain for elastic fibers using tannic acid. *J Electron Microsc* 24 (1975) 287-289
86. Karrer HE, Cox J: An electron microscopic study of the aorta in young and aging mice. *J Ultrastruct Res* 5 (1961) 1-27

87. Karrer HE: The fine structure of connective tissue in the tunica propria of bronchioles. *J Ultrastruct Res* 2 (1958) 96-121
88. Katsumoto T, Naguro T, Iino A, Takagi A.: The effect of tannic acid on the preservation of tissue culture cells for SEM. *J Electron Microsc* 30 (1981) 177-182
89. Kawaguchi N, Wakui S, Asari M, Kano Y: Subepithelial elastic fibers in the bovine gastric mucosa. *Nippon Juigaku Zasshi* 51 (1989) 352-358
90. Keene DR, Maddox BK, Kuo H-J, Sakai LY, Glanville RW: Extraction of extendable beaded structures and their identification as fibrillin-containing extracellular matrix microfibrils. *J Histochem Cytochem* 39 (1991) 441-449
91. Kewley MA, Steven FS, Williams G: The presence of fine elastin fibre observed by scanning electron microscopy. *J Anat* 123 (1977) 129-134
92. Knudsen PJT: The peritoneal elastic lamina. *J Anat* 177 (1991) 41-46
93. Kobayasi R, Tashima Y, Masada H: Isolation and characterization of a new 36-kDa microfibril-associated glycoprotein from porcine aorta. *J Biol Chem* 264 (1989) 17437-17444
94. Kobayasi T: Electron microscopy of the elastic fibers and the dermal membrane in normal human skin. *Acta Derm Venerol* 48 (1968) 303-312
95. Leak LV, Burke JF: Ultrastructural studies on the lymphatic anchoring filaments. *J Cell Biol* 36 (1968) 129-149
96. Lee B, Godfrey M, Vitale E, Hori H, Sarfarazi M, Tsipouras P, Ramirez F, Hollister DW: Linkage of Marfan syndrome and a phenotypically related disorder to two different fibrillin genes. *Nature* 352 (1991) 330-334
97. Leppert PC, Shiu Yeh Yu: Three dimensional structures of elastic fibers: scanning electron microscopic studies. *Connect Tissue Res* 27 (1991) 15-31
98. Lethias C, Hartmann DJ, Masméjean M, Ravazzola M, Sabbagh I, Ville G, Herbage D, Eloy R: Ultrastructural immunolocalization of elastic fibers in rat blood vessels using the protein A-Gold technique. *J Histochem Cytochem* 35 (1987) 15-21
99. Lindner J: Altern des Bindegewebes. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1972, S. 245-368
100. Lopez ML, Breucker H: Ultrastructure of the lamina efferentes and ductus epididymidis. *Andrologia* 18 (1986) 133-146

101. Low FN: Microfibrils: fine filamentous components of the tissue space. *Anat Rec* 142 (1962) 131-137
102. Maddox BK, Sakai LY, Keene DR: Connective tissue microfibrils. *J Biol Chem* 26 (1989) 21381-21385
103. Malak TM, Stephen CB: Distribution of fibrillin-containing microfibril and elastin in human fetal membranes: A novel molecular basis for membrane elasticity. *Am J Obstet Gynecol* 171 (1994) 195-205
104. Marshall GE: Human scleral elastic system: an immunoelectron microscopic study. *Br J Ophtal* 79 (1995) 57-64
105. Mayer BW Jr, Hay ED, Hynes RO: Immunocytochemical localization of fibronectin in embryonic chick trunc and area vasculosa. 82 (1981) 267-286
106. Mecham RP, Heuser JE: The elastic fiber. In: *Cell Biology of extracellular matrix* (Hrsg. ED Hay), Plenum Press, NY, 1991, S 79-109
107. Mecham RP, Hinek A, Cleary EG, Kuaich U, Lee S, Rosenbloom J: Development of immunoreagents to ciliary zonules that react with protein components of elastic fiber microfibrils and with elastin-producing cells. *Biochem Biophys Res Commun* 151 (1988) 822-826
108. Mecham RP: Elastic fibre assembly, macromolecular interactions. *Ciba Found Sym* 192 (1995) 172-181
109. Mikawa Y, Hamagami H, Snikata J, Yamamuro T: Elastin in the human intervertebral disc. A histological and biochemical study comparing it with elastin in the human yellow ligament. *Arch Orthop Trauma Surg* 105 (1986) 343-349
110. Mikuni H, Ushiki T, Abe K, Fukuda S, Inuyama Y: Nature of the fine fibrils of the basilar membrane in the cochlea. *Arch Histol Cytol* 57 (1994) 187-191
111. Millonig G: Method of preparation of phosphate buffer. In: *Fixation, Dehydration and Embedding of Biological Specimens. Practical Methods in Electron Microscopy*. Andrey M Glanert (Hrsg.) North-Holland Publishing Company Amsterdam, New-York-Oxford, 1961, S. 16
112. Mizuhira V, Futaesaku Y: New fixation for biological membranes using tannic acids. *Acta Histochem Cytochem* 5 (1972) 233-236

113. Montes GS: Distribution of oxytalan, elaunin and elastic fibres in tissues. *Ciencia e Cultura* 44 (1992) 224-233
114. Montes GS: Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. *Cell Biol Int* 20 (1996) 15-27
115. Morris SM, Stone PJ, Rosenkrans WA, Calore JD, Albright JD, Franzblau C: Palladium chloride as a stain for elastin at the ultrastructural level. *J Histochem Cytochem* 26 (1978) 635-639
116. Müller W, Firsching R: Differentiation of oxytalan fibres with reagents for detection of magnesium. *Ann Anat* 174 (1992) 357-359
117. Murcott CA, Carpenter JR: Motility of the rat oviduct in vitro. *J Reprod Fert* 51 (1977) 483-485
118. Nakamura A, Kanai C, Mizuhira V: An electron stain for elastic fibers using orcein. *J Histochem Cytochem* 25 (1977) 306-310
119. Natali PG, Galloway D, Nicotra MR, Martinioc de D: Topographic association of fibronectin in elastic fibers in the arterial wall. An immunohistochemical study. *Connect Tissue Res* 8 (1981) 199-204
120. Nishinaka K, Fukuda Y: Changes in extracellular matrix materials in the uterine myometrium of rats during pregnancy and postparturation. *Acta Pathologica Japonica* 41 (1991) 122-132
121. Pasquali-Ronchetti I, Fornieri C, Baccarani-Contri M, Quaglino D: Ultrastructure of elastin. The molecular biology and pathology of elastic tissues. *Ciba Found Symp* 192 (1995) 31-50
122. Perdomo J, Gounon P, Schaverbeke M, Schaverbeke J, Groult V, Jacob MP, Robert L: Interaction between cells and elastin fibers: an ultrastructural and immunocytochemical study. *J Cell Physiol* 158 (1994) 451-458
123. Porto LC, Chevallier M, Peyrol S, Guerret S, Grimaud J-A: Elastin in human, baboon, and mouse liver: An immunohistochemical and immunoelectron microscopic study. *Anat Rec* 228 (1990) 392-404
124. Puchtler H, Meloan SN, Pollard GR: Light microscopic distinction between elastin, pseudo-elastica and interstitial collagen. *Histochem* 49 (1976) 1-14
125. Puchtler H, Sweat F: Commercial resorcin-fuchsin as a stain for elastic fibers. *Stain Technol* 35 (1960) 347-348

126. Puchtler H, Waldrop FS: On the mechanism of Verhoeff's elastica stain: A convenient stain for myelin sheaths. *Histochem* 62 (1979) 233-247
127. Quaglino D jr, Bergamini G, Boraldi F, Pasquali Ronchetti I: Ultrastructural and morphometrical evaluations on normal human dermal connective tissue-the influence of age, sex and body region. *Br J Dermatol* 134 (1996) 1013-1022
128. Roark EF, Keene DR, Haudenschild DD, Godyna S, Little CD, Argraves DS: The association of human fibulin-1 with elastic fibers: an immunohistological, ultrastructural and RNA study. *J Histochem Cytochem* 43 (1995) 4001-411
129. Robinson DG, Ehlers U, Herken R, Hermann B, Mayer F, Schürmann FW: Präparationsmethodik in der Elektronenmikroskopie - Eine Einführung für Biologen und Mediziner. Springer Verlag, Berlin, 1985
130. Robinson G, Gray T: Electron microscopy 2: Tissue preparation, sectioning and staining. In: *Theory and Practice of histological Techniques* (Hrsg. John D Bancroft, Alan Stewens) Churchill Livingstone, Edinburgh London Melbourne and New York, 1990
131. Rodrigo FG, Cotta-Pereira G, David-Ferreira JF: The fine structure of the elastic tendons in the human arrector pili muscle. *Br J Dermatol* 93 (1975) 631-637
132. Rodrigues jr AJ, Tolosa de EM, Carvalho de CA: Electron microscopic study on the elastic and elastic related fibres in the human fascia transversalis at different ages. *Gegenbaurs Morphol Jahrb* 136 (1990) 645-652
133. Rosenbloom J, Abrams WR, Rosenbloom J, Kicich U, Decker S, Mecham R, Macarak E, Howard P: Expression of microfibrillar proteins by bovine bladder urothelium. *Urol* 49 (1997) 287-292
134. Ross R, Bornstein P: Elastic fibers in the body. *Scientific American* 224 (1971) 44-52
135. Ross R, Bornstein P: Studies of components of the elastic fiber. In: Balazs EA (Hrsg): *Chemistry and molecular biology of the intercellular matrix*. Academic Press, New York, 1970, S. 641-655.

136. Ross R, Bornstein P: The elastic fiber. I. The separation and partial characterization of its macromolecular components. *J Cell Biol* 40 (1969) 366-381
137. Ross R, Fialkow PJ, Altman K: The morphogenesis of elastic fibers. *Adv Exp Med Biol* 79 (1977) 7-17
138. Ross R: The elastic fiber – A review. *J Histochem Cytochem* 21 (1973) 199-208
139. Sabatini DD, Bunsch K, Barnett RJ: Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J Cell Biol* 19 (1963) 13
140. Sakai LY, Keene DR, Engrall E: Fibrillin a new component of extracellular microfibrils. *J Cell Biol* 108 (1986) 2499-2509
141. Sakai LY, Keene DR, Glanville RW, Badinger HL: Purification and partial characterization of fibrillin, a cysteine-rich structural component of connective tissue microfibrils. *J Biol Chem* 266 (1991) 14763-14770
142. Sani G: Le fibre elastiche dell' ovidutto umano e loro modificazioni nelle varie eta. *Riv Ital Ginec* 33 (1950) 313-328 Zit. Schultka (1981)
143. Schenk und Austerlitz: Weitere Untersuchungen über das elastische Gewebe der weiblichen Genitalorgane. *Z Heilkd* (1903) Zit. Schultka (1981a)
144. Schridde H: Die eitrigen Entzündungen des Eileiters. *Histologische Untersuchungen*. Fischer, Jena, 1910 Zit. Schultka (1981)
145. Schultka R, Göpel C, Schuppan D, Schmidt T: Age dependent changes of the immunohistochemical distribution of various collagen types and structural glycoproteins in the human uterine tube. *Acta histochem* 95 (1993) 139-153
146. Schultka R, Göpel CH, Gotthardt M, Cech S: The elastic-fibre system of the human uterine tube. *Scripta Medica (Brno)* 69 (1996) 287-295
147. Schultka R, Kirschke H, Peil J: Altersabhängige Veränderungen des Kollagengehaltes der menschlichen Tuba uterina. *Acta histochem* 80 (1986) 41-51
148. Schultka R: Nachweis und Analyse von aldehydfuchsin-positiven Faserstrukturen im Bindegewebe der menschlichen Eileiterschleimhaut. II.

- Zur Biomorphose und strukturellen Einordnung des morphologischen Substrats. *Acta histochem* 68 (1981 c) 48-78
149. Schultka R: Nachweis und Analyse von aldehydfuchsin-positiven Faserstrukturen im Bindegewebe der menschlichen Eileiterschleimhaut. I. Voruntersuchungen und Darstellung des morphologischen Substrats. *Acta histochem* 64 (1980) 54-75
150. Schultka R: Untersuchungen zur Biomorphose der menschlichen Eileiterschleimhaut; ein Beitrag zum Problem von Morphologie und Altern der Tuba uterina - I. Einleitung, Literatur, erste Ergebnisse. *Gegenbaurs morphologisches Jahrbuch* 127 (1981 a) 210-245
151. Schultka R: Untersuchungen zur Biomorphose der menschlichen Eileiterschleimhaut; ein Beitrag zum Problem von Morphologie und Altern der Tuba uterina - II. Histochemische Befunde. *Gegenbaurs morphologisches Jahrbuch* 127 (1981 b) 391-415
152. Schultka R: Zur Charakterisierung morphologischer Veränderungen im menschlichen Eileiter unter endokrinem Einfluß. *Wissenschaftliche Zeitschrift der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg* 6 (1989) 119-124
153. Schwartz E, Fleischmajer R: Association of elastin with oxytalan fibers of the dermis and with extracellular microfibrils of cultured skin fibroblasts. *J Histochem Cytochem* 34 (1986) 1063-1068
154. Sear CHJ, Grant ME, Jackson DS: The nature of the microfibrillar glycoproteins of elastic fibres. A biosynthetic study. *Biochem J* 194 (1981) 587-598
155. Sear CHJ, Kewlwey MA, Jones CJP, Grant ME, Jackson DS: The identification of glycoproteins associated with elastic-tissue microfibrils. *Biochem J* 170 (1978) 715-718
156. Serafini-Fracassini A, Ventralla G, Field MJ, Hinnie J, Griffith R: Characterization of a structural glycoprotein from bovine ligamentum nuchae exhibiting dual amine oxidase activity. *Biochemistry* 20 (1981) 5424-5429
157. Sharrow L, Tinker D, Davidson JH, Rucker RB: Accumulation and regulation of elastin in the rat uterus. *Proc Soc Exp Biol Med* 192 (1989) 121-126

158. Sheetz JH, Fullmer HM, Narkates AJ: Oxytalan fibers: identification of the same fiber by light and electron microscopy. *J Oral Pathol* 2 (1973) 254-263
159. Sosamelgarejo JA, Berry CL: Cell to stroma contacts in the tunica media of the hypertensive rat thoracic aorta. *Arch Med Res* 27 (1996) 123-126
160. Souza AD, Montes GS, Villela BTX, Cruz AC, Cotta-Pereira G: Elastic-related fibers in the annular ligament of the stapes-oval window articulation. An electron microscopic and histochemical study in the rat and the rabbit. *Rav Laryngol* 112 (1991) 7-10
161. Streeten BW, Licari PA: The zonules and the elastic microfibrillar system in the ciliar body. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24 (1983) 667-681
162. Suzuki S, Pierschbacher MD, Hayman EG, Ngyen K, Öhgren Y, Ruoslathi E: Domain structure of vitronectin. *J Biol Chem* 259 (1984) 15307-15314
163. Tedeschi LG, Sommers SC: Oxytalan fibers in sclerosing hemangiomas. *Arch Derm* 84 (1961) 128-132
164. Thomas J, Elsdon DF, Partridge SM: Degradation products from elastin. *J Biol Chem* 238 (1963) 651-652
165. Tietze (1932) *Zit. Schultka* (1981a)
166. Tomasini BR, Ruoslanti E, Pierschbacher MD: A 30-kDa sulfated extracellular matrix protein immunologically crossreactive with vitronectin. *Matrix* 13 (1993) 203-214
167. Trackman PC, Pratt AM, Wolanski A, Tang SS, Offner GD, Troxler RF, Kagan HM: Cloning of rat aorta lysyl oxidase cDNA: complete codons and predicated amino acid sequence. *Biochem* 29 (1990) 4863-4870
168. Tsuji T: Elastic fibres in the dermal papilla. Scanning and transmission electron microscopic studies. *Br J Dermatol* 102 (1980) 413-417
169. Unna PG: Notiz betreffend die Taenzersche Orceinfärbung des elastischen Gewebes. *Monatsh Prakt Dermatol* 12 (1890) 394-396
170. Urry DW: What is elastin; What is not. *Ultrastruct Pathol* 4 (1983) 227-251
171. Ushiki T: Preserving the original architecture of elastin components in the formic acid digested aorta by an alternative procedure for scanning electron microscopy. *J Electron Microsc* 41 (1992) 60-63
172. Verhoeff FH: Some new staining methods of applicability; including a rapid differential stain for elastic tissue. *J Am Med Assoc* 50 (1908) 876-877

173. Wakui S, Kawaguchi N, Furusato M, Asari M, Kano Y, Ushigome S: Subepithelial elastic system fibers of oblique mucosal folds in the rat proximal colon. *Acta Anat Basel* 141 (1991) 119-126
174. Weis T, Anderson SO: New molecular model for the long-range elasticity of elastin. *Nature* 227(1970) 718-721
175. Werth VP, Shi X, Kalathil E, Jaworski C: Elastic fiber-associated proteins of the skin in development and photoaging. *Photochem Photobiol* 63 (1996) 308-313
176. Wolpers C: Zur elektronenmikroskopischen Darstellung elastischer Gewebselemente. *Klin Wochenschr* 23 (1944) 169-172
177. Yong H, Kirkaldy-Willis WH: The ligamentum flavum. *Spine* 1 (1976) 226-231
178. Zhang H, Apfelroth S, Mu W, Davis E, Sanguineti C, Bondio J, Mecham R, Ramirez F: Structure and expression of fibrillin-2, a novel microfibrillar component preferentially located in elastic matrices. *J Cell Biol* 124 (1994) 855-863

Thesen

1. Die Tuba uterina hat als Transportorgan bei Reproduktionsaufgaben eine entscheidende Bedeutung. Ruhezustand und Fortbewegung der Eizelle werden durch den Tonus und die Kontraktilität der tubaren Muskulatur beeinflusst. Als Übertragungsglied ist der Bindegewebsapparat von Mucosa und Muscularis anzusehen.
2. Zum tubaren Bindegewebe gehören neben kollagenen und retikulären auch elastische Fasern. Letztere enthalten Elastin und eine mikrofibrilläre Komponente.
3. In Abhängigkeit vom Elastin-Mikrofibrillen-Verhältnis setzt sich das elastische Fasersystem aus Oxytalanfasern, Elauninfasern und reifen elastischen Fasern zusammen, die sich in ihrer Funktion unterscheiden.
4. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, elektronenmikroskopisch die Lokalisation und Verteilung der Komponenten des elastischen Fasersystems in den Abschnitten und Wandschichten der Tuba uterina zu bestimmen.
5. Untersucht wurden Isthmus und Pars ampullaris von 12 menschlichen Eileitern. Die selektive Kontrastierung von Elastin erfolgte mit Tanninsäure, die nach verschiedenen Methoden der Pre- und Post-embedding-Techniken angewandt wurde.
6. Die besten Ergebnisse wurden bei Anwendung von Tanninsäure nach der Post-embedding-Technik erzielt. Aufgrund ihres unterschiedlichen Gehalts an Elastin und Mikrofibrillen können Oxytalanfasern, Elauninfasern und reife elastische Fasern ultrastrukturell voneinander unterschieden werden.

7. Mikrofibrillenbündel, als Oxytalanfasern bezeichnet, liegen in der Mucosa direkt unter dem Epithel und in enger Nachbarschaft zu Fibrozyten. In der Muscularis konnten sie zwischen den Muskelzellen nachgewiesen werden.
8. Mikrofibrillenreiche, elastinhaltige Fasern, sogenannte Elauninfasern sind vorwiegend um Muskelbündel lokalisiert, zwischen denen sie Kontraktionskräfte weiterleiten und regulieren. Mikrofibrillen übertragen hingegen Zugkräfte von Muskelzellen auf kollagene Fasern.
9. Elauninfasern sind in der Schleimhaut von Tuben jüngerer und älterer Frauen zu sehen. Ihre Verteilung weist keine Beziehung zum Alter auf.
10. Reife elastische Fasern sind in der Mucosa nicht generell zu finden. Sie kommen jedoch in Tuben von Frauen in der Postmenopause vor. In der Muscularis waren sie nur sporadisch anzutreffen.
11. Alle Blutgefäße enthalten reife elastische Fasern in der Adventitia. Sie bilden einen Schutz, indem sie grobe Druck- und Zugkräfte kompensieren.
12. Den höchsten Elastingehalt weist die Lamina elastica interna der großen Arterien auf. Der Faseranteil der Media nimmt bei Arterien und Venen proportional zur Gefäßgröße zu.
13. Es wurden keine Unterschiede in der Lokalisation von Oxytalan-, Elaunin- und reifen elastischen Fasern in den Schichten des Isthmus und der Pars ampullaris festgestellt.
14. Das Verteilungsmuster elastischer Fasern in der menschlichen Tuba uterina gleicht dem anderer Organe (z.B. der Haut). Es wird durch die Lage und Funktion des Organes bestimmt.

Lebenslauf

Angaben zur Person

Name: Böck
Vorname: Jana
Geburtsdatum/ -ort: 13.02.1974/ Halle
Familienstand: ledig

Schulbildung

09 / 1980 - 07 / 1988 Polytechnische Oberschule in Halle
09 / 1988 - 06 / 1992 Landesgymnasium
LATINA August- Hermann- Francke in Halle
Spezialklasse
mit erweitertem Neusprachenunterricht
(Englisch, Russisch, Französisch und Latein)
06 / 1992 Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

Studium

10 / 1992 - 10 / 1997 Zahnmedizinstudium in Halle

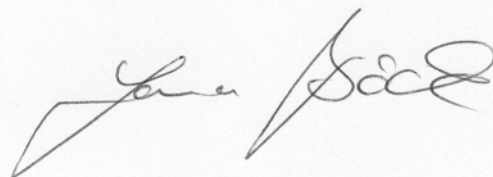
Berufstätigkeit

11 / 1997 - 02 / 1998 wissenschaftliche Mitarbeiterin der Sektion
Kinderzahnheilkunde des Zentrums für
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde in Halle
03 / 1998 - 08 / 1998 Promotionsstudent
09 / 1998 - 11 / 1998 Ausbildungsassistentin in Zahnarztpraxis
R. Müller in Jeßnitz
seit 12 / 1998 wissenschaftliche Mitarbeiterin der Sektion
Kinderzahnheilkunde des Zentrums für
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde in Halle

Promotion

seit 1995 Institut für Anatomie und Zellbiologie der
Medizinischen Fakultät Halle

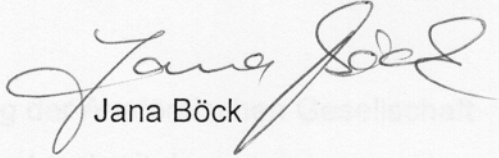
Halle, 11. 09. 1999



Selbständigkeitserklärung

Ich erkläre an Eides Statt, daß ich die vorliegende Dissertation selbstständig ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Halle, 11.09.1999

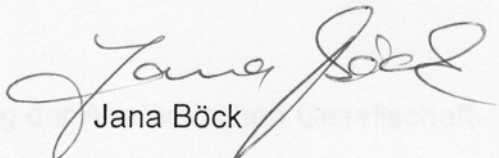


Jana Böck

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, daß ich bisher keine Promotionsversuche unternommen habe. Weder diese noch eine andere Dissertation wurde von mir im In- oder Ausland einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Halle, 11.09.1999



Jana Böck

Publikation von Ergebnissen

Vorstellung wesentlicher Ergebnisse der Arbeit durch die Posterpräsentationen:

Elastic fibres in human uterine tube: An electron microscopic study.

Schultka R, Meinel R, Böck J

24.- 27.05.1997 Joint Meeting der Anatomischen Gesellschaft
in Olsztyn / Polen (92. Versammlung) mit der
Polnischen Anatomischen Gesellschaft

02.- 04.09.1997 37. Tagung der Slowakischen Gesellschaft
in Nitra / Slowakei mit internationaler Beteiligung

Ultrastrukturelles Verteilungsmuster von elastischen Fasern in der menschlichen Tuba uterina.

Böck J, Schultka R, Meinel P

26.- 29.03.1999 94. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft
in Hamburg

Danksagung

Meinen herzlichen Dank an:

Herrn Prof. Dr. sc. med. R. Schultka für die Überlassung des interessanten Themas, die immer gewährte Unterstützung und die wertvollen Anregungen,

Frau U. Beyer und Frau I. Hirsch für die Einweisung in Laboratoriumsarbeiten und die hilfreiche Unterstützung bei der Herstellung der Präparate,

Herrn Dr. P. Meinel für die technische Unterstützung bei der Arbeit am Elektronenmikroskop,

Herrn Ing. M. Frommann für die Hilfe bei der Anfertigung des Bildmaterials

Herrn Prof. Dr. med. Dr. agr. B. Fischer für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes,

meiner Familie für die moralische Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit.