

Aus dem Institut für Tierpathologie
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. Wolfgang Schmahl)

**Eine morphologische und histologische Untersuchung des
Ganglion pelvinum nach experimenteller Schädigung des N.
cavernosus bei der Ratte**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der Tierärztlichen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Katharina Birkmann
aus Krefeld

München 2008

Gedruckt mit der Genehmigung der tierärztlichen Fakultät der Ludwigs-Maximilians-
Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Schmahl
Koreferrent: Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. habil. Sinowatz

Tag der Promotion: 6. Februar 2009

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Literaturübersicht	6
1.1 Einleitung	6
1.2 Erektile Dysfunktion	8
1.3 Techniken der Nervenrekonstruktion	10
1.3.1 Nervenrekonstruktion	10
1.3.2 Künstliche Nervenleitbahnen	13
1.3.3 Regenerationsfördernde neurotrophe Faktoren	19
1.4 Das Ganglion Pelvinum	22
2. Eigene Untersuchungen	25
2.1 Material und Methoden	25
2.1.1 Zielsetzung	25
2.1.2 Versuchstiere	25
2.1.3 Haltungsbedingungen	26
2.1.3 Versuchsaufbau	27
2.1.4 Morphologische und morphometrische Untersuchungen	36
2.1.5 Zählmethoden	41
2.1.6 Bildanalyse	42
2.1.7 Morphometrische Auswertung	42
2.1.8 Statistische Analyse	44
3. Ergebnisse	46
3.1 Histologische Ergebnisse	47
3.2 Ganglienzelldichte	49
3.3 Anzahl an Satellitenzellen pro Ganglienzelle	54
3.4 Anteil an vakuolisierten Ganglienzellen	57
3.5 Ergebnisse der morphometrischen Untersuchung zur Ganglienzellfläche	60
3.5.1 Ergebnisse der Hauptstudie	60
3.5.3 Ergebnisse der Verlaufsstudie	71
3.6 Fläche der Ganglienzellkerne	80
3.6.1 Ergebnisse der Hauptstudie	80
3.6.2 Ergebnisse der Verlaufsstudie	87
3.7 Korrelation der Fläche der einzelnen Zellkerne mit der Fläche der einzelnen Ganglienzellen	95
3.8 Kernflächenanteil am Ganglienzellquerschnitt	97
4. Diskussion	102

4.1 Normaler Aufbau des Ganglion pelvinum der Ratte und tierartliche Unterschiede	102
4.2 Speziespezifische Unterschiede	103
4.3 Morphometrische Normwerte gesunder Ganglien	104
4.3.1 Ganglienflächen	104
4.3.2 Absolute und relative Kernflächen	105
4.3.3 Anzahl der Satellitenzellen	107
4.4 Morphologie und Morphometrie nach experimenteller Durchtrennung des N. cavernosus	107
4.4.1 Allgemeine Zytomorphologische Veränderungen	107
4.4.2 Zytoplasmatische Vakuolisierung	109
4.4.3 Veränderungen in der Zelldichte	109
4.4.4 Morphometrische Veränderungen bei erfolgloser Regeneration	111
4.5 Morphometrische Anzeichen erfolgreicher Regeneration	116
4.5.1 Ganglienzellflächen	116
4.5.2 Absolute und relative Kernflächen	120
4.5.3 Anzahl der Satellitenzellen	126
4.6 Morphologisches Korrelat der Erektionsfähigkeit auf Ganglienzellebene	127
4.7 Kritische Überlegungen zur eigenen Studie	131
5. Zusammenfassung	133
6. Summary	135
7. Literaturverzeichnis	137
8. Abkürzungsverzeichnis	145
9. Anhang	146
9.1 Mittelwerte der Hauptstudie	146
9.2 Mittelwerte der Verlaufsstudie	148
10. Danksagung	150
11. Lebenslauf	151

1. Literaturübersicht

1.1 Einleitung

Verletzungen der Nervi erigentes können zu einer neurogenen erektilen Dysfunktion führen. Schädigungen dieser Art treten häufig als Komplikation der radikalen Prostatektomie (Chang et al., 2003) aber auch durch unfallbedingte Verletzungen im Beckenbereich auf. Das Prostatakarzinom ist seit 1998 die häufigste Krebserkrankung des Mannes. Pro Jahr werden nach Angaben des Robert-Koch-Instituts 49.000 Neuerkrankungen diagnostiziert (Robert-Koch-Institut, 2007). Nach Lungen- und Darmkrebs steht es an dritter Stelle der zum Tode führenden Erkrankungen. Die radikale Prostatektomie ist ein häufiges Verfahren zur Behandlung des malignen Prostatakarzinoms (Chang et al., 2003, Holmberg et al., 2002, Montorsi et al., 2004). Komplikationen dieser Therapie sind neben Inkontinenz, die nur mit einer Häufigkeit von 5% auftritt, vor allem erektile Funktionsstörungen (Hautmann und Huland, 2001). Zwar wird durch nervenschonende Operationstechniken versucht die erektilen Nerven zu erhalten, dennoch ist es intraoperativ oder aus onkologischer Sicht nicht immer möglich (Chang et al., 2003). Denn das Prostatakarzinom hat die Tendenz die Prostata kapsel zu penetrieren und somit auch die dort verlaufenden neurovaskulären Strukturen in Mitleidenschaft zu ziehen. Eine Schonung der Nerven ist daher häufig nicht vertretbar.

Laut Statistik ist nur in rund 50% der Fälle und nur bei Männern unter 60 Jahren der Erhalt der Erektionsfähigkeit wahrscheinlich. Ebenfalls von Bedeutung ist, ob eine einseitige oder eine beidseitige Exzision durchgeführt worden ist. Bei einseitiger Exzision ist die Wahrscheinlichkeit, die Potenz zu erhalten wesentlich größer, da die erhaltenen neurogenen Strukturen der kontralateralen Seite kompensatorisch arbeiten. Während hingegen bei beidseitiger Exzision der neurovaskulären Bündel fast 100% der Männer dauerhaft impotent werden (May et al., 2005). Die neurogene erektile Dysfunktion als Komplikation der radikalen Prostatektomie bedeutet für die betroffenen Personen eine gravierende Minderung der Lebensqualität (Siegel et al., 2001).

In der Vergangenheit wurden verschiedene Methoden entwickelt, um diesem Problem entgegenzuwirken. Neben der Anwendung nervenschonender Operationstechniken wurde versucht, eine Rekonstruktion der erektilen Nerven zu erreichen. Autologe und allogene Nerventransplantationen sowie die Implantation von Silikonröhrchen, die den geschädigten Nerven als Leitschiene dienen sollten, fanden ihre Anwendung. Leider brachten alle diese

Verfahren nur mäßige Ergebnisse. Nur in wenigen Fällen konnte eine zufriedenstellende und mit medikamenteller Unterstützung ausreichende Erektion erreicht werden (Slawin et al., 2002).

Mit Hilfe der vorangegangenen Studien von Christiane Caspers und Thomas Mrva sollten neue Möglichkeiten entwickelt werden, um die Nervenrekonstruktion zu verbessern. Dabei wurden die Funktion der Schwannschen Zellen im peripheren Nervensystem und ihr Beitrag zur neurogenen Regeneration in den Mittelpunkt gestellt. Es wurde gezeigt, dass die Implantation von Silikonröhrchen, die mit homologen Schwannschen Zellen oder mit gentechnisch modifizierten Schwannschen Zellen, die bestimmte Wachstumsfaktoren überexprimieren, gefüllt sind, zu einem deutlich größeren Regenerationserfolg der erektilen Nerven führt. In der vorliegenden Studie wird nun weiterführend untersucht, inwieweit sich die erfolgreiche Rekonstruktion der erektilen Nerven durch die gerade erwähnten Verfahren auch morphologisch auf Ganglienenbene ablesen lässt.

1.2 Erektile Dysfunktion

Die radikale Prostatektomie wurde erstmals 1904 von Hugh Hampton Young durchgeführt und stellt noch heute das wichtigste Therapieverfahren des Prostatakarzinoms dar (Scott, 1997, Lue et al., 1995). Bei dieser Operation wird die gesamte Prostata einschließlich der Samenblase entfernt. Der Zugang erfolgt retropubisch oder perineal. Das Prostatakarzinom besitzt die Tendenz, an den Perineuralspalten der Nervendurchgangsstellen in die Prostatakapsel zu penetrieren. Daher ist in vielen Fällen die Exzision der neurovaskulären Bündel unumgänglich (May et al., 2005). Eine häufige, daraus resultierende Komplikation ist daher die erektile Dysfunktion.

Erektile Funktionsstörungen können viele verschiedene Ursachen haben. Man unterscheidet zwischen einer arteriogenen, einer venogenen und einer neurogenen erektilen Dysfunktion. Der arteriogenen Form können sowohl die Durchtrennung der A. pudenda als auch Dysfunktionen des Endothels aufgrund von Artherosklerose, Hyperinsulinämie, Hyperlipidämie oder starkem Nikotin-Abusus zugrunde liegen (Hauri, 2002). Während hingegen die venogene erektile Dysfunktion durch Zubildung und Fibrosierung der glatten Muskulatur im Schwellkörper und daraus resultierender venöser Abflussstörung entsteht (Nehra et al., 1996). Zwölf Monate post operationem kann bei einer arteriogenen Genese noch mit einer Erektionsrate von 31% gerechnet werden. Allerdings ist nur bei 9% der Patienten, bei denen die erektile Dysfunktion einen venösen Ursprung hat, wieder eine Erektion zu erwarten (Mulhall et al., 2002). Die neurogene erektile Dysfunktion kann einerseits zentral durch Dopamin- oder Androgen-Mangel und andererseits aber auch durch eine periphere Schädigung der Nervi erigentes bedingt sein. Die Exzidierung der Nerven ist eine häufig auftretende Komplikation der radikalen Prostatektomie (May et al., 2004). Aber auch bei der Freilegung der Harnröhre oder bei der Durchtrennung der Urethra kann es intraoperativ zu einer Schädigung der für die Erektion verantwortlichen Nerven kommen (Klotz, 1999). Nach beidseitiger Nervenexzision ist nur bei höchstens 10% der Patienten wieder mit einer spontanen Erektion zu rechnen (Siegel et al., 2001). Die Prognose für die Wiedererlangung der Erektionsfähigkeit ist umso besser, je jünger die Patienten sind. Denn man vermutet, dass die Regenerationsfähigkeit der Nerven mit zunehmendem Alter abnimmt (Quinlan et al., 1991a).

Ein Verfahren, das zum Erhalt der Erektionsfähigkeit beiträgt, stellt die nervenschonende radikale Prostatektomie dar. Diese Methode wurde erstmals 1983 von Walsh und seinen Mitarbeitern durchgeführt. Hierbei werden die neurovaskulären Bündel auf einer Seite oder

im besten Fall beidseitig möglichst vollständig erhalten (Catalona and Bigg, 1990, Villers et al., 1989). Mit Hilfe dieser Operationstechnik ist es, nach einer Rekonvaleszenzzeit von mindestens sechs Monaten, bei einseitiger Nervenschonung, 39% der Patienten möglich eine spontane Erektion zu erlangen. Bei bilateraler Nervenschonung zeigen sich sogar 63% der Patienten potent (Catalona and Bigg, 1990). Bei Patienten, die jünger sind als fünfzig Jahre, können über 80% wieder spontane Erektionen erlangen (Catalona and Bigg, 1990, Chaikin et al., 1996, Klotz, 1999). Der Erhalt der Erektionsfähigkeit steht also im direkten Zusammenhang mit dem Alter, mit dem Stadium der Erkrankung und ob einseitig oder bilateral nervenschonend operiert werden konnte (Catalona and Basler, 1993). Wird allerdings intra operationem durch Palpation festgestellt, dass der Tumor bereits die Prostatakapsel penetriert hat, so ist die Anwendung dieses Verfahren kontraindiziert (Hautmann und Huland, 2001).

1.3 Techniken der Nervenrekonstruktion

1.3.1 Nerventransplantation

Die Nerventransplantation wurde in der Vergangenheit als erstes Verfahren entwickelt, um langstreckige Nervendefekte zu überbrücken.

Hierbei kann zwischen allogenen, xenogenen und syngenen bzw. autologen Transplantaten unterschieden werden.

Allogene Transplantate stammen von einem Individuum der gleichen Spezies, unterscheiden sich aber genetisch von ihrem Empfänger. Bei der Verwendung solcher Transplantate sind häufig Abstoßungsreaktionen auf Seiten des Empfängers zu beobachten. Ursache dafür ist, dass das körperfremde Material Histokompatibilitätskomplexe auf seiner Oberfläche präsentiert (major histocompatibility complex MHC). Diese Antigene sind genetisch festgelegt und führen dazu, dass das Immunsystem des Empfängers aktiviert wird und es somit zu einer Abstoßung des Transplantates kommt (Trautwein, 1990). Dennoch berichtet Foidart-Dessale von Versuchen, in denen mit Hilfe von allogenen Nerventransplantaten ein 20 mm großes Segment des N. ischiadicus überbrückt werden konnte. Nach einem Beobachtungszeitraum von einem Jahr waren fast alle motorischen Fähigkeiten der Tiere wieder hergestellt. Allerdings handelte es sich in diesem Fall um Tiere eines Inzuchtstammes, aufgrund dessen keine Abstoßungsreaktionen auftraten (Foidart-Dessalle et al., 1997).

Da xenogene Transplantate sogar von einer anderen Tierart stammen, ist bei ihrer Verwendung noch häufiger mit Unverträglichkeitsreaktionen zu rechnen (Rodriguez et al., 2000).

Die Interposition autologer Nerventransplantate ist in vielen Bereichen, wie bei Verletzungen der peripheren Nerven oder des N. facialis, sehr etabliert (Stephanian et al., 1992, Sedel and Nizard, 1993). Sie führt zu deutlich besseren Ergebnissen, da in diesem Fall körpereigenes Material verwendet wird. Aufgrund der genetischen Übereinstimmung mit dem Transplantat sind keine Abstoßungsreaktionen zu erwarten und durch spannungsfreie End-zu-End-Anastomosen können selbst große Nervendefekte überbrückt werden (Foidart-Dessalle et al., 1997). Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist, dass mit Hilfe des longitudinalen Faserverlaufs und der Büngner Bänder des Transplantates der axonalen Regeneration ein komplexes Leitschienensystem zur Verfügung gestellt wird (May et al., 2005). Erstmals

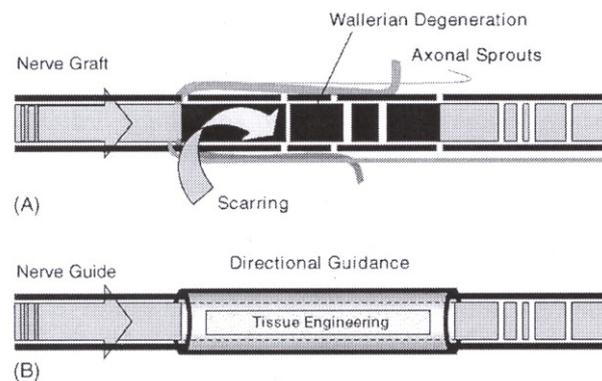
wurden autologe Nerventransplantationen von Philipeaux und Vulipan 1810 beschrieben. Sie verwendeten ein Segment des N. lingualis zur Überbrückung eines Defektes des N. hypoglossus des Hundes (Fields et al., 1989). Ein Nachteil dieser Methode ist einerseits, dass durch die Wallersche Degeneration, die einsetzt um das Nerveninterponat abzubauen, kein optimales Wachstumsmilieu für den regenerierenden Nerv herrscht. Um diesen Effekt zu verhindern, sollten bereits prädegenerierte Transplantate verwendet werden (Danielsen et al., 1995). Andererseits darf nicht vergessen werden, dass sich durch die Entnahme des Nerventransplantates die Operationsdauer verlängert und an der Entnahmestelle Mobilitäts- und Sensibilitätsverluste auftreten (Heath and Rutkowski, 1998, Buti et al., 1996).

Des Weiteren kann noch zwischen zellulären und azellulären Transplantaten unterschieden werden. Zelluläre Transplantate enthalten vitale Schwannsche Zellen, die für die regenerierenden Axone ein günstiges Wachstumsmilieu schaffen (May et al., 2005). Gulati stellte in einer Untersuchung fest, dass zelluläre Nerveninterponate in der Lage sind, die Regeneration und die Remyelinisierung eines Nervs über eine 4 cm lange Strecke zu fördern. Während es hingegen bei azellulären Transplantaten, die nur die geschädigte Basalmembran ersetzen, nur in den ersten 2 cm nahe dem proximalen Stumpf zum Nervenwachstum kommt. Auch 24 Wochen nach der Transplantation konnte am distalen Anteil keine Regeneration festgestellt werden. Die Migration vitaler Schwannscher Zellen vom proximalen Nervenstumpf bis hin zum distalen Teil des Transplantates scheint also äußerst wichtig für die Regeneration von Axonen über längere Strecken zu sein (Gulati, 1988).

Die Rekonstruktion erektiler Nerven beim Menschen ist im Vergleich zum Tiermodell technisch deutlich schwieriger, da die kavernösen Nerven in diesem Fall keine klar definierten Einzelstrukturen, sondern ein Geflecht aus vielen verschiedenen Nervenfasern sind (May, 2005). Daher erfolgten Nerventransplantationen zur Regeneration exzidiert neurovaskulärer Bündel bisher klinisch einzig durch Verwendung autologer Nerveninterponate.

Im Tierversuch wird die Verwendung des N. genitofemoralis als autologes Nerventransplantat zur Rekonstruktion des N. cavernosus beschrieben (Ball et al., 1992, Quinlan et al., 1991b). Einerseits ist es von Vorteil, dass der N. genitofemoralis in seinem Durchmesser in etwa dem des N. cavernosus entspricht. Andererseits hat seine Exzision nur einen geringen Verlust der Funktion des M. cremaster und der Hautsensibilität an der Hüfte zur Folge. Des Weiteren ermöglicht seine Länge eine spannungsfreie Adaptation durch eine End-zu-End-Anastomose. Von Nachteil ist es aber, dass sich beide Nerven doch deutlich in ihrem neurohistologischen Aufbau voneinander unterscheiden. Ball berichtet, dass nach drei Monaten bei 30% und nach sechs Monaten bei 70% der Ratten Erektionen nachzuweisen waren (Ball et al., 1992).

Beim Menschen verwendete erstmals Walsh Transplantate des N. genitofemoralis zur unilateralen Nervenrekonstruktion nach radikaler Prostatektomie. Er konnte die Ergebnisse der Tiermodelle nicht bestätigen. Zwar lassen sich mit der autologen Nerven transplantation bessere Ergebnisse hinsichtlich der Erektionsfähigkeit erzielen, aber dennoch sind die Ergebnisse nicht zufriedenstellend (Walsh, 2001). Die Transplantation des N. suralis lieferte beim Menschen bessere Erfolge. So zeigten 12 Monate nach einer bilateralen Transplantation 26% der Patienten spontane Erektionen. Mit Hilfe medikamentöser Therapie in Form von Sildenafil (Viagra, Pfizer Karlsruhe) waren sogar 43% der Patienten in der Lage Erektionen zu bekommen (Kim et al., 2001). Ebenso berichtet Chang in seiner Veröffentlichung aus dem Jahre 2003, dass 43% der Patienten nach bilateraler Nerven transplantation eine für den Geschlechtsverkehr ausreichende erektile Funktion aufwiesen. Davon benötigten allerdings 6 Patienten wiederum die Unterstützung von Sildenafil (Chang et al., 2003).



- Abb. A: Darstellung eines autologen Nerven-Transplantates
 Durch die einsetzende Wallersche Degeneration entsteht kein optimales Wachstumsmilieu für den regenerierenden Nerv. Des Weiteren kann intraneurale Narbenbildung das gerichtete Wachstum hemmen und zum Sprouting führen.
- Abb. B: Darstellung einer künstlichen Leitschiene
 Künstliche Interponate verhindern sowohl das Sprouting regenerierender Axone als auch die intraneurale Narbenbildung. Als Leitschiene führen sie den Nerv direkt zum Zielorgan oder Gebiet, das reinnerviert werden soll.

1.3.2 Artificielle Nervenleitschienen

1.3.2.1 Silikonröhrchen als artificielle Nervenleitschienen

Eine weitere Möglichkeit zur Rekonstruktion exzidierter oder geschädigter Nerven neben der Transplantation ist die Verwendung von artifiziellen Nervenleitschienen. Hierbei werden sowohl das proximale als auch das distale Ende des verletzten Nerven in ein Röhrensystem eingeführt und fest mit diesem verbunden.

Versuche dieser Art wurden schon im 19. Jahrhundert von Glück und von Bünigner dokumentiert. Allerdings konnte damals keine erfolgreiche Regeneration festgestellt werden (Fields et al., 1989). Erst Conley gelang es 1955 nach einer radikalen Parotidektomie 4 Plastikzylinder als künstliche Leitschienen erfolgreich nach einer Nervenretransplantation einzusetzen und somit die Regeneration des Nerven zu verbessern und die Narbenbildung zu reduzieren (Conley, 1955).

In der heutigen Zeit werden vor allem Silikonröhrchen als artificielle Nervenleitschienen verwendet. Aber auch Röhrchen aus Polyethylen, Polyvinylchlorid oder aus Gummi finden ihre Anwendung (Fields et al., 1989). Für den erfolgreichen Einsatz in der Humanmedizin sollten die Nervenleitschienen gut verträglich, möglichst dünn, flexibel und durchsichtig sein. Des Weiteren sollten aufgrund ihrer Verwendung keine pathologischen Veränderungen wie Verwachsungen, Fibrosen, Ischämien oder Ödeme auftreten.

Ducker und Hayes konnten 1968 in ihrer Langzeitstudie erstmals belegen, dass die Implantation von Silikonröhrchen eine bessere Möglichkeit darstellt, die Regeneration geschädigter Nerven zu unterstützen als bisher angewendete herkömmliche Anastomosen oder Kollagenmaterialien. Sie beurteilten bei 6 Schimpansen die Regeneration der geschädigten Nerven und das Langzeitverhalten des Organismus auf das Transplantat über einen Beobachtungszeitraum von 3 Jahren. Dabei konnten sie feststellen, dass die Nervenregeneration sehr gut war und dass nur selten Infektionen auftraten. Des Weiteren war die Narbenbildung gering und es erfolgte keine Abstoßung der implantierten Silikonröhrchen. Genau wie zu späterer Zeit auch Danielsson oder Dahlin und Lundborg stellten sie fest, dass das verwendete Silikonröhrchen in seinem Durchmesser 2,5 bis 3 Mal größer sein sollte, als der geschädigte Nerv selber, da andernfalls durch das Anschwellen der Nervenstümpfe Quetschungen die Folge sein könnten (Ducker and Hayes, 1968, Dahlin and Lundborg, 2001, Danielsson et al., 1996). 1982 konnte dann Lundborg durch die Verwendung von Silikonröhrchen als artificielle Nervenleitschiene zur Rekonstruktion des N. ischiadicus bei Ratten über eine Strecke von 10-15 mm die Ergebnisse von Ducker und

Hayes bestätigen. Man kam zu der Erkenntnis, dass es von größter Wichtigkeit ist, dass sowohl der proximale als auch der distale Nervenstumpf fest im Röhrchen fixiert ist (Lundborg et al., 1982a, Lundborg et al., 1982b, Danielsen et al., 1983). Auch Zhang ist der Meinung, dass die Anwesenheit des distalen Nervenstumpfes notwendig ist, da dieser neurotrophe Faktoren exprimiert (Zhang et al., 1997). Des Weiteren berichtet Diaz-Flores, dass die vom distalen Nervenstumpf exprimierten Faktoren der Stimulation von Schwannschen Zellen, Fibroblasten, Makrophagen und der Gefäßeinsprossung dienen (Diaz-Flores et al., 1995). Daher ist also die Anwesenheit des distalen Nervenstumpfes im Silikonröhrchen für eine erfolgreiche Regeneration des geschädigten Nervs absolut notwendig.

Ein weiterer wichtiger Punkt ist, dass nicht die Röhrchenlänge, sondern der Abstand des proximalen zum distalen Nervenstumpf die erfolgreiche Regeneration des Nervs bestimmt (Henry et al., 1985). Danielsen zeigte in einem Versuch mit Ratten, dass im Falle eines Nervenspalts, der größer als 10 mm ist, keine vollständige Regeneration des Nervs stattfindet (Danielsen et al., 1983).

Neben undurchlässigen Silikonröhrchen finden auch permeable Nervenleitschienen ihre Anwendung. Zwar ist es von Vorteil, dass vermehrt Nährstoffe in das Lumen des Röhrchens diffundieren und auch Gefäße von aussen einsprossen können, aber dennoch findet bei dieser Methode ein geringeres Nervenwachstum statt (Dahlin and Lundborg, 2001). Obwohl das Axon in der ersten Woche der Regeneration ein verstärktes Wachstum zeigt, bietet die Verwendung der permeablen Silikonröhrchen keinen entscheidenden Vorteil gegenüber nicht permeablen Leitschienen. Denn im zweiten Falle ist nach der ersten Woche der Regeneration im gesamten weiteren Zeitraum ein verstärktes Axonwachstum zu beobachten (Danielsson et al., 1996, Danielsson et al., 2001).

Eine weitere Möglichkeit der Nervenrekonstruktion bietet die Verwendung von Leitschienen aus biologisch abbaubaren Materialien. Für ihre Herstellung werden resorbierbare Stoffe wie Polyester oder Polymere aus Kollagen-Glukosaminoglykanen verwendet. Da diese Materialien nach einer gewissen Zeit vom Körper abgebaut werden, geht zum einen von ihnen nicht die Gefahr eines Fremdkörperreizes aus und zum anderen ist keine zweite Operation zur Entfernung der Leitschiene mehr nötig. Allerdings kann es beim Abbau der Leitschiene durch Hydrolyse zum Anschwellen der Wände kommen, was eine beträchtliche Verkleinerung des inneren Durchmessers zur Folge hat. Dies kann sich durch eine mögliche Kompression des Nervs negativ auf seine Regeneration auswirken. Henry zählte in solchen resorbierbaren Röhrchen deutlich weniger Nervenfasern, als in vergleichbaren nicht resorbierbaren Silikonröhrchen (Henry et al., 1985). Auch Dahlin ist der Meinung, dass solche resorbierbaren Materialien zwar als ideal erscheinen, aber dennoch Probleme in

Form von Makrophageninvasion, Fibrose und nicht organisiertem axonalen Wachstum verursachen (Dahlin and Lundborg, 2001).

Neben Implantaten in Röhrenform wurden auch andere resorbierbare Materialien für die Rekonstruktion von Nerven verwendet. So umwickelten Molander et al. bei Kaninchen einen 7 mm langen Defekt des N. tibialis mit einem Netz aus Polyglactin. Nachdem sowohl der proximale als auch der distale Nervenstumpf mit dem Polyglactinnetz umwickelt sind, formt sich daraus ein Röhrchen und bildet somit eine Nervenleitschiene. Der Grundgedanke dieser Methode ist es, den Nervenspalt mit Hilfe dieses Netzes so lange zu überbrücken, bis sich eine Hülle aus proliferierenden Zellen gebildet hat (Molander et al., 1982). Allerdings zerfällt das Polyglactinnetz schon nach einer Woche in einzelne Fragmente und wird dann vom Körper abgebaut. Daher muss auch in diesem Fall damit gerechnet werden, dass sich das den Nervendefekt umgebene Milieu nicht positiv auf die Regeneration auswirkt. Und, da dem Nerv schon nach 1 Woche keine stabile Leitschiene mehr zur Verfügung steht, ist das Auftreten von ungerichtetem Nervenwachstum möglich. Des Weiteren ist bekannt, dass eine Nebenwirkung des Polyglactin das Hervorrufen von Entzündungen sein kann (Buti et al., 1996).

Die Verwendung von Silikonröhrchen als artifizielle Leitschiene scheint demnach für die Rekonstruktion von Nerven von Vorteil zu sein. Da die Länge und der Durchmesser der künstlichen Leitschienen beliebig gewählt werden können, ist eine spannungsfreie Adaptation der Nervenenden an das Silikonröhrchen möglich (May et al., 2005). Sowohl der proximale als auch der distale Nervenstumpf können nach Einbringung in das Interponat mit nur einem Heft fixiert werden. Die Leitschiene dient also der Ausrichtung des Nervenstumpfes und verhindert sowohl das ungerichtete Nervenwachstum und die schmerzhafteste Neuombildung als auch die intraneurale Narbenbildung (May et al., 2005b). In ihrem Lumen bildet sich durch die Ansammlung von neurotrophen Faktoren und durch die longitudinale Vaskularisation durch intraneurale Gefäße ein optimales Wachstumsmilieu. Des Weiteren bietet die Leitschiene dem Nerv Schutz vor Kompression, Fibrosen und Verwachsungen mit der Umgebung. Dennoch bleibt zu beachten, dass das starre Material die Gefahr von Brüchen in sich birgt und unter Umständen chronische Fremdkörperreaktionen hervorrufen kann (Dahlin and Lundborg, 2001).

Auch bei Verletzungen der kavernoösen Nerven wurde bereits der Regenerationserfolg nach Implantation von Silikonröhrchen getestet. Ball et al. führten bei Ratten nach bilateraler Exzision der kavernoösen Nerven über eine Strecke von 5 mm eine Rekonstruktion der Nerven mit Hilfe von Silikonröhrchen durch. In die Implantate wurde noch zusätzlich ein Matrigel oder ein Matrigel kombiniert mit einem Wachstumsfaktor verabreicht. Schon drei Monate post OP zeigten 30% der Tiere, die nur das Matrigel erhalten hatten, und 50 % der Tiere, die noch zusätzlich den Wachstumsfaktor verabreicht bekommen hatten, eine Erektion

nach Elektrostimulation. In der Kontrollgruppe, in der eine reine Nervenablation durchgeführt worden war, erlangten vier Monate post OP nur 11% der Tiere eine Erektion. Aufgrund von Ergebnissen dieser Art ist die Anwendung dieses Verfahrens für die Rekonstruktion der kavernösen Nerven nach der radikalen Prostatektomie so interessant (Ball et al., 1992).

Sillikonröhrchen bieten außerdem zusätzlich die Möglichkeit, ihr Lumen mit vitalen Zellen zu füllen, die dann direkt positiv auf die Regeneration des Nervs einwirken (Dahlin and Lundborg, 2001, Seckel, 1990).

1.3.2.2 Silikonröhrchen gefüllt mit Schwannschen Zellen

Die Implantation leerer Silikonröhrchen führt selten zu einer zufriedenstellenden Regeneration der geschädigten Nerven, vor allem wenn Defekte über eine längere Distanz zu überbrücken sind (Heath and Rutkowski, 1998). Daher tritt die Implantation von artifiziellen Nervenleitschienen, die mit wachstumsfördernden Zellen bestückt sind und sich so positiv auf die axonale Regeneration auswirken, immer mehr in den Vordergrund.

Für die Beschichtung artifizierender Nervenleitschienen werden aufgrund ihrer regenerationsfördernden Eigenschaften fast ausschließlich Schwannsche Zellen verwendet (Gordon et al., 2003). Denn sie besitzen nicht nur die Fähigkeit, neurotrophe Faktoren zu sezernieren, sondern sie sind auch für die Ausbildung der Büngner-Bänder verantwortlich, die dem axonalen Längenwachstum als Leitschiene dienen. Schwannsche Zellen können aus einer peripheren Nervenbiopsie, wie zum Beispiel in diesem Fall aus Abschnitten des N. ischiadicus, gewonnen und kultiviert werden. Es ist auch möglich, die gewonnenen Schwannschen Zellen tiefgefroren aufzubewahren. Nach anschließender Kultivierung sind sie dann uneingeschränkt einsetzbar. Zur Befüllung von Silikonröhrchen sollten autologe Schwannsche Zellen verwendet werden, da andernfalls, ebenso wie bei der Nerven transplantation, eine Abstoßungsreaktion aufgrund der MHC-Antigene der Klasse I und II wahrscheinlich ist (Bryan et al., 1996). Von großer Bedeutung ist die Aufreinigung der gewonnenen Schwannschen Zellen innerhalb eines gewissen Zeitraumes (May et al., 2005a). Sie kann mit Hilfe einer magnetaktivierten Zellseparationstechnik innerhalb weniger Tage erfolgen (Strasser et al., 2000). Die nun für die Transplantation kultivierten und aufgereinigten Schwannschen Zellen zeigen keinerlei Veränderung in ihrer Fähigkeit zur Regeneration (Mosahebi et al., 2002). Nach der Implantation der beschichteten Silikonröhrchen beginnen nun die Schwannschen Zellen den Spalt zwischen dem proximalen und dem distalen Nervenstumpf zu überbrücken, und es kommt zur Ausbildung der Büngner-Bänder. Bryan konnte 1996 mit der Verwendung von Silikonröhrchen, die mit Schwannschen Zellen bestückt waren, schon nach 2 Wochen statistisch signifikant bessere Ergebnisse erzielen (Bryan et al., 1996). Und auch Levi berichtete in seinem Versuch mit Primaten über eine deutlich verbesserte Regeneration bei der Implantation von Leitschienen, die mit autologen Schwannschen Zellen gefüllt waren, im Gegensatz zur Verwendung von Leitschienen, die nur mit einem Medium gefüllt waren. Diese verbesserte Regeneration zeigte sich unter anderem in einer wesentlich höheren Anzahl myelinisierter Axone (Levi et al., 1997). Vor allem bei der Überbrückung längerer Defekte erzielt diese Methode deutlich bessere Ergebnisse. Denn der distale Nervenstumpf ist oft nicht in der Lage, genug neurotrophe Faktoren zu sezernieren, die dann über diese lange Strecke das proximale

Nervenende erreichen (Ansselin et al., 1997). Des Weiteren ist es den körpereigenen Schwannschen Zellen oft nicht möglich, vom proximalen Nervenstumpf aus über eine derartige Strecke zum distalen Stumpf zu wandern und somit den Nervenspalt zu überbrücken. Auch Ansselin erzielte deutlich bessere Ergebnisse bei der Verwendung von Schwann- Zell- beschichteten Silikonröhrchen als bei der Implantation von Leitschienen, die nur mit PBS gefüllt waren. Aber er stellte ebenfalls fest, dass sich erst ab einer gewissen Anzahl von implantierten Schwannschen Zellen die Regeneration verbessert. So zeigten Versuche am N. ischiadicus, dass bei der Verwendung von Leitschienen, die mit mehr als 500.000 Schwannschen Zellen bestückt waren, bereits im ersten Monat nichtmyelinisierte Axone elektronenmikroskopisch nachweisbar waren. Im Gegensatz dazu konnte dies bei der Implantation von Silikonröhrchen mit weniger als 500.000 Schwannschen Zellen erst nach drei Monaten festgestellt werden. Rodriguez konnte ebenfalls in seinen morphometrischen Studien bei der Verwendung von Schwannzell-beschichteten Conduits eine höhere Anzahl neugebildeter Axone und die vermehrte Bildung myelinisierter Nervenfasern nachweisen (Rodriguez et al., 2000).

Bei Schädigung der kavernösen Nerven wurden bisher die besten präklinischen Ergebnisse durch eine kombinierte Therapie unter Verwendung zellbeschichteter Nervenleitschienen erzielt (May et al., 2005a). Bei dieser kombinierten Therapie wird zum einen eine regenerationsfördernde Matrix verwendet, die mechanisch und biologisch das axonale Wachstum unterstützen soll, und die zum anderen mit wachstumsfördernden Zellen gefüllt ist. Des Weiteren wird die Regeneration zusätzlich durch Wachstumsfaktoren unterstützt, die entweder von den transplantierten Zellen produziert werden oder unabhängig von diesen appliziert werden (Gordon et al., 2003). Auch Christiane Caspers konnte in ihrer vorangegangenen Doktorarbeit zeigen, welche entscheidende Rolle die Transplantation Schwannscher Zellen bei der Rekonstruktion kavernöser Nerven spielt. Drei Monate nach bilateraler Interposition von Leitschienen, die mit Schwannschen Zellen bestückt waren, erbrachte diese Methode eine signifikant höhere erektile Funktionsrate (90%) als die Verwendung von azellulären Leitschienen (50%) oder von autologen Nerventransplantaten (30%). Auch histologisch war nach der Transplantation von Leitschienen mit Schwannschen Zellen, verglichen mit den anderen Gruppen, eine fortgeschrittene axonale Regeneration festzustellen. Diese war durch größere neuronale Flächen, die eine Vielzahl von myelinisierten und unmyelinisierten Nervenfasern enthielten, gekennzeichnet (May et al., 2005a).

1.3.3 Regenerationsfördernde neurotrophe Faktoren

Auf welche Art und Weise Nervenfasern parasymphischer Ganglien sowohl auf Verletzungen als auch auf eine durch axonale Regeneration veränderte Konzentration an neurotrophen Substanzen reagiert ist bis heute wenig erforscht. Dennoch ist bekannt, dass neurotrophe Faktoren, wie zum Beispiel Neurotrophine oder bestimmte Mitglieder Glial cell line-derived neurotrophic factor-Familie, den Erhalt und die Regeneration geschädigter Nerven fördern (Oppenheim, 1991, Davies, 1994, Laurikainen et al., 2000, Buj-Bello et al., 1995). Daher stellt die Integration solcher Substanzen in artifizielle Nervenleitschienen, die lokale Applikation an geschädigte Nerven oder die Injektion der neurotrophen Faktoren direkt in das Zielorgan eine vielversprechende Methode dar, die Nervenregeneration erfolgreich zu unterstützen. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Schwannsche Zellen mit Hilfe von retroviralen Vektoren gentechnisch so modifiziert werden können, dass sie neurotrophe Faktoren wie Nerve growth factor, Neurotrophin-3 oder Brain derived neurotrophic factor überexprimieren (Schmidt and Leach, 2003, Sayers et al., 1998, Tuszynski et al., 1998, Menei et al., 1998). Auf diese Weise wird die Regeneration der Nerven innerhalb der Silikonröhrchen durch eine hohe lokale Konzentration an neurotrophen Faktoren zusätzlich unterstützt, und gleichzeitig werden systemische Nebeneffekte vermieden. In sympathischen Ganglien sind die Neurotrophine, besonders der Nerve growth factor, von großer Bedeutung bei der Regeneration von geschädigten Nerven. Aber auch die Mitglieder der GDNF-Familie, zu der neben dem Glial cell line-derived neurotrophic factor auch Neurturin, Artemin und Persephin gehören, spielen als neurotrophe Substanzen eine entscheidende Rolle. GDNF fördert den Erhalt und die Funktion vieler verschiedener Nervengruppen sowohl im zentralen als auch im peripheren Nervensystem. Die neuroprotektive Wirkung des GDNF wurde erstmals bei dopaminergen Nerven des ventralen Mittelhirns von Rattenembryonen beobachtet (Lin et al., 1993). Aber auch der Erhalt von Motoneuronen ist unter anderem von diesem neurotrophen Faktor abhängig (Henderson et al., 1994, Oppenheim et al., 1995). GDNF benötigt für seine Signaltransduktion sowohl den Tyrosinkinase-Rezeptor c-RET, als auch den glykosylphosphatidylinositol linked α Rezeptor (GFR α) (Treanor et al., 1996, Jing et al., 1996). Krieglstein konnte 1998 zeigen, dass GDNF als Mitglied der TGF- β Superfamilie eben dieses TGF- β zusätzlich als Kofaktor benötigt, um seine neurotrophe Wirkung zu verstärken (Krieglstein et al., 1998). Das Zytokin TGF- β spielt eine entscheidende Rolle in der Entwicklung, der Differenzierung und in der Kontrolle des Zellzyklus des Nervensystems (Alexandrow and Moses, 1995, Hogan, 1996). Daher ist sein Vorkommen sowohl im sich entwickelnden als auch im adulten Nervensystem weit verbreitet (Unsicker et al., 1991). Auch die Schwannschen Zellen des peripheren Nervensystems exprimieren TGF- β 2 und 3.

Sie unterstützen somit das neurotrophe Zusammenspiel von GDNF und TGF- β , wodurch es zu einer vermehrten Bereitstellung und Stabilisierung von GFR- α Rezeptoren und auch zu einer gemeinsamen Aktivierung des Phosphoinositid-3 Kinase (Pi-3 Kinase) Signalweges kommt (Kriegelstein et al., 1998).

Die Erforschung der Regenerationsmechanismen von Nervenfasern parasymphischer Ganglien ist sehr schwierig, da die Nerven oft in kleinen, weit verstreuten Ganglien liegen, die sich nahe oder sogar in ihrem Zielorgan befinden (Palma and Keast, 2006). Daher ist auch nur sehr wenig über die neurotrophen Faktoren, die zum Erhalt und zur Regeneration der erektilen Nerven notwendig sind, bekannt, während hingegen der anatomische Aufbau und die Funktionsweise der kavernösen Nerven sehr gut erforscht sind (Burgers et al., 1991, Te et al., 1994). Laurikainen kam jedoch 2000 in seiner Studie zu dem Schluss, dass der Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) einen wichtigen Wachstumsfaktor für sympathische und parasymphische sensorische Neuronen des Penis der Ratte darstellt. Er zeigte, dass das im Penisschaft von mesenchymalen Zellen produzierte GDNF von den parasymphischen und sensorischen Nervenfasern aufgenommen und retrograd sowohl zum Ganglion pelvinum als auch zum dorsalen Spinalwurzelganglion transportiert wird. Im Ganglion pelvinum ist daher eine dementsprechend hohe Anzahl an GDNF- Rezeptor-Komponenten anzutreffen (Laurikainen et al., 2000). Und auch Palma zeigte 2006, dass erektile Nerven nach einer Axotomie neben strukturellen Veränderungen auch eine deutlich veränderte Expression der Rezeptoren der GDNF- Familie aufweisen (Palma and Keast, 2006) und GDNF somit ein wichtiger Bestandteil für die Regeneration geschädigter kavernöser Nerven ist.

Aber auch der Vascular endothelial growth factor (VEGF) spielt als neurotropher Faktor eine wichtige Rolle bei der Regeneration peripherer Nerven. Es handelt sich hierbei um ein hochspezifisches Endothelzellmitogen, das sowohl die Angiogenese unterstützt als auch die Permeabilität der Gefäße erhöht (Hobson et al., 2000, Ferrara and Davis-Smyth, 1997). Neben der Expressierung durch Epithelzellen gefäßreicher Gewebe, tritt VEGF auch in aktivierten Makrophagen und in Tumoren auf (Berse et al., 1992). Die Signalübertragung erfolgt über die Phosphotyrosinkinase-rezeptoren fms-like Tyrosinkinase-rezeptor (flt-1) und Fetal liver Tyrosinkinase-rezeptor (flr-1). Sondell konnte 1999 zeigen, dass VEGF nicht nur durch seine mitogene Wirkung auf die Endothelzellen von Gefäßen, sondern auch durch direkte neurotrophe Wirkung das axonale Wachstum geschädigter Nervenzellen des Ganglion cervicale superficiale und des dorsalen Spinalwurzelganglions adulter Mäuse verbessert. Sowohl der Nervenzellkörper als auch das Axon werden durch diesen neurotrophen Faktor stimuliert. Zusätzlich konnte eine Zunahme der Anzahl der Satellitenzellen und der proliferierenden Schwannschen Zellen beobachtet werden. Hobson verwendete VEGF um die Regeneration eines 1cm langen Defekts des N. ischiadicus zu

verbessern. Hierfür implantierte er Ratten eine Leitschiene, die mit einem auf Laminin basierenden Matrigel gefüllt war, das zusätzlich eine hohe Konzentration an VEGF enthielt. Die Ergebnisse wurden zwischen dem 5. und dem 180. Tag überprüft und zeigten, dass VEGF sowohl die Vaskularisation als auch die Regeneration innerhalb der azellulären Leitschienen verbessert. Und auch in diesem Fall konnten ein Anstieg an Schwannschen Zellen verzeichnet und mehr myelinisierte Axone histologisch gezählt werden (Hobson et al., 2000).

Auch für das Erlangen einer Erektion ist VEGF von großer Bedeutung. Das Isomer VEGF-A ist in der Lage, die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS) im Rattenpenis zu aktivieren (Hsieh et al., 2003). Das auf diese Weise gebildete Nitric Oxide (NO) führt zu einer Entspannung der glatten Muskulatur der Gefäße, wodurch es zu einem vermehrten Bluteinstrom und somit zu einer Erektion kommt. Neben seiner angiogenen Wirkung besitzt VEGF aber auch die Fähigkeit, die kavernösen Nerven bei ihrer Regeneration zu unterstützen. Lin gelang es 2003 zwei männlichen Sprague-Dawley Ratten jeweils beide Ganglia pelvina (major pelvic ganglia) zu entnehmen und diese für weitere Untersuchungen in einem auf Laminin basierenden Medium zu kultivieren. Je zwei Ganglien wurden dann mit VEGF und mit PBS behandelt. Anhand dieses Versuchs konnte er zeigen, dass schon nach 2 Tagen bei der Verwendung von VEGF ein deutlich stärkeres neuronales Wachstum zu erkennen war als in der Kontrollgruppe (Lin et al., 2003). Zur Spezifizierung auf die kavernösen Nerven war es aber notwendig, den untersuchten Bereich des Ganglion pelvinum einzugrenzen. Daher wurde für einen weiteren Versuch nur der dorso-kaudale Teil der Ganglien, in dem die Nervenzellkörper der Neuronen liegen, die den Penis innervieren, verwendet. Nach zweitägiger Kultivierung zeigte die histologische Untersuchung, dass VEGF neben dem angiogenen auch einen neurotrophen Effekt hat. Dennoch wurden die besten Ergebnisse durch eine kombinierte Verwendung von VEGF und BDNF erzielt. Daher ist anzunehmen, dass VEGF zwar die Regeneration geschädigter kavernöser Nerven unterstützt, seine Wirkung aber durch eine kombinierte Verwendung eines Neurotrophins wie BDNF verstärkt wird (Lin et al., 2003).

1.4 Das Ganglion Pelvinum

In der bisherigen Literatur erfolgte keine einheitliche Benennung des autonomen Nervensystems des Beckenbereiches. Dail bezeichnete das den Organen der Beckenhöhle benachbarte Nervengeflecht und die darin eingebetteten Ganglien zusammen als Plexus pelvinus (Dail, 1996). Zum Plexus pelvinus gehörend findet man bei der männlichen Ratte zum einen ein großes, dem lateralen Lobus der Prostata angrenzendes Ganglion, das Afferenzen sowohl vom Nervus pelvicus und als auch vom N. hypogastricus erhält. Dieses Ganglion wurde von Langworthy als „pelvic ganglion“ bezeichnet (Langworthy, 1965). Im Gegensatz dazu benannte Purinton dieses Ganglion „major pelvic ganglion“ und grenzte es somit von dem deutlich kleineren Ganglion hypogastricum ab, das nahe den feineren Ästen des N. hypogastricus und des N. pelvicus liegt (Purinton et al., 1973). Auch Keast beschrieb kleine akzessorische Ganglien, die um den Ureter und am prostataseitigen Ende des Vas deferens aufzufinden sind (Keast et al., 1989) und von Melvin wurden diese auch in Studien der hypogastrischen Ganglien einbezogen (Melvin and Hamill, 1986). Im Deutschen wird dieses Ganglion als Ganglion pelvinum bezeichnet. Bei der Ratte ist es proximo-dorsolateral auf dem dorsolateralen Prostatalappen zu finden. Die Besonderheit dieses autonomen Ganglions ist, dass es sowohl sympathische als auch parasympathische Afferenzen erhält. Sympathisch wird es vom N. hypogastricus innerviert, der vor allem aus postganglionären, unmyelinisierten Nervenfasern besteht und aus dem Ganglion mesentericum entspringt. In seinem Verlauf eingebettet in das Gekröse des Ureters innerviert er das Ganglion im kranialen Bereich (Purinton et al., 1973). Die parasympathische Afferenz erhält das Ganglion vom N. pelvicus, dessen Fasern auch als Nervi splanchnici pelvici bezeichnet werden. Er entspringt aus den Spinalnerven des 6. Lumbal- und des 1. Sakralwirbels, verläuft gefäßnah und tritt dann dorsolateral in das Ganglion ein (Purinton et al., 1973). An seiner ventralen Fläche entlässt das Ganglion pelvinum eine Nervengruppe bestehend aus einem cranialen, einem mittleren und einem caudalen Bündel, das die Harnblase innerviert. Kleinere abgehende Nervengruppen versorgen das Rektum, die Prostata, den proximalen Anteil der Urethra und den Ductus deferens (Purinton et al., 1973). Die Corpora cavernosa werden von den Nervi erigentes, die auch als kavernöse Nerven bezeichnet werden, innerviert (Lepor et al., 1985). Sie entspringen am kaudalen Pol der Prostata und ziehen dann, von der Arteria prostatica begleitet, auf der Prostata nach distal und bilden somit die sogenannten neurovaskulären Bündel. In ihrem weiteren Verlauf treten sie dann lateral zwischen Rektum und Urethra durch das Diaphragma pelvis und erreichen auf diese Weise den Penis (Ball et al., 1992, Lue et al., 1984). Hier bilden sie auf seiner Oberfläche ein Nervengeflecht, welches

sowohl die Arteria helicina als auch den M. bulbocavernosus und die corpora Cavernosa innerviert. Bei den kavernösen Nerven handelt es sich um gemischte Nerven, die sowohl myelinisierte als auch unmyelinisierte Nervenfasern enthalten. Sie bestehen vorwiegend aus postganglionären parasymphatischen, sympathischen und somatosensorischen Anteilen. Im ganglionnahen Abschnitt sind sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte autonome Ganglienzellen zu finden (Lepor et al., 1985).

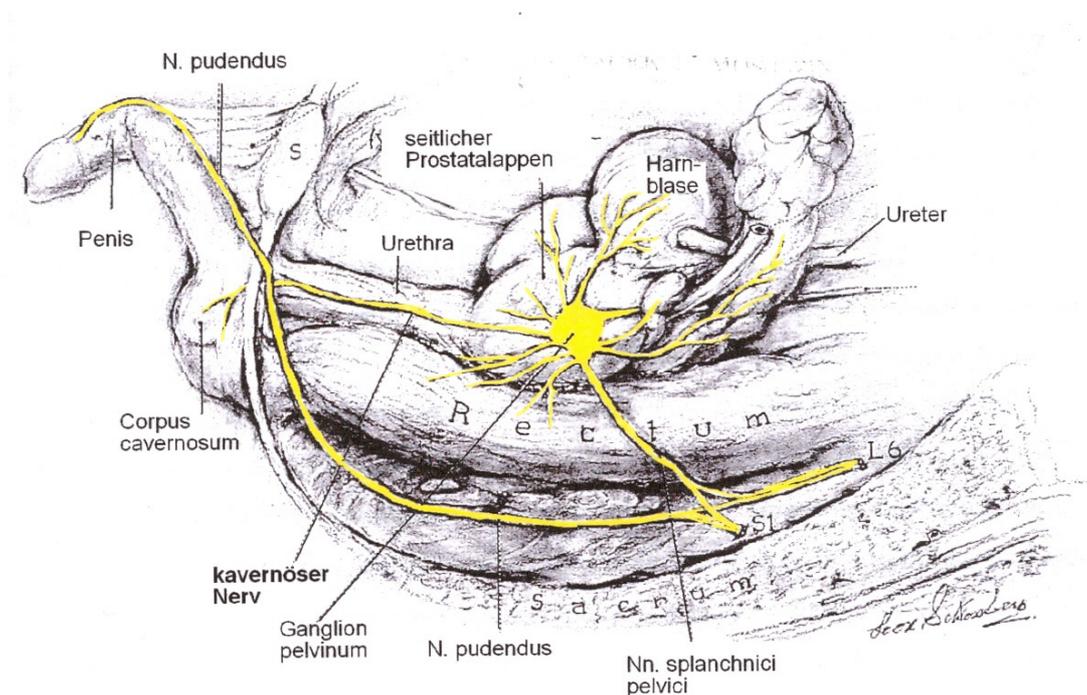


Abb.1: Neuroanatomische Übersichten im Becken der Ratte (Nerven gelb dargestellt)
In der Mitte ist das Ganglion pelvinum auf der dorsolateralen Seite der Prostata abgebildet. Die kavernösen Nerven ziehen links erkennbar vom Ganglion nach kaudal zum Corpus cavernosum (modifiziert nach Quinlan et al. 1989).

Beim Mann besteht das Ganglion pelvinum aus mehreren kleinen, weit verteilten Ganglien, die sich oft direkt in der Serosa ihrer Zielorgane befinden. Daher ist die Wahrscheinlichkeit, das Ganglion bei operativen Eingriffen zu verletzen, sehr hoch. Es bildet auf der lateralen Seite der Prostata als sogenannter Plexus Prostaticus die Fortsetzung des Plexus hypogastricus inferior, der als Sammelzentrum für sympathische und parasymphatische Nervenfasern zur Innervation der Beckenorgane gilt (Benninghoff 1993). Die somatomotorische und die somatosensible Innervation der äusseren Geschlechtsorgane erfolgt über den N. pudendus.

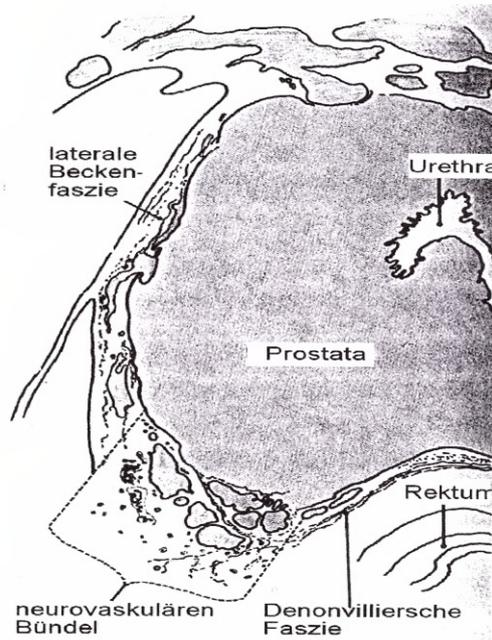


Abb.2: Schematische Darstellung der neurovaskulären Strukturen der Prostata des Mannes im Querschnitt. Sie zeigt die Lage der Nerven zwischen Prostatakapsel und Faszien (modifiziert nach Lepor et al. 1985).

Der Vorgang der Erektion wird durch Stimulation der parasympathischen Anteile der kavernösen Nerven eingeleitet. Dies führt zu einer Dilatation der Arterien bei gleichzeitiger Vasokonstriktion der Venen im Bereich der Penisschwellkörper. Aufgrund des vermehrten Bluteinstroms erhöht sich der intrakavernöse Druck, was ein Anschwellen des Penis zur Folge hat. Gleichzeitig führt die Kontraktion der glatten Muskulatur des Nebenhodens, des Ductus deferens, der Urethra sowie der akzessorischen Geschlechtsdrüsen zur Ejakulation. Verletzungen dieser Nerven haben sowohl bei der Ratte als auch beim Mann eine erektile Dysfunktion zur Folge (Giuliano et al., 1995), die eine deutliche Einschränkung der Lebensqualität bedeutet.

2. Eigene Untersuchungen

2.1 Material und Methoden

2.1.1 Zielsetzung

Im Rahmen des Gesamtprojektes sollten neue und effektive Möglichkeiten der Nervenrekonstruktion peripherer erektiler Nerven getestet und anhand klinischer und histologischer Untersuchungen etwaige Erfolge bei der Ratte erforscht werden.

Das Ziel dieser Arbeit war es, retrograde Auswirkungen der verschiedenen getesteten Möglichkeiten der Nervenrekonstruktion nach der Exzision der kavernösen Nerven auf das Ganglion pelvinum zu untersuchen. Ein besonderes Augenmerk wurde hierbei auf die Morphologie der Ganglienzellen, ihrer Zellkerne und der sie umgebenden Satellitenzellen gelegt. Das Ergebnis dieser Studie soll zeigen, inwieweit sich die verbesserte Regeneration der kavernösen Nerven durch die neuen Methoden der Nervenrekonstruktion auch morphologisch auf Ganglienebene ablesen lässt.

2.1.2 Versuchstiere

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß § 8 des Deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern genehmigt.

Für den vorangegangenen Versuch wurden 100 ca. 14 Wochen alte Ratten vom Stamm Fischer 344 (Firma Charles River in Sulzfeld/Deutschland) verwendet. Die Tiere waren zu Versuchsbeginn zwischen 225 und 275 g schwer.

2.1.3 Haltungsbedingungen

Den Tieren wurde nach der Lieferung eine Eingewöhnungszeit von einer Woche vor dem Versuchsbeginn gewährt.

Sie wurden in Gruppen zu je 4 bis 5 Tieren in Standard Makrolon®-Käfigen Typ IV gehalten. Eingestreut waren diese Käfige mit Weichholzfasern (Firma Altromin International Laage). Als Alleinfuttermittel erhielten die Tiere Pellets (Altromin 1324, Alleinfuttermittel für Ratten und Mäuse, Firma Altromin International, Laage) ad libitum. Wasser wurde ebenfalls ad libitum über Trinkflaschen, die täglich gewechselt wurden angeboten. Eine Reinigung der Käfige fand 2x pro Woche statt und bei Bedarf auch öfters. Die Haltung der Ratten erfolgte in einem speziellen Tierstall mit einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55% bis 65% und einer konstanten Raumtemperatur von 21 °C bis 23 °C.

Eine automatische Beleuchtungsdauer von 12 Stunden erzeugte einen Tag-Nacht-Rhythmus. In der Nachtphase herrschte völlige Dunkelheit.

2.1.3 Versuchsaufbau

Der Versuch wurde in eine Hauptgruppe und eine Verlaufsgruppe unterteilt. Eine genaue Gruppenbezeichnung etc. ist aus den Tabellen 1-3 ersichtlich.

Tab. 1: Hauptgruppe

Gruppen	Operationstechnik
A: Lap	Sham Group mit reiner Laparotomie und Darstellung der kavernen Nerven beidseits
B: Nervex	Nervenexzision der kavernen Nerven beidseits
C: Silikon⁻	Exzision der kavernen Nerven und Implantation leerer Silikonröhrchen
D: Transpl	Nerventransplantation der Nn. genitofemorale in den Bereich der exziierten kavernen Nerven beidseits.
E: Silikon⁺	Exzision der kavernen Nerven und Implantation gefüllter Silikonröhrchen mit homologen Schwannschen Zellen beidseits.
F: Silikon⁺+ GDNF	Exzision der kavernen Nerven und Implantation gefüllter Silikonröhrchen mit homologen Schwannschen Zellen und GDNF beidseits
G:Silikon⁺+ VEGF/PBS	Exzision der kavernen Nerven und Implantation gefüllter Silikonröhrchen mit homologen Schwannschen Zellen beidseits und VEGF/PBS Puffer
GZ: Silikon⁺+GFP	Exzision der kavernen Nerven und Implantation gefüllter Silikonröhrchen mit homologen Schwannschen Zellen beidseits und GFP Marker

Tab. 2: Verlaufsgruppe

Gruppen	Operationstechnik
A/2: Lap/2	Sham Group mit reiner Laparotomie und Darstellung der kavernösen Nerven beidseits
B/2: Nervex/2	Nervenexzision der kavernösen Nerven beidseits
C/2: Silikon⁻/2	Exzision der kavernösen Nerven und Implantation leerer Silikonröhrchen
D/2: Transpl/2	Nerventransplantation der Nn. genitofemorale in den Bereich der exziierten kavernösen Nerven beidseits.
E/2: Silikon⁺/2	Exzision der kavernösen Nerven und Implantation gefüllter Silikonröhrchen mit homologen Schwannschen Zellen beidseits.
F/2: Silikon⁺+ GDNF/2	Exzision der kavernösen Nerven und Implantation gefüllter Silikonröhrchen mit homologen Schwannschen Zellen und GDNF beidseits
G/2: Silikon⁺+ VEGF/PBS/2	Exzision der kavernösen Nerven und Implantation gefüllter Silikonröhrchen mit homologen Schwannschen Zellen beidseits und VEGF/PBS Puffer
GZ/2: Silikon⁺+ GFP/2	Exzision der kavernösen Nerven und Implantation gefüllter Silikonröhrchen mit homologen Schwannschen Zellen beidseits und GFP Marker

2.1.3.1 Verwendetes Material

2.1.3.1.1 Silikonröhrchen

Die Silikonröhrchen wurden von der Firma Sedat, Irigny Frankreich bezogen und wiesen eine ursprüngliche Länge von 15 m auf. Ihr Innendurchmesser betrug 0,508mm und ihr Aussendurchmesser 0,9398mm. Nach dem Zuschneiden auf 0,5cm wurden diese in Alufolie verpackt und bei 121 °C für 20 min autoklaviert (tuttbauer Autoclave-Steam-Sterilizer). Für die Gruppen Silikon⁺ wurde jedes Röhrchen mit je 25000 Schwannschen Zellen pro µl gefüllt.

2.1.3.1.2 Nahtmaterial

Für die Nerven-Transplantation und die Fixierung der Silikonröhrchen wurde ein 10-0 Ethilen Faden verwendet. Während hingegen die Haut- und Muskelnäht jeweils mit einem 4-0 Monocryl-Faden angefertigt wurde.

2.1.3.1.3 Kultivierung der Schwannschen Zellen

Die Kulturen der primären Schwannschen Zellen aus dem N. ischiadicus wurden von Dr. Weidner, Neurologische Klinik, Universität Regensburg zur Verfügung gestellt und entsprechend der folgenden Protokolle erstellt (Weidner et al., 1999, Vroemen and Weidner, 2003):

Narkotisierten Ratten vom Stamm Fischer 344 wurden 3,5 cm lange Segmente des N. ischiadicus entnommen und mit eiskalter Hank´s-Lösung (Hank´s balanced salt solution HBSS, PAA Laboratories Österreich) gewaschen. Die Nervensegmente wurden vom Epineurium befreit und in jeweils 1 mm große Stücke zerteilt. Diese Nervensegmente wurden auf Platten mit Kollagenbeschichtung Typ 1 (5 µg/cm² Pan Biotech, Aidenbach), die mit Dulbecco´s modified Eagle´s medium (DMEM) mit 10% fetalem Kälberserum (FCS, Pan Biotech, Aidenbach) und mit Penicillin/ Streptomycin (100 U Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin, Pan Biotech, Aidenbach) angereichert waren, übertragen. Die Kulturen wurden in einem Inkubator bei 37°C und eine Atmosphäre mit 5% CO₂ gebracht.

Nach 7 Tagen erfolgte eine Übertragung auf 24 Loch-Platten, die 500 µl Hank´s balanced salt solution (HBSS) mit 3% Trypsin, 1% Kollagenase und 1% Hyaluronidase (alle von Sigma, Seelze) pro Loch enthielten. Es erfolgte eine zweistündige Inkubation bei 37°C. Die Gewebefragmente wurden dann mit einer sterilen 20-Gauge-Nadel getrennt. Die entstandene Suspension wurde für 10 min bei Raumtemperatur mit 120 G zentrifugiert. Es erfolgte eine Übertragung in Standardmedium und ein Zerteilten mit einer 22-Gauge-Hautnadel. Die daraus resultierende Zellsuspension wurde auf Polyornithin/Laminin beschichteten Kulturflaschen mit Standardmedium für 2 Tage kultiviert. Durch magnetisch aktivierte Zelltrennung (magnetic-activated cell separation MACS, Miltenyi Biotec Deutschland) und mit speziellen anti-p75^{LNGFr}-Antikörpern (Chemicon Deutschland) liessen sich Schwannsche Zellen von Fibroblasten trennen und zu 95% reine Kulturen an Schwannschen Zellen erreichen.

Die Schwannschen Zellen wurden bis zu ihrer Verwendung in flüssigem Stickstoff bei -76°C eingefroren (Weidner et al., 1999, Vroemen and Weidner, 2003).

Nach dem Auftauen wurden die Zellen in ein Röhrchen mit 5 ml Expansionsmedium gegeben. Bei 300 G wurde für 5 min zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Es wurden 10 ml Expansionsmedium hinzugefügt und aus 50 µl die Zellen ausgezählt. Der Inhalt wurde

in eine große Flasche (Cellstar Gewebekulturflasche 250 ml, 75 cm³ Nr. 658175, Greiner Bio-one, Frickenhausen) abgefüllt, 5 ml Medium hinzugefügt und die Zellen für eine Woche kultiviert. In dieser Zeit fand einmalig ein Mediumwechsel statt. Nach einer Woche liessen sich die Zellen splitten, das Medium wurde abgesaugt und 15 ml PBS zum Spülen hinzugegeben. Zu den gesplitteten Zellen kamen 5 ml Trypsin (Trypsin EDTA, Biochrom A, Berlin) und diese verblieben bei 37°C für 5 min im Brutschrank. Dann wurden 5 ml Standardmedium hinzugefügt und die Zellen in 10 ml Röhrrchen abzentrifugiert. Nach dem Auszählen liessen sich 0,5 Mio. Zellen einsetzen. Der gesamte Vorgang des Splittens wurde noch 2x wiederholt. Die Zellen wurden nach dem Auszählen abzentrifugiert und auf eine Konzentration von 25.000 Zellen/ µl eingestellt und dann in die Silikonröhrrchen verpflanzt.

Die zurechtgeschnittenen Silikonröhrrchen wurden einzeln in Alufolie verpackt und für 20 min bei 121 °C (Tuttnauer Autoclave-Steam-Sterilizer) autoklaviert.

Die Zellsuspension liess sich in einer Eppendorfpipette aufziehen und durch die Kapillarkraft in die 0,5 cm langen Röhrrchen füllen. Die gefüllten Röhrrchen wurden in eine 6 Loch-Platte (Cellstar TC 6well-Platte, Nr. 657160, Greiner Bio-one, Frickenhausen) überführt (dabei maximal 2 Röhrrchen pro Loch) und mit 2 ml Standardmedium bedeckt. Die Platte wurde für 3 Tage bei 37°C und 5% CO₂ bebrütet. Direkt vor dem Implantieren wurden das Medium entfernt und die Röhrrchen 2x mit PBS-Puffer gewaschen.

2.1.3.1.4 Gentechnische Modifizierung der kultivierten Schwannschen Zellen

Retrovirale Vektoren, die entweder die GDNF-Sequenz in vollständiger Länge oder als Kontrollreferenz das Reportegen green fluorescent protein (GFP, Clontech, Palo Alto, CA, USA) exprimierten, wurden nach bestehenden Literaturangaben hergestellt (Blesch and Tuszynski, 2001, Blesch and Tuszynski, 2003). Die Übertragung auf kultivierte Schwannschen Zellen, die von Ratten des Stammes Fischer 344 gewonnen wurden, erfolgte in vitro durch retrovirale Vektoren der der Art Moloney leukemia. Diese retroviralen Vektoren exprimierten zum einen GDNF oder GFP und besaßen zusätzlich noch ein Neomycin-Resistenzgen. Die erfolgreiche Übertragung wurde in vitro durch eine GDNF spezifische enzym-linked-immunosorbent assay (ELISA, Promega, Madison, WI, USA) bestätigt. In vivo konnte eine erfolgreiche Übertragung der Vektoren mithilfe von immunhistochemischen Untersuchungen überprüft werden.

2.1.3.2 Operationsplan

Die Ratten (225 bis 275 g KGW) wurden nach einer Allgemeinuntersuchung mit einer Kombinationsnarkose aus Midazolam, Medetomidin und Fentanyl (MMF-Kombinationsnarkose) intramuskulär betäubt (ERHARDT et al. 2002).

MMF-Kombinationsnarkose bei Ratten:

Midazolam (Dormicum®, Roche Grenzach-Wyhlen)	2 mg/kg KGW
+ Medetomidin (Dormitor®, Pfizer Karlsruhe)	0,15 mg/kg KGW
+ Fentanyl 25 (Fentanyl®, Curamed Nürnberg)	0,005 mg/kg KGW

Die Antagonisierung der Narkose fand nach Beendigung der Operation mit einer Kombination aus Atipamezol, Flumazenil und Naloxon (AFB) in Form einer subkutanen Injektion statt. (Erhardt et al. 2002)

Antagonist (AFN) bei Ratten:

Atipamazol (Antisedan®, Pfizer Karlsruhe)	0,75 mg/kg KGW
+ Flumazenil (Anexate®, Roche Grenzach-Wyhlen)	0,200 mg/kg KGW
+ Naloxon (Narcanti®, Curasan, über Pharmaselect Ladenburg)	0,120 mg/kg KGW

Die narkotisierten Ratten wurden, auf einer Wärmematte gelagert, in Rückenlage fixiert. Anschließend wurde die Bauchhöhle durch einen 4 cm langen Schnitt in der Medianen von der Beckensymphyse bis zur Mitte des Abdomens eröffnet. Die Hoden wurden aus dem Hodensack durch das Cavum vaginale intraabdominal verlagert, das Gubernaculum testis gelöst und die Hoden aus der Bauchhöhle vorgelagert. Die rechte und die linke Seite der Prostata wurden jeweils aufgesucht. Das Ganglion und die kavernösen Nerven wurden mithilfe eines Operationsmikroskopes proximal auf der Prostata dargestellt. Neben dem N. cavernosus wurden auch eine Vielzahl von kleinen Nervenfasern, die aus dem Ganglion pelvinum entsprangen und in allen Richtungen zur Beckenfaszie zogen, zur Kenntnis genommen. Zentral aus dem Ganglion entspringend, ließ sich ein Hauptstrang identifizieren, der sich teilweise auf der Mitte der Prostata nochmal in zwei Äste teilte. Für die Versuche wurde nur dieser Hauptstrang verwendet. Die über die Nerven verlaufende Faszie wurde durchtrennt und die Nerven unter Schonung der Blutgefäße mit einer 27 Gauge-Kanüle unterminiert ohne die Prostatakapsel zu verletzen. Die Exzision des 5 mm großen Stückes des N.cavernosus erfolgte mit einem jeweils scharfen Schnitt zwischen dem Ganglion pelvinum und der Beckensymphyse. Die sichtbaren dünnen, parallel verlaufenden Nervenfasern wurden ebenfalls vorsichtig durchtrennt.

2.1.3.2.1 Gruppe Laparotomie:

Diese Gruppe diente als Positivkontrolle. Hier erfolgte nur die Präparation und Darstellung der kavernösen Nerven auf beiden Seiten der Prostata. Es wurde keine Exzision durchgeführt.

2.1.3.2.2 Gruppe Nervenexzision:

Den Ratten dieser Gruppe wurde als Negativkontrolle beidseits ein 5 mm großes Stück des N.cavernosus entfernt. Sichtbare, dünne Nebenäste des Hauptnervenstranges wurden ebenfalls durchtrennt.

2.1.3.2.3 Gruppe Silikon⁻:

Den Tieren dieser Gruppe wurde beidseits ein 5 mm langes leeres Silikonröhrchen implantiert. Auch in diesem Fall wurden 5 mm des Hauptstrangs exzidiert. Der proximale und der distale Nervenabschnitt wurden mit nur einem Knoten am jeweiligen Ende des Silikonröhrchens befestigt.

2.1.3.2.4 Gruppe Nerventransplantation:

In dieser Gruppe erfolgte eine autologe Nerventransplantation durch einen Teilabschnitt des ipsilateralen N.genitofemoralis auf das exzidierte Segment des N.cavernosus. Der N. genitofemoralis verläuft parallel zu V.iliaca interna und lag somit direkt im Operationsfeld. Im nächsten Schritt wurde dem N.genitofemoralis ein 7 mm langes Segment entnommen und anschliessend sofort zwischen die Enden des exzidierten N.cavernosus platziert. Das Nervensegment wurde zuerst mit einem 10-0 Ethilon-Faden am distalen Ende des N.cavernosus am Epineurium fixiert. Dann erfolgt die Transplantation mit einer End-zu-End-Anastomose an das proximale Ende des N.cavernosus. Das Transplantat wurde etwas länger als der exzidierte Nervenabschnitt gewählt, damit eine spannungsfreie End-zu-End-Anastomose möglich war, um dem Zusammenziehen der Nervenenden und vor allem des Transplantats nach ihrer Durchtrennung entgegenzuwirken.

2.1.3.2.5 Gruppe Silikon⁺:

In dieser Gruppe wurde ebenfalls beidseits ein 5 mm langes Stück des N.cavernosus exidiert. Daraufhin erfolgte die Implantation von 5mm langen Silikonröhrchen, die zuvor mit ca. 25.000 / μ l befüllt worden sind. Die kavernösen Nerven wurden mit 10-0 Ethilon-Fäden

an der Innenwand der Silikonröhrchen fixiert.

2.1.3.2.6 Gruppe Silikon⁺+GDNF:

Bei Tieren dieser Gruppe erfolgte ebenfalls eine beidseitige Exzision eines 5mm großen Stückes des N.cavernosus. 5mm lange Silikonröhrchen, die zuvor mit syngenen Schwanschen Zellen befüllt worden sind, wurden beidseits implantiert. Allerdings wurden dies Schwanschen Zellen gentechnisch so verändert, dass sie den Wachstumsfaktor GDNF überexprimierten. Die kavernösen Nerven wurden wiederum mit 10-0 Ethilon Fäden an der Innenwand der Silikonröhrchen fixiert.

2.1.3.2.7 Gruppe Silikon⁺+VEGF/PBS:

Auch in dieser Gruppe erfolgte die Exzision eines 5mm großen Stückes des N. cavernosus. Ebenfalls wurden diesen Tieren Silikonröhrchen, die mit Schwanschen Zellen gefüllt waren und eine Länge von 5 mm aufwiesen, implantiert. Die Nervenenden wurden wiederum mit einem 10-0 Ethilon Faden an der Innenwand der Silikonröhrchen angenäht. Zusätzlich erhielten die Ratten dieser Gruppe eine intrakavernöse Injektion eines VEGF/PBS Gemisches.

2.1.3.2.8 Gruppe Silikon⁺+GFP:

Bei den Ratten dieser Gruppe wurde ebenfalls die beidseitige Exzision der kavernösen Nerven durchgeführt. Und wiederum erfolgte die Implantation von Slikonröhrchen, die mit Schwanschen Zellen gefüllt waren. Nur in diesem Fall waren die Schwanschen Zellen gentechnisch so verändert, dass sie deas Reportergeren GFP exprimierten. Die Fixation der Nervenenden in der Leitschiene erfolgt jeweils mit einem Heft.

Nach Beendigung der jeweiligen Operation wurden die Hoden in die Bauchhöhle zurückverlagert.

Als antibiotischen Behandlung erhielten die Tiere eine intraperitoneale Lavage mit 0,1 ml Baytril® 2,5% (Enrofloxacin, Bayer Leverkusen), verdünnt mit 0,5 ml NaCl.

Die Naht der Linea alba erfolgt fortlaufend mit resorbierbarem 4-0 Monocryl (Firma Ethicon®, Norderstedt). Die Hautnaht erfolgt mit Einzelheften, ebenfalls mit resorbierbarem 4-0 Monocryl (Firma Ethicon®, Norderstedt).

2.1.3.3 Postoperative Behandlung

Die Nachbehandlung erfolgte bei den Tieren aller Gruppen nach demselben Schema. Sobald nach dem Erwachen aus der Narkose der Schluckreflex wieder einsetzte, bekamen die Tiere 2 Tropfen Metamizol-Natrium (Novaminsulfon-ratiopharm 1®, Ratiopharm Ulm) oral verabreicht. Als weitere Schmerztherapie erhielten sie über zwei Tage alle zwölf Stunden 0,03mg = 0,1ml Buprenorphin (Temgesic®, Essex Pharma München) subkutan injiziert. Direkt nach dem Aufwachen wurden die Tiere über einen Zeitraum von drei Stunden unter eine Rotlichtlampe gesetzt, um den Wärmeverlust auszugleichen. Danach wurden sie wieder in ihre ursprünglichen Käfiggruppen verbracht. Futter und Wasser standen den Tieren sofort nach dem Erwachen zur freien Verfügung.

2.1.3.4 Kontrolle der Nervenregeneration mittels Elektrostimulation

Die Tiere der Hauptgruppen werden 3 Monate nach der durchgeführten Operation erneut mit der MMF-Kombinationsnarkose (Midazolam, Medetomidin und Fentanyl) betäubt. Die Tiere werden in Rückenlage fixiert und auf eine Wärmematte gelegt, abdominal rasiert und zusätzlich am Schwanzansatz und im perianalen Bereich inklusive der Hodensäcke großzügig rasiert. Es erfolgt, wie bereits in der ersten Operation beschrieben, eine erneute Laparotomie und Freilegung der Prostata. Der behandelte Bereich wird aufgesucht, überlagerndes Fettgewebe und eventuelle Verwachsungen vorsichtig stumpf gelöst und auf Nervenwachstum hin untersucht. Um besonders starke Verwachsungen schonend zu lösen, eignet sich ein Glycinpuffer gut (ADAMS et al. 1968). Dieser weist eine kollagenolytische Wirkung zum Feinpräparieren von Nervenproben, sowie eine myelinolytische Wirkung zur Befreiung von Nervenfasern von Myelin auf. Somit lassen sich Verwachsungen der Prostata mit Muskulatur und Bindegewebe sehr leicht lösen, ohne das darunter gelegene Nervengewebe zu schädigen. Für die weitere Elektrostimulation stellt der Glycinpuffer keine Beeinträchtigung dar. Die regenerierten und neu gebildeten Nerven, das Ganglion pelvinum, das Transplantat sowie das Silikonröhrchen müssen großzügig von Verwachsungen befreit werden, um ein Fehlableiten bei der Elektrostimulation zu vermeiden. Besonders Verwachsungen der Muskulatur der seitlichen Bauchwand mit der Prostata und dem Silikonröhrchen führen zu deutlichen Fehlableitungen. Für die Elektrostimulation wird der Penis aus dem Präputium vorverlagert. Eine spezielle Zirkumzidierung des Penis ist nicht nötig. Es erfolgt die Platzierung der bipolaren Stimulationselektrode, die an einen Pulsgenerator angeschlossen ist, distal des Ganglions bzw. möglichst nahe des

Transplantates oder dem Silikonröhrchen. Die Elektrostimulation wird mit 6 V, 20 Hz und 1,5 msec durchgeführt. Die Stimulation wird auf jeder Seite durchgeführt und die Erektion mit einer reinen Ja-Nein-Antwort für beide Seiten getrennt beurteilt. Zur Überwachung des Blutdrucks wird ein Katheter in der Schwanzarterie platziert und der mittlere arterielle Blutdruck aufgezeichnet. Dazu wird die Schwanzhaut durchtrennt, das Bindegewebe gelöst und der Sehnenstrang vorsichtig inzidiert. Die darunter liegende Arterie wird mit einer gebogenen Pinzette mobilisiert und vorverlagert. Mit einer 24 Gauge-Kanüle wird die Arterienwand durchstoßen, leicht angehoben und der Katheter eingeführt. Der kavernöse Druck wird über einen Katheter gemessen, der in das linke Corpus cavernosum eingeführt wird (siehe auch Abbildung 13). Als Katheter für die Druckmessung im Corpus cavernosum und im Schwanz dienen jeweils ein Silikonschlauch (Firma Karmann und Droll, München) mit einem Innendurchmesser von 0,4 mm und einem Außendurchmesser von 0,8 mm, die über eine 25 Gauge-Kanüle und einem Verbindungsschlauch beide mit dem Druckmessgerät (Andromeda Ellipse 4, Taufkirchen) verbunden sind. Beide Katheter sind mit heparinisierter Ringer-Lösung gefüllt. Um den Katheter ins Corpus cavernosum zu legen, wird ein 2 cm langer transversaler, perianaler Hautschnitt gezogen, der M. ischiocavernosus quer in seinem Verlauf durchtrennt und das Fett- und Bindegewebe gelöst. Das Crus zeigt sich als eine weißlich glänzende Bindegewebsplatte zwischen den Muskelbäuchen des M. ischiocavernosus und des M. bulbocavernosus und lässt sich stumpf lösen. Mit einer 24 Gauge-Nadel wird in die Bindegewebsplatte des Crus penis inzidiert und der Katheter locker platziert. Der richtige Sitz des Katheters zeigt sich durch das Einströmen von Blut in den Schlauch, das durch den vorhandenen kavernösen Basisdruck in den Schlauch gepresst wird. Die Elektrostimulation wird auf beiden Seiten der Prostata getrennt durchgeführt. Der Druckanstieg wird jeweils im linken Corpus cavernosum gemessen und in einer Verlaufskurve für jeweilige stimulierte Seite getrennt aufgezeichnet. Es erfolgt eine Messung des kavernösen Drucks im Ruhezustand ohne Stimulation, der so genannte Basiswert. Außerdem wird der Anstieg des kavernösen Drucks nach Elektrostimulation bis zum Erreichen des Maximalwertes (Plateau) aufgezeichnet. Zusätzlich wird die Dauer bis zum Druckanstieg in Sekunden nach Stimulationsbeginn sowie bis zum Erreichen des Maximalwertes ausgewertet. Nach Beendigung des Versuchs werden die narkotisierten Tiere mit 50 mg /kg KGW Pentobarbital (Narcoren®, Merial Hallbergmoos) intrakardial euthanasiert. Neugebildete Nervenstränge, Silikonröhren, Transplantate, das Ganglion und der Penis werden entnommen und für neuropathologische Untersuchungen archiviert. Bei den Tieren der Verlaufgruppen werden dieselben Verfahren, wie bei den dazugehörigen Hauptgruppen angewendet. Allerdings werden hier die Tiere über einen Zeitraum von 10 Wochen im zweiwöchigen Abstand geopfert, um einen zeitlichen Verlauf der Nervenregeneration zu untersuchen.

2.1.4 Morphologische und morphometrische Untersuchungen

2.1.4.1 Entnahme des Untersuchungsmaterials

Nach Beenden der flankierenden Untersuchungen wurden die narkotisierten Tiere mit 50mg/kg KGW Pentobarbital (Narkoren®, Merial Hallbergmoos) intrakardial euthanasiert. Den Ratten wurde daraufhin jeweils beidseitig das Ganglion pelvinum entnommen. Es folgte die Aufbereitung des Untersuchungsmaterials.

2.1.4.2 Aufbereitung des Untersuchungsmaterials

Die Ganglien wurden für ca. 2 Stunden in 2,5 % Glutaraldehyd bei Zimmertemperatur immersionsfixiert, anschließend mindestens 3-4 Mal gründlich in Saccharoselösung gespült und dann in einen Waschpuffer nach Sörensen verbracht, in der sie bis zur endgültigen histologischen Untersuchung im Kühlschrank bei 4°C gelagert wurden.

Zusammensetzung des Fixativs und der Waschlösung:

2, 5 % Glutaraldehyd:

Glutaraldehyd 25 %	10 ml
Ad Sörensen-Phosphatpuffer	100 ml

Sörensen-Phosphatpuffer (ph-Wert 7,4)

Lösung A:	Kaliumdihydrogenphosphat	9,078 g
	ad Aqua dest.	1000 ml
Lösung B:	di-Natriumhydrogenphosphatdihydrat	11,876 g
	ad Aqua dest.	1000 ml

192 ml Lösung A ad 808 ml Lösung B.

Waschlösung

0,2 M gepufferte D(+)Saccharose	6,84 g
ad Sörensen-Phosphatpuffer	100 ml

Nach dem Fixieren erfolgte das Zuschneiden der gewonnenen Ganglien. Hierfür wurden sie von dem umgebenden Gewebe befreit und mit einem scharfen Skalpell wurden Eintritt und Austritt des N.pelvicus und des N.hypogastricus entfernt. Das verbliebene Ganglion wurde dann in toto in Epoxidharz eingebettet.

2.1.4.3 Epoxidharzeinbettung

Vor der Epoxidharzeinbettung wurden die vorfixierten Proben zuerst für 2 Stunden in Osmiumtetroxid nachfixiert, dann drei Mal in Sörensen-Phosphatpuffer gespült und anschließend in einer aufsteigenden Acetonreihe dehydriert. Darauf folgte eine einstündige Infiltration des Gewebes mit einer Glycidäther-Mischung und Aceton. Diesem Vorgang schlossen sich zwei weitere Infiltrationen mit purer Glycidäther-Mischung an. Diese beiden letzten Infiltrationen erfolgten für jeweils eine halbe Stunde bei Raumtemperatur. Die Proben wurden daraufhin längs ausgerichtet in Einbettungsformen verbracht, die mit Glycidäther ausgegossen wurden und in denen sie dann für 48 Stunden bei 60 °C auspolimerisierten (Gabella et al., 1992, Ribeiro et al., 2004),

Für die Epoxidharzeinbettung wurden folgende Lösungen verwendet:

1% iges Osmium

Saccharose	0,45 g
Aqua bidest.	1,0 ml
0,1 ml HCL	2,0 ml
Veronalacetat-Puffer	2,0 ml
2% iges Osmium	5,0 ml

Veronalacetat-Puffer (ph-Wert 10,3)

5,5% Diäthylbarbitursäure-Natriumsalz (Merck 6318)	1,47 g
Natriumacetat (Merck 6267)	0,97 g
Aqua bidest. pH 10,3	50 ml

2% iges Osmium Tetroxid

Osmiuntetroxid	1,0 g
Aqua bidest.	50 ml

Glycidäther-Mischung

2. Eigene Untersuchungen

Lösung A: Glycidäther 100	38,32 g
2-Dodecenylsuccinicacid-4-Anhydrid	45,3 g
Lösung B: Glycidäther 100	61,80 g
Methylnacidanhydrid	56,34 g

Mischverhältnis:

Lösung A:	41,20 g
Lösung B:	75,00 g
2,4,6-Trisdimethylaminomethylphenol (Nr. 36975 Serva, Heidelberg)	1,5 ml

Epoxidharzeinbettung mit Glycidäther-Mischung

Lösung	Konzentration	Dauer	Inkubationsbedingung
Osmium-Fixation	1%	2 Stunden	Kühlschrank
Waschlösung		3x spülen	
Aceton	50%	3x spülen	
Aceton	70%	10 min	Kühlschrank
Aceton	70%	10 min	Kühlschrank
Aceton	90%	10 min	Kühlschrank
Aceton	90%	10 min	Kühlschrank
Aceton	100%	20 min	Kühlschrank
Aceton	100%	20 min	Kühlschrank
Aceton	100%	20 Minuten	Zimmertemperatur
Aceton + Glycidäther- Mischung	1:1	1 Stunde	Zimmertemperatur ohne Deckel
Glycidäther- Mischung	Pur	30 min	Zimmertemperatur ohne Deckel
Glycidäther- Mischung	Pur	30 min	Zimmertemperatur ohne Deckel

Nach der Trimmung der Proben wurden mit Hilfe eines Ultramikrotoms (Ultracut®, Reichert-Jung) jeweils 10 Schnitte mit einer Dicke von 0,5 µm pro Tier und Ganglion angefertigt. Zwischen den einzelnen Schnitten wurde jeweils ein Abstand von 25 µm eingehalten. Dieser Abstandswert wurde gewählt, um auszuschließen, dass Ganglienzellkerne mehrfach angeschnitten und damit die Zellen mehrfach ausgewertet werden. Es war notwendig immer denselben Abstand einzuhalten, damit die geblindete Probennahme gewährleistet werden konnte (Pover and Coggeshall, 1991). Die Schnitte wurden dann auf Objektträger aufgezogen und auf einer Heizplatte mit 85 °C getrocknet.

2.1.4.4 Färbung

Die angefertigten Schnitte wurden mit einer Gewebefärbung aus Azur II-Methylenblau und Safranin O eingefärbt (Jeno and Geza, 1975). Bei dieser Färbung stellen sich die Zellen und die Zellkerne blau dar, während sich das Bindegewebe rosa anfärbt.

Herstellung der Färbelösungen:

Azurblau II

Aqua dest.	100 ml
di-Natriumtetraborat wasserfrei	1 g
Azur II (Merck 9211)	1 g
Formalin konzentriert	2- 3 Tropfen

Safranin O

Aqua dest.	100ml
di-Natriumtetraborat wasserfrei (Merck 6303)	1 g
Safranin O (Chroma 1B 463)	1 g
Saccharose (Merck 7653)	40 g
Formalin konzentriert	2-3 Tropfen

Färbeprotokoll:

Schritt	Lösung	Dauer	Arbeitsvorgang	Arbeitsplatz
1	Azurblau II	20-25 sec	färben	Auf der Wärmeplatte bei 85 °C
2	Aqua dest.		waschen	
3	Safranin O	15 sec	färben	Auf der Wärmeplatte bei 55 °C
4	Aqua dest.		waschen	

2.1.5 Zählmethoden

Zur Ermittlung der Zellzahlen wurde in der vorliegenden Studie die Empirische Methode angewendet. Sie basiert auf dem Verfahren der seriellen Rekonstruktion (Pover and Coggeshall, 1991). Eine wichtige Voraussetzung für die Anwendung dieser Methode war das „unbiased sampling“. Durch die geblindete Auswahl der Ganglienzellen war die Wahrscheinlichkeit für jede Ganglienzelle, gezählt zu werden, gleich hoch (Pover and Coggeshall, 1991). Um dieses unbiased sampling zu gewährleisten, musste zum einen der Abstand aller ausgewerteten Schnitte zueinander gleich groß sein. Zum anderen wurde der erste Schnitt durch die zufällige Auswahl eines Schnittes zwischen 1 und k bestimmt und dann jeweils mit k multipliziert (Gundersen et al., 1988a, Gundersen et al., 1988b, Gundersen and Jensen, 1987, Pakkenberg and Gundersen, 1989). Zur Ermittlung der Zellzahl wird in jedem Bildausschnitt die totale Anzahl der Nukleoli bestimmt und durch die mittlere Anzahl der Nukleoli pro Ganglienzelle geteilt.

$$N = n * Ncf/ncf$$

N = totale Ganglienzellzahl

n = totale Nukleolusanzahl

Ncf = Anzahl der zufällig gezählten Ganglienzellen

ncf = Anzahl der Nukleoli in den zufällig gezählten Ganglienzellen

Der Quotient mittlere Anzahl der Nukleoli pro Ganglienzelle wird Korrekturfaktor genannt, da er die Anzahl der Nukleoli in Beziehung zur Ganglienzellzahl setzt. Aufgrund dessen, dass der Korrekturfaktor empirisch durch Zählen der mittleren Anzahl der Nukleoli pro Ganglienzellzahl ermittelt wird, wird diese Methode Empirische Methode genannt (Pover and Coggeshall, 1991).

2.1.6 Bildanalyse

In allen gefärbten Semidünnschnitten wurde bei 63er Vergrößerung (63-fach Objektiv, Plan-Neofluar) mit Hilfe eines Axioskop®-Mikroskop (Zeiss, Jena) das Ganglion pelvinum lokalisiert und mit einer Digitalkamera (Canon PowerShot G5) abfotografiert. Bei jedem der 10 angefertigten Schnitte pro Tier wurde das enthaltene Ganglion vollständig, mit nicht-überlappenden Bildern aufgenommen. Diese Bildausschnitte wurden dann mit Hilfe der ImageJ (Rasband, W.S., ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2007) Bildbearbeitungssoftware ausgewertet. Das Programm ImageJ verwendet für die Zählung der Ganglienzellen die bereits erläuterte Empirische Methode.

2.1.7 Morphometrische Auswertung

Bei der morphometrischen Untersuchung wurden, wenn möglich, fünfzig Bildausschnitte pro Tier ausgewertet. Diese wurden auf folgende Parameter untersucht:

2.1.7.1 Bestimmung der Zellzahlen

Auf jedem Bild wurden die Anzahl der Ganglienzellen, der Ganglienzellen mit Nukleus und der Ganglienzellen mit Nukleus und Nukleolus bestimmt (Coggeshall and Chung, 1984). Des Weiteren wurde auch die Anzahl der umgebenden Satellitenzellen, der vakuolisierten Ganglienzellen, der Ganglienzellen mit zwei Nuklei und der Ganglienzellen mit zwei bzw mit drei Nukleoli ermittelt. Mit welcher Häufigkeit Satellitenzellen, Vakuolisierte Ganglienzellen, Ganlienzellen mit zwei Nuklei oder Ganglienzellen mit zwei bzw. drei Nukleoli auftraten, wurde auf die Anzahl der Ganglienzellen mit Nukleus und Nukleolus bezogen.

In dieser Studie wurde sowohl für das Zählen der Ganglienzellen, als auch für das Zählen der Satellitenzellen der Nukleolus als fester Bezugsparameter der Wahl ausgesucht, da er aufgrund seiner Größe, seiner runden Form und seiner intensiven Färbung gut zu identifizieren ist (Coggeshall and Chung, 1984).

2.1.7.2 Flächenbestimmung

Um Flächen mit Hilfe der ImageJ (Rasband, W.S., ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2007) Computersoftware bestimmen zu können, musste zuerst eine Maßeinheit festgelegt werden, in dem die Fläche berechnet werden sollten. Hierfür wurde eine Skala durch das Axioskop®-Mikroskop (Zeiss, Jena) bei 63er Vergrößerung (63-fach Objektiv, Plan-Neofluar) mit der Digitalkamera (Canon PowerShot G5) abfotografiert. In diesem Bildausschnitt konnte dann in dem Maßstab eine bestimmte Strecke ausgewählt werden, für die die Maßeinheit 1µm festgesetzt wurde.

2.1.7.2.1 Referenzfläche

Im darauf folgenden Schritt wurde dann die Fläche aller Ganglienzellen pro Bild errechnet. Falls die Fläche aller Ganglienzellen eines Bildes nicht mit dem gesamten Bildausschnitt übereinsprach, wurde sie manuell mit der Maus umfahren, vom Bildbearbeitungsprogramm in µm bestimmt und nachträglich in µm² umgerechnet. Die Ermittlung der Referenzflächen war notwendig, um die Dichte bestimmen zu können (Ribeiro et al., 2004):

$$\bar{\delta}(\text{Dichte}) = \text{Ganglienzellzahl} / \text{Referenzfläche}$$

2.1.7.2.2 Fläche einzelner Ganglienzellen

Des Weiteren wurden von jedem Tier 50 Ganglienzellen mit Nukleus und Nukleolus und der dazu gehörige Nukleus einzeln mit Hilfe eines elektronischen Tabletts (MD9395 USB PC-Grafikpad, Tevion®, Essen) und eines Stiftes umfahren. Auch hier wurde die umfahrene Fläche vom Bildverarbeitungsprogramm in µm berechnet und nachträglich in µm² umgerechnet.

Anhand dieser Parameter konnte untersucht werden, wie groß das Verhältnis zwischen der Fläche der Ganglienzellen und der Fläche der Nuklei ist und ob sich dieser Index Ganglienzellfläche zur Zellkernfläche in den verschiedenen Versuchsgruppen unterscheidet oder ob sich dieser Index im zeitlichen Verlauf dieses Versuches verändert.

Die ermittelten Parameter wurden dann ins Verhältnis zueinander gesetzt. Dies bedeutet, dass zuerst die Summe aller gezählten Ganglienzellen mit Nukleus und Nukleolus pro Tier ermittelt wurde und diese dann durch die Summe der Referenzflächen pro Tier dividiert

wurde (Ribeiro et al., 2004). Die somit errechnete Dichte jedes einzelnen Tieres wurde dann in einer gemeinsamen Tabelle aufgelistet. Ebenso wurde mit der Summe der Satellitenzellen (Pannese, 1960, Pannese, 1963, Pannese et al., 2003) und der vakuolisierten Zellen pro Tier im Verhältnis zur Summe der Ganglienzellen mit Nukleus und Nukleolus pro Tier verfahren (Carmel and Stein, 1969).

Die statistische Auswertung der Ganglienzellflächen und der Nukleusflächen erfolgte anhand der Einzelwerte für jedes Tier.

2.1.8 Statistische Analyse

Folgende Parameter wurden statistisch untersucht:

- 1) Anzahl der Ganglienzellen mit Nukleus und Nukleolus/ Referenzfläche
- 2) Anzahl der Satellitenzellen/ Anzahl der Ganglienzellen mit Nukleus und Nukleolus
- 3) Anzahl der vakuolisierten Zellen/ Anzahl der Ganglienzellen mit Nukleus und Nukleolus
- 4) Fläche der einzelnen Ganglienzellen mit Nukleus und Nukleolus
- 5) Fläche der Nuklei der einzelnen Ganglienzellen mit Nukleus und Nukleolus

Um die Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung der einzelnen Merkmale zu veranschaulichen, wurden zunächst in allen 5 Fällen Box and Whiskers Plots angefertigt. Jede Stichprobe wird durch eine rechteckige Box repräsentiert, die 50% der Stichprobenwerte enthält. Innerhalb der Box ist der Median eingezeichnet. Die von der Box ausgehenden Striche zeigen das Minimum und das Maximum der jeweiligen Stichproben an (Weiß, 2005).

Im nächsten Schritt wurden dann alle Parameter, die eine unimodale Verteilung zeigten, einer univariaten Varianzanalyse (t-Test) unterzogen, welche Aufschluss über die Signifikanz der einzelnen Parameter gibt und diese durch den p-Wert beschreibt. Die Grundvoraussetzung für den t-Test ist die Normalverteilung der Zufallsvariablen (Weiß, 2005). Daher wurden in diesem Fall Histogramme für die einzelnen Parameter angefertigt, um sicher zu gehen, dass diese Voraussetzung erfüllt ist. Parameter, die keine unimodale Verteilung in ihrem Histogramm zeigten, wurden einer statistischen Auswertung nach Kolmogorov und Smirnov, die ebenfalls ebenfalls Aufschluss über die Signifikanz der einzelnen Parameter gibt, unterzogen. Für diesen Test ist keine Normalverteilung der Zufallsvariablen notwendig.

Als weiteres statistisches Verfahren wurde eine Korrelation (nach Pearson) von den Merkmalen 4 und 5 durchgeführt. Hierbei wird die Abhängigkeit zweier Parameter zueinander ermittelt, über einen Wert „r = x“ ausgedrückt und mittels einer Regressionsgeraden dargestellt.

Für die Korrelation nach Pearson gilt:

$$r_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\left(\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right) \left(\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \right)}}$$

$r_{xy} = 1$: Perfekter positiver Zusammenhang: Alle Punkte liegen auf einer ansteigenden Geraden

$r_{xy} = -1$: Perfekter negativer Zusammenhang: Alle Punkte liegen auf einer absteigenden Geraden

$r_{xy} = 0$: Überhaupt kein linearer Zusammenhang: Alle Punkte „streuen wild“.

3. Ergebnisse

Bei der morphometrischen Untersuchung wurden insgesamt 4194 Bilder von 99 Tieren analysiert.

In dem ersten Teil der Studie konnten die Daten von 53 Tieren, die in 8 verschiedene Gruppen eingeteilt waren, erhoben werden. Die genaue Einteilung der Gruppen ist aus Tabelle 3 ersichtlich.

Tab. 3: Tierzahlen bei der Auswertung aller Versuchsgruppen

	Verlaufs-Gruppe					Haupt-Gruppe
Auswertung	2 Wochen post OP	4 Wochen post OP	6 Wochen post OP	8 Wochen post OP	10 Wochen post OP	3 Monate post OP
Lap	n=2	n=2	n=2	n=1	n=0	n=4
Nervex	n=1	n=1	n=1	n=2	n=1	n=1
Silikon-	n=2	n=2	n=1	n=2	n=1	n=8
Transpl	-	-	-	-	-	n=7
Silikon+	n=2	n=1	n=2	n=2	n=2	n=8
Silikon++	n=2	n=1	n=2	n=2	n=2	n=10
Silikon++ VEGF/PBS	-	-	-	-	-	n=9
Silikon++ GFP	n=2	n=1	n=2	n=1	n=2	n=6

Lap = Gruppe Laparotomie, Nervex = Gruppe Nervenexzision, Silikon- = Gruppe leeres Silikonröhrchen, Transpl = Gruppe Transplantation, Silikon+ = Gruppe Silikonröhrchen gefüllt mit Schwannschen Zellen, Silikon++ = Gruppe Silikonröhrchen gefüllt mit Schwannschen Zellen und GDNF, Silikon++VEGF/PBS = Gruppe Silikonröhrchen gefüllt mit Schwannschen Zellen und intrakavernöse Injektion von VEGF/PBS, Silikon++GFP = Silikonröhrchen gefüllt mit Schwannschen Zellen und GFP
n = Anzahl der Tiere

3.1 Histologische Ergebnisse

In der lichtmikroskopischen Untersuchung der Ganglien traf man gruppenübergreifend auf eine variierende Anzahl gleichmäßig verteilter Cluster

von Ganglienzellen. Zwischen den Ganglienzellgruppen befindet sich bei allen Tieren ein bindegewebiges Stroma, mit dem in ihm enthaltenden Blutgefäßen, sowie Nervenfasern, die sowohl myelinisiert, als auch unmyelinisiert auftreten. Die Breite des Stromas hängt dabei stark von der Schnittführung durch das Ganglion ab. Die Ganglienzellen selbst, beziehungsweise ihre Perikaryen, besitzen eine runde bis ovale Form und ihr runder Zellkern liegt durchwegs zentral, wohingegen der Nukleolus sowohl zentral als auch parazentral oder peripher zu finden ist. Die Nervenzellen sind von einer oder mehreren Gliazellen, den Satellitenzellen, umgeben, die lichtmikroskopisch durch einen länglich gebogenen Zellkern und ein sich basophil anfärbendes Zytoplasma charakterisiert sind.

Außen ist jedes Ganglion von einer dünnen Kapsel aus Bindegewebe umgeben, die feine bindegewebige Septen zwischen die einzelnen Ganglienzellen entlässt. Eine deutliche Unterteilung des Ganglions in verschiedene Segmente war bei keinem der Tiere zu erkennen.

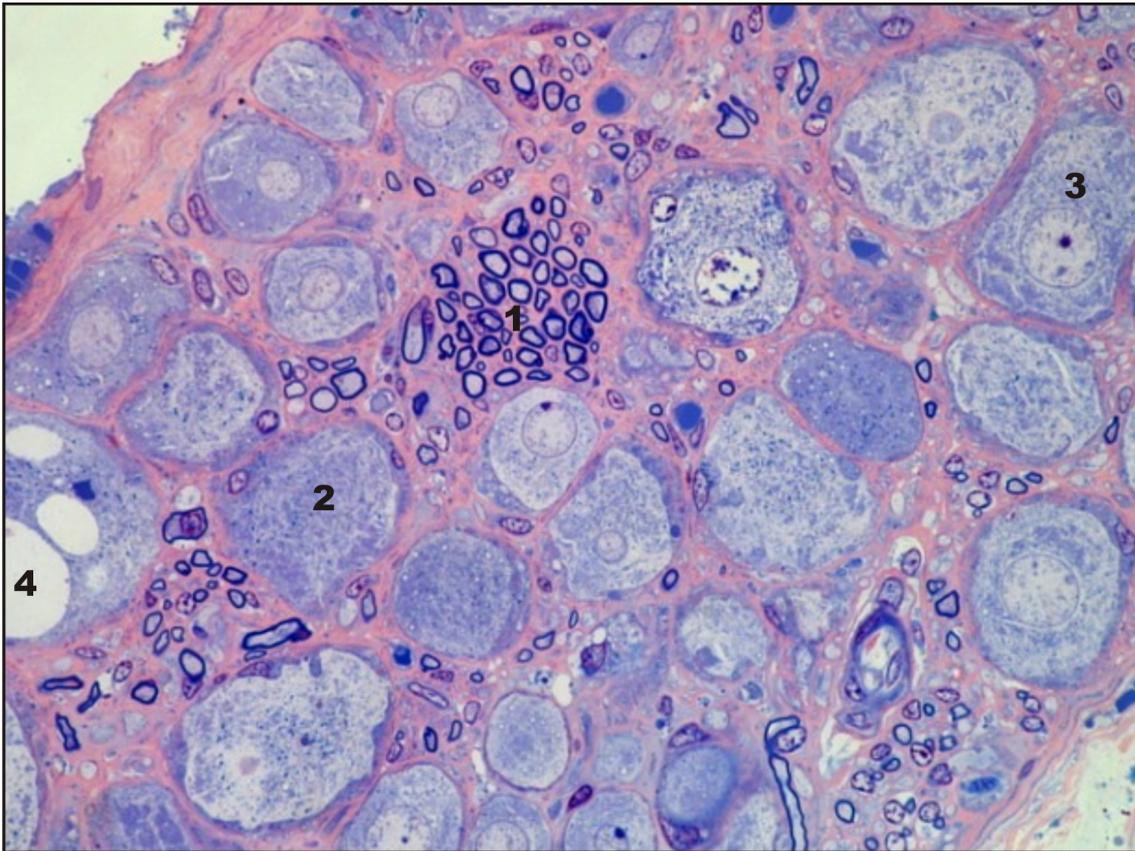


Abb. 3: Transversaler Schnitt durch das Ganglion pelvinum eines Tieres der Gruppe *Laparotomie*

- 1) Nervenfasern, die durch das Ganglion pelvinum ziehen
- 2) Ganglienzelle
- 3) Ganglienzelle mit Anschnitt des Nukleus und des Nukleolus
- 4) Vakuoläre Veränderung einer Ganglienzelle

3.2 Ganglienzellichte

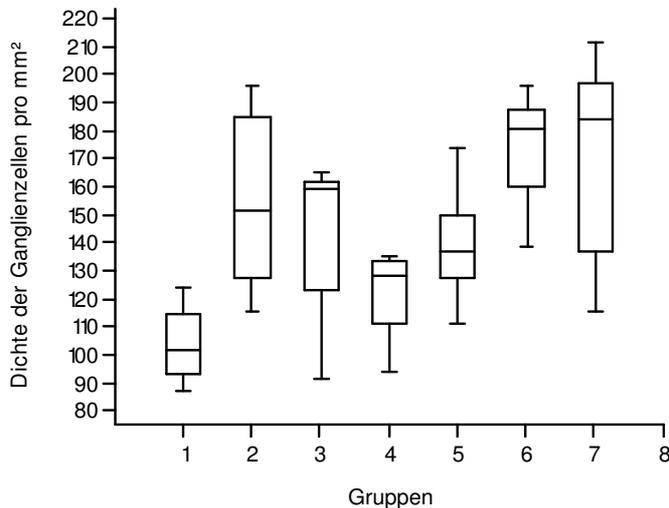


Abb. 3: Box-and-Whiskers Plot

1 = Gruppe Laparotomie, 2 = Gruppe Silikon⁻, 3 = Gruppe Transplantation, 4 = Gruppe Silikon⁺, 5 = Gruppe Silikon⁺+ GDNF, 6 = Gruppe Silikon⁺+ VEGF/PBS, 7 = Gruppe Silikon⁺+ GFP

In der shamoperierten *Laparotomie*gruppe wurden 173 Bildausschnitte untersucht. Im Mittel waren in diesen Bildausschnitten 103,26 Ganglienzellen pro mm² aufzufinden. Die niedrigste Dichte an Zellen, die in dieser Gruppe ausgezählt wurden liegt bei 87,04 Ganglienzellen pro mm² und die höchste Dichte bei 123,92 Ganglienzellen pro mm². Die Standardabweichung beträgt 15,54. Im Vergleich zu den anderen Gruppen ist die Streuung der Werte innerhalb der *Laparotomie*gruppe gering. Außerdem liegt der Mittelwert der Tiere dieser Gruppe, in der keine Nervenschädigung erfolgte, deutlich niedriger liegt als bei den Tieren mit Nervenläsion. Dort bewegt sich der Mittelwert zwischen 121,33 und 172,42 Ganglienzellen pro mm².

In der Gruppe *Nervenexzision* konnten lediglich fünfzig Bildausschnitte ausgewertet werden. Diese Gruppe wurde daher nicht in die statistische Auswertung einbezogen. Aus den untersuchten Bildausschnitten ergibt sich ein Mittelwert von 113,34 Ganglienzellen pro mm². Der Mittelwert liegt nur wenig über dem Wert der *Laparotomie*gruppe liegt. Die Streuung der Ganglienzellichte bewegt sich in dieser Gruppe von 25,03 Ganglienzellen pro mm² bis zu 244,07 Ganglienzellen pro mm². Sie ist damit deutlich weiter als die Streuung der Werte innerhalb der *Laparotomie*gruppe. Die Standardabweichung beträgt 49,55.

Die Gruppe *Silikon⁻* hingegen liegt mit einem Mittelwert von 154,31 Ganglienzellen pro mm² signifikant über dem Wert der shamoperierten *Laparotomie*gruppe. Die Zelldichte ist darüberhinaus höher als nach reiner Nervenexzision. Maximal traten eine Anzahl von 195,78 Ganglienzellen und minimal eine Anzahl von 114,76 Ganglienzellen pro mm² auf. Die Streuung der Werte innerhalb dieser Gruppe erscheint mit einer Standardabweichung von 32,37 weiter als die Streuung der Werte in der *Laparotomie*gruppe, aber deutlich kleiner als die Streuung in der Gruppe mit reiner Nervenexzision.

Auch in der Gruppe *Transplantation* findet sich eine deutlich höhere Dichte an Ganglienzellen als in der *Laparotomie*gruppe. Das Maximum beträgt hier 164,54 und das Minimum 90,55 Ganglienzellen pro mm². Der Mittelwert ordnet sich bei 143,89 Zellen pro mm² ein. Wie bei der Gruppe *Silikon⁻* ist die Streuung der Werte innerhalb dieser Gruppe, verglichen mit der *Laparotomie*gruppe, deutlich weiter. Die Standardabweichung beträgt in diesem Fall 27,41.

Verglichen mit den beiden vorigen Gruppen und mit der Gruppe *Nervenexzision* liegt der Mittelwert der Gruppe *Silikon⁺* mit einem Wert von 121,33 Ganglienzellen pro mm² nur geringgradig und insignifikant über dem Mittelwert der shamoperierten Gruppe. Und auch die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe ist mit einem Maximum von 134,27 Ganglienzellen, einem Minimum von 93,39 Ganglienzellen pro mm² und einer Standardabweichung von 18,65 der Streuung der Werte in der *Laparotomie*gruppe sehr ähnlich. Die Gruppe *Silikon⁺* kommt also in den Parametern bezüglich der Ganglienzelldichte der shamoperierten *Laparotomie*gruppe am nächsten.

Die Gruppe *Silikon⁺⁺* liegt mit einem Mittelwert von 136,82 Ganglienzellen pro mm² wieder signifikant über der *Laparotomie*gruppe. Zwar sind auch die Werte innerhalb der Gruppe mit einem Maximum von 173,43 Ganglienzellen und einem Minimum von 110,91 Ganglienzellen pro mm² und einer Standardabweichung von 18,65 wieder deutlich weiter gestreut, als in der *Laparotomie*gruppe oder in der Gruppe *Silikon⁺*, aber dennoch liegt die Gruppe *Silikon⁺⁺* mit ihrem Mittelwert und der Streuung innerhalb der Gruppe noch weit unter den Werten der Gruppen *Silikon⁻* und *Transplantation*.

Die beiden anderen untersuchten Gruppen zeigen mit 172,42 und 170,76 Ganglienzellen pro mm² die beiden höchsten Mittelwerte im Gruppenvergleich. Sie unterscheiden sich damit signifikant von den Gruppen *Laparotomie*, *Silikon⁺* und *Silikon⁺⁺*.

In der Gruppe *Silikon⁺+VEGF/PBS* wurden maximal 195,53 und minimal 138,17 Ganglienzellen pro mm² mit einer Standardabweichung von 18,77 gezählt. Und auch in der Gruppe *Silikon⁺+GFP* zeigten sich maximal 210,95 und minimal 114,69 Ganglienzellen pro mm². So ergibt sich in dieser Gruppe ein Mittelwert von 170,76 Ganglienzellen pro mm² mit einer Standardabweichung von 37,87. In diesen beiden zuletzt beschriebenen Gruppen ist der Mittelwert verglichen mit der *Laparotomiegruppe* signifikant größer. Die Streuung der Werte innerhalb der Gruppen zeigt sich allerdings in der Gruppe *Silikon⁺+GFP* noch größer als in der Gruppe *Silikon⁺+VEGF/PBS*.

Tab. 4: Übersichtstabelle Ganglienzelldichte

	Lap	Nervex	Silikon ⁻	Transpl	Silikon ⁺	Silikon ⁺⁺	Silikon ⁺ + VEGF/PBS	Silikon ⁺ +GFP
Mittelwert	103,26	113,34	154,31	143,89	121,33	136,82	172,42	170,76
Median	101,03	113,34	150,91	158,62	127,92	136,49	180,07	183,11
Min	87,04	25,03	114,76	90,55	93,39	110,91	138,17	114,69
Max	123,92	244,07	195,78	164,54	134,27	173,43	195,53	210,59
Stabw	15,54		32,37	27,41	15,04	18,65	18,77	37,87

Tab. 5: Prozentualer Anteil der Ganglienzellen mit zwei bzw. drei Nukleoli

	Lap	Nervex	Silikon ⁻	Transpl	Silikon ⁺	Silikon ⁺⁺	Silikon ⁺ + VEGF/PBS	Silikon ⁺ +GFP
Gz mit zwei Nukleoli	8%	6%	11%	10%	9%	6%	10%	36%
Gz mit drei Nukleoli	0,13%	0%	0,80%	0,46%	0,22%	0,68%	0,64%	0,29%

Ganglienzelldichte der Verlaufsstudie

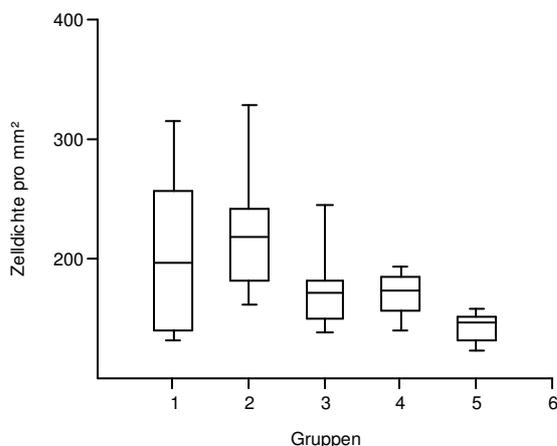


Abb. 4: Box and Whiskers Plot

1 = nach 2 Wochen, 2 = nach 4 Wochen, 3 = nach 6 Wochen, 4 = nach 8 Wochen, 5 = nach 10 Wochen

Bei der gruppenübergreifenden Betrachtung der Verlaufsstudie waren nach einem Zeitraum von zwei Wochen im Mittel 199,33 Ganglienzellen pro mm² zu zählen. Im Vergleich zur Laparotomiegruppe der Hauptstudie, also nach einem Zeitraum von drei Monaten, bei der die Ganglienzellichte bei 103,26 liegt, ist also der gruppenübergreifende Mittelwert der Ganglienzellichte nach zwei Wochen deutlich höher. Maximal traten 315,57 und minimal 132,19 Ganglienzellen pro mm² auf. Die Standardabweichung beträgt 61,50.

Nach einem Zeitraum von 4 Wochen traten 221,59 Ganglienzellen pro mm² auf. Hier liegen das Maximum bei 328,15, das Minimum bei 162,16 Ganglienzellen pro mm² und die Standardabweichung bei 52,89. Es zeigt sich eine Steigerung der Ganglienzellichte im Vergleich zur Gruppe *nach 2 Wochen*, die allerdings nicht signifikant ist.

In der Gruppe *nach 6 Wochen* beträgt die Ganglienzellichte pro mm² 177,26. Hier traten maximal 244,88 und minimal 138,99 Ganglienzellen pro mm² auf. Die Standardabweichung beträgt 36,17. Verglichen mit der Gruppe *nach 2 Wochen* ist die Ganglienzellichte in dieser Gruppe geringer. Aber sie unterscheidet sich, wie die Vorgruppe nicht signifikant von der Gruppe *nach 2 Wochen*.

Ähnlich der Gruppe *nach 6 Wochen*, liegt in der Gruppe *nach 8 Wochen* die Ganglienzellichte pro mm² im Mittel bei 171. Hier betragen das Maximum 193,42 und das Minimum 140,03 Ganglienzellen pro mm². Die Standardabweichung ist lediglich 17,41. Auch diese Gruppe unterscheidet sich nicht signifikant von den bisher untersuchten Gruppen *nach 2, 4 und 6 Wochen*.

Lediglich die Gruppe *nach 10 Wochen* unterscheidet sich mit einem Mittelwert von 142,80 Ganglienzellen pro mm² signifikant von den Gruppen *nach 2, 4, 6 und 8 Wochen*. Hier traten maximal 158,86, minimal 122,99 Ganglienzellen pro mm² und eine Standardabweichung von 12,64 auf. Trotz einer Abnahme der Ganglienzelldichte bei gruppenübergreifender Betrachtung im zeitlichen Verlauf, ist die Ganglienzelldichte nach einem Zeitraum *nach 10 Wochen* noch deutlich höher als die Ganglienzelldichte der *Laparotomiegruppe* der Hauptstudie, die 103,26 beträgt.

Tab. 6: Übersichtstabelle Ganglienzelldichte

	Nach 2 Wo	Nach 4 Wo	Nach 6 Wo	Nach 8 Wo	Nach 12 Wo
Mittelwert	199,33	221,59	177,26	171,00	142,80
Median	197,02	218,73	172,35	173,07	146,64
Min	132,19	162,16	138,99	140,03	122,99
Max	315,57	328,15	244,88	193,42	158,86
Stabw	61,50	52,89	36,17	17,41	12,64

3.3 Anzahl an Satellitenzellen pro Ganglienzelle

Die Anzahl der Satellitenzellen wurde anhand ihrer Kerne bei allen Ganglienzellen, deren Nukleus und Nukleolus zu erkennen waren, bestimmt.

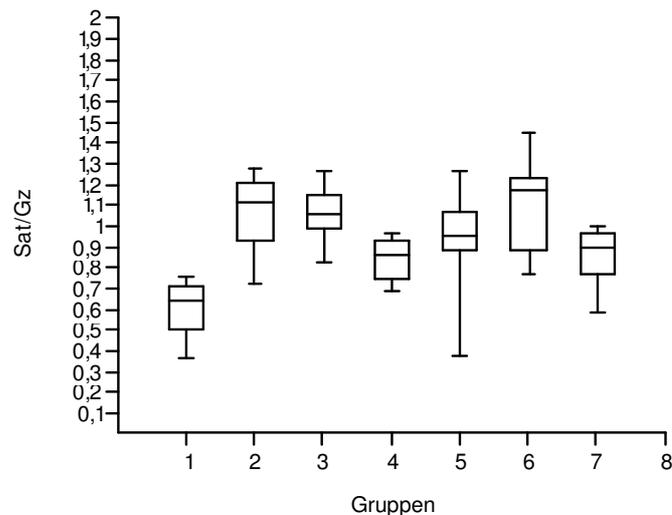


Abb. 5: Box-and-Whiskers Plot

1 = Gruppe Laparotomie, 2 = Gruppe Silikon⁻, 3 = Gruppe Transplantation, 4 = Gruppe Silikon⁺, 5 = Gruppe Silikon⁺+ GDNF, 6 = Gruppe Silikon⁺+ VEGF/PBS, 7 = Gruppe Silikon⁺+ GFP

Bei den Tieren der *Laparotomie*gruppe wurden im Mittel 0,6 Satellitenzellen pro Ganglienzelle gezählt. Die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe erstreckt sich von einem Minimum bei 0,36 Satellitenzellen pro Ganglienzelle bis zu maximal 0,76 Satellitenzellen pro Ganglienzelle. Bei einer Standardabweichung von 0,17 liegen die Satellitenzellzahlen deutlich niedriger als bei allen anderen untersuchten Gruppen, die Mittelwerte zwischen 0,84 und 1,09 Satellitenzellen pro Ganglienzelle aufweisen.

Auch bei diesem Parameter wurden die ermittelten Werte der Gruppe *Nervenexzision* aus oben genannten Gründen nicht in die statistische Auswertung mit einbezogen werden. Dennoch ist bemerkenswert, dass im Mittel 1,1 Satellitenzellen pro Ganglienzelle gezählt wurden, was doppelt so hoch ist wie der Mittelwert der *Laparotomie*gruppe.

Auch die anderen Tiergruppen mit Nervenläsion zeigten durchweg und signifikant eine höhere Anzahl an Satellitenzellen pro Ganglienzellen.

In der Gruppe *Silikon*⁻ liegt eben dieser Mittelwert bei 1,06 Satellitenzellen pro Ganglienzelle. Es wurden also wiederum doppelt so viele Zellen als in der *Laparotomie*gruppe gezählt. Mit einem Minimum von 0,72, einem Maximum von 1,27 Satellitenzellen pro Ganglienzellen und einer Standardabweichung von 0,19 ist die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe nur geringgradig weiter im Vergleich zur shamoperierten *Laparotomie*gruppe.

Die Gruppe *Transplantation* zeigt, ähnlich der Gruppe *Silikon*⁻, einen Mittelwert von 1,05 Satellitenzellen pro Ganglienzelle. Hier befinden sich das Minimum bei 0,82 und das Maximum bei 1,27 Satellitenzellen pro Ganglienzelle. Die Standardabweichung beträgt 0,14. Die Tiere der *Transplantations*gruppe unterscheiden sich, ebenso wie die Gruppe *Silikon*⁻, hochsignifikant von der *Laparotomie*gruppe, wobei die einzelnen Werte innerhalb der Gruppe nur geringgradig weiter gestreut sind als bei den shamoperierten Tieren.

Im Gegensatz dazu zeigt die Gruppe *Silikon*⁺ einen Mittelwert von nur 0,84 Satellitenzellen pro Ganglienzelle. Dieser Zellzahlen sind deutlich geringer als bei den Gruppen *Silikon*⁻ und *Transplantation*, unterscheiden sich aber dennoch signifikant von der *Laparotomie*gruppe. Die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe ist durch ein Minimum von 0,69, ein Maximum von 0,96 Satellitenzellen pro Ganglienzelle und eine Standardabweichung von 0,10 gekennzeichnet. Sie ist damit geringer als in den beiden vorherigen Gruppen.

Die Satellitenzellendaten der Gruppe *Silikon*⁺⁺ unterscheiden sich mit einem Mittelwert von 0,94 Satellitenzellen pro Ganglienzelle ebenfalls signifikant von der *Laparotomie*gruppe, aber weniger deutlich als die Gruppen *Silikon*⁻ und *Transplantation*. Zusätzlich sind die Werte mit einem Minimum bei 0,37 und einem Maximum bei 1,27 Satellitenzellen pro Ganglienzelle und einer Standardabweichung von 0,251 deutlich weiter gestreut, als die Werte aller zuvor untersuchten Gruppen.

Der Mittelwert der Gruppe *Silikon*⁺+*VEGF/PBS* beträgt 1,09. Auch er weicht signifikant von der *Laparotomie*gruppe. In diesem Fall betragen das Minimum 0,77 und das Maximum 1,45 Satellitenzellen pro Ganglienzelle. Die Standardabweichung liegt bei 0,24 und zeigt, dass auch innerhalb dieser Gruppe die Werte weiter gestreut sind als in der *Laparotomie*gruppe.

In der Gruppe *Silikon*⁺+*GFP* wurden im Mittel 0,85 Satellitenzellen pro Ganglienzelle gezählt. Die Zahlen sind damit niedriger als bei den Gruppen *Silikon*⁺+*GDNF* und

Silikon⁺+VEGF/PBS. Die Gruppe unterscheidet sich aber dennoch signifikant von der *Laparotomie*gruppe. Das Minimum und das Maximum liegen in dieser Gruppe bei 0,57 und 0,99 Satellitenzellen pro Ganglienzelle. Die Standardabweichung beträgt 0,157. Die Streubreite der einzelnen Werte innerhalb dieser Gruppe ist ähnlich der *Laparotomie*gruppe.

Tab. 7: Übersichtstabelle der Satellitenzellzahl

	Lap	Nervex	Silikon ⁻	Transpl	Silikon ⁺	Silikon ⁺⁺	Silikon ⁺ + VEGF/PBS	Silikon ⁺ +GFP
Mittelwert	0,60	1,10	1,06	1,05	0,84	0,94	1,09	0,85
Median	0,64	1,10	1,11	1,05	0,86	0,95	1,16	0,89
Min	0,36	0	0,72	0,82	0,69	0,37	0,77	0,57
Max	0,76	9	1,27	1,26	0,96	1,27	1,45	0,99
Stabw	0,17		0,19	0,14	0,10	0,25	0,24	0,16

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich jede Gruppe in der Anzahl der Satellitenzellen pro Ganglienzelle von den *shamoperierten* Tieren signifikant unterscheidet. In allen Fällen ist diese Anzahl deutlich höher. Am deutlichsten unterscheiden sich *Silikon⁻*, *Transplantation* und *Silikon⁺+VEGF/PBS* von der *Laparotomie*gruppe.

3.4 Anteil an vakuolisierten Ganglienzellen

Des Weiteren wurde der prozentuale Anteil an Ganglienzellen bestimmt, die eine vakuoläre Veränderung aufwiesen. Es wurden dabei sowohl einzelne großvakuoläre als auch multiple kleinvakuoläre zytoplasmatische Veränderungen erfasst. Typischerweise zeigten alle betroffenen Zellen als Folge der Vakuolisierung eine Verlagerung des Zellkernes in die Peripherie. Sonstige degenerative Zellveränderungen waren nicht zu beobachten.

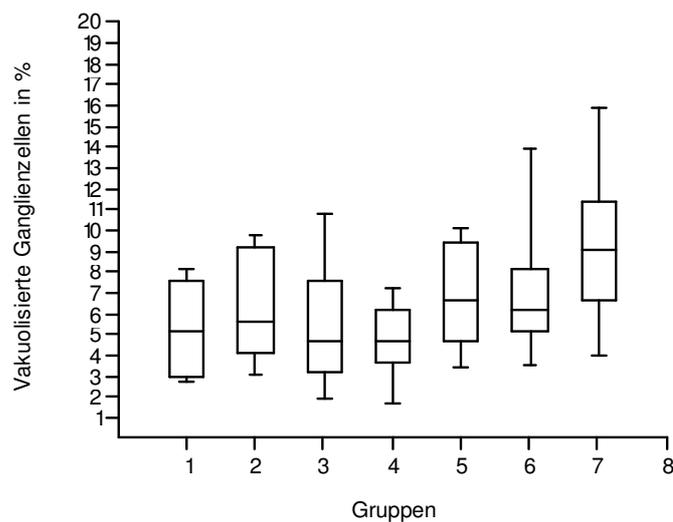


Abb. 6: Box-and-Whiskers Plot

1 = Gruppe Laparotomie, 2 = Gruppe Silikon⁻, 3 = Gruppe Transplantation, 4 = Gruppe Silikon⁺, 5 = Gruppe Silikon⁺+ GDNF, 6 = Gruppe Silikon⁺+ VEGF/PBS, 7 = Gruppe Silikon⁺+ GFP

In der *Laparotomie*gruppe zeigen im Mittel 5,2% der Ganglienzellen vakuoläre Veränderungen. Das Minimum und das Maximum liegen in hier bei 2,7% vakuolisierten Ganglienzellen und 8,1% vakuolisierten Ganglienzellen. Die Standardabweichung beträgt 2,7.

In der Gruppe *Nervenexzision* wurden im Schnitt 7,3% der Ganglienzellen als vakuolisiert erkannt. Diese Zahl ist deutlich größer als die der *Laparotomie*gruppe. Und auch die

Streuung der Werte innerhalb der Gruppe, die sich von 0% bis zu 30,4% erstreckt ist deutlich weiter als die Streuung der Werte in der *Laparotomie*gruppe. Die Gruppe *Nervenexzision* ist nicht im Box-and-Whiskers Plot aufgeführt.

Die Gruppen, in denen eine Nervenläsion durchgeführt wurde, unterscheiden sich in dem prozentualen Anteil an Ganglienzellen mit vakuolären Veränderungen nicht signifikant von der *Laparotomie*gruppe. Zwischen diesen Gruppen existieren jedoch geringe Unterschiede.

In der Gruppe *Silikon* weisen im Mittel 6,3% der Ganglienzellen vakuoläre Veränderungen auf. In diesem Fall ist der Mittelwert, verglichen mit der *Laparotomie*gruppe, 1,2 Mal höher. Die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe verhält sich mit einem Minimum bei 3%, einem Maximum bei 9,7% und bei einer Standardabweichung von 2,7, wie die *Laparotomie*gruppe.

In der Gruppe *Transplantation* liegt der Mittelwert der vakuolisierten Ganglienzellen bei 5,1% und kommt somit dem Mittelwert der shamoperierten Gruppe sehr nahe. Allerdings treten bei den Tieren dieser Gruppe vakuolisierte Ganglienzellen mit einer Häufigkeit von 1,9% bis 10,7% auf und die Standardabweichung beträgt 3,0. Somit ist die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe weiter als in der *Laparotomie*gruppe und in der Gruppe *Silikon*.

Mit einem Mittelwert von 4,7% liegt der Anteil an vakuolisierten Ganglienzellen in der Gruppe *Silikon*⁺ noch unter dem Mittelwert der *Laparotomie*gruppe. Mindestens 1,6% und maximal 7,2% der Ganglienzellen besitzen zwischen den Tieren in der Gruppe *Silikon*⁺ vakuoläre Veränderungen. Die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe ist mit einer Standardabweichung von 1,8 ebenfalls gering.

In der Gruppe *Silikon*⁺⁺ treten im Mittel 6,7% vakuolisierte Ganglienzellen auf. Dies ergibt sich aus einem Mindestwert von 3,4% und einem Maximalwert von 10,1%. Dieser Anzahl vakuolisierter Zellen ist, verglichen mit der *Laparotomie*gruppe, geringfügig größer. Aber die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe entspricht mit einer Standardabweichung von 2,5 in etwa der *Laparotomie*gruppe.

Mit der Häufigkeit von mindestens 3,4% und maximal 13,9% treten vakuolisierte Ganglienzellen in der Gruppe *Silikon*⁺+*VEGF/PBS* auf. Der Mittelwert liegt bei 7,3%, der dem Durchschnittswert der Gruppe *Nervenexzision* entspricht und somit deutlich über den Mittelwerten der Gruppen *Laparotomie*, *Silikon*, *Transplantation*, *Silikon*⁺ und *Silikon*⁺⁺ liegt. Auch die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe ist mit einer Standardabweichung von 3,5 deutlich weiter.

In der zuletzt untersuchten Gruppe *Silikon⁺+GFP* besitzen im Mittel 9,3% der Ganglienzellen vakuoläre Veränderungen. Dies ist der höchste Mittelwert aller hier untersuchten Gruppen. Allerdings ist auch die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe mit einem Minimum bei 3,9%, einem Maximum bei 15,9% vakuolisierten Ganglienzellen und einer Standardabweichung von 4,1 weiter als in allen übrigen Gruppen. Die Gruppe *Silikon⁺+GFP* unterscheidet sich, ebenso wie die anderen Gruppen, nicht signifikant von der shamoperierten *Laparotomie*gruppe.

Tab. 8: Übersichtstabelle der Anzahl der vakuolisierten Ganglienzellen

	Lap	Nervex	Silikon ⁻	Transpl	Silikon ⁺	Silikon ⁺⁺	Silikon ⁺ + VEGF/PBS	Silikon ⁺ +GFP
Mittelwert	5,2%	7,3%	6,3%	5,1%	4,7%	6,7%	7,3%	9,3%
Median	5,1%	7,3%	5,6%	4,6%	4,6%	6,6%	6,1%	9,0%
Min	2,7%	0%	3,0%	1,9%	1,6%	3,4%	3,4%	3,9%
Max	8,1%	30,4%	9,7%	10,7%	7,2%	10,1%	13,9%	15,9%
Stab	2,7	7,3	2,7	3,0	1,8	2,5	3,5	4,1

3.5 Ergebnisse der morphometrischen Untersuchung zur Ganglienzellfläche

In diesen Teil der Untersuchung gingen die Werte von 53 Tieren ein. Insgesamt wurden 2604 Ganglienzellen digitale vermessen.

3.5.1 Ergebnisse der Hauptstudie

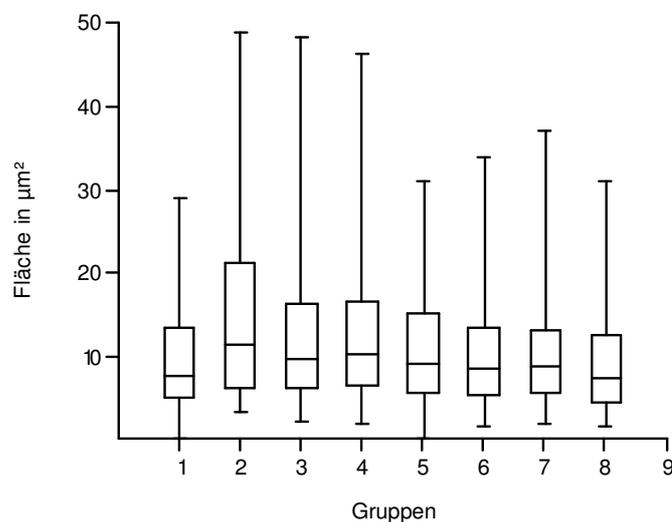


Abb. 7: Box-and-Whiskers-Plot

1 = Gruppe Laparotomie, 2 = Gruppe Silikon⁻, 3 = Gruppe Transplantation, 4 = Gruppe Silikon⁺, 5 = Gruppe Silikon⁺+ GDNF, 6 = Gruppe Silikon⁺+ VEGF/PBS, 7 = Gruppe Silikon⁺+ GFP

In der *Laparotomie*gruppe besitzen die Ganglienzellen im Mittel eine Fläche von $965,98\mu\text{m}^2$. Die Werte für die Fläche der einzelnen Ganglienzellen erstrecken sich von $163,29\mu\text{m}^2$ bis $2879,81\mu\text{m}^2$. Die Standardabweichung beträgt $614,31$. Das Histogramm zeigt eine bimodale Verteilungskurve mit einem größeren Peak bei $400\mu\text{m}^2$ und einem kleineren Peak bei $1500\mu\text{m}^2$.

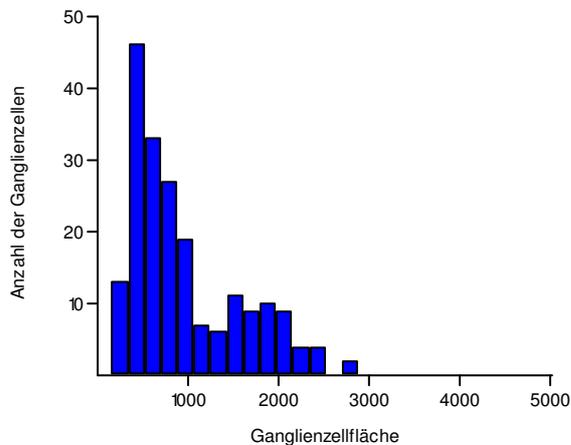


Abb. 8: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Laparotomie

Alle Gruppen, bei denen eine *Nervenexzision* durchgeführt wurde zeigen eine deutliche Zunahme in der Fläche der einzelnen Ganglienzellen.

In der Gruppe *Nervenexzision* besitzen die Ganglienzellen im Mittel eine Fläche von 1428,79 μm^2 . Die Zellflächen sind hochsignifikant größer als bei der *Laparotomie*gruppe. Mit einem Minimum von 318,32 μm^2 , einem Maximum von 4885,59 μm^2 und einer Standardabweichung von 1018,38 ist die Streuung der Werte innerhalb dieser Gruppe, verglichen mit den übrigen untersuchten Gruppen, am weitesten. Im Histogramm zeigt sich auch in dieser Gruppe eine bimodale Verteilung mit einem größeren Peak bei 400 μm^2 und einem kleineren Peak bei 1500 μm^2 .

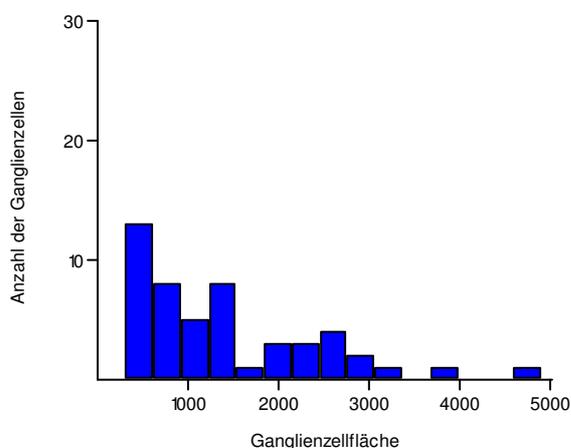


Abb. 9: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Nervenexzision

In der Gruppe *Silikon* liegt der Mittelwert der Ganglienzellflächen bei $1178,5 \mu\text{m}^2$. Die Zellgrößen sind im Vergleich zur Gruppe Nervenexzision kleiner aber unterscheiden sich dennoch deutlich von der *Laparotomie*gruppe. Es treten Ganglienzellen mit einer Fläche von $212,7 \mu\text{m}^2$ bis $4838 \mu\text{m}^2$ auf. Die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe ist mit einer Standardabweichung von $741,29$ nur etwas weiter als die der *Laparotomie*gruppe. Im Histogramm zeigt wiederum eine bimodale Verteilung der Werte innerhalb der Gruppe. Der höhere Peak liegt bei $500 \mu\text{m}^2$, während der niedrigere Peak in dieser Gruppe bei $2200 \mu\text{m}^2$ zu finden ist.

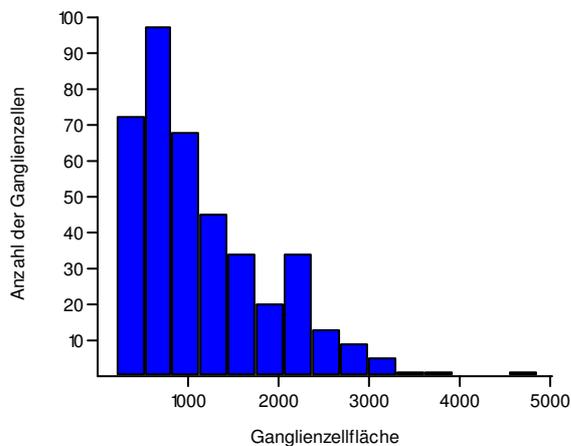


Abb. 10: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe *Silikon*

In der Gruppe *Transplantation* messen die Ganglienzellen im Mittel $1225,16 \mu\text{m}^2$. Dieser Wert liegt, ähnlich der Gruppe *Silikon*, unter dem Mittelwert der Gruppe *Nervenexzision*, aber die Zellen sind signifikant größer als bei den shamoperierten Tieren. Mit einer Minimalfläche von $172,15 \mu\text{m}^2$, einer Maximalfläche von $3091,04 \mu\text{m}^2$ und einer Standardabweichung von $764,86$ ist auch die die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe ähnlich der Gruppe *Silikon*. Das Histogramm zeigt ebenfalls eine bimodale Verteilung der Werte in der Gruppe *Transplantation* mit einem höheren Peak bei $500 \mu\text{m}^2$ und einem kleineren Peak bei $1500 \mu\text{m}^2$.

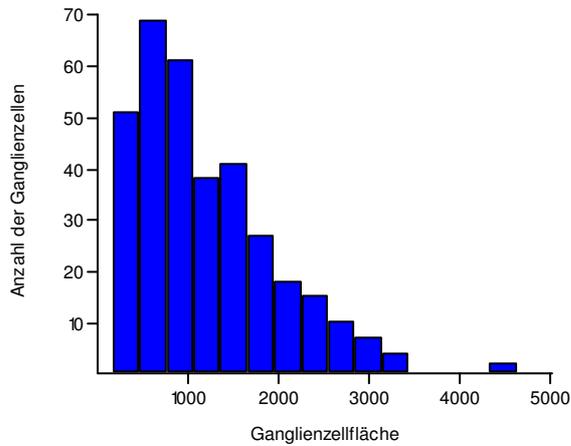


Abb. 11: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Transplantation

In der Gruppe *Silikon*⁺ liegt der Mittelwert der Ganglienzellflächen bei 1127,55 µm² und entspricht somit in etwa den Mittelwerten der beiden zuvor untersuchten Gruppen und ist damit auch deutlich größer als der Mittelwert der *Laparotomie*gruppe. Es treten Flächen von mindestens 172,17 µm² bis maximal 3091,04 µm² auf. Die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe verhält sich mit einer Standardabweichung von 625,40 ähnlich der *Laparotomie*gruppe. Im Histogramm zeigt sich allerdings in dieser Gruppe, ebenso wie in der *Laparotomie*- und der *Nervenexzisions*gruppe, eine bimodale Verteilung der Flächen mit einem größeren Peak bei 500 µm² und einem kleineren Peak bei 1500 µm².

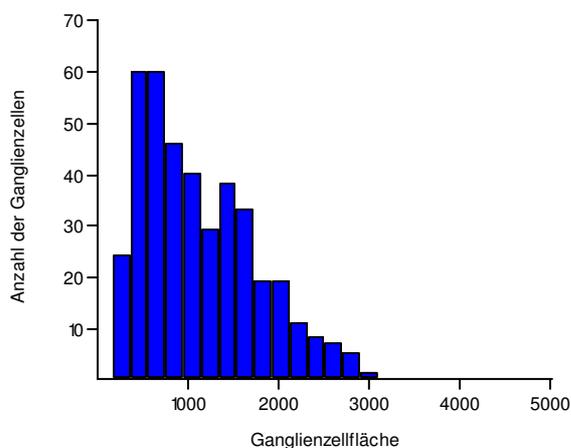


Abb. 12: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Silikon⁺

Sowohl die Gruppen *Silikon⁻* und *Transplantation*, als auch die Gruppe *Silikon⁺* unterscheiden sich in den Flächen ihrer Ganglienzellen hochsignifikant von der *Laparotomiegruppe*.

Für die letzten drei untersuchten Gruppen trifft dies hingegen nicht zu. In der Gruppe *Silikon⁺⁺* besaßen die Ganglienzellen im Mittel eine Fläche von 991,02 μm^2 . Dieser Mittelwert ist nur geringfügig größer als der, der *Laparotomiegruppe*. Die Flächen der einzelnen Ganglienzellen erstrecken sich von mindestens 134,92 μm^2 bis maximal 3368,32 μm^2 auf. Auch sind die Werte innerhalb der Gruppe, bei einer Standardabweichung von 561,63, nur geringfügig weiter gestreut. Das Histogramm der Gruppe *Silikon⁺+GDNF* zeigt eine unimodale Verteilung der Ganglienzellflächen mit einem Verlust an größeren Ganglienzellen gegenüber der Norm.

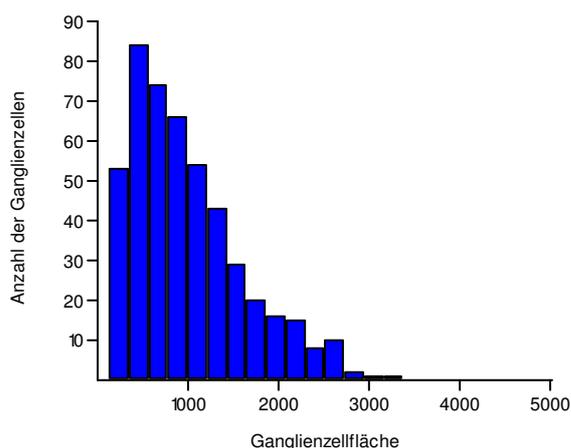
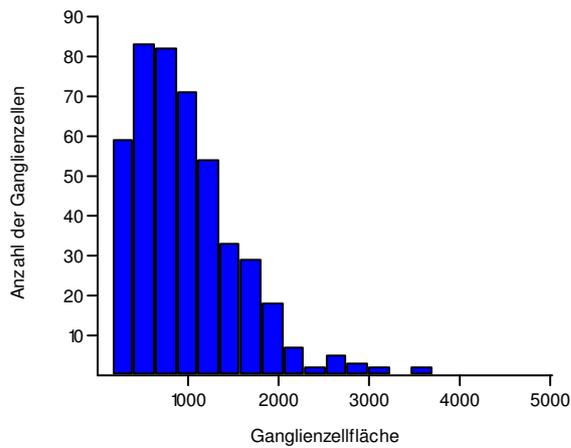
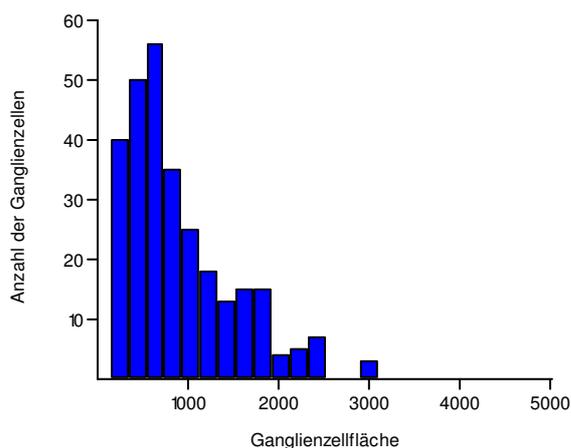


Abb. 13: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe *Silikon⁺⁺*

Die Gruppe *Silikon⁺+VEGF/PBS* weist ein Minimum von 170,85 μm^2 , ein Maximum von 3688,54 μm^2 und ein Mittelwert von 991,02 μm^2 . Die Zellen sind, im Vergleich zur *Laparotomiegruppe*, nur geringfügig größer und die Streuung der Werte innerhalb dieser Gruppe ist sogar enger als in der *Laparotomiegruppe*. Das Histogramm zeigt, genau wie in der vorherigen Gruppe, eine unimodale Verteilung der einzelnen Werte mit einem Verlust an größeren Ganglienzellen gegenüber der Norm.

Abb. 14: Ganglienzellflächen der Gruppe Silikon⁺+ VEGF/PBS

In der Gruppe *Silikon⁺+GFP* liegt der Mittelwert mit 909,85 µm² sogar unterhalb des Wertes der *Laparotomiegruppe*. Mit einem Minimum von 150,37 µm², einem Maximum von 3103,8 µm² und einer Standardabweichung von 589,51 sind die einzelnen Werte innerhalb der Gruppe *Silikon⁺+GFP* ähnlich der Gruppe *Silikon⁺+VEGF/PBS* gestreut. Im Histogramm ist eine bimodale Verteilung der Ganglienzellflächen mit einem größeren Peak bei 500 µm² und einem kleineren Peak bei 1500 µm² zu erkennen.

Abb. 15: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Silikon⁺+ GFP

Zusammenfassend sind die Flächen der Nervenzellen in den Gruppen *Nervenexzision*, *Silikon⁻*, *Transplantation* und *Silikon⁺* hochsignifikant größer als die der *Laparotomie*gruppe, während das bei den Gruppen *Silikon⁺⁺*, *Silikon⁺+VEGF/PBS* und *Silikon⁺+GFP* nicht der Fall ist. Aus den Histogrammen ist ersichtlich, dass in allen Gruppen der größte Peak zwischen 400 und 800 μm^2 liegt.

Tab. 9: Übersichtstabelle der Ganglienzellflächen

	Lap	Nervex	Silikon ⁻	Transpl	Silikon ⁺	Silikon ⁺⁺	Silikon ⁺ + VEGF/PBS	Silikon ⁺ + GFP
Mittelwert	965,98	1428,79	1178,5	1225,16	1127,55	1003,94	991,02	909,85
Median	755,31	1116,84	961,87	1006,54	996,70	851,12	876,62	732,87
Min	163,29	318,32	212,7	172,15	172,17	134,92	170,85	150,37
Max	2879,31	4885,59	4838	4615,69	3091,04	3368,32	3688,54	3103,8
Stabw	614,31	1018,38	741,29	764,86	625,40	617,7	581,63	589,51

3.5.2 Vergleichende Bilder der einzelnen Gruppen

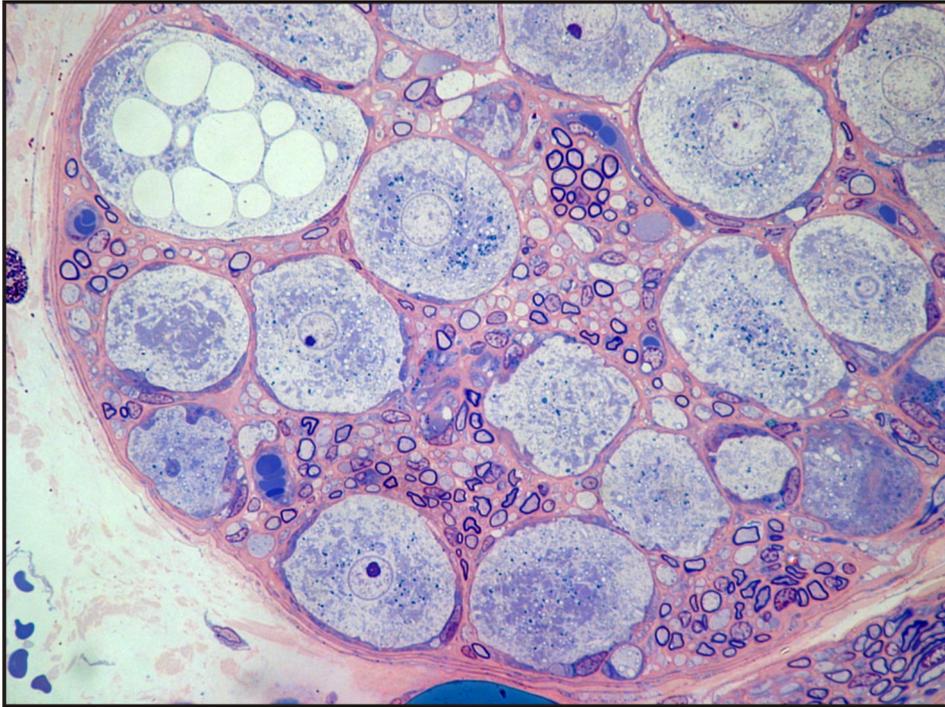


Abb. 3: Transversaler Schnitt durch das Ganglionplexum eines Tieres der Laparotomiegruppe

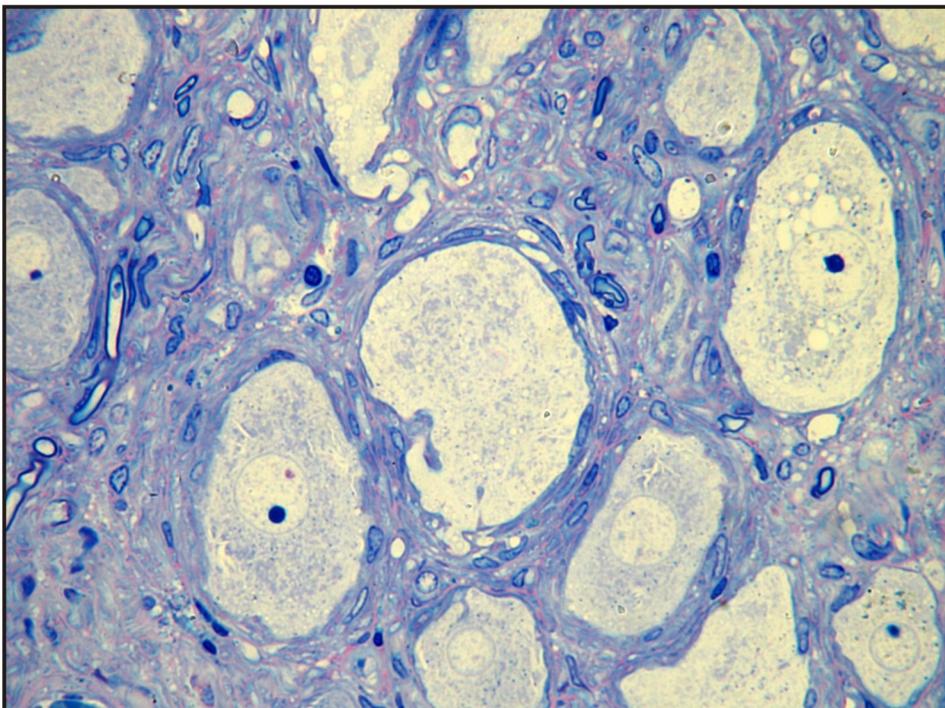


Abb. 4: Abb. 5: Einzelne Ganglienzellen eines Tieres der Gruppe Nervenexzision erscheinen deutlich vergrößert

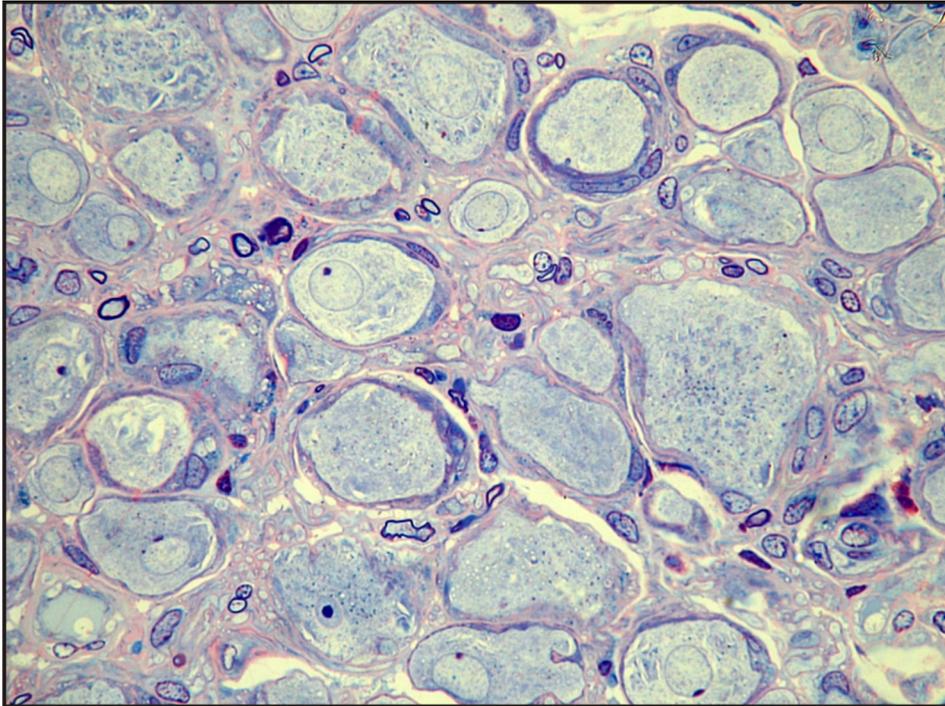


Abb. 6: Die Ganglienzellen eines Tieres der Gruppe 'Silikon' erscheinen deutlich kleiner, dennoch besitzen einzelne Ganglienzellen eine sehr große Fläche

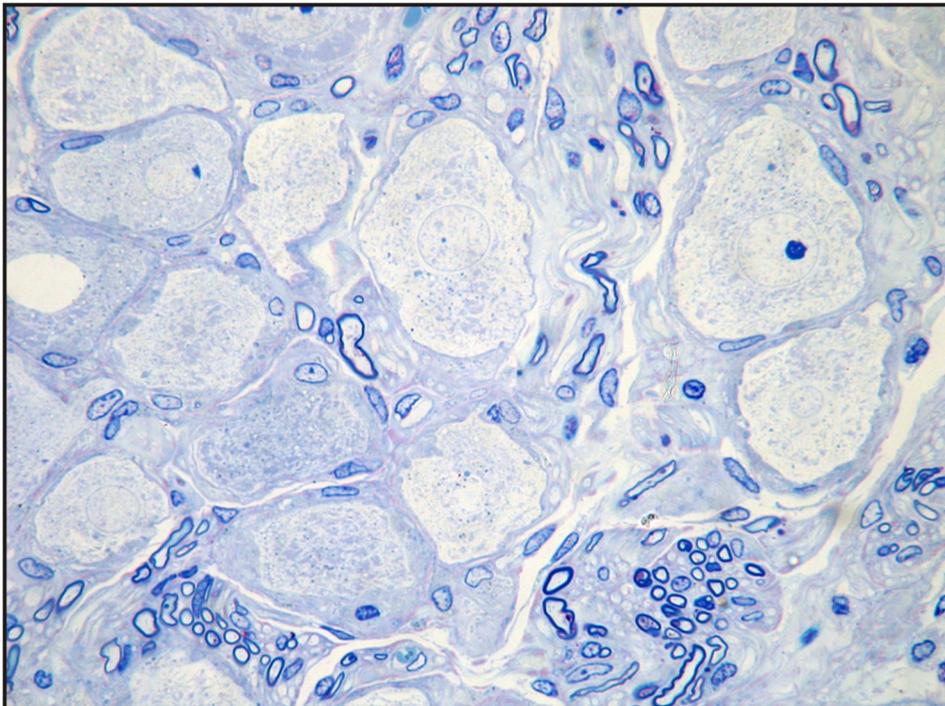


Abb. 7: Auch in der Gruppe Transplantation erscheinen die Ganglienzellen vergrößert

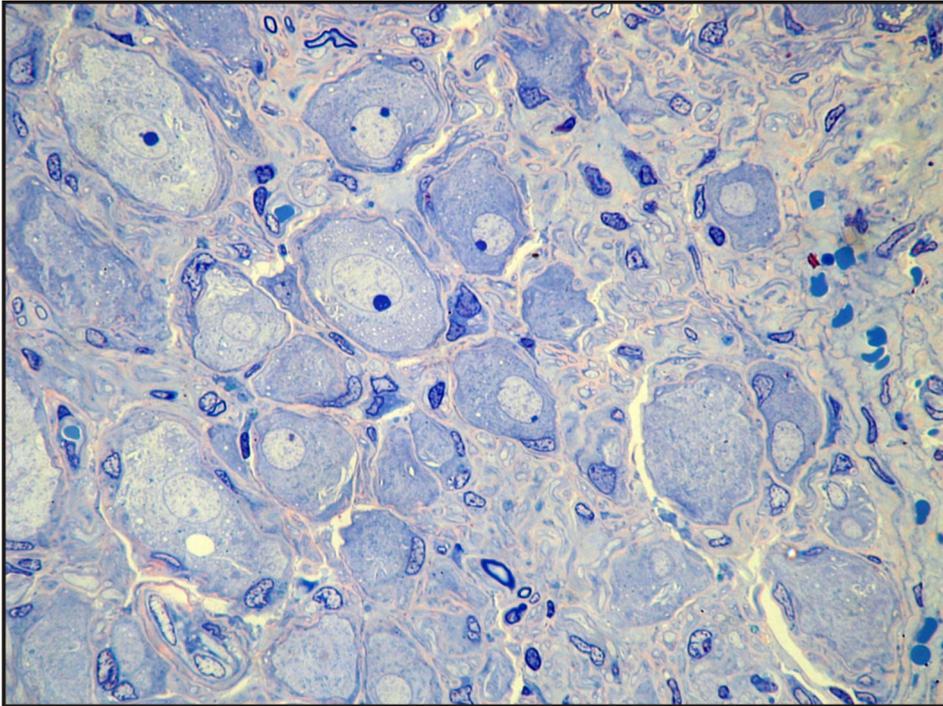


Abb. 8: Die Ganglienzellen der Gruppe Silikon⁺ erscheinen deutlich kleiner als die der Gruppen Nervenexzision oder Transplantation. Sie unterscheiden sich aber noch signifikant von denen der Positivkontrolle

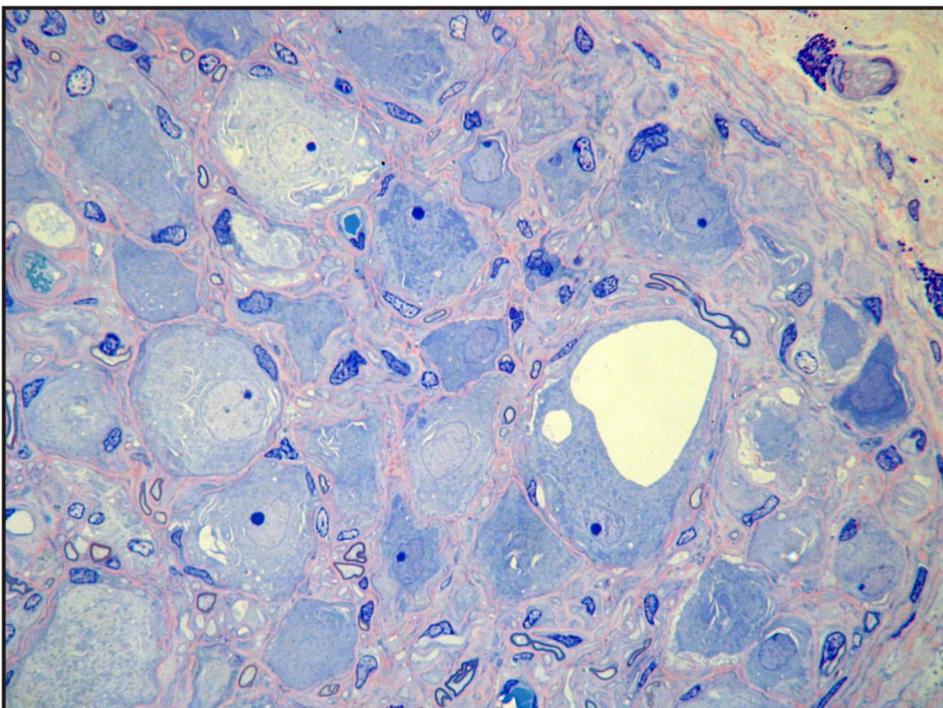


Abb. 9: Die Ganglienzellen der Gruppe Silikon⁺+GDNF haben zum Teil ihre ovale Form verloren und sind nicht mehr deutlich von ihrer Umgebung abzugrenzen

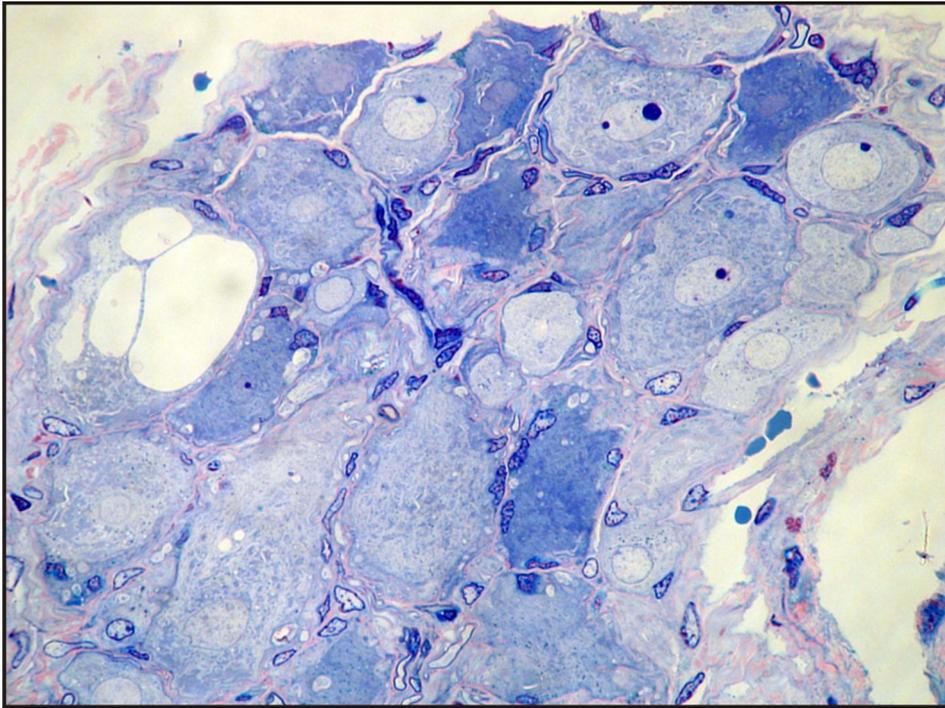


Abb. 10: Die Ganglienzellen der Gruppe Silikon⁺+VEGF/PBS haben zum Teil ihre ovale Form verloren und zeigen keine klare Abgrenzung zum umgebenden Gewebe

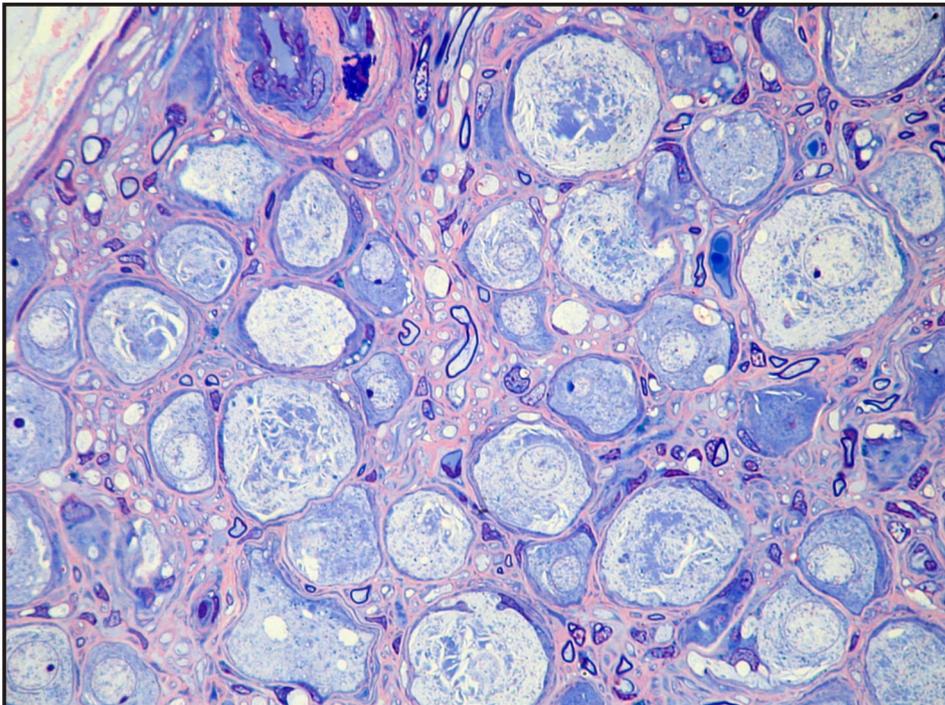


Abb. 11: Die Ganglienzellen der Gruppe Silikon⁺+GFP besitzen wieder eine ovale Form und eine klare Abgrenzung zum umgebenden Gewebe

3.5.3 Ergebnisse der Verlaufsstudie

Jeweils zwei Tiere pro Behandlungsgruppe wurden über einen Gesamtzeitraum von zehn Wochen im zwei- Wochen- Abstand untersucht. Dabei wurden dieselben Untersuchungskriterien zugrunde gelegt.

3.5.3.1 Ergebnisse der einzelnen Gruppen

Gruppe Laparotomie/2

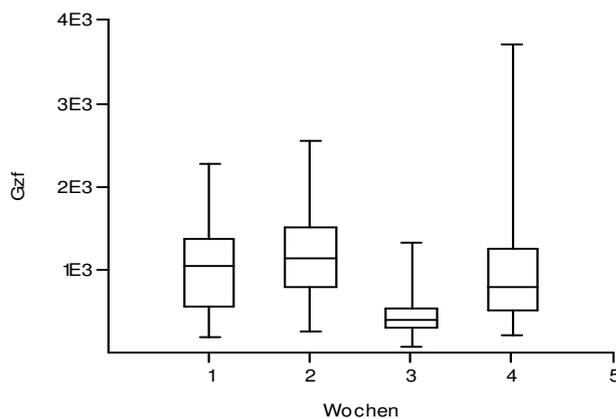


Abb. 24: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

Die *Laparotomie*gruppe der Verlaufsstudie besteht aus sieben Tieren, von denen insgesamt 350 Bilder ausgewertet wurden. Der Untersuchungszeitraum erstreckt sich von 2 bis 8 Wochen. Auch in der Nebenstudie wird diese Gruppe als Normwert verwendet, da keine Nervenläsion stattgefunden hat.

Die Mittelwerte der Flächen einzelner Ganglienzellen liegen in der shamoperierten Gruppe über einen Zeitraum von zehn Wochen zwischen $436,82 \mu\text{m}^2$ und $1199,85 \mu\text{m}^2$. Während hingegen die Gruppen *nach 2 Wochen*, *nach 4 Wochen* und *nach 8 Wochen* einen einander sehr ähnlichen Mittelwert aufweisen, ist der Mittelwert der Gruppe *nach 6 Wochen* deutlich niedriger. Verglichen mit dem Mittelwert der sham-operierten Gruppe der Hauptstudie, der

965,98 μm^2 beträgt, zeigt sich, dass in der gesamten *Laparotomie*gruppe der Mittelwert der Ganglienzellflächen durchweg konstant ist. Einzig in der Gruppe *nach 6 Wochen* tritt ein Wert auf, der nur halb so groß ist, wie alle anderen Mittelwerte.

Auch die Standardabweichung variiert von 229,3 bis 638,8. Und wiederum besitzen die Gruppen *nach 2, 4 und 8 Wochen* eine ähnliche Standardabweichung, während hingegen die Gruppe *nach 6 Wochen* eine deutlich kleinere Standardabweichung und somit also auch eine deutlich geringere Streuung der Werte innerhalb aufweist.

Tab. 10: Übersichtstabelle der Ganglienzellflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo
Mittelwert	1014,87	1199,85	436,82	955,75
Median	1050,95	1135,81	384,30	794,79
Min	176,46	243,03	73,56	200,97
Max	2260,68	2536,76	1308,64	3697,92
Stabw	523,99	547,07	229,39	638,81

Gruppe Nervenexzision/2

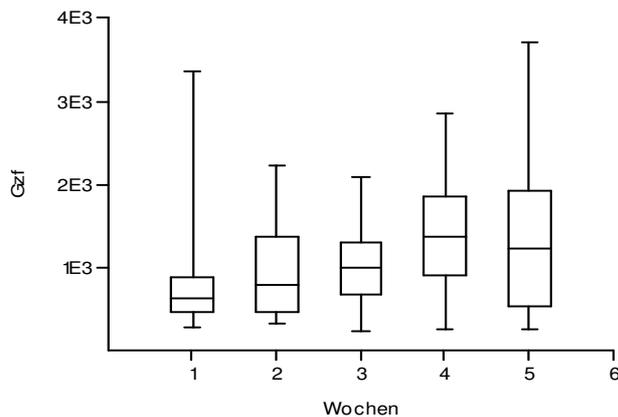


Abb. 25: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

Die Gruppe Nervenexzision/2 besteht aus 6 Tieren, von denen insgesamt 300 Bilder ausgewertet wurden.

Die Mittelwerte der Gruppe *Nervenexzision/2* erstrecken sich von 841,4 μm^2 bis 1390,81 μm^2 . Im Gegensatz zur *Laparotomiegruppe/2* ist hier eine kontinuierliche Zunahme der Fläche der einzelnen Ganglienzellen im Verlauf des Untersuchungszeitraumes bis zur Gruppe *nach 8 Wochen* zu beobachten. Lediglich der Mittelwert der Gruppe *nach 10 Wochen* ist geringfügig kleiner als der Mittelwert der Gruppe *nach 8 Wochen*. Zu Beginn des Untersuchungszeitraumes sind die Ganglienzellflächen dieser Gruppe noch geringer als die Mittelwerte der shamoperierten *Laparotomiegruppe*. Aber durch die kontinuierliche Zunahme im weiteren Zeitverlauf ist der Mittelwert der Gruppe *Nervenexzision/2* nach einem Zeitraum von zehn Wochen deutlich über dem Mittelwert der shamoperierten Gruppe. Verglichen mit dem Mittelwert der Gruppe *Nervenexzision* der Hauptstudie zeigt sich, dass nach zwölf Wochen die Ganglienzellfläche im Mittel nochmals zugenommen hat.

Die Standardabweichung variiert von 477,58 bis 806,32, wobei die Gruppe *nach 10 Wochen* die größte Streuung der Werte innerhalb aufweist. Aber auch innerhalb der Gruppe *nach 2 Wochen* sind die Einzelwerte nur geringfügig enger gestreut.

Tab. 11: Übersichtstabelle der Ganglienzellflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	841,40	936,67	1041,02	1390,81	1320,44
Median	620,39	785,05	996,34	1362,54	1228,54
Min	273,62	316,38	236,85	265,59	252,08
Max	3359,34	2209,88	2089,88	2836,18	3693,41
Stabw	703,39	560,98	477,58	592,88	806,32

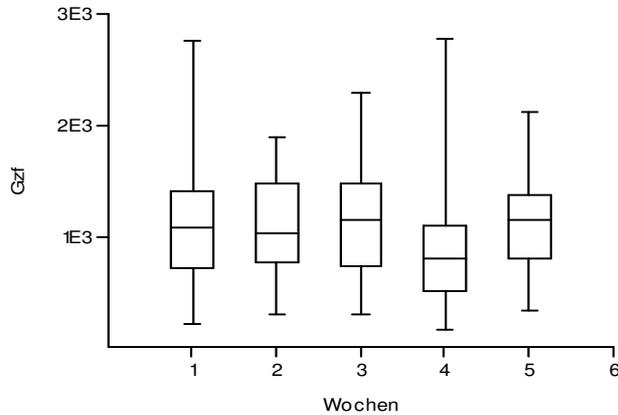
Gruppe Silikon⁻/2

Abb. 26: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

In der Gruppe *Silikon⁻/2* fand eine Untersuchung von 8 Tieren statt, im Rahmen derer 366 Bildern ausgewertet wurden.

Die Mittelwerte der Ganglienzellfläche erstrecken sich in der Gruppe *Silikon⁻/2* von 842,43 μm^2 bis 1133,36 μm^2 . Auch in dieser Gruppe ist die Spanne zwischen den einzelnen Mittelwerten sehr groß. Eine kontinuierliche Zunahme der Fläche der einzelnen Ganglienzellen im Wochenverlauf ist hier nicht zu beobachten. Auffällig ist, dass der Mittelwert der Ganglienzellfläche der Gruppe *nach 8 Wochen* deutlich niedriger ist, während hingegen die Mittelwerte der anderen Gruppen, wie in der Laparotomiegruppe, einen ähnlich konstanten Wert aufweisen. Im direkten Vergleich der Mittelwerte der Gruppe *Silikon⁻* mit der shamoperierten Gruppe erscheinen die Mittelwerte in allen Zeitabschnitten erhöht. Auch in der Hauptstudie, also nach einem Zeitraum von zwölf Wochen, ist der Mittelwert dieser Gruppe deutlich höher, als der Wert der Laparotomiegruppe.

Die Standardabweichung variiert von 447,51 bis 544,79, wobei die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe *nach 2 Wochen* am weitesten ist.

Tab. 12: Übersichtstabelle der Ganglienzellflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	1115,94	1070,97	1133,36	842,43	1093,09
Median	1074,68	1031,49	1144,26	791,61	1144,17
Min	201,13	290,31	299,65	148,24	330,31
Max	2750,58	1888,66	2292,16	2774,65	2110,6
Stabw	544,79	447,51	488,34	448,13	450,1

Gruppe Silikon⁺/2

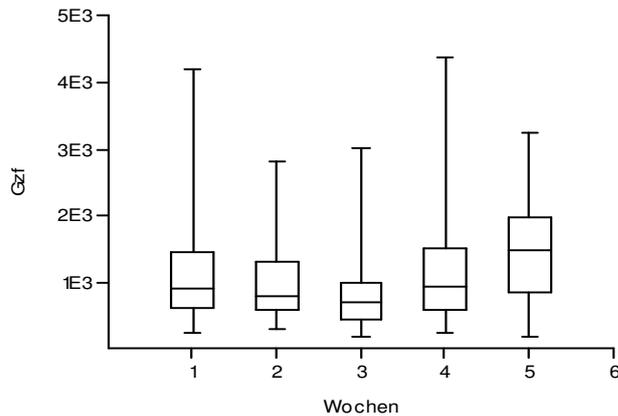


Abb. 27: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

Für die Gruppe *Silikon⁺/2* wurden 9 Tiere untersucht. Von diesen Tieren konnten insgesamt 443 Bilder ausgewertet werden.

In der Gruppe *Silikon⁺/2* erstrecken sich die Mittelwerte für die Fläche der einzelnen Ganglienzellen von 813,27 μm^2 bis 1446,1 μm^2 . Auch in diesem Fall ist also die Spanne zwischen den Mittelwerten sehr weit. Wie in der Gruppe *Silikon⁻/2*, zeigt sich auch in dieser Gruppe keine kontinuierliche Zunahme der Ganglienzellfläche im Verlauf des Untersuchungszeitraumes.

Es ist, im Gegenteil, eine deutliche Verringerung der Fläche der einzelnen Ganglienzellen in der Gruppe *nach 6 Wochen* zu erkennen. Aber gleichzeitig zeigt die Gruppe *nach 10*

Wochen wesentlich höhere Flächenwerte einzelner Ganglienzellen. Nach einem Zeitraum von zwölf Wochen allerdings, sinkt der Mittelwert der Gruppe *Silikon⁺/2* wieder auf einen Wert von 1127,55 μm^2 . Es zeigt sich also, dass die Ganglienzellflächen in dieser Gruppe stark variieren. Dennoch lässt sich sagen, dass die Ganglienzellfläche schon nach einem Zeitraum von zwei Wochen, im Vergleich zur *Laparotomie*gruppe, deutlich erhöht ist.

Die Standardabweichung variiert von 512,03 bis 725,06. Innerhalb der Gruppe *nach 4 Wochen*, aber vor allem innerhalb der Gruppe *nach 6 Wochen* liegen die Einzelwerte deutlich enger gestreut als in den Gruppen *nach 2, 8 und 10 Wochen*.

Tab. 13: Übersichtstabelle der Ganglienzellflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	1104,21	1027,27	813,27	1098,91	1446,1
Median	885,39	791,78	687,44	934,91	1462,94
Min	229,26	288,82	173,36	241,73	183,38
Max	4188,91	2803,74	3014,32	4357,46	3243,88
Stabw	693,35	613,85	512,03	701,49	725,06

Gruppe *Silikon⁺+GDNF/2*

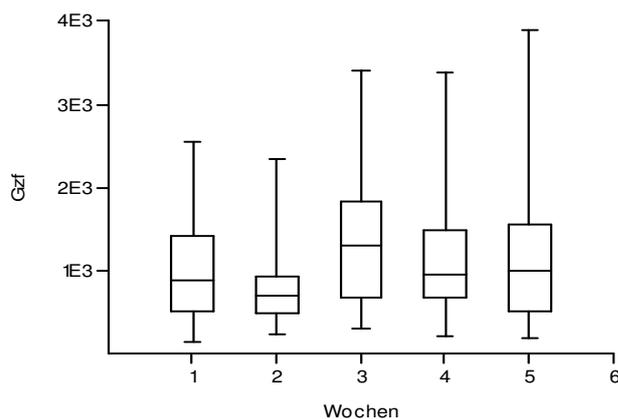


Abb. 28: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

In der Gruppe *Silikon⁺+GDNF/2* wurden 287 Bilder von 9 Tieren ausgewertet.

Die Mittelwerte für die Fläche der einzelnen Ganglienzellen reichen von 718,71 μm^2 bis 1334,94 μm^2 . Wie schon zuvor ist auch in diesem Fall die Spanne der Mittelwerte sehr weit. Eine kontinuierliche Zunahme der Fläche der einzelnen Ganglienzellen im Verlauf des Untersuchungszeitraumes ist im Gegensatz zur Gruppe *Nervenexzision* auch hier nicht zu erkennen. Der Mittelwert der Gruppe *nach 4 Wochen* ist deutlich kleiner als die Mittelwerte der anderen Gruppen. Des Weiteren fällt zwischen der Gruppe *nach 4 Wochen* und der Gruppe *nach 6 Wochen* eine starke Zunahme der Ganglienzellfläche auf, die dann in den nächsten beiden Zeitabschnitten wieder zurückgeht. Nach zwölf Wochen entspricht der Mittelwert der Ganglienzellflächen mit 1003,94 μm^2 dem Wert der Gruppe nach zwei Wochen. Verglichen mit der *Laparotomie*gruppe unterscheidet sich die Gruppe *Silikon⁺+GDNF* zu dem Zeitpunkt nach zwei Wochen und nach zwölf Wochen nicht signifikant von der *Laparotomie*gruppe. Allerdings ist zwischen diesem Zeitraum eine deutliche Variation der Ganglienzellflächen zu erkennen.

Die Standardabweichung zeigt ebenfalls mit Werten von 346,93 bis 779,81 eine große Variation, wobei die Streuung der Werte innerhalb der Gruppen *nach 6, 8 und 10 Wochen* deutlich weiter ist als in der Gruppe *nach 2 Wochen*.

Tab. 14: Übersichtstabelle der Ganglienzellflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	969,07	718,71	1334,94	1114,34	1145,52
Median	870,06	701,26	1289,79	938,64	983,13
Min	145,58	236,57	311,05	198,48	188,36
Max	2553,58	2336,80	3409,87	3373,01	3895,23
Stabw	540,32	346,93	764,39	627,79	779,81

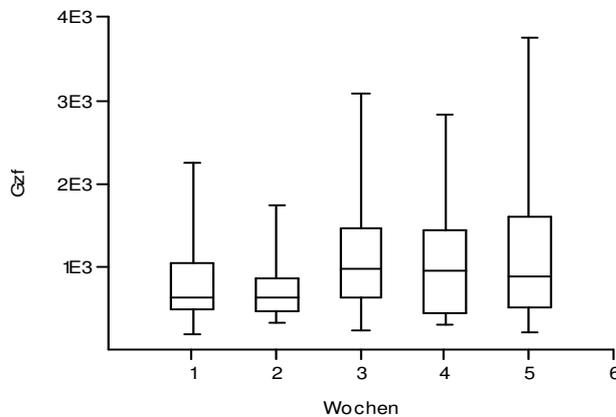
Gruppe *Silikon⁺+GFP/2*

Abb. 29: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

In der Gruppe *Silikon⁺+GFP/2* wurden insgesamt 294 Bilder von 8 Tieren ausgewertet.

Die Mittelwerte der Gruppe *Silikon⁺+GFP/2* erstrecken sich von 736,81 μm^2 bis 1118,79 μm^2 . Somit ist auch in der letzten Gruppe die Spanne der Mittelwerte sehr weit. Es zeigt sich eine kontinuierliche Zunahme der Fläche der einzelnen Ganglienzellen im Verlauf des Untersuchungszeitraumes. Im Gegensatz zu den anderen Gruppen ist kein Einbruch bezüglich der Ganglienzellfläche im Untersuchungsintervall zu erkennen. Allerdings sinkt die Ganglienzellfläche der Gruppe *Silikon⁺+GFP* nach einem Zeitraum von zwölf Wochen wieder auf 909,85 μm^2 ab und unterscheidet sich somit nicht signifikant von der *Laparotomie*gruppe.

Die Standardabweichung reicht von 366,71 bis 768,14. Die Streuung der Werte innerhalb der Gruppen ist in der Gruppe *nach 4 Wochen* weniger weit als in den übrigen untersuchten Gruppen. Des Weiteren nimmt die Streuung von der Gruppe *nach 6 Wochen* bis zur Gruppe *nach 10 Wochen* ebenfalls kontinuierlich zu.

Tab. 15: Übersichtstabelle der Ganglienzellflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	771,54	736,81	1076,72	1020,06	1118,79
Median	631,02	633,38	960,93	941,03	874,59
Min	174,59	326,59	235,71	312,14	207,06
Max	2254,24	1743,84	3085,73	2816,42	3747,99
Stabw	432,33	366,71	583,85	602,72	768,14

3.5.3.2 Gruppenübergreifende Betrachtung der Verlaufsstudie

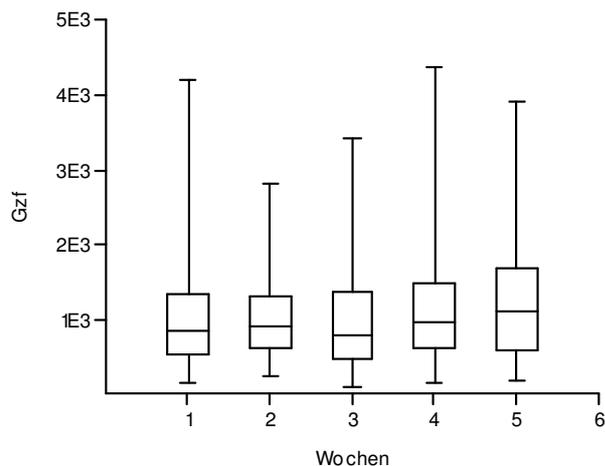


Abb. 30: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

In der Verlaufsgruppe wurden insgesamt Bilder von 47 Tieren ausgewertet.

Die Mittelwerte für die Fläche der einzelnen Ganglienzellen erstrecken sich in der Verlaufsgruppe von $949,02 \mu\text{m}^2$ bis $1229,29 \mu\text{m}^2$. Bei einer gruppenübergreifenden Betrachtung der Verlaufsstudie lässt sich feststellen, dass eine deutliche Veränderung der Ganglienzellfläche im Verlauf des Untersuchungszeitraumes zu erkennen ist. Eine kontinuierliche Zunahme der Fläche der einzelnen Ganglienzellen im Wochenverlauf wird durch eine geringe Verminderung der Ganglienzellfläche nach 6 Wochen unterbrochen. Als Ergebnis zeigt sich also die Tendenz der Zunahme der Ganglienzellfläche über den Untersuchungszeitraum von 10 Wochen. Die Erhebung eines repräsentativen Ergebnisses ist in der Verlaufsstudie aufgrund der geringen Tierzahlen der einzelnen Gruppen nicht möglich.

Tab. 16: Übersichtstabelle der Ganglienzellflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	981,15	995,14	949,02	1090,06	1229,29
Median	841,32	897,03	792,85	948,34	1106,43
Min	145,58	236,57	73,56	148,24	183,38
Max	4188,91	2803,74	3409,87	4357,46	3895,23
Stabw	579,93	520,2	620,29	629,44	743,24

3.6 Fläche der Ganglienzellkerne

3.6.1 Ergebnisse der Hauptstudie

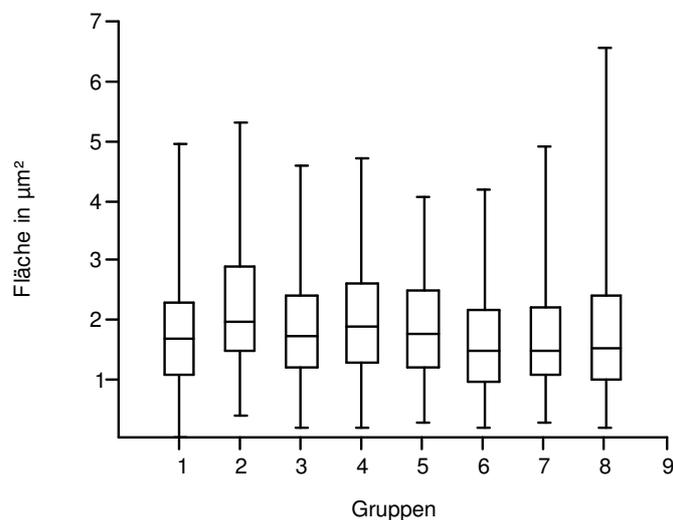


Abb. 31: Box-and-Whiskers Plot

1 = Gruppe Laparotomie, 2 = Gruppe Silikon⁺, 3 = Gruppe Transplantation, 4 = Gruppe Silikon⁺, 5 = Gruppe Silikon⁺ + GDNF, 6 = Gruppe Silikon⁺ + VEGF/PBS, 7 = Gruppe Silikon⁺ + GFP

In der *Laparotomie*gruppe beträgt die Zellkernfläche im Mittel 179,22 µm². Die Flächen

erstrecken sich von mindestens $18,89 \mu\text{m}^2$ bis maximal $495,19 \mu\text{m}^2$. Die Streuung der Zellkernflächen innerhalb der Gruppe erscheint so mit einer Standardabweichung von $91,22$ relativ weit. Im Histogramm zeigt sich eine bimodale Verteilung der Flächen in der Gruppe.

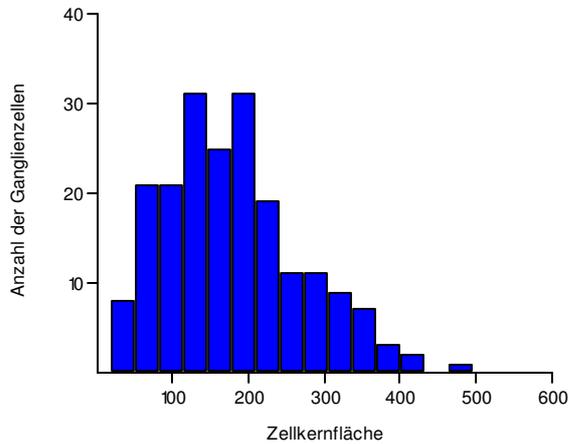


Abb. 32: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Laparotomie

Die Gruppe *Nervenexzision* unterscheidet sich signifikant von der *Laparotomie*gruppe. In dieser Gruppe liegt der Mittelwert der Zellkernflächen bei $213,4 \mu\text{m}^2$, also deutlich über den Werten der sham-operierten Gruppe. Mit einem Minimum von $37,33 \mu\text{m}^2$, einem Maximum von $528,39 \mu\text{m}^2$ und einer Standardabweichung von $106,06$ ist auch die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe im Vergleich zur *Laparotomie*gruppe deutlich weiter. Das Histogramm zeigt eine ungleichmäßige, bimodale Verteilung der Flächen innerhalb der Gruppe *Nervenexzision*.

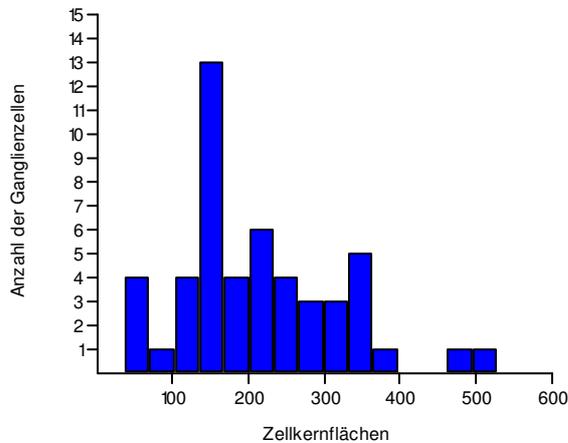


Abb. 33: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Nervenexzision

Sowohl die Gruppen *Silikon⁻*, *Transplantation* und *Silikon⁺* unterscheiden sich in der Fläche ihrer Zellkerne nicht signifikant von der Laparotomiegruppe.

In der Gruppe *Silikon⁻* beträgt die Fläche der Zellkerne im Mittel $186,93 \mu\text{m}^2$. Die Werte liegen zwischen $16,66 \mu\text{m}^2$ als Minimum und $455,75 \mu\text{m}^2$ als Maximum. Auch die Streuung der Zellkernflächen innerhalb der Gruppe ähnelt mit einer Standardabweichung von $91,85$ sehr der *sham-operierten* Gruppe. Das Histogramm dieser Gruppe zeigt eine bimodale Verteilung.

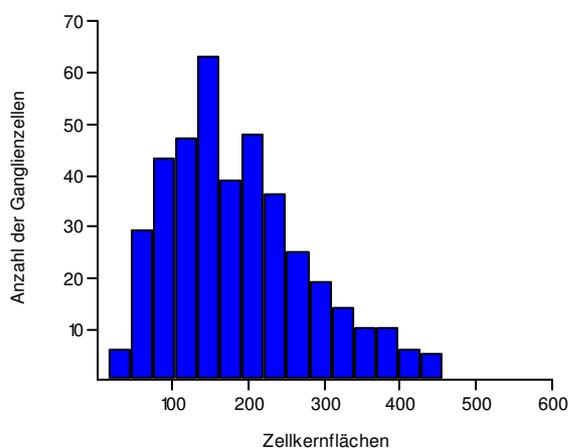


Abb. 34: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe *Silikon⁻*

In der Gruppe *Transplantation* liegt der Mittelwert der Zellkernflächen bei $193,41 \mu\text{m}^2$. Verglichen mit der *Laparotomie*gruppe ist dieser Wert zwar geringgradig höher, die Werte unterscheiden sich aber insgesamt nicht signifikant von der *shamoperierten* Gruppe. Mit einem Minimum bei $17,21 \mu\text{m}^2$, einem Maximum bei $470,66 \mu\text{m}^2$ und einer Standardabweichung von $91,87$ entspricht die Streuung der Werte innerhalb dieser Gruppe den Gruppen *Laparotomie* und *Silikon⁻*. Das Histogramm zeigt eine gleichmäßige, unimodale Verteilung der Flächen in der Gruppe *Transplantation*.

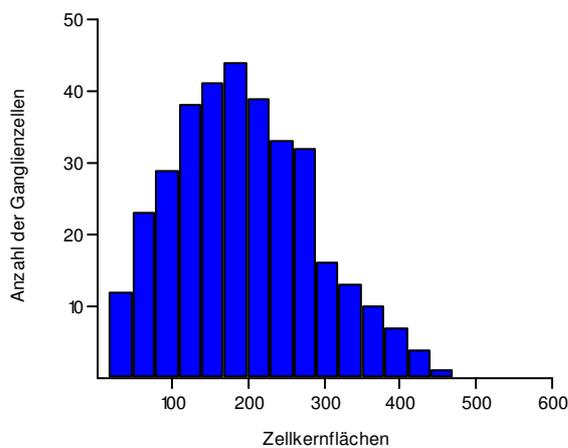


Abb. 35: Histogramm der Zellkernfläche der Gruppe Transplantation

In der Gruppe *Silikon⁺* beträgt die Fläche der Zellkerne im Mittel $183,57 \mu\text{m}^2$. Sie unterscheidet sich nicht signifikant von der *sham-operierten* Gruppe. Die Werte erstrecken sich von mindestens $24,65 \mu\text{m}^2$ bis zu maximal $402,67 \mu\text{m}^2$. Mit einer Standardabweichung von $85,82$ sind die einzelnen Werte in dieser Gruppe sogar weniger weit gestreut als die Werte der *Laparotomie*gruppe. Das Histogramm zeigt eine bimodale Verteilung der Flächen innerhalb der Gruppe *Silikon⁺*.

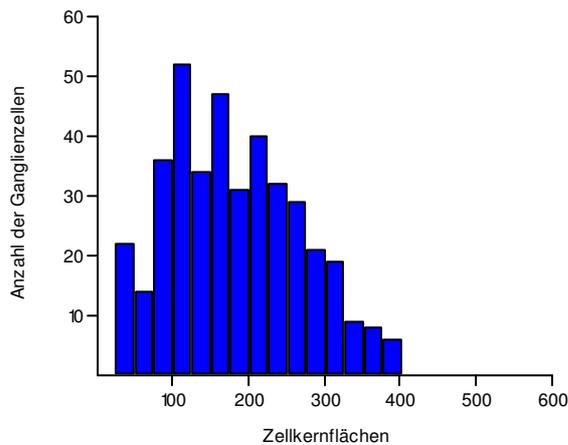


Abb. 36: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Silikon⁺

Die letzten drei untersuchten Gruppen zeigen sich wiederum sehr ähnlich in ihren Ergebnissen. Sie besitzen alle niedrigere Mittelwerte für ihre Zellkernflächen als die *sham-operierte* Gruppe. Aber lediglich die Gruppen *Silikon⁺+GDNF* und *Silikon⁺+VEGF/PBS* zeigen signifikante Unterschiede zur Laparotomiegruppe.

In der Gruppe *Silikon⁺+GDNF* liegt der Mittelwert der Zellkernflächen bei 161,32 μm^2 . Mit einem Minimum von 16,99 μm^2 , einem Maximum von 417,67 μm^2 und einer Standardabweichung von 84,97 ist die Streuung der Flächenwerte innerhalb der Gruppe ebenfalls geringer als in der *Laparotomie*gruppe. Das Histogramm zeigt eine nahezu bimodale Verteilung der Flächenwerte in der Gruppe *Silikon⁺+GDNF*.

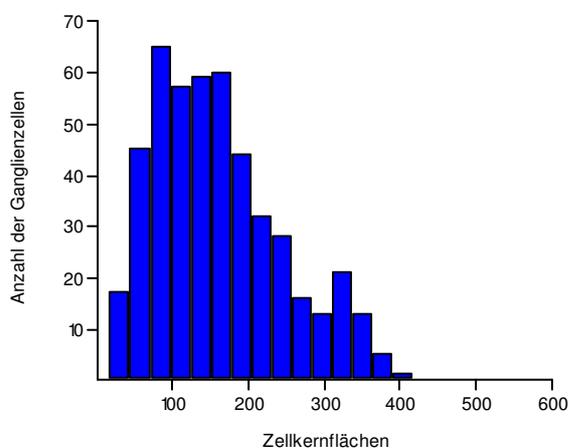


Abb. 37: Histogramme der Zellkernflächen der Gruppe Silikon⁺+GDNF

In der Gruppe *Silikon⁺+VEGF/PBS* betragen die Flächen der Zellkerne im Mittel 164,17 μm^2 und liegen insgesamt deutlich unter dem Mittelwert der *Laparotomie*gruppe. Die Flächen erstrecken sich von mindestens 22,37 μm^2 bis zu maximal 491,42 μm^2 . Mit einer Standardabweichung von 82,95 ist auch in dieser Gruppe die Streuung der Werte deutlich geringer als in der *Laparotomie*gruppe. Wie bei der Gruppe *Silikon⁺+GDNF* zeigt das Histogramm auch in der Gruppe *Silikon⁺+VEGF/PBS* eine bimodale Verteilung.

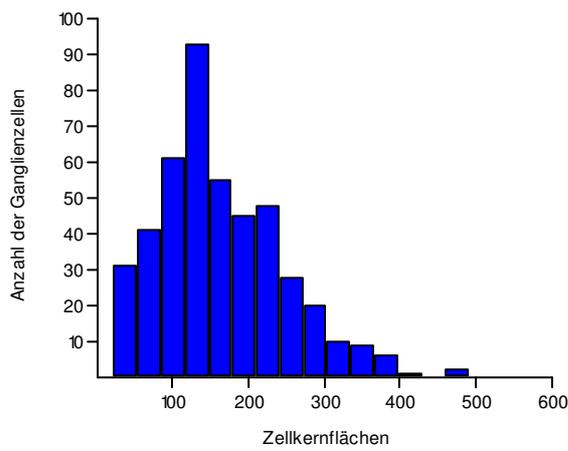
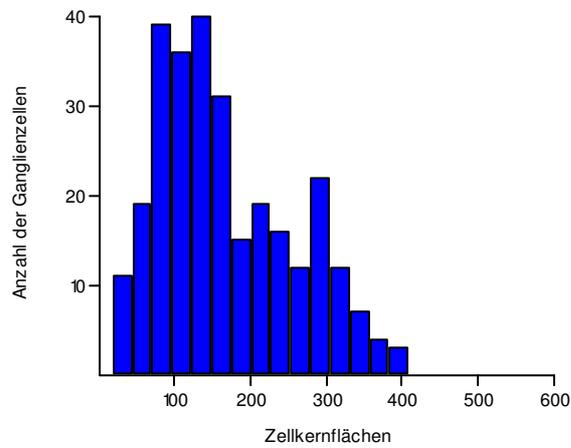


Abb. 38: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe *Silikon⁺+VEGF/PBS*

Die zuletzt untersuchte Gruppe *Silikon⁺+GFP* besitzt mit einer mittleren Zellkernfläche von 167,96 einen Mittelwert, der kleiner ist als der, der *Laparotomie*gruppe, sie unterscheidet sich aber nicht signifikant von dieser. Mit einer minimalen Fläche von 17,8 μm^2 und einer maximalen Fläche von 409,66 μm^2 und einer Standardabweichung von 89,22 entspricht die Streuung der einzelnen Werte innerhalb der Gruppe ungefähr der *Laparotomie*gruppe. Das Histogramm zeigt eine wenig gleichmäßige, bimodale Verteilung der Flächenwerte in der Gruppe *Silikon⁺+GFP*.

Abb. 39: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Silikon⁺+GFP

Tab. 17: Übersichtstabelle der Zellkernflächen

	Lap	Nervex	Silikon ⁻	Transpl	Silikon ⁺	Silikon ⁺⁺	Silikon ⁺ + VEGF/PBS	Silikon ⁺ +GFP
Mittelwert	179,22	213,41	186,93	193,41	183,57	161,32	164,17	167,96
Median	169,47	192,61	168,12	186,01	173,93	145,33	146,73	147,66
Min	18,89	37,33	16,66	17,21	24,65	16,99	22,37	17,8
Max	495,19	528,39	455,75	470,66	402,67	417,67	491,42	409,66
Stabw	91,22	106,06	91,85	91,87	85,82	84,97	82,95	89,22

3.6.2 Ergebnisse der Verlaufsstudie

3.6.2.1 Ergebnisse der einzelnen Gruppen

Gruppe Laparotomie/2

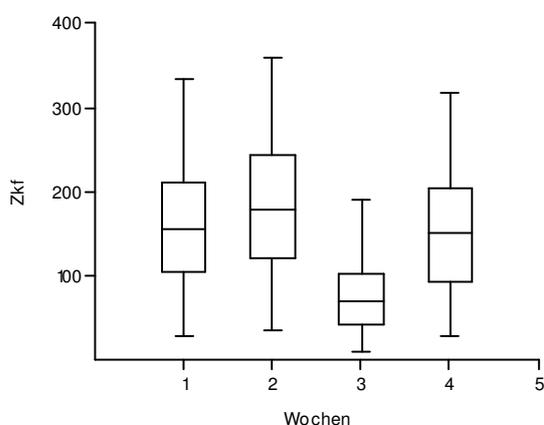


Abb. 40: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

Die Mittelwerte der Gruppe *Laparotomie/2* reichen von $76,37 \mu\text{m}^2$ bis $156,38 \mu\text{m}^2$. Auch hier ist die Spanne der Zellkernflächen einzelner Ganglienzellen sehr weit. Eine kontinuierliche Zu- oder Abnahme der Zellkernfläche im zeitlichen Verlauf ist in dieser Gruppe nicht zu erkennen. Der Mittelwert der Gruppe *nach 8 Wochen* entspricht in etwa dem der Gruppe *nach 2 Wochen*. Dennoch ist auffällig, dass nach einem kurzen Anstieg des Mittelwertes nach 4 Wochen, der Mittelwert der Gruppe *nach 6 Wochen* deutlich geringer ist als die Werte aller anderen Gruppen.

Verglichen mit der Hauptstudie sind die Zellkernflächen der Verlaufsstudie im Mittel deutlich kleiner. Denn nach einem Zeitraum von 12 Wochen liegt der Mittelwert der Zellkernflächen dieser Gruppe bei $179,22 \mu\text{m}^2$. Die Standardabweichung variiert ebenfalls stark von $43,21$ bis $74,28$, wobei diese starke Variation weitgehend durch die Gruppe *nach 6 Wochen* verursacht wird.

Tab. 18: Übersichtstabelle der Zellkernflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo
Mittelwert	156,38	185	76,37	153,92
Median	154,01	177,56	69,69	149,69
Min	27,68	34,1	10,3	26,8
Max	331,88	358,61	188,88	316,45
Stabw	73,45	74,28	43,21	70,85

Gruppe Nervenexzision/2

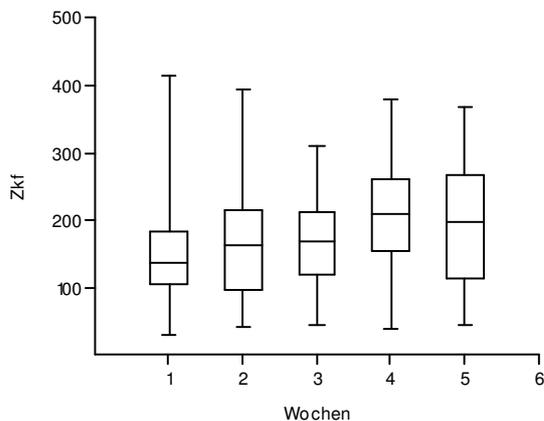


Abb. 41: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

Die Mittelwerte der Zellkernflächen erstrecken sich in dieser Gruppe von $160,94 \mu\text{m}^2$ bis $207,32 \mu\text{m}^2$. Im Gegensatz zur Gruppe *Laparotomie/2* ist hier eine kontinuierliche Zunahme der Fläche der einzelnen Ganglienzellen im Verlauf bis zur achten Woche zu erkennen. Im weiteren Verlauf sinkt der Mittelwert dann nur noch geringfügig ab. Und auch nach zwölf Wochen ist der Mittelwert mit $213,41 \mu\text{m}^2$ noch einmal deutlich größer. Verglichen mit der *Laparotomie*gruppe sind die Mittelwerte der Gruppe *Nervenexzision/2* ab dem Zeitpunkt nach 8 Wochen deutlich größer als die Werte der shamoperierten Gruppe.

Die Standardabweichung variiert von $70,98$ bis $95,32$.

Tab. 19: Übersichtswerte der Zellkernflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	160,94	163,91	168,68	207,32	192,68
Median	137,25	163,00	167,91	208,60	196,58
Min	28,39	41,33	43,87	37,28	43,8
Max	413,28	392,52	309,65	377,69	367,29
Stabw	95,32	82,99	70,98	75,34	88,94

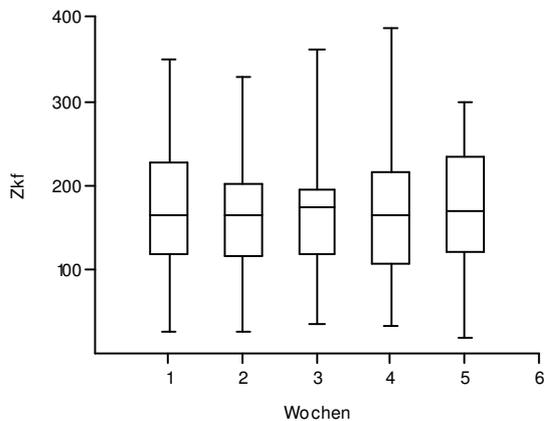
Gruppe Silikon²

Abb. 42: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

Die Mittelwerte der Zellkernflächen erstrecken sich in dieser Gruppe von 160,12 μm^2 bis 171,9 μm^2 . In diesem Fall liegen die Mittelwerte sehr nah beieinander. Es ist also keine deutliche Veränderung der Zellkernfläche einzelner Ganglienzellen im zeitlichen Verlauf zu erkennen. Allerdings ist der Mittelwert der Zellkernflächen nach 12 Wochen mit 186,93 deutlich höher als die Mittelwerte im vorigen zeitlichen Verlauf. Verglichen mit der *Laparotomie*gruppe zeigt die Gruppe *Silikon* mehr Konstanz in ihren Mittelwerten, die sich nicht deutlich von den Mittelwerten der *Laparotomie*gruppe unterscheiden.

Die Standardabweichung variiert von 63,37 bis 81,84. Dies entspricht ebenfalls der *Laparotomie*gruppe.

Tab. 20: Übersichtswerte der Zellkernflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	169,18	160,12	162,54	171,9	169,18
Median	164,88	163,24	172,60	163,25	169,00
Min	25,52	26,21	35,38	33,04	19,08
Max	348,67	327,27	360,67	386,6	299,1
Stabw	70,56	63,37	68,7	81,84	76,83

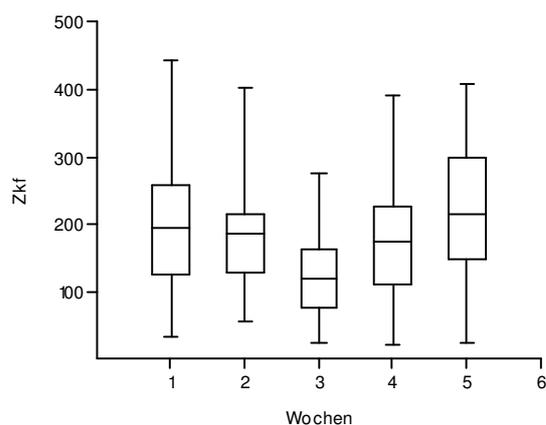
Gruppe Silikon⁺/2

Abb. 43: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

Die Mittelwerte der Zellkernflächen reichen in der Gruppe E/2 von 121,15 μm^2 bis 215,64 μm^2 . In dieser Gruppe ist nun wieder die Spanne zwischen den Mittelwerten sehr weit. Nach einer kontinuierlichen Abnahme der Zellkernfläche, die ihren Tiefpunkt nach 6 Wochen erreicht, folgt darauf eine Zunahme der Zellkernfläche. Allerdings ist der Mittelwert der Hauptstudie, zwölf Wochen nach der Nervenläsion, wieder auf 183,57 μm^2 abgesunken. Verglichen mit der *Laparotomie*gruppe liegen die mittleren Zellkernflächen der Gruppe

Silikon⁺ nach 2 Wochen und nach 10 Wochen deutlich über den Mittelwerten der *Laparotomiegruppe*.

Die Standardabweichung variiert ebenfalls von 512,03 bis 725,06, wobei die Streuung der Werte innerhalb der Gruppen ebenfalls bis zur Gruppe *nach 6 Wochen* kontinuierlich geringer und danach bis zur Gruppe *nach 10 Wochen* wieder kontinuierlich weiter wird.

Tab. 21: Übersichtstabelle der Zellkernflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	199,19	180,02	121,15	173,31	215,64
Median	193,74	185,14	118,64	172,25	212,82
Min	31,97	54,19	22,37	20,71	24,34
Max	441,08	400,39	273,2	389,18	408,02
Stabw	96,16	79,43	55,51	77,09	89,7

Gruppe Silikon⁺+GDNF/2

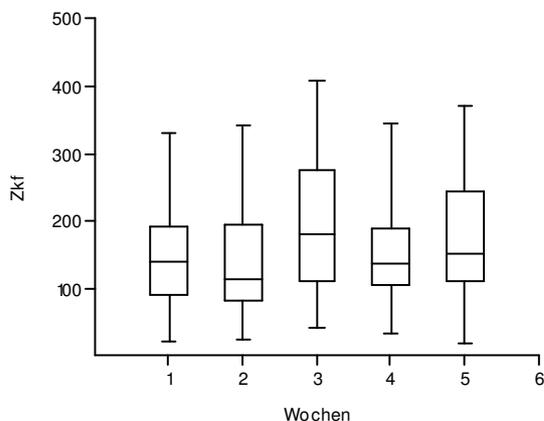


Abb. 44: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

Die Mittelwerte für die Zellkernfläche einzelner Ganglienzellen erstrecken sich in der Gruppe Silikon⁺+GDNF von 133,28 μm^2 bis 195,69 μm^2 . Wie schon zuvor ist auch in diesem Fall die Spanne der Mittelwerte sehr weit. Eine kontinuierliche Zunahme der Zellkernfläche im Verlauf des Untersuchungszeitraumes ist nicht zu erkennen. Aber zwischen der Gruppe

nach 4 Wochen und der Gruppe nach 6 Wochen fällt eine deutliche Zunahme der Zellkernfläche auf. Mit dem Mittelwert der Hauptstudie, der $161,32 \mu\text{m}^2$ beträgt, setzt sich das Verlaufsmuster dieser Gruppe fort, das durch eine wechselnde Zu- und Abnahme der Zellkernfläche gekennzeichnet ist.

Die Standardabweichung zeigt ebenfalls mit Werten von 71,04 bis 95,84 eine große Variation. Innerhalb der Gruppe nach 6 Wochen sind die Einzelwerte besonders weit gestreut.

Tab. 22: Übersichtswerte der Zellkernflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	151,27	133,28	195,69	148,76	172,02
Median	138,65	112,47	178,81	135,90	148,88
Min	19,99	22,3	40,53	30,49	18,7
Max	330,86	340,65	407,6	345,29	369,58
Stabw	72,67	71,04	95,84	68,73	85,08

Gruppe Silikon⁺+GFP/2

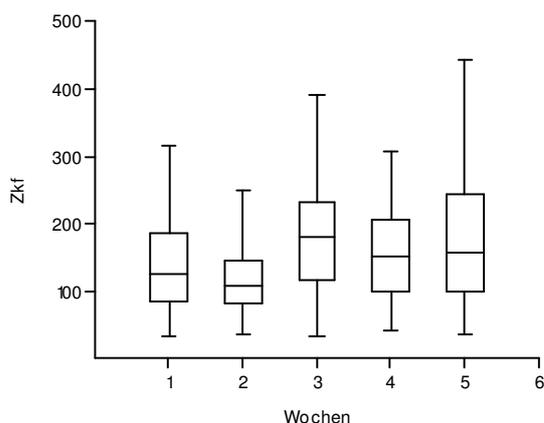


Abb. 45: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

Die Mittelwerte der Zellkernflächen erstrecken sich in dieser Gruppe von 119,11 μm^2 bis 180,59 μm^2 . Somit ist wiederum auch in dieser Gruppe die Spanne der Mittelwerte sehr weit. Es zeigt sich keine kontinuierliche Veränderung der Zellkernfläche im Verlauf des Untersuchungszeitraumes. Aber auch in dieser Gruppe besteht eine deutliche Zunahme der Zellkernfläche nach 6 Wochen. Der Mittelwert der Hauptstudie, also nach zwölf Wochen, liegt mit 167,96 μm^2 unter dem Mittelwert der Gruppe *nach 10 Wochen*. Auch die Gruppe *Silikon⁺+GFP* ist, ebenso wie die Gruppe *Silikon⁺+GDNF*, durch eine wechselnde Zu- und Abnahme der Zellkernfläche im zeitlichen Verlauf gekennzeichnet.

Die Standardabweichung reicht von 54,81 bis 92,38.

Tab. 23: Übersichtstabelle der Zellkernflächen der Gruppe Silikon⁺+GDNF

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	137,19	119,11	180,59	153,74	172,06
Median	124,24	106,57	178,23	150,34	155,48
Min	32,35	35,69	32,37	39,1	35,38
Max	314,86	249,36	388,92	307,54	441,89
Stabw	66,96	54,81	82,36	70,25	92,38

3.6.2.2 Gruppenübergreifende Betrachtung der Verlaufsstudie

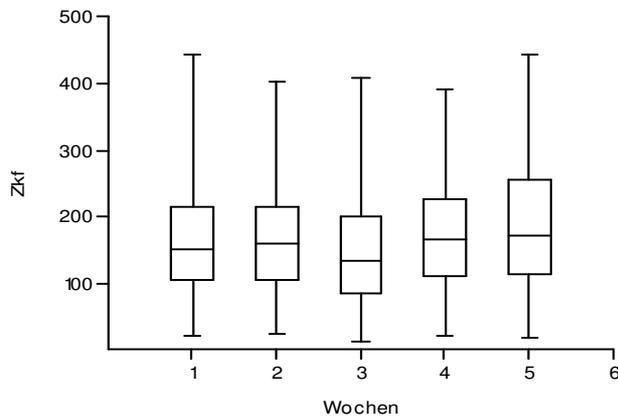


Abb. 46: Box-and-Whiskers Plot

1= nach 2 Wochen, 2= nach 4 Wochen, 3= nach 6 Wochen, 4= nach 8 Wochen, 5= nach 10 Wochen

Bei einer gruppenübergreifenden Betrachtung der Verlaufsstudie lässt sich feststellen, dass eine deutliche Veränderung der Ganglienzellkernfläche im Verlauf des Untersuchungszeitraumes zu erkennen ist. Die Mittelwerte der Zellkernfläche einzelner Ganglienzellen erstrecken sich von $147,78 \mu\text{m}^2$ bis $185,16 \mu\text{m}^2$. Eine kontinuierliche Zunahme der Fläche der einzelnen Zellkerne im Wochenverlauf wird durch eine geringe Verminderung der Ganglienzellkernfläche nach 6 Wochen unterbrochen. Die Streuung der Werte innerhalb der Gruppen variiert geringfügig. Die weiteste Streuung weist die Gruppe *nach 10 Wochen* auf. Als Ergebnis zeigt sich also die Tendenz der Zunahme der Ganglienzellfläche über den Untersuchungszeitraum von 10 Wochen.

Tab. 24: Übersichtstabelle der Zellkernflächen im Wochenverlauf

	nach 2 Wo	nach 4 Wo	nach 6 Wo	nach 8 Wo	nach 10 Wo
Mittelwert	162,49	160,82	147,78	171,76	185,16
Median	149,94	157,96	134,30	165,18	170,95
Min	19,99	22,30	10,30	20,71	18,70
Max	441,08	400,39	407,60	389,18	441,89
Stabw	80,68	74,04	83,69	77,36	89,24

3.7 Korrelation der Fläche der einzelnen Zellkerne mit der Fläche der einzelnen Ganglienzellen

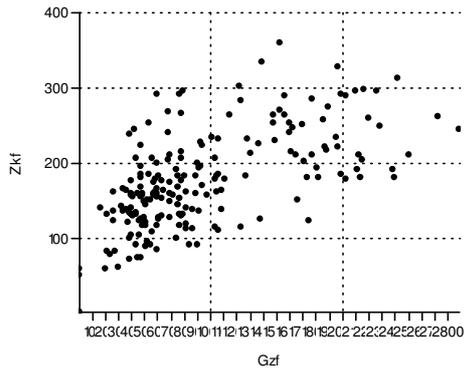


Abb. 47: Gruppe Laparotomie
Gzf= Ganglienzellfläche, Zkf= Zellkernfläche

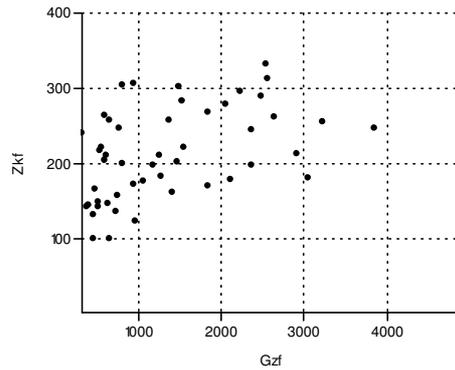


Abb. 48: Gruppe Nervenexzision

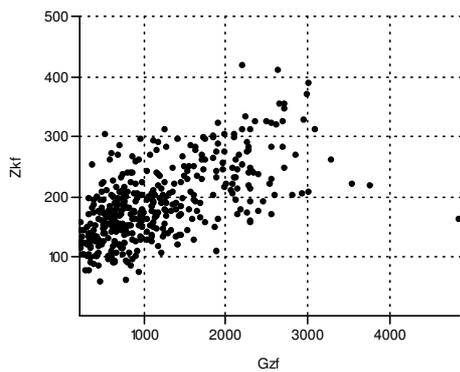


Abb. 49: Gruppe Silicon
Gzf= Ganglienzellfläche, Zkf= Zellkernfläche

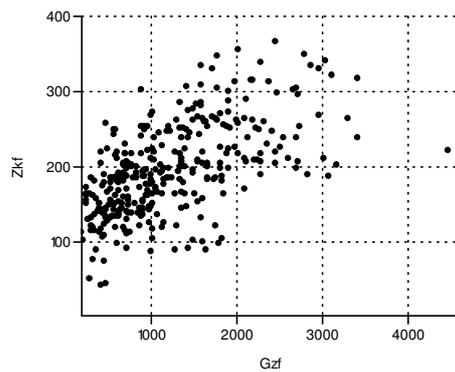


Abb. 50: Gruppe Transplantation

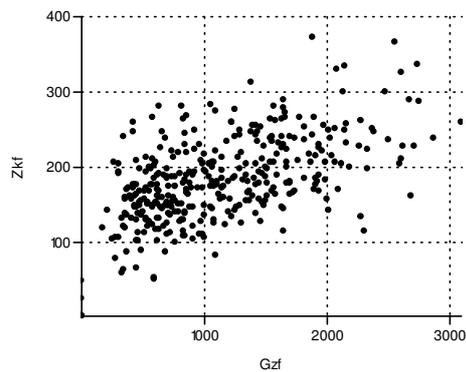


Abb. 51: Gruppe Silikon⁺
Gzf= Ganglienzellfläche, Zkf= Zellkernfläche

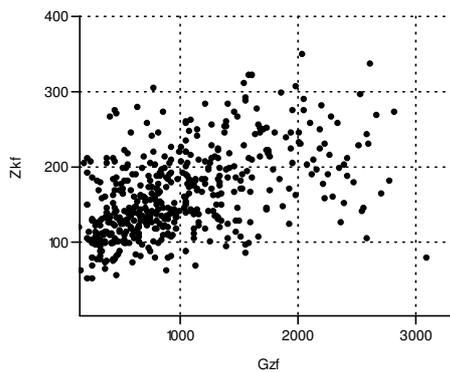


Abb. 52: Gruppe Silikon⁺+GDNF

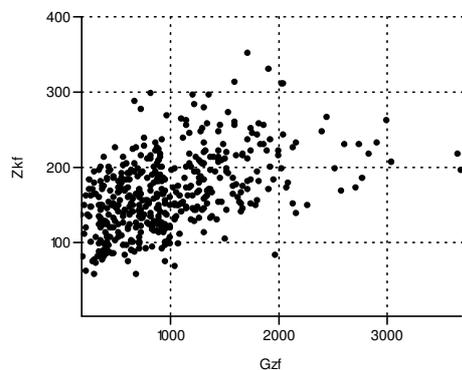


Abb. 53: Gruppe Silikon⁺+VEGF/PBS
Gzf= Ganglienzellfläche, Zkf= Zellkernfläche

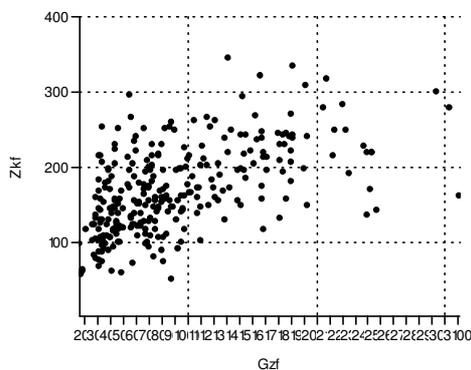


Abb. 54: Gruppe Silikon⁺+GFP

Tab. 25: Korrelations der Ganglienzellfläche mit der Zellkernfläche

	Lap	Nervex	Silikon ⁻	Transpl	Silikon ⁺	Silikon ⁺⁺	Silikon ⁺ + VEGF/PBS	Silikon ⁺ +GFP
Korrelation	0,747	0,816	0,781	0,745	0,81	0,701	0,71	0,811

Anhand der Korrelationsanalyse ist in der Hauptgruppe ein positiver Zusammenhang zwischen der Fläche der einzelnen Ganglienzellen und der Fläche der Zellkerne in allen Gruppen zu erkennen. Das bedeutet also, je größer die Fläche der einzelnen Ganglienzelle ist, desto größer ist auch die Fläche ihres Zellkernes. Dieser Zusammenhang ist in der Gruppe *Nervenexzision* am stärksten ausgeprägt. Der geringste Zusammenhang tritt in der Gruppe *Silikon⁺⁺* auf. Dennoch wird deutlich, dass die Werte aller Gruppen sehr dicht beieinander liegen.

3.8 Kernflächenanteil am Ganglienzellquerschnitt

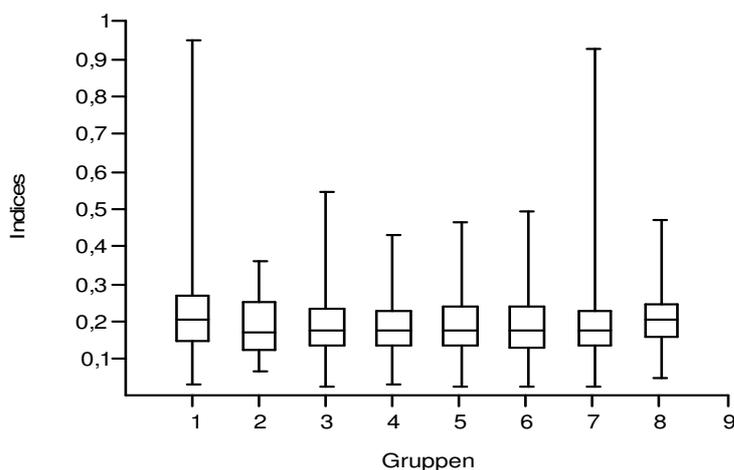


Abb. 55: Box-and-Whiskers Plot

1 = Gruppe Laparotomie, 2 = Gruppe Silikon⁻, 3 = Gruppe Transplantation, 4 = Gruppe Silikon⁺, 5 = Gruppe Silikon⁺+ GDNF, 6 = Gruppe Silikon⁺+ VEGF/PBS, 7 = Gruppe Silikon⁺+ GFP

Die Indices der *Laparotomie*gruppe erstrecken sich von 0,03 als Minimum bis zu 0,95 als Maximum. Daraus ergibt sich ein Mittelwert von 0,215 mit einer Standardabweichung von 0,1. Die Spanne der Indices der *Laparotomie*gruppe erscheint demzufolge sehr weit, was darauf schließen lässt, dass das Verhältnis der Fläche des einzelnen Zellkernes zu der Fläche seiner Ganglienzelle in der *sham-operierten* Gruppe stark variiert. Allerdings ist aus dem Streudiagramm ersichtlich, dass einzelne Ausreißer, die einen hohen Kernflächenanteil am Ganglienzellquerschnitt aufweisen, das Ergebnis stark beeinflussen.

In der Gruppe *Nervenexzision* befinden sich das Minimum bei 0,06 und das Maximum bei 0,36. Demzufolge liegt der Mittelwert bei 0,18 bei einer Standardabweichung von 0,075. In dieser Gruppe ist somit die Spanne, in der sich die Indices Zellkernfläche zu Ganglienzellfläche befinden, deutlich weniger weit als sie in der *Laparotomie*gruppe erscheint.

In der Gruppe *Silikon⁻* reicht der Kernflächenanteil am Ganglienzellquerschnitt von 0,02 bis 0,54. Daraus ergibt sich ein Mittelwert von 0,19. Die Streuung der Werte innerhalb der Gruppe ist bei einer Standardabweichung von 0,08 deutlich weniger weit als in der *Laparotomie*gruppe.

Auch in der Gruppe *Transplantation* ergibt sich aus dem Minimum von 0,03 und dem Maximum von 0,43 ein Mittelwert von 0,18, der, wie schon bei der Gruppe *Silikon⁻*, deutlich geringer ist als der Mittelwert der *Laparotomie*gruppe. Und da die Standardabweichung bei 0,08 liegt, sind auch innerhalb dieser Gruppe die Werte weniger weit gestreut als in der *Laparotomie*gruppe.

Die Werte der Gruppe *Silikon⁺* verhalten sich ähnlich den beiden zuvor beschriebenen Gruppen. Hier liegt der Mittelwert bei 0,19. Mit einem Minimum bei 0,02, einem Maximum bei 0,46 und einer Standardabweichung von 0,08 sind die Werte deutlich weniger weit gestreut als in der *Laparotomie*gruppe. Sowohl die Gruppen *Silikon⁻* und *Transplantation* als auch die Gruppe *Silikon⁺* unterscheiden sich in ihrem Kernflächenanteil am Ganglienzellquerschnitt hochsignifikant von der *Laparotomie*gruppe.

Bei der Gruppe *Silikon⁺⁺* ist dies nicht der Fall. Hier ergibt sich aus dem minimalen Wert von 0,02 und dem maximalen Wert von 0,49 ein Mittelwert von 0,19. Mit einer Standardabweichung von 0,08 liegen auch innerhalb dieser Gruppe die Werte weniger gestreut als in der *Laparotomie*gruppe.

In der Gruppe *Silikon⁺+VEGF/PBS* liegen das Minimum bei 0,02 und das Maximum bei 0,93. Daraus ergibt sich ein Mittelwert von 0,19. Die Standardabweichung beträgt in diesem Fall 0,10. Somit sind die Werte innerhalb dieser Gruppe ähnlich den Werten der *Laparotomie*gruppe sehr weit gestreut, was auf eine sehr große Variation des Kernflächenanteils am Ganglienzellquerschnitt schließen lässt. Dennoch unterscheidet sich

die Gruppe *Silikon⁺+VEGF/PBS* in diesem Parameter hochsignifikant von der *Laparotomie*gruppe.

Die Gruppe *Silikon⁺+GFP* zeigt bei einem minimalen Wert von 0,04 und einem maximalen Wert von 0,47 einen Mittelwert von 0,21. Dieser Wert entspricht in etwa dem Mittelwert der *Laparotomie*gruppe, was zur Folge hat, dass sich auch die Gruppe *Silikon⁺+GFP* hochsignifikant von den Gruppen *Silikon*, *Transplantation*, *Silikon* und *Silikon⁺+VEGF/PBS* unterscheidet. Allerdings liegen innerhalb dieser Gruppe die einzelnen Werte weniger weit gestreut als in der *Laparotomie*gruppe.

Mit Ausnahme der Gruppen *Laparotomie* und *Silikon⁺+VEGF/PBS* liegen die einzelnen Werte für den Kernflächenanteil am Ganglienzellquerschnitt in allen Gruppen ähnlich weit gestreut.

Tab. 26: Übersichtstabelle des Kernflächenanteils

	Lap	Nervex	Silikon ⁻	Transpl	Silikon ⁺	Silikon ⁺⁺	Silikon ⁺ + VEGF/PBS	Silikon ⁺ +GFP
Mittelwert	0,22	0,18	0,19	0,18	0,19	0,19	0,19	0,21
Median	0,20	0,17	0,17	0,18	0,17	0,18	0,18	0,20
Min	0,03	0,06	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,04
Max	0,95	0,36	0,54	0,43	0,46	0,49	0,93	0,47
Stabw	0,10	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,10	0,08

Streuung der Einzelwerte

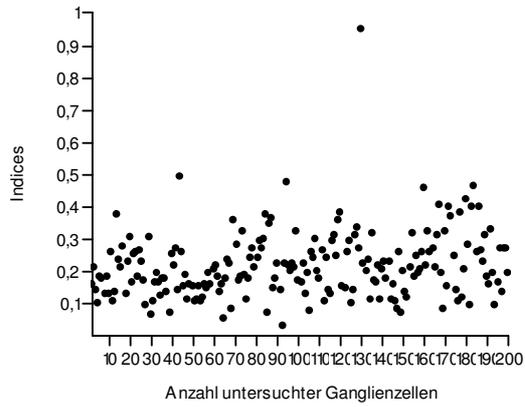


Abb. 56: Gruppe Laparotomie

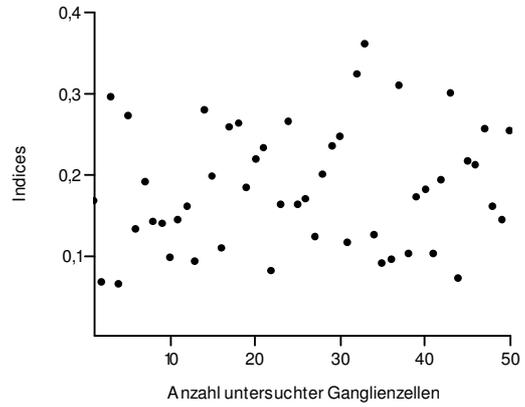


Abb. 57: Gruppe Nervenexzision

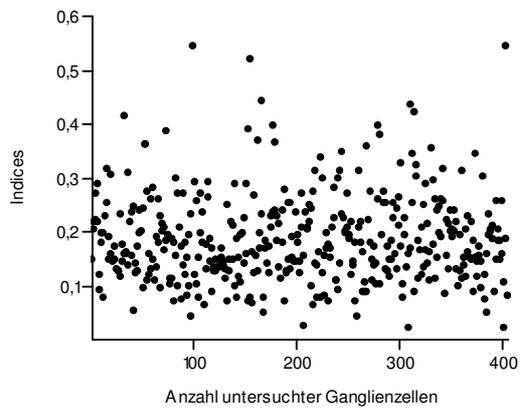


Abb. 58: Gruppe Silikon

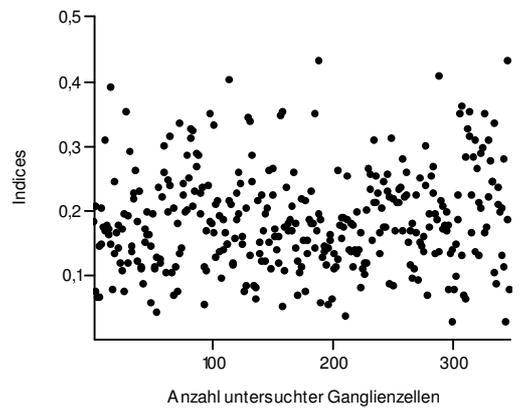


Abb. 59: Gruppe Transplantation

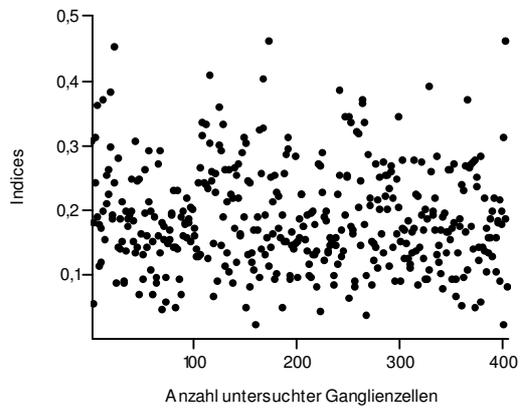


Abb. 60: Gruppe Silikon⁺

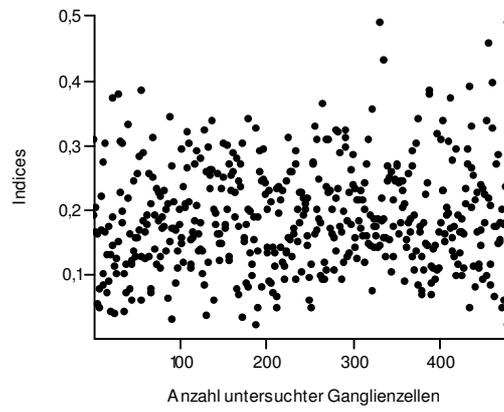


Abb. 61: Gruppe Silikon⁺ + GDNF

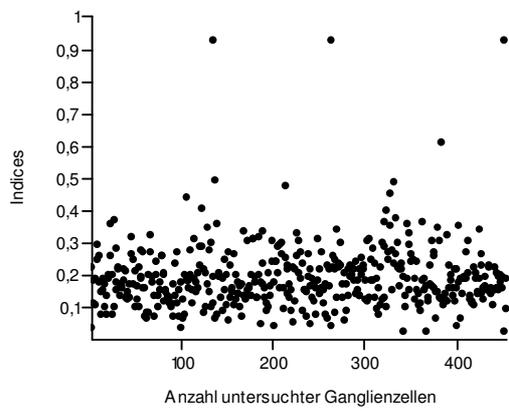


Abb. 62: Gruppe Silikon⁺ + VEGF/PBS

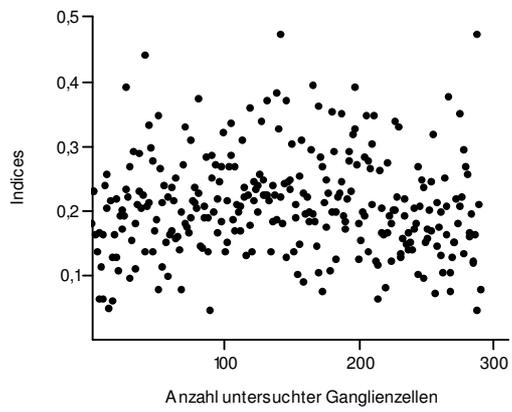


Abb. 63: Gruppe Silikon⁺ + GFP

4. Diskussion

4.1 Normaler Aufbau des Ganglion pelvinum der Ratte und tierartliche Unterschiede

Das periphere Nervensystem ist ein feines Netzwerk aus Nervenfasern, das den Organismus durchzieht. Die Nervenzellkörper dieser Neuronen liegen im Rückenmark, in den spinalen und peripheren Ganglien und in verschiedenen Plexus (Dyck, Thomas, Lambert, Bunge, 1984).

Beim Ganglion pelvinum der Ratte handelt es sich um ein einzelnes großes, dem lateralen Lobus der Prostata anliegendes Ganglion, das sowohl sympathische als auch parasympathische Afferenzen erhält. Sympathisch erfolgt die Innervation durch den N. hypogastricus, der aus dem Ganglion mesentericum entspringt, im Gekröse des Ureters verläuft und in das Ganglion pelvinum im cranialen Bereich eintritt. Die parasympathische Afferenz erhält das Ganglion vom N. pelvicus. Dieser entspringt aus den Spinalnerven des 6. Lumbal- und des 1. Sacralwirbels, verläuft gefäßnah und tritt dann dorsolateral in das Ganglion ein.

Die Ganglien der in dieser Studie untersuchten Ratten zeigten alle denselben neuroanatomischen Aufbau, der den Beschreibungen bisheriger Literatur weitgehend entspricht (Purinton et al., 1973, Keast, 1995, Keast, 1999, Keast, 2006, Keast et al., 1989, Gabella et al., 1992, Dail, 1996, Dail et al., 1975, Dail et al., 1989).

Sie bestehen aus verschiedenen großen Ansammlungen von Ganglienzellen, die häufig dicht beieinander liegen. Zwischen diesen Ganglienzellgruppen befinden sich Bindegewebe, kleine Blutgefäße und Ansammlungen myelinisierter und unmyelinisierter Nervenfasern. Die Perikaryen besitzen eine runde bis ovale Form und ihr runder Zellkern liegt zentral, während hingegen der Nukleolus peripher innerhalb des Karyoplasmas zu finden ist. Jede Ganglienzelle ist von bis zu zwölf Gliazellen umgeben, die lichtmikroskopisch durch ihre Zellkerne erkennbar sind.

Ganglienzellen zeigen auch bei gesunden Tieren vakuoläre Veränderungen.

Äußerlich ist das Ganglion von einer dünnen Kapsel aus Bindegewebe umgeben. Eine in der Literatur beschriebene (Tabatai et al., 1986, Gabella et al., 1992) Aussendung

bindegewebiger Septen aus der Kapsel zwischen die Ganglienzellgruppen ist bei der Ratte nicht erkennbar.

4.2 Speziesspezifische Unterschiede

Im Vergleich zur Ratte besteht das Ganglion pelvinum des Mannes aus mehreren kleineren, weit verteilten Ganglien (Dail, 1996), und ist mit seinem feinen Netzwerk aus Nervenfasern deutlich komplexer aufgebaut. Es bildet auf der lateralen Seite der Prostata als sogenannter Plexus prostaticus die Fortsetzung des Plexus hypogastricus inferior, der als Sammelzentrum für sympathische und parasympathische Nervenfasern zur Innervation der Beckenorgane gilt (Benninghoff, 1993, Walsh, 1998). Die in ihm verlaufenden Nervenfasern liegen relativ weit von den zu innervierenden Zielorganen wie dem Penis oder der Harnblase entfernt und werden daher sehr häufig bei Eingriffen wie der radikalen Prostatektomie verletzt (Keast, 2006).

Andere Tierarten wie zum Beispiel Katzen, Hunde, Schweine und Hasen besitzen ebenfalls einen Plexus prostaticus, der aus einem sehr komplexen Netzwerk aus Nervenfasern und vielen einzelnen kleineren, weit verstreuten Ganglien besteht (Keast, 2006).

Des Weiteren unterscheiden sich die Neuronen von Katzen deutlich von den morphologisch einfach strukturierten Neuronen der Ratten. Während Ratten vorwiegend Nervenfasern ohne oder mit wenigen unverzweigten Dendriten besitzen, weisen die Neuronen der Katzen eine hohe Anzahl an Dendriten auf (Tabatai et al., 1986). Des Weiteren werden die Ganglienzellen der Ratten entweder sympathisch oder parasympathisch innerviert. Es besteht also keine Konvergenz zwischen den möglichen Innervationsformen. Untersuchungen zeigten aber, dass sowohl bei der Katze als auch beim Meerschweinchen einzelne Ganglienzellen genauso sympathisch wie auch parasympathisch innerviert werden können (Tabatai et al., 1986).

Ratten besitzen also im Vergleich zum Menschen und zu anderen Tierarten sowohl in der äußerlichen Struktur als auch morphologisch und physiologisch ein deutlich simpleres Ganglion pelvinum.

4.3 Morphometrische Normwerte gesunder Ganglien

Da bei den Tieren der *Laparotomie*gruppe keine Nervenschädigung durchgeführt worden ist und alle Tiere 3 Monate nach der Sham-Operation zu 100% Erektionen erlangten, werden die Werte dieser Gruppe als Normwerte herangezogen.

4.3.1 Ganglienflächen

Sham-operierte Ratten wiesen im Mittel Ganglienzellen mit einer Größe von $966 \mu\text{m}^2$ auf. Dabei erstreckten sich die Mittelwerte der einzelnen Tiere von $607,22 \mu\text{m}^2$ bis $1283,14 \mu\text{m}^2$. Auch Gabella, Berggren und Uvelius ermittelten für Ganglienzellen des Ganglion pelvinum, allerdings weiblicher Tiere, Flächen von $150 \mu\text{m}^2$ bis $1250 \mu\text{m}^2$. Sie errechneten für nicht geschädigte Tiere einen Mittelwert von $361 \mu\text{m}^2$. Tabatabai jedoch bestimmte für Ganglienzellen des Ganglion pelvinums von sowohl männlichen als auch weiblichen Ratten eine mittlere Fläche von $832,5 \mu\text{m}^2$. Die in dieser Studie ermittelten Normwerte sind 2,68 Mal größer, als die von Gabella, Berggren und Uvelius beschriebenen Werte, was darauf zurückzuführen sein könnte, dass in ihrer Untersuchung weibliche Tiere verwendet wurden. Das Ganglion pelvinum der Ratte unterliegt einem sexuellen Dimorphismus, der sich unter anderem darin äußert, dass das Ganglion pelvinum männlicher Ratten signifikant größer ist als das weiblicher Tiere (Greenwood et al., 1985). Anatomische Untersuchungen zeigten zudem, dass das Ganglion pelvinum männlicher Ratten 2,5 Mal so viele Ganglienzellen und 1,5 Mal so viele Nervenfasern enthält als das Ganglion weiblicher Ratten (Greenwood et al., 1985). Eine mögliche Ursache für diesen sexuellen Dimorphismus ist die Einwirkung von testikulären Hormonen während der fetalen Entwicklung. Dadurch könnte es entweder zu einem massiven Nervenzelltod während der weiblichen Entwicklung oder zu einer induzierten Teilung von Neuroblasten während der männlichen Entwicklung kommen (Greenwood et al., 1985). Keast nennt als mögliche Ursache für den sexuellen Dimorphismus ebenfalls eine steroid-bedingte Erhaltung männlicher Ganglienzellen in einer kritischen pränatalen Phase (Keast, 2006). Sie beschreibt des Weiteren eine unterschiedliche Anzahl an noradrenergen Neuronen, die die Ganglien der verschiedenen Geschlechter aufweisen (Keast, 2006). Ungefähr ein Drittel der Neuronen des männlichen Ganglion pelvinum der Ratte sind sympathische, noradrenerge Nervenfasern (Keast, 1995), während hingegen bei weiblichen Tieren nur 5-10% der Neuronen des Ganglion pelvinums noradrenerg sind (Papka et al., 1987, Vera and Nadelhaft, 1992). Eben diese noradrenergen Nervenfasern sind grundsätzlich deutlich größer als die parasymphatischen cholinergen Neurone (Kanjhan et al., 2003, Keast, 1995). Auf diese Weise erklärt sich auch die bimodale

Verteilung der Ganglienzellfläche im Histogramm. Der größere Peak liegt $200 \mu\text{m}^2$ und $800 \mu\text{m}^2$ und zeigt wahrscheinlich die Anzahl der noradrenergen Neuronen an. Wohingegen der kleinere Peak bei $1500 \mu\text{m}^2$ der deutlich geringeren Anzahl an cholinergen Neuronen entsprechen könnte.

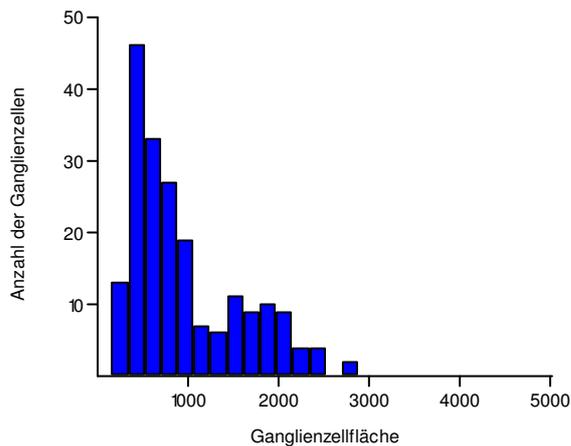


Abb. 64: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Laparotomie

4.3.2 Absolute und relative Kernflächen

Die absolute Zellkernfläche liegt in der Laparotomiegruppe mit einem Durchschnittswert von $179,2 \mu\text{m}^2$ deutlich über bisher beschriebenen Werten. Er ist beispielsweise deutlich größer als die von Gabella, Berggren und Uvelius beschriebene Zellkernfläche weiblicher Ratten, die im Durchschnitt $75 \mu\text{m}^2$ beträgt. Das Histogramm zeigt eine unimodale Verteilung der absoluten Zellkernflächen, wobei ein großer Anteil der Zellkerne zwischen 20 und $220 \mu\text{m}^2$ liegt.

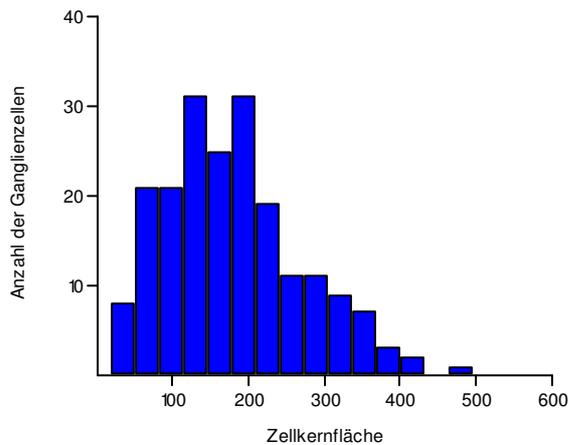


Abb. 65: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Laparotomie

Die relative Kernfläche wurde durch das Verhältnis von absoluter Kernfläche pro Ganglienfläche ermittelt. In der Laparotomiegruppe liegt dieser Wert im Mittel bei 0,22. Trotz den optisch abweichenden Histogrammformen scheint ein festes Verhältnis zwischen der Nervenzellgröße und der Zellkerngröße zu bestehen.

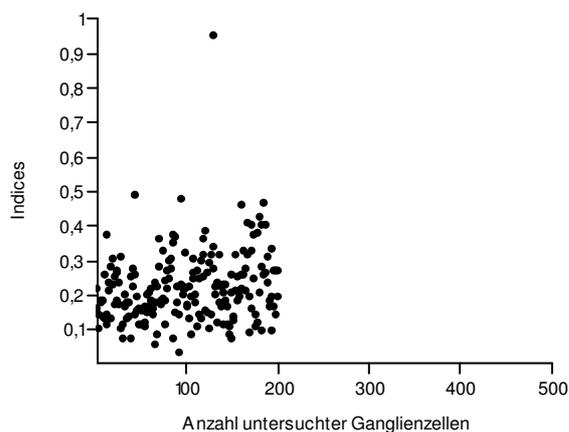


Abb. 66: Kernflächenanteil der Laparotomiegruppe

4.3.3 Anzahl der Satellitenzellen

Satellitenzellen sind Glia-Zellen des peripheren Nervensystems, die die Neuronen der Ganglien vollständig umhüllen. Wie auch die Glia-Zellen des zentralen Nervensystems, stützen Satellitenzellen die Nervenzellen und spielen ebenso eine wichtige Rolle in deren Metabolismus und Ernährung. Laut Pannese et al. regulieren Satellitenzellen die Ionenkonzentration in der Umgebung jedes sensorischen Neurons (Pannese et al., 2003).

Es besteht wohl außerdem eine quantitative Balance zwischen der Größe des Nervenzellkörpers und der Anzahl ihrer Satellitenzellen (Lieberman, 1976).

In dieser Studie besaßen die Ganglienzellen der Laparotomiegruppe im Mittel 0,6 Satellitenzellen.

4.4 Morphologie und Morphometrie nach experimenteller Durchtrennung des N. cavernosus

4.4.1 Allgemeine Zytomorphologische Veränderungen

Bei der Untersuchung der Ganglien nach Nervenschädigung konnten kaum Abweichungen vom normalanatomischen Aufbau festgestellt werden. Allerdings fällt auf, dass in den Gruppen *Silikon⁺+GDNF* und *Silikon⁺+VEGF/PBS* Ganglienzellen häufig ihre ovale Form zu verlieren scheinen und eckiger werden, sich stärker anfärben und sich zum Teil schlechter von der Umgebung abgrenzen lassen. Die Ursache hierfür könnte in zellulären Veränderungen aufgrund der vorausgegangenen Durchtrennung des N. cavernosus liegen. Als Folgen einer solchen Axotomie werden Chromatolyse, Anschwellen des Perykarions und eine exzentrische Verlagerung des Zellkernes beschrieben (Pannese, 1963, Carmel and Stein, 1969, Keast, 2006).

Chromatolyse und Zellkernverlagerungen sind bei der Untersuchung von den Gruppen *Silikon⁺+GDNF* und *Silikon⁺+VEGF/PBS* nicht aufgefallen. Daher ist es auch möglich, dass es sich hierbei um Färbeartefakte oder Schnittartefakte handelt.

Interessanterweise zeigen alle Schädigungsgruppen, mit Ausnahme von *Silikon⁺+GFP*, bereits ab zwei Wochen nach der Nervendurchtrennung einen deutlich höheren Anteil an binukleären Ganglienzellen als die Laparotomiegruppe (0,66%).

Demnach besitzen bei den Verlaufsgruppen im Mittel 2,3% der Ganglienzellen zwei Zellkerne, wobei die Werte der einzelnen Gruppen zwischen 2,0% und 3,1% variieren und die größte Anzahl an binukleären Ganglienzellen mit 3,1% nach 10 Wochen auftritt. Zwölf Wochen nach der Nervendurchtrennung finden sich gruppenübergreifend 1,7% binukleäre Ganglienzellen. Mit Ausnahme der Gruppe *Silikon⁺+GFP* beläuft sich der Anteil der binukleären Ganglienzellen zwischen 1,5% bis 2,9%. Die größte Anzahl an Ganglienzellen mit zwei Zellkernen zeigt sich in der Gruppe *Silikon⁺+GDNF*.

In einer Untersuchung von Gabella, Berggren und Uvelius (1992), in der das Ganglion pelvinum weiblicher Ratten untersucht wurde, traten binukleäre Ganglienzellen nur mit einer Häufigkeit von 1% auf. Sie führten ihr Vorkommen allein auf die Verwendung von Serienschnitten zurück (Gabella et al., 1992). Hierbei ist es möglich, dass ein Nukleus in mehreren aufeinanderfolgenden Schnitten angeschnitten wird und somit fälschlicherweise mehrfach gezählt wird.

Des Weiteren treten in der Hauptstudie mit einer Häufigkeit von 9,3% Ganglienzellen auf, die zwei bzw. drei Nukleoli besitzen. In der Verlaufsstudie weisen sogar 13,3% der Ganglienzellen zwei bzw. drei Nukleoli auf. Laut Schmalbruch (1987) und Coggeshall et al. (1990) besitzt jede Ganglienzelle aber nur einen Nukleolus (Coggeshall et al., 1990, Schmalbruch, 1987).

Carmel und Stein hingegen bemerkten sehr wohl das Auftreten sowohl von binukleären Ganglienzellen, als auch von Ganglienzellen mit zwei bzw. drei Nukleoli in einer Studie über Spinalganglien bei Affen nach distaler Neurotomie. Sie beschreiben das Vorkommen solch binukleärer und binukleolärer Ganglienzellen als direkte Folge der distalen Nervendurchtrennung (Carmel and Stein, 1969).

Bei Serienschnitten wäre ein Grund für das Auftreten von Ganglienzellen mit mehreren Nukleoli in histologischen Schnitten wäre, dass diese Nukleoli beim Schneiden durch das Messer des Mikrotoms zerschnitten werden. In diesem Fall ist derselbe Nukleolus in zwei aneinander grenzenden Schnitten sichtbar und dies führt dann zu einer erhöhten Anzahl von Nukleoli (Coggeshall and Chung, 1984). Mögliche Fehlerquellen, wie die von Coggeshall und Chung postulierte Doppelzählung durch das Splitten von Nukleoli konnte durch die Anwendung eines Korrekturfaktors im Rahmen der empirischen Methode ausgeschlossen werden.

Es ist also anzunehmen, dass das Auftreten binukleärer und binukleolärer Ganglienzellen im direkten Zusammenhang mit der durchgeführten Axotomie zu stehen.

4.4.2 Zytoplasmatische Vakuolisierung

Zytoplasmatische Vakuolisierung ist die mit Abstand häufigste histopathologische Nervenzellveränderung, die in Tieren mit und ohne Nervendurchtrennung gefunden wurde.

Ein vermehrtes Vorkommen vakuolisierter Ganglienzellen aufgrund der Schädigung des N. cavernosus ist nach drei Monaten nicht erkennbar. Keine der untersuchten Gruppen unterscheidet sich in diesem Punkt signifikant von der Laparotomiegruppe, in der im Mittel 5,2% der Ganglienzellen vakuoläre Veränderungen aufweisen.

Demgegenüber zeigen nach zehn Wochen 9,97% der Ganglienzellen vakuoläre Veränderungen. Es treten also im Vergleich zum Zeitpunkt nach zwölf Wochen deutlich häufiger vakuolisierte Ganglienzellen auf.

Der Prozentsatz vakuolärer Veränderungen ist bei der *Laparotomie*gruppe deutlich höher als in der Studie von Gabella, Berggren und Uvelius, in der das Ganglion pelvinum von 44 weiblichen Sprague-Dawley-Ratten untersucht wurde, und in der Kontrollgruppe nur 1% der untersuchten Ganglienzellen vakuolisiert waren (Gabella et al., 1992). Das vermehrte Auftreten von vakuolisierten Zellen kann sowohl mit krankheitsbedingten Veränderungen (Kleist, 1903), als auch mit Alterungsprozessen in Verbindung gebracht werden.

Cavanaugh beschreibt sehr große Vakuolen als Folge einer degenerativen Veränderung der Ganglienzellen nach einer distalen Neurotomie (Cavanaugh, 1951). Carmel und Stein untersuchten das Vorkommen von vakuolisierten Zellen in sensorischen Ganglien nach distaler Nervendurchtrennung beim Affen. In diesem Fall wurden vakuolisierte Ganglienzellen ebenfalls in einer weitaus größeren Anzahl in den Spinalganglien der Affen gefunden (Carmel and Stein, 1969). Allerdings wurden die Ganglien der Affen nicht später als am 32. Tag nach der Neurotomie untersucht.

Da sich die einzelnen Gruppen der Hauptstudie nicht signifikant von der Laparotomiegruppe unterscheiden, in der Verlaufsstudie jedoch vermehrt vakuolisierte Ganglienzellen aufgetreten sind, muss davon ausgegangen werden, dass die durchgeführte Nervenexzision besonders im frühen Stadium nach der Nervenschädigung Einfluss auf das Vorkommen von vakuolisierten Ganglienzellen im Ganglion pelvinum hat.

4.4.3 Veränderungen in der Zelldichte

In der als Norm festgesetzten *Laparotomie*gruppe traten 103 Ganglienzellen pro mm² auf. Ungeachtet der Regeneration weisen alle Tiergruppen mit Nerventranssektion eine wesentlich höhere Nervenzelldichte auf. Dabei unterscheiden sich alle Gruppen, mit Ausnahme von Silikon⁺, die einen Mittelwert von 121 Ganglienzellen pro mm² aufweist, signifikant von der *Laparotomie*gruppe.

Dabei waren im Signifikanzniveau einige Unterschiede zu verzeichnen. Die chronisch denervierten Gruppen *Silikon⁻* und *Transplantation*, bei denen keine erfolgreiche Regeneration anhand der Erektionsrate festgestellt werden konnte, unterscheiden sich lediglich signifikant von der Laparotomiegruppe, wohingegen die Gruppen *Silikon⁺+ GDNF* und *Silikon⁺⁺+VEGF/PBS*, zwei Gruppen mit erfolgreicher Regeneration des N.cavernosus, hochsignifikante Unterschiede zur Laparotomiegruppe in der Dichte ihrer Ganglienzellen aufweisen.

Die Mittelwerte der beiden zuletzt genannten Gruppen liegen zwischen 137 und 172 Ganglienzellen pro mm². Als Folge der Axotomie hat wohl in allen Gruppen eine signifikante Zunahme in der Anzahl der Ganglienzellen stattgefunden. Dennoch besteht die Frage, ob es sich hierbei um eine tatsächliche oder eine scheinbare Zunahme der Ganglienzelldichte handelt, denn zumindest nach irreversibler Axotomie wäre auf längere Sicht eher mit dem Untergang von Ganglienzellen infolge eines Abfalls der Versorgung mit Neurotrophinen zu rechnen.

Prinzipiell kann eine erhöhte Zelldichte aus einer numerischen Zunahme an Zellen, aus einem Größenverlust oder aus einer Abnahme des dazwischen gelagerten Gewebes resultieren.

Da es sich bei Nervenzellen um obligat postmitotische Zellen handelt ist der erstgenannte Grund auszuschließen.

Aber auch die Vermehrung der Nukleoli kann zu einer scheinbar erhöhten Ganglienzelldichte führen, da die Wahrscheinlichkeit den Nukleolus einer Ganglienzelle anzuschneiden bei binukleolären Ganglienzellen deutlich größer ist und somit auch häufiger vorkommt. Anhand der Tabelle 24 ist zu erkennen, dass der prozentuale Anteil binukleolärer und trinukleolärer Ganglienzellen im Vergleich zur *Laparotomie*gruppe in allen Gruppen, mit Ausnahme der Gruppe *Nervenexzision*, deutlich erhöht ist. Auch ist auffällig, dass die Gruppe *Silikon⁺*, die sich als einzige Gruppe nicht signifikant von der Norm unterscheidet, im Vergleich zu den anderen Gruppen einen sehr geringen prozentualen Anteil an binukleolären und trinukleolären Ganglienzellen aufweist.

Tab. 27: Prozentualer Anteil der Ganglienzellen mit zwei bzw. drei Nukleoli

	Lap	Nervex	Silikon ⁻	Transpl	Silikon ⁺	Silikon ⁺⁺	Silikon ⁺ + VEGF/PBS	Silikon ⁺ +GFP
Gz mit zwei Nukleoli	8%	6%	11%	10%	9%	6%	10%	36%
Gz mit drei Nukleoli	0,13%	0%	0,80%	0,46%	0,22%	0,68%	0,64%	0,29%

Eine Abnahme interganglionärer Substanz war mikroskopisch nicht erkennbar. Es ist also anzunehmen, dass das vermehrte Vorkommen von binukleolären und trinukleolären Zellen in der Tat zu einer scheinbar erhöhten Ganglienzelldichte führte.

4.4.4 Morphometrische Veränderungen bei erfolgloser Regeneration

Die beidseitige Durchtrennung des N. cavernosus ohne chirurgische Therapie führt grundsätzlich zu einer vollständigen erektilen Dysfunktion.

4.4.4.1 Einfluss auf die Ganglienzellgrößen

Als Folge der Schädigung des N. cavernosus ist eine deutliche Größenzunahme der Ganglienzellfläche in der Gruppe *Nervenexzision*, und bei der Mehrzahl der Tiere der Gruppen *Transplantation* und *Silikon* zu beobachten.

Diese Gruppen unterscheiden sich in diesem Parameter hochsignifikant von der *Laparotomie*gruppe. Am deutlichsten ist diese Größenzunahme bei jedem Tier mit reiner *Nervenexzision*, in der keine Regeneration stattgefunden hat, zu beobachten. Hier ist, im Gegensatz zu allen anderen Gruppen, eine kontinuierliche Zunahme der Ganglienzellfläche erkennen. Im Mittel beträgt die Ganglienzellfläche 1429 μm^2 . Dieser Mittelwert ist also 1,48 Mal größer als der der *Laparotomie*gruppe. Im Histogramm zeigt sich allerdings ebenso wie in der *Laparotomie*gruppe eine bimodale Verteilung.

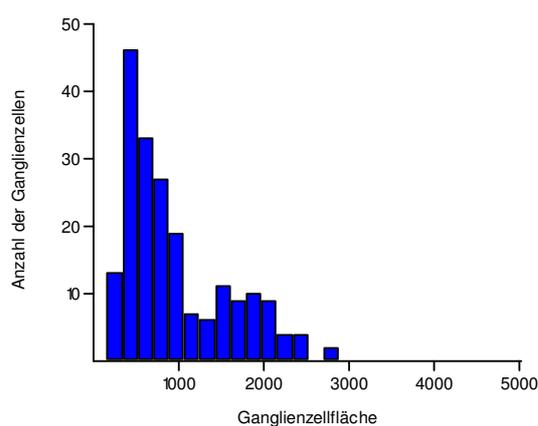


Abb. 67: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Laparotomie

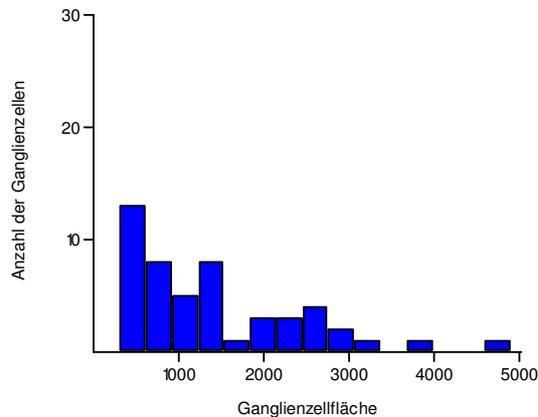


Abb. 68: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Nervenexzision

Volumenzunahmen von Ganglienzellen nach axonaler Schädigung wurden bereits eingehend untersucht. So beschreibt auch Keast die Flächenzunahme des Perikaryons im Ganglion pelvinum der Ratte als direkte Folge einer Axotomie (Keast, 2006).

Laut Pannese et al. führt die Schädigung peripherer Nervenfasern zum Anschwellen spinaler Ganglienzellen innerhalb der sogenannten Reaktionsphase, die zwischen dem 20. und dem 25. Tag nach der Nervenschädigung von der Reparationsphase abgelöst wird (Pannese, 1963). Die Schwellung des Perikaryons nimmt dann wieder ab und der Zellkern nimmt seine zentrale Lage ein (Pannese, 1963). Laut Lieberman beginnt die Chromatolyse bereits zwei bis drei Tage nach der Nervendurchtrennung und eine Wiederherstellung des ursprünglichen Zustandes der meisten Nervenzellen von Wirbeltieren kann Wochen bis Monate dauern (Lieberman, 1971). Die anfängliche Größenzunahme einer Nervenzelle nach Axotomie erfolgt durch eine vermehrte Wasseraufnahme des Perikaryons (Brattgard et al., 1957, Watson, 1968). Nach Eintreten der Regeneration kommt es zur Hypertrophie durch eine Vermehrung und Vergrößerung der zytoplasmatischen Organellen und durch einen vermehrten Gehalt an RNA, Lipiden und Proteinen (Pannese, 1963), denn die Nervenexzision führt zu einem dramatischen Anstieg der RNA- und Proteinsynthese des Zellkernes (Lieberman, 1971).

Nach einem Zeitraum von 12 Wochen waren bei der Mehrzahl der untersuchten Tiere weder eine Chromatolyse noch eine Deplazierung des Zellkernes zu erkennen. In der Hauptstudie sollte also die Reaktionsphase bereits von der Reparationsphase abgelöst worden sein. Allerdings zeigt sich in der Gruppe *Nervenexzision*, in der keine funktionelle oder strukturelle Wiederherstellung stattgefunden hat eine deutliche Größenzunahme der Ganglienzellfläche im Vergleich zur *Laparotomie*gruppe als Folge der Nervendurchtrennung.

4.4.4.2 Absolute und relative Zellkernfläche

Im Verlauf dieser Studie zeigte sich nach einem Zeitraum von zwölf Wochen neben der Zunahme der Zellgröße ebenfalls eine Vergrößerung der absoluten Zellkernfläche. Wiederum zeigt die Gruppe *Nervenexzision* im Vergleich zur *Laparotomiegruppe* mit dem höchsten Durchschnittswert ihrer absoluten Zellkernflächen. Dieser Wert ist 1,19 Mal größer als die Durchschnittsfläche der *Laparotomiegruppe*. Es zeigt sich also hier neben der Zunahme der Ganglienzellfläche ebenfalls eine deutliche Zunahme der absoluten Kerngröße, die aber im direkten Vergleich deutlich kleiner ist als der Ganglienflächenanstieg. Gabella, Berggren und Uvelius konnten diesen Vorgang ebenfalls bei neuronaler Hypertrophie aufgrund einer Blasenobstruktion beobachten (Gabella et al., 1992). Eine Volumenzunahme des Zellkernes wurde schon von vielen verschiedenen Autoren untersucht und ist als metabolische Antwort auf eine Axotomie grundsätzlich zu erwarten (Bianchine et al., 1964, Cervos-Navarro, 1962, Watson, 1968). Hierbei kommt es zu einer dramatisch erhöhten RNA- und Proteinsynthese, die die Volumenzunahme des Zellkernes aber auch der Ganglienzelle zur Folge hat (Lieberman, 1971).

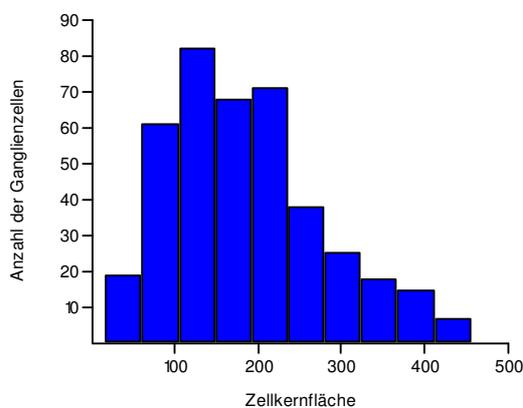


Abb. 69: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Laparotomie

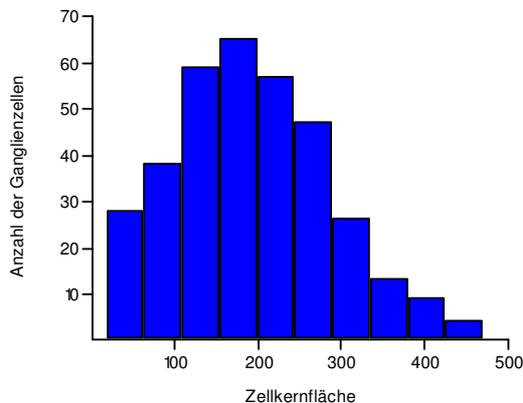


Abb. 70: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Nervenexzision

Die Histogramme zeigen, dass in der Gruppe *Nervenexzision* der Anstieg der durchschnittlichen absoluten Kernfläche durch einen Verlust kleinerer Kernflächen und eine Zunahme der größeren Kernflächen begründet ist. Die maximale Kernfläche scheint aber verglichen mit der Laparotomiegruppe weitgehend gleich zu bleiben.

Bezüglich ihrer relativen Kernfläche unterscheidet sich die Gruppe *Nervenexzision* ebenfalls signifikant von der *Laparotomiegruppe*. Sie besitzt also einen deutlich niedrigeren relativen Kernflächenanteil als die *Laparotomiegruppe*, was bedeutet, dass in diesen Gruppen die Fläche des Perikaryons einzelner Ganglienzellen deutlicher stärker zugenommen hat als die Fläche des dazugehörigen Zellkernes. Das Ganglienzellflächen-Kernflächen-Verhältnis erscheint aber insgesamt konstant.

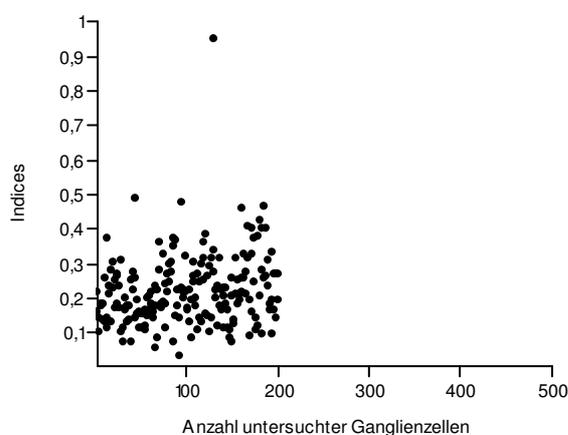


Abb. 71: Streuung des Kernflächenanteils in der Laparotomiegruppe

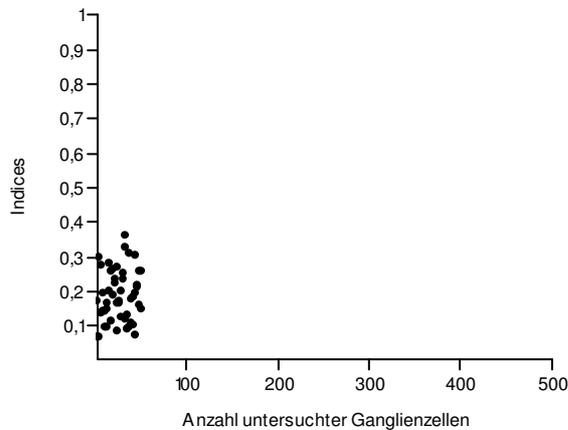


Abb. 72: Streuung des Kernflächenanteils in der Gruppe Nervenexzision

4.4.4.3 Anzahl der Satellitenzellen

Die Gruppe *Nervenexzision* unterscheidet sich durch eine vermehrte Anzahl an Satellitenzellen hochsignifikant von der *Laparotomie*gruppe. Die Ganglienzellen besitzen in dieser Gruppe im Mittel 1,1 Satellitenzellen. Dieser Mittelwert ist doch deutlich größer als der Mittelwert 0,6 der *Laparotomie*gruppe. Es zeigt sich also, dass bei der Gruppe *Nervenexzision* ohne Regenerationserfolg neben der signifikanten Flächenzunahme der Ganglienzellkörper und der Kerne, auch die Anzahl der Satellitenzellen ansteigt. Dies entspricht den Ausführungen von Lieberman, der ein quantitatives Verhältnis zwischen der Größe der Nervenzellkörper und der Anzahl der Satellitenzellen beschrieben hat (Lieberman, 1971). Solch ein Verhältnis wird auch in dieser Studie sichtbar. Neben der Anzahl verändern sich als Folge der Axotomie auch die Größe und die Form der Satellitenzellen. Es zeigt sich also, dass Satellitenzellen eine Rolle bei der Regeneration geschädigter peripherer Nervenzellen spielen und auf die Schädigung der peripheren Nerven, die sie ummanteln, reagieren. Fenzi et al. beschreibt sowohl eine Proliferation als auch morphologische Veränderungen perineuraler Satellitenzellen der Spinalwurzelganglien nach Schädigung peripherer Nerven (Fenzi et al., 2001) und Pannese et al. konnten zeigen, dass Satellitenzellen sensorischer Nervenzellen auf solch eine Schädigung mit der Bildung von gap junctions zwischen den Myelinscheiden reagiert. Diese Verbindung von Satellitenzellen untereinander dient sowohl dem Schutz der verletzten Nervenzelle als auch dem Transfer nützlicher Substanzen zur Regeneration. In welcher Art und Weise die Signaltransduktion

zwischen der geschädigten Nervenzelle und der sie umgebenden Satellitenzellen funktioniert ist noch weitgehend unklar (Fenzi et al., 2001). Pannese nimmt an, dass dies in Form von Adhäsionsmolekülen oder proinflammatorischen Mediatoren geschieht, die von der geschädigten Nervenzelle ausgeschieden werden (Pannese et al., 2003). Fenzi et al. hingegen sind der Meinung, dass auch Makrophagen, die aufgrund der Nervenzellschädigung vermehrt aktiviert werden, mitogene Faktoren sezernieren und so eine Satellitenzellreaktion zur Folge haben (Fenzi et al., 2001).

4.5 Morphometrische Anzeichen erfolgreicher Regeneration

4.5.1 Ganglienzellflächen

Als Folge der Schädigung des N. cavernosus ist bei der Mehrzahl der Tiere der Gruppen *Transplantation* und *Silikon⁻* eine deutliche Größenzunahme der Ganglienzellfläche zu beobachten. Diese Gruppen unterscheiden sich hochsignifikant von der Laparotomiegruppe. Auch die Erektionsfähigkeit dieser beiden Gruppen war mit Werten von 30% und 50% nach einem Zeitraum von zwölf Wochen nicht zufriedenstellend.

Die Gruppen *Silikon⁺⁺*, *Silikon⁺+VEGF/PBS* und *Silikon⁺+GFP* hingegen zeigen im Vergleich zur *Laparotomiegruppe* keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Ganglienzellfläche. Dies lässt darauf schließen dass eine erfolgreiche Regeneration mit einer erneuten Abnahme der Zellgröße verbunden ist. Einundneunzig Prozent der Tiere der Gruppe *Silikon⁺+GDNF* und 80% der Tiere der Gruppe *Silikon⁺+GFP* konnten nach einem Zeitraum von zwölf Wochen wieder vollständige Erektionen erlangen. In den Histogrammen zeigt sich, dass die Gruppen *Silikon⁻*, *Transplantation*, *Silikon⁺* und *Silikon⁺+GFP*, ähnlich der *Laparotomiegruppe*, eine bimodale Verteilung der Werte mit einem größeren Peak bei 500 μm^2 und einem kleineren Peak bei 1500 μm^2 oder 2000 μm^2 aufweisen. In den Gruppen *Silikon⁺+GDNF* und *Silikon⁺+VEGF/PBS* jedoch scheint der zweite Peak zu verwischen.

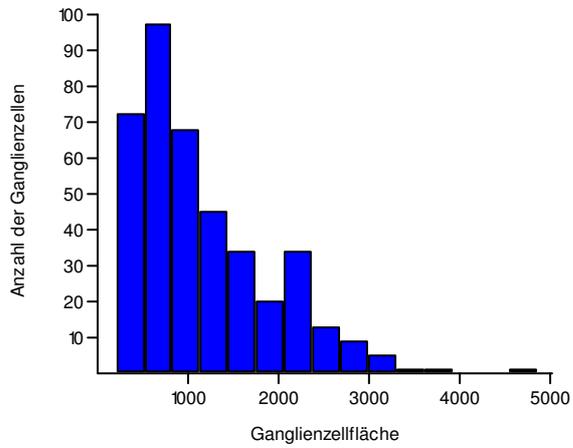


Abb. 73: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Transplantation

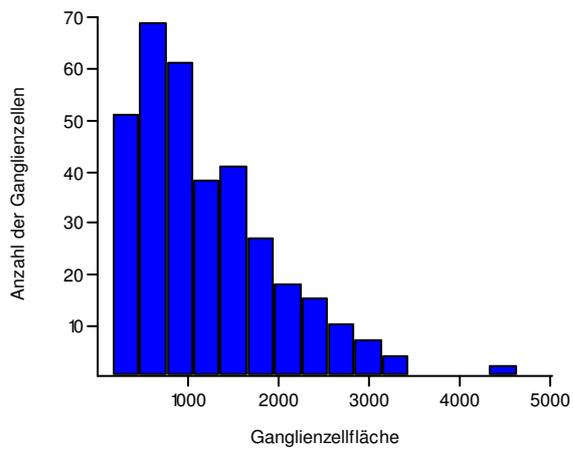


Abb. 74: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Silikon⁺

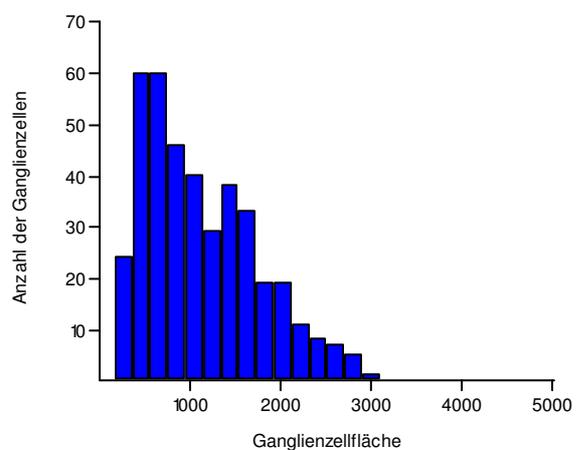


Abb. 75: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Silikon⁻

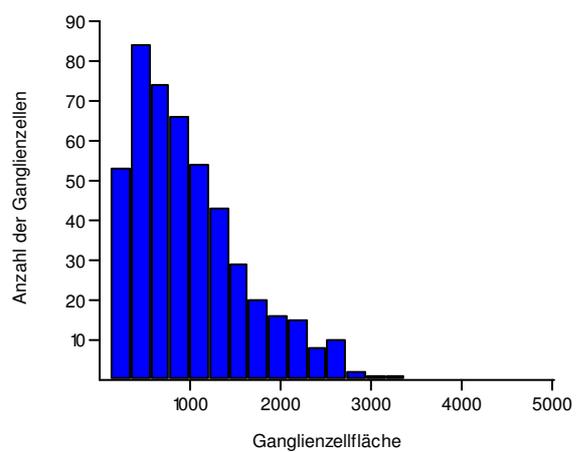
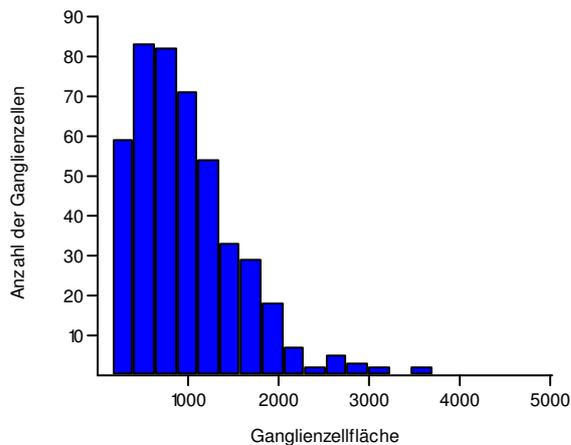
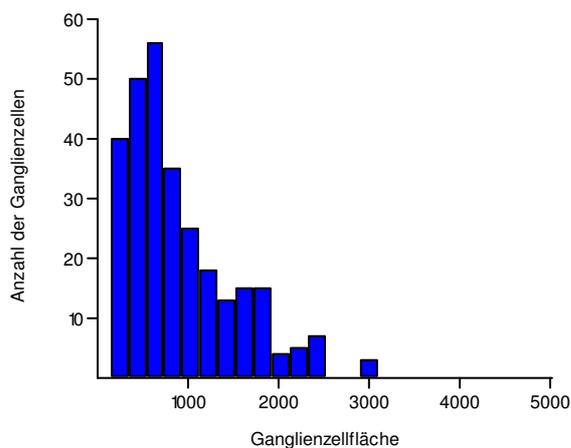


Abb. 76: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Silikon⁺+GDNF

Abb. 77: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Silikon⁺+VEGF/PBSAbb. 78: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Silikon⁺+GFP

Einen besonderen Fall stellt die Gruppe *Silikon⁺* dar, bei der Silikonröhrchen, die mit homologen Schwanschen Zellen gefüllt waren, implantiert wurden. Die Ganglienzellfläche der in dieser Gruppe untersuchten Tiere unterscheidet sich durch einen deutlich höheren Durchschnittswert von 1127,55 µm² hochsignifikant von der *Laparotomie*gruppe, nicht aber von den Gruppen *Nervenexzision*, *Silikon⁻* und *Transplantation*. Dennoch zeigte diese Gruppe drei Monate nach der Exzision des N. cavernosus eine Erektionsrate von 91% und sie unterscheidet sich nicht signifikant von der *Laparotomie*gruppe. Es hat also in dieser

Gruppe insgesamt eine erfolgreiche Regeneration des N. cavernosus stattgefunden, was an den Ganglienzellflächen nicht abzulesen ist.

Bei Betrachtung der Ganglienzellflächen der Tiere aller Gruppen gemeinsam über einen Zeitraum von 2 bis 10 Wochen ist eine kontinuierliche Zunahme der Ganglienzellfläche im Wochenverlauf zu erkennen, die nur durch ein kurzfristiges Absinken nach *6 Wochen* gestört wird.

Es findet also eine deutliche Zunahme der Ganglienzellfläche statt, die nicht nach 3 bis 4 Wochen endet. Zwar ist die mittlere Ganglienzellfläche in der Gruppe nach *6 Wochen* wieder deutlich kleiner als in Gruppen zuvor, was den Ausführungen von Pannese entsprechen würde, aber in den Gruppen nach *8* und nach *10 Wochen* erfolgt sofort wieder eine starke Zunahme der Ganglienzellfläche. Letztendlich hat sich die Fläche einzelner Ganglienzellen nach *10 Wochen* um 25% vergrößert.

Bei der detaillierten Betrachtung der einzelnen Gruppen in ihrem Wochenverlauf wird deutlich, wie sehr sich die Gruppen in der Zunahme der Ganglienzellfläche unterscheiden. Nur in der Gruppe Nervenexzision, in der keinerlei Regeneration stattgefunden hat, erfolgt eine kontinuierliche Zunahme der Ganglienzellfläche. In allen anderen Gruppen ist unabhängig vom tatsächlichen Regenerationserfolg, kein deutliches Muster in der Zu- und Abnahme der Ganglienzellfläche zu erkennen, mit der Ausnahme dass bei jeder dieser Gruppen zwischen der 6. und der 8. Woche eine Abnahme der Ganglienzellfläche erfolgt. Bei der Interpretation der Verlaufgruppe ist allerdings zu beachten, dass in jeder Gruppe pro Zeitabschnitt nur die Daten von einem oder zwei Tieren untersucht worden sind. Daher können diese Ergebnisse zwar eine Tendenz anzeigen, aber keine repräsentative Aussage über die Flächenzunahme der einzelnen Ganglienzellen über einen Zeitraum von 10 Wochen machen.

4.5.2 Absolute und relative Kernflächen

Bei den Gruppen *Silikon⁺⁺*, *Silikon⁺+VEGF/PBS* und *Silikon⁺+GFP*, bei denen anhand der Erektionsrate eine erfolgreiche funktionelle Regeneration nachgewiesen werden konnte, liegt die durchschnittliche Kernfläche unterhalb der Durchschnittsfläche bei der *Laparotomiegruppe*.

Hier hat also über einen Zeitraum von 12 Wochen eine Abnahme der Kernfläche stattgefunden. Im zeitlichen Verlauf über zwölf Wochen verhält sich die absolute Kernfläche bei Betrachtung aller Gruppen ähnlich der Ganglienzellfläche.

Des Weiteren entspricht die mittlere Fläche der Gruppe *nach 2 Wochen* mit $162,49\mu\text{m}^2$ wiederum dem Wert der Laparotomiegruppe der Hauptstudie. Allerdings ist die mittlere Zellkernfläche in der Gruppe *nach 10 Wochen* nur 1,14 Mal größer als die Fläche der Gruppe *nach 2 Wochen*. Es findet also nur eine Vergrößerung um 14% statt, wohingegen sich die Ganglienzellfläche im Wochenverlauf um 25% vergrößert hat.

Nur die Gruppe Nervenexzision, bei der keinerlei Regeneration anhand der Erektionsrate festzustellen war, zeigt über den Zeitraum von zehn Wochen eine kontinuierliche Zunahme der absoluten Kernfläche.

Aber auch bei diesem Parameter sollen die Ergebnisse der einzelnen Gruppen der Verlaufsguppe nur noch einmal die festgestellte Größenzunahme der Zellkernfläche über einen Zeitraum von drei Monaten unterstreichen. Die Werte der einzelnen Gruppen können wiederum nicht als repräsentative Ergebnisse genutzt werden, da für die einzelnen Wochenabschnitte pro Gruppe zu wenig Tiere untersucht wurden.

In den Histogrammen zeigt sich ebenfalls eine bimodale Verteilung die der Verteilung der Laparotomiegruppe zu entsprechen scheint.

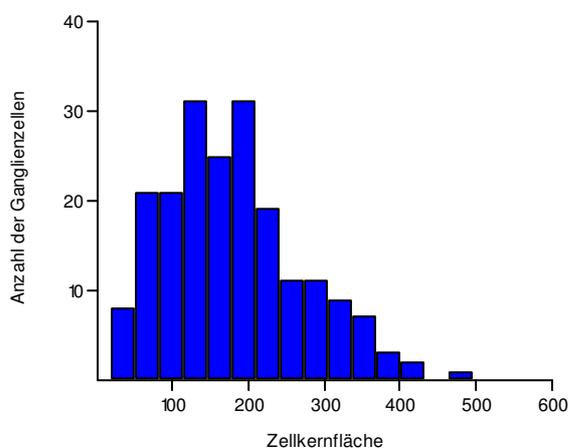


Abb. 79: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Laparotomie

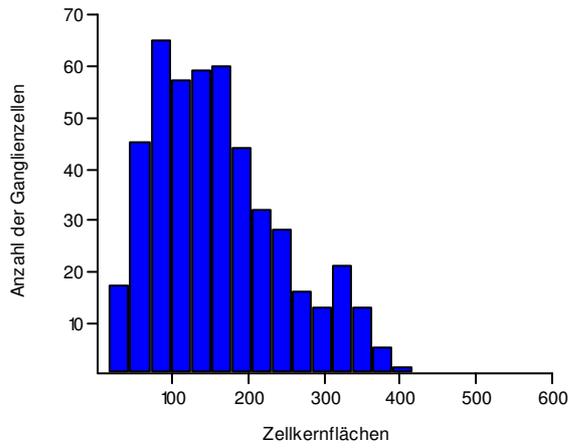


Abb. 80: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Silicon⁺+GDNF

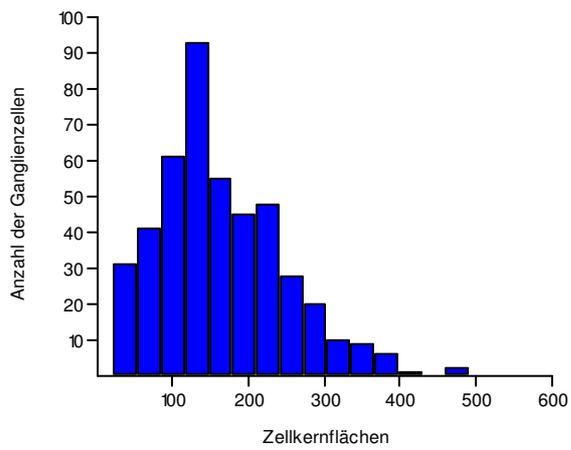


Abb. 81: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Silicon⁺+VEGF/PBS

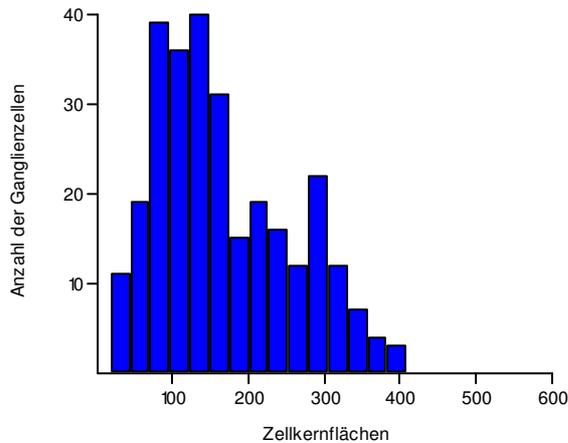


Abb. 82: Histogramm der Zellkernflächen der Gruppe Silikon⁺+GFP

Bei Betrachtung der Kernflächenanteile über einen Zeitraum von zehn Wochen liegen die Mittelwerte der einzelnen Gruppen zwischen 0,17 und 0,19. Im Vergleich zur *Laparotomie*gruppe, deren Werte als Norm herangezogen wurden, sind diese Werte deutlich geringer. Es scheint also dass sich die Ganglienzellfläche der einzelnen Zellen schon nach zwei Wochen deutlich mehr vergrößert hat als die Fläche ihrer Zellkerne. Durch einen vermehrten neuronalen Metabolismus kommt es bei allen Gruppen nach einer Nervendurchtrennung zu einer vermehrten Synthese von RNA, Proteinen und Lipiden. Das hat neben einer Vergrößerung des Zellkernes vor allem eine Zunahme der Ganglienzellfläche zur Folge (Lieberman, 1971). Dennoch muss beachtet werden dass in der Verlaufsgruppe die Ergebnisse aller Gruppen nach Wochen zusammengefasst sind.

Nach einem Zeitraum von zwölf Wochen unterscheiden sich einzig die Gruppen *Silikon⁺+GDNF* und *Silikon⁺+GFP* in ihrem relativen Kernflächenanteil nicht signifikant von der *Laparotomie*gruppe. Hier hat also keine deutlich stärkere Zunahme der Ganglienzellfläche im Vergleich zur Zellkernfläche stattgefunden. Aber dennoch weisen alle Gruppen für sich ein festes Verhältnis zwischen der Ganglienzellfläche und der Kernfläche auf.

Streuung der Kernflächenanteile

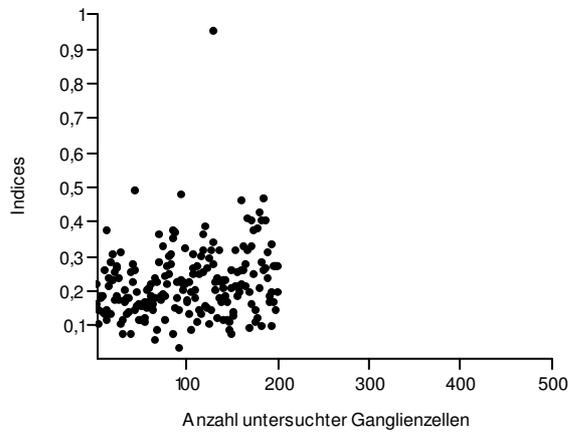


Abb. 83: Gruppe Laparotomie

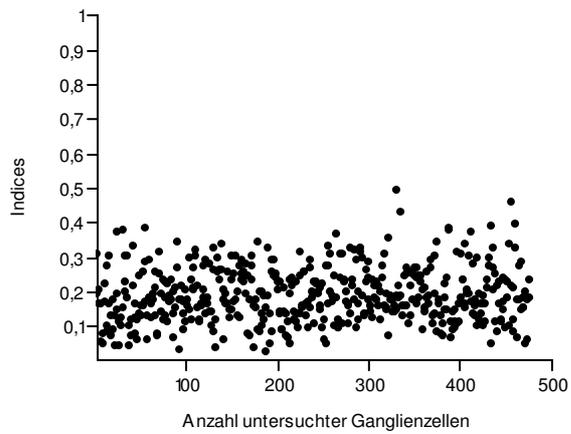
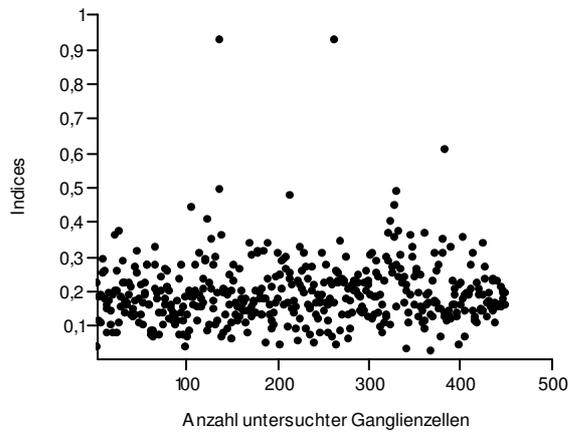
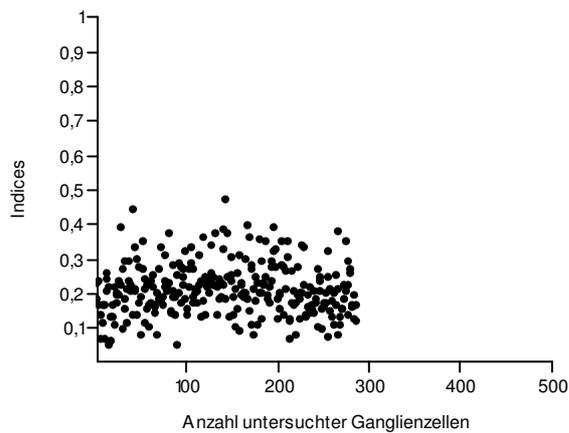
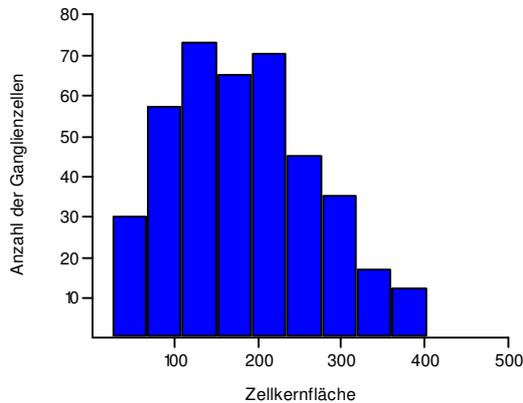
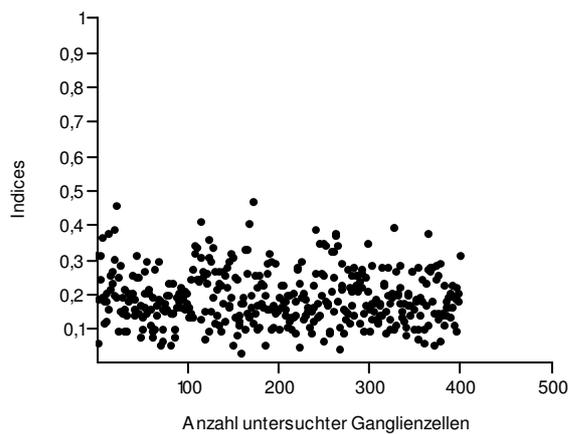


Abb. 84: Gruppe Silikon⁺GDNF

Abb. 85: Gruppe Silikon⁺+VEGF/PBSAbb. 86: Gruppe Silikon⁺+GFP

Die Gruppe *Silikon⁺*, dem Sonderfall, bei dem trotz hochsignifikant persistent erhöhter Ganglienfläche eine erfolgreiche Regeneration stattgefunden hatte, unterscheidet sich weder in der absoluten noch in der relativen Kernfläche signifikant von der *Laparotomie*gruppe. Auch hier besteht demnach ein festes Ganglienzellflächen-Kernflächen-Verhältnis.

Abb. 87: Histogramm der Ganglienzellflächen der Gruppe Silikon⁺Abb. 88: Streuung des Kernflächenanteils der Gruppe Silikon⁺

4.5.3 Anzahl der Satellitenzellen

Auch die Regenerationsgruppen *Silikon⁻*, *Transplantation*, *Silikon⁺*, *Silikon⁺+GDNF*, *Silikon⁺+VEGF/PBS* und *Silikon⁺+GFP*, bei denen anhand der Erektionsfähigkeit auf eine erfolgreiche Wiederherstellung des N.cavernosus geschlossen wurde, unterscheiden sich durch ihre Zunahme an Satellitenzellen pro Ganglienzelle signifikant von der *Laparotomie*gruppe.

Allerdings ist die Anzahl der Satellitenzellen pro Ganglienzelle nach 12 Wochen nicht signifikant unterschiedlich. Die Zunahme der Satellitenzellen findet vielmehr innerhalb der ersten zwei Wochen nach der Nervendurchtrennung statt.

Da Glia-Zellen im zentralen Nervensystem vielfältige Aufgaben besitzen, ist anzunehmen, dass sie auch im peripheren Nervensystem eine erfolgreiche Regeneration der Nervenzelle unterstützen, indem sie neurotrophe Substanzen sezernieren. Eine besonders mitogene Wirkung der Faktoren GDNF, VEGF oder GFP ist allerdings auch nicht zu erkennen. Alle Gruppen unterscheiden sich in der Anzahl der Satellitenzellen nicht signifikant voneinander. Das Tier mit reiner Nervenexzision besitzt persistent die größte Anzahl an Satellitenzellen.

4.6 Morphologisches Korrelat der Erektionsfähigkeit auf Ganglienzellebene

Die flankierende Arbeit von Caspers und Veröffentlichungen von May et al. beschäftigten sich mit unterschiedlichen Reparationsmöglichkeiten des kavernösen Nerven der Ratte, gemessen an der Fähigkeit zur Erektion (May et al., 2005b, May et al., 2004, May et al., 2005a). In dieser Studie sollte untersucht werden, ob sich die wiedererlangte erektile Funktionsfähigkeit auch in der morphologischen Struktur des Ganglion pelvinum widerspiegelt.

100% der Tiere, bei denen einzig eine Laparotomie ohne Nervenschädigung durchgeführt worden ist, erlangten 3 Monate post OP vollständige Erektionen.

Die reine Exzision eines Segmentes des N. cavernosus ohne weiterführende unterstützende Maßnahmen zur Regeneration resultieren in einer persistierenden erektilen Dysfunktion. Bei der morphologischen Untersuchung des Ganglion pelvinum zeigen sich die Gruppen *Nervenexzision* und *Laparotomie* ebenfalls völlig gegensätzlich.

In der Gruppe *Nervenexzision* besitzen die einzelnen Ganglienzellen und ihre Zellkerne im Gegensatz zur *Laparotomie*gruppe die größten Flächen und daher weist diese Gruppe auch den höchsten Kernflächenanteil auf. Die Anzahl der Satellitenzellen ist in dieser Gruppe ebenfalls am größten. Die Ganglienzellen in der Gruppe *Nervenexzision* zeigen demnach deutliche quantitative Veränderungen, die dem klinischen Bild der vollständigen erektilen Funktionsstörung entsprechen könnten. Allerdings muss beachtet werden, dass in dieser Gruppe lediglich die Daten eines Tieres erhoben werden konnten und daher die gewonnenen Erkenntnisse über die morphologischen Veränderungen des Ganglion pelvinum nach Nervenexzision durch weitere Untersuchungen untermauert werden sollten. Die Gruppe *Silikon*, bei der leere Silikonröhrchen zur Unterstützung des Nervenwachstums

eingepflanzt wurden, zeigte eine Erektionsrate von 50%, während hingegen bei der Gruppe *Transplantation* nur 30% der Tiere 3 Monate post Op eine Erektion erlangten. Beide Gruppen unterschieden sich, hinsichtlich ihrer Erektionsrate, signifikant von der *Laparotomie*-Gruppe. Allerdings wiesen die beiden Gruppen untereinander keine signifikanten Unterschiede bezüglich ihrer Erektionsrate auf. Auch bei der Untersuchung des Ganglions erhält man für beide Gruppen ähnliche Ergebnisse. Sie unterscheiden sich beide in der Fläche einzelner Ganglienzellen, nicht aber in der Fläche ihrer Zellkerne hochsignifikant von der *Laparotomie*gruppe. Und auch der Kernflächenanteil beider Gruppen zeigt sich hochsignifikant kleiner, als der Kernflächenanteil der Kontrollgruppe, genau so wie die Dichte der Ganglienzellen, die ebenfalls bei beiden Gruppen signifikant höher ist. Des Weiteren weisen beide Gruppen fast doppelt so viele Satellitenzellen auf als die Laparotomiegruppe. Und auch bei der Untersuchung des Ganglions fällt auf, dass sich die beiden Gruppen *Silikon*⁻ und *Transplantation*, wie schon in der vorherigen Arbeit, in keinem Parameter signifikant voneinander unterscheiden. Es zeigen sich also auch bei den Gruppen *Silikon*⁻ und *Transplantation* im Vergleich zur *Laparotomie*gruppe deutliche morphologische Veränderungen, die mit der Erektionsrate beider Gruppen in Verbindung gebracht werden könnten. Beide Gruppen unterscheiden sich weder morphologisch noch hinsichtlich ihrer Erektionsrate signifikant voneinander.

In der Gruppe *Silikon*⁺, bei der Silikonröhrchen, die mit homologen Schwanschen Zellen gefüllt waren, verwendet wurden, erlangten sogar 91 % der Tiere 3 Monate post Op eine Erektion. Der Wert unterschied sich nicht signifikant von der Erektionsrate der *Laparotomie*gruppe, jedoch aber von den Erektionsraten der Gruppen *Silikon*⁻ und *Transplantation*. Bei den morphologischen Untersuchungen des Ganglions unterscheidet sich aber auch die Gruppe *Silikon*⁺ in der Fläche der einzelnen Ganglienzellen, nicht aber in der Fläche ihrer Zellkerne, hochsignifikant von der *Laparotomie*gruppe. Und sowohl der Index als auch die Anzahl der Satellitenzellen zeigen sich ebenfalls hochsignifikant erhöht. Jedoch die Dichte ist im Gegensatz zu den beiden vorherigen Gruppen nur signifikant größer als die der *Laparotomie*gruppe. Der signifikante Unterschied in der Erektionsrate zwischen den beiden vorherigen Gruppen und der Gruppe *Silikon*⁺ lässt sich also auf Ganglienebene nicht so deutlich ablesen. Die Gruppe *Silikon*⁺ unterscheidet sich in den Punkten Ganglienzellfläche, Zellkernfläche und Dichte nicht signifikant von den Gruppen *Silikon*⁻ und *Transplantation*. Nur in der Anzahl der Satellitenzellen finden sich zu beiden Gruppen hochsignifikante Unterschiede. Allerdings unterscheiden sich die Ergebnisse der morphologischen Untersuchung des Ganglion pelvinum der Gruppe *Silikon*⁺ auch signifikant von den Werten der Kontrollgruppe. Aufgrund dieser Ergebnisse wäre eine Erektionsrate von 91%, die sich nicht signifikant von der Erektionsrate der *Laparotomie*gruppe unterscheidet, nicht zu erwarten gewesen.

Die Tiere der Gruppe, in der genetisch modifizierte Schwannsche Zellen, die GDNF überexprimieren, verwendet wurden, zeigten nach einem Zeitraum von 12 Wochen sogar eine Erektionsrate von 95%. Und auch die Nervenzellkörper dieser Gruppe zeigten sich wenig signifikant zu der als Kontrolle dienenden Laparotomiegruppe. In der Fläche der einzelnen Ganglienzellen waren nur hochsignifikante Unterschiede zu den Gruppen *Nervenexzision*, *Silikon⁻*, *Transplantation* und auch zu der Gruppe *Silikon⁺* zu erkennen, nicht aber zu der *Laparotomiegruppe*. Und auch die Werte für die Flächen der einzelnen Zellkerne dieser Ganglienzellen ähnelten den Werten der *sham-operierten* Gruppe und waren wiederum hochsignifikant zu den ersten vier Gruppen. Dementsprechend verhält sich auch der Index Ganglienzellfläche zur Zellkernfläche. Allerdings zeigen sich auch in dieser Gruppe, wie in allen anderen Gruppen, die Dichte und die Anzahl der Satellitenzellen signifikant erhöht. Während hingegen bei der Anzahl der vakuolisierten Zellen wieder keine Unterschiede zur *Laparotomiegruppe* zu erkennen sind. Aufgrund dieser Ergebnisse zeigt sich, dass in dieser Gruppe, die drei Monate post OP die beste Erektionsrate aufweist, die geringsten morphologischen Veränderungen im Vergleich zur *sham-operierten* Gruppe aufzufinden sind.

Um einen weiteren Vergleich zu haben, wurden in einer anderen Gruppe Silikonröhrchen implantiert, die genetisch veränderte Schwannsche Zellen enthielten, die das Reporterogen GFP (green fluorescent protein) überexprimierten. Diese Gruppe diente als direkte Vergleichsgruppe für die Gruppe *Silikon⁺+GDNF*. In den klinischen Untersuchungen zeigten die Tiere in diesem Fall aber nur eine Erektionsrate von 80%. Das heißt also, dass der prozentuale Anteil der Tiere, die drei Monate post OP eine Erektion erlangen konnten, deutlich niedriger ist als in der Gruppe *Silikon⁺*, in der lediglich homologe Schwannsche Zellen ohne Zusatz verwendet wurden. Dennoch zeigt sich die Gruppe *Silikon⁺+GFP* nur wenig signifikant zur Laparotomiegruppe. Sowohl die Flächen der einzelnen Ganglienzellen als auch die Flächen ihrer Zellkerne und damit auch der Index Ganglienzellfläche zu Zellkernfläche sind nicht signifikant zur *Laparotomiegruppe*. Lediglich die Dichte der Ganglienzellen und die Anzahl der Satellitenzellen unterscheiden sich durch signifikant höhere Werte von der Kontrollgruppe. Trotz weniger signifikanter Unterschiede zur Kontrollgruppe, was die Ganglienzellmorphologie betrifft, ist die Erektionsrate in dieser Gruppe niedriger als in den Gruppen *Silikon⁺* und *Silikon⁺+GDNF*.

Funktionelle Daten der Tiere, die zusätzlich zu der Implantation von mit Schwannschen Zellen gefüllter Silikonröhrchen eine intrakavernöse Injektion einer VEGF/PBS-Lösung erhielten sind zum jetzigen Zeitpunkt nicht ausreichend bekannt. Daher kann in dieser Gruppe kein Bezug auf die Erektionsrate dieser Gruppe genommen werden.

Abschließend lässt sich sagen, dass eine Exzision der kavernösen Nerven trotz jeglicher Therapieversuche in der ersten drei Monate nach der Schädigung starke morphologische

Veränderungen der Nervenzellen zur Folge. Innerhalb der verschiedenen getesteten Reparationsmöglichkeiten zeigen sich aber, was die Fläche der einzelnen Ganglienzellen, die Fläche ihrer Zellkerne und auch den Index Ganglienzellfläche zu Zellkernfläche betrifft, starke morphologische Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Es wird deutlich, dass in den Gruppen *Nervenexzision*, *Silikon⁻* und *Transplantation* signifikant stärkere Veränderungen der Nervenzellkörper vorliegen. Und auch in der Gruppe *Silikon⁺* treten trotz einer Erektionsrate von 91% noch gravierende morphologische Alterationen auf. Lediglich die Gruppen, in denen die Schwannschen Zellen gentechnisch verändert waren und dadurch einen bestimmten Faktor überexprimierten, zeigten die Ganglienzellen in ihrer Morphologie nur wenige Unterschiede zur *Laparotomie*gruppe. Trotzdem erlangten in der Gruppe *Silikon⁺+GFP* nur 80% der Tiere eine vollständige Erektion.

Daher ist anzunehmen, dass die Wiedererlangung der erektilen Fähigkeit aufgrund einer erfolgreichen Regeneration der kavernen Nerven nicht direkt an der morphologischen Struktur der Nervenzellkörper abzulesen ist. Unabhängig von den verschiedenen getesteten Reparationsmöglichkeiten besaßen die Nervenzellen aller Gruppen als Folge der Exzision eine signifikant höhere Anzahl an Satellitenzellen. Und auch die Dichte der Ganglienzellen war im Vergleich zur Kontrollgruppe ungeachtet der verwendeten Methode in allen Gruppen signifikant erhöht.

Die Verwendung zellulärer Nervenleitschienen in Kombination mit der lokalen Applikation von Wachstumsfaktoren führt im Vergleich zu anderen Methoden nicht nur zu der besten Erektionsrate, sondern auch morphologisch unterscheiden sich die Nervenzellkörper des Ganglion pelvinum nach dieser Therapie nur geringfügig von der Kontrollgruppe. Allerdings müssen noch verschiedene Aspekte bedacht werden, bevor ein Therapieverfahren dieser Art in klinischen Studien beim Menschen getestet werden kann. Die Verwendung des Wachstumsfaktors GDNF birgt die Gefahr, dass er neben seiner regenerationsfördernden Wirkung auch das Wachstum zurückgebliebener Krebszellen stimulieren könnte. Daher sollte vermehrt Augenmerk auf die Verwendung anderer Wachstumsfaktoren mit ähnlich regenerativer Wirkung wie zum Beispiel VEGF gelegt werden.

Auch ist bei der Verwendung aller neurotropher Substanzen eine regulierte und reversible Expression von großer Bedeutung, denn es ist noch unklar, ob die Nervenfasern nur für einen gewissen Zeitraum die Unterstützung durch neurotrophe Substanzen benötigen und ob eine Applikation über diesen Zeitraum hinweg nicht zu einer Störung der Regeneration führen würde.

Aufgrund dieser Tatsachen wäre es von großem Interesse, die Auswirkungen sowohl der in dieser Studie getesteten regenerationsunterstützenden Maßnahmen, als auch noch weiterer regenerationsfördernder Substanzen in Kombination mit zellulären Nervenleitschienen auf die Nervenzellkörper der exziierten Nerven über einen längeren Zeitraum zu untersuchen.

4.7 Kritische Überlegungen zur eigenen Studie

Das Ziel dieser Studie war es, die histologischen und morphometrischen Auswirkungen einer experimentellen Schädigung des N. cavernosus auf das Ganglion pelvinum zu untersuchen. Besonders sollte hierbei gezeigt werden, ob der Einsatz von Leitschienen und verschiedenen Wachstumsfaktoren einen positiven Einfluss auf die Ganglienmorphologie nimmt. Darüberhinaus sollten nach regenerationsassoziierten Merkmalen Ausschau gehalten werden.

Die lichtmikroskopische Auswertung histologischer Schnitte erlaubt nur eine qualitative Aussage über Strukturen (Bolender et al., 1991). Um eine quantitative Aussage machen zu können bedarf es Methoden, die strukturelle Veränderungen in einem dreidimensionalen Raum verfolgen. Zu diesen Zählmethoden gehören die stereologischen Methoden und die serielle Rekonstruktion. Die stereologischen Methoden bieten die Möglichkeit einer zuverlässigen Schätzung von Nervenzellen, indem Nervenprofile in zwei Schnittebenen miteinander verglichen werden. Es werden nur die Profile gezählt, die in der einen, aber nicht in der anderen Schnittebene vorhanden sind. Auf diese Weise werden Mehrfachzählungen desselben Objektes in verschiedenen Schnittebenen verhindert (Sterio, 1984, Pover and Coggeshall, 1991, Gundersen et al., 1988a, Gundersen et al., 1988b, Gundersen and Jensen, 1987). Die serielle Rekonstruktion hingegen verknüpft die Daten aneinander grenzender Schnitte miteinander (Bolender et al., 1991). Der Verlauf jeder Nervenzelle wird von Beginn an in allen Schnitten verfolgt. Somit liefert die serielle Rekonstruktion als eine sehr zuverlässige aber auch aufwendige Methode sehr genaue Ergebnisse (Pover and Coggeshall, 1991).

In dieser Studie wurde die Empirische Methode angewandt. Zur Ermittlung der Zellzahl wird die totale Anzahl der Nukleoli bestimmt und durch die mittlere Anzahl der Nukleoli pro Ganglienzelle geteilt. Dieses Verfahren basiert auf der Methodik der seriellen Rekonstruktion, ist aber weniger aufwendig (Pover and Coggeshall, 1991). Des Weiteren konnte in vergleichenden Studien festgestellt werden, dass die Empirische Methode deutlich geringere Standardabweichungen von der realen Anzahl der Zellen zeigt, als zum Beispiel die Dissector Methode (Pover and Coggeshall, 1991). Alle Verfahren setzen als Grundlage das „unbiased sampling“ voraus. Durch die geblindete Probennahme wird das Auftreten von systematischen Fehlern, wie zum Beispiel Mehrfachzählungen von Ganglienzellen, verhindert. Mit Hilfe des Quotienten mittlere Anzahl der Nukleoli pro Ganglienzelle als Korrekturfaktor wird bei Anwendung dieses Verfahrens die Anzahl der Nukleoli in Beziehung zur Ganglienzellzahl setzt. Somit liefert die Empirische Methode sehr akkurate Ergebnisse, ist aber gleichzeitig auch sehr aufwendig (Pover and Coggeshall, 1991).

Als nachteilig ergab sich in diesem Versuch, dass nicht in allen Gruppen von derselben Anzahl an Tieren die gleiche Anzahl an Bildausschnitten untersucht werden konnten. Gründe dafür waren, dass zum einen zwölf Tiere vor Abschluss des Versuches starben oder frühzeitig aus dem Versuch herausgenommen werden mussten.

Dennoch handelt es sich, aufgrund der insgesamt hohen Anzahl an untersuchten Bildausschnitten (2234 Bildausschnitte von 53 Tieren), bei den Ergebnissen der Hauptstudie um statistisch repräsentative Daten. Da in der Verlaufsgruppe pro Zeitabstand jeweils nur ein oder zwei Tiere ausgewertet werden konnten, sind diese Ergebnisse zwar statistisch nicht von Bedeutung, zeigen aber eine Tendenz der einzelnen Gruppen im zeitlichen Verlauf der Nervenregeneration.

5. Zusammenfassung

Verletzungen der kavernösen Nerven treten häufig als Komplikation bei radikalen Prostatektomien aber auch bei anderen operativen Eingriffen des Beckenbereiches auf. Die daraus resultierenden erektilen Funktionsstörungen stellen eine große Einschränkung der Lebensqualität betroffener Patienten dar. Bisherige Untersuchungen zeigten, dass die Implantation von Silikonröhrchen, die mit vitalen Schwannschen Zellen gefüllt sind, im Vergleich zur autologen Transplantation oder zur Implantation leerer Silikonröhrchen eine signifikant bessere Regeneration und Wiederherstellung der erektilen Fähigkeit zur Folge haben. Die zusätzliche Verwendung von neurotrophen Faktoren steigert die Regenerationsfähigkeit der geschädigten Nerven nochmals.

Ziel dieser Untersuchung war es, die Auswirkungen einer Schädigung der kavernösen Nerven und der darauf folgenden verschiedenen Regenerationsmöglichkeiten auf die Nervenzellkörper im Ganglion pelvinum zu erfassen. Hierfür wurden bei Ratten vom Stamm Fischer 344 beidseits 0,5 mm der kavernösen Nerven exzidiert. Bei den Tieren einer Gruppe wurde eine autologe Nerventransplantation mit einem Transplantat des N. genitofemoralis durchgeführt, in der zweiten Gruppe wurden leere Silikonröhrchen und in einer weiteren Gruppe Silikonröhrchen, gefüllt mit vitalen Schwannschen Zellen, implantiert. In zwei zusätzlichen Gruppen waren die Schwannschen Zellen gentechnisch so verändert, dass diese entweder GDNF überexprimierten oder GFP exprimierten. Und in einer letzten Gruppe erhielten die Tiere zusätzlich zu der Implantation von mit Schwannschen Zellen gefüllten Silikonröhrchen eine intrakavernöse Injektion einer VEGF/PBS-Lösung. Die positive Kontrollgruppe war eine reine Laparotomiegruppe ohne Nervenexzision. Als Negativkontrolle diente eine Gruppe, bei der nur eine Nervenexzision ohne weitere Unterstützung der Regeneration durchgeführt wurde. Mithilfe eines computergestützten Bildbearbeitungsprogramms wurden drei Monate post operationem die Ganglien dieser Tiere sowohl auf die Größe ihrer Ganglienzellen und deren Zellkerne, als auch auf ihre Dichte und das Vorkommen von Satellitenzellen und vakuolisierten Zellen untersucht. Die Tiere, bei denen eine Transplantation oder eine Implantation leerer beziehungsweise mit Schwannschen Zellen gefüllter Silikonröhrchen vorgenommen wurde, zeigten eine signifikante Größenzunahme ihrer Ganglienzellen und deren Zellkerne im Vergleich zu Positivkontrolle. Lediglich die Gruppen in denen die Silikonröhrchen implantiert wurden, die gentechnisch modifizierte Schwannsche Zellen enthielten und somit GDNF oder GFP exprimierten, zeigen keine signifikante Größenzunahme von Ganglienzellen und Zellkernen im Vergleich zur Positivkontrolle. Ebenso verhält es sich in der Gruppe, in der zusätzlich zu der Implantation von mit Schwannschen Zellen gefüllten Silikonröhrchen eine intrakavernöse Injektion mit einer VEGF/PBS-Lösung vorgenommen wurde. Ein

Zusammenhang zwischen der Zunahme der Ganglienzellfläche und der Zunahme der Zellkernfläche ist klar ersichtlich. Die Dichte der Ganglienzellen pro mm^2 ist im Vergleich zur Positivkontrolle in allen Gruppen signifikant erhöht. Allerdings bleibt hier zu bedenken, ob diese Erhöhung ihren Ursprung in einer wirklich höheren Anzahl von Nervenfasern innerhalb der Leitschiene oder des Transplantates hat, oder ob dieser Anstieg aufgrund von Mehrfachzählungen postmitotischer, bi- oder trinukleolärer Ganglienzellen erfolgt. Die Anzahl der Satellitenzellen, die die Ganglienzellen umgeben, ist in allen Gruppen, in denen eine Nervenexzision durchgeführt wurde, unabhängig von den darauf folgenden Maßnahmen, signifikant erhöht. Während hingegen bei allen Gruppen im Vergleich zur Positivkontrolle kein signifikant vermehrtes Auftreten von vakuolisierten Ganglienzellen zu beobachten ist.

6. Summary

Injuries of the cavernous nerves are a common complication of the radical prostatectomy but also of other surgical interferences of the pelvic area. Out of this resulting erectile dysfunctions constitute a serious confinement of the quality of life of affected men. Previous investigations showed that using artificial nerve conduits seeded with schwann cells lead compared to autologous nerve transplantation or empty artificial conduits to a significant improved regeneration of the erectile function. The addition of neurotrophic factors has been shown to promote the reconstruction of the injured nerve.

The aim of this investigation was to elucidate in which extent the resection of the cavernous nerves and the following various options of reconstruction affects the neurons of the pelvic ganglion. Therefore a resection of 0,5 cm of the cavernous nerves was performed on both sides of Fischer 344 rats. One group received a bilateral nerve grafting of the genitofemoral nerve. A second group had an implantation of empty silicone tubes and in another group the reconstruction was made by the interposition of silicone tubes seeded with homologous schwann cells. Silicon tubes seeded with either GDNF overexpressing or VEGF/PBS overexpressing or GFP expressing schwann cells were implanted in the gaps between transected cavernous nerve endings of three further groups. As a positive control group, ten animals underwent sham operation that exposed but did not transect the cavernous nerves. A group with bilateral resection without reconstruction served as negative control. Three months postoperatively the size of the neurons and of the nuclei, their density and the number of satellite cells and vacuolated cells was determined with the aid of a java-based image processing program. The animals, who underwent autologous nerve grafting or implantation of empty silicone tubes or even implantation of silicon tubes seeded with homologous schwann cells, showed a significant increase in the size of neurons and nuclei compared to the control group. Only the groups with implantation of genetic modified homologous schwann cells expressing GDNF or GFP did not show a significant increase in the size of neurons and nuclei compared to the control group. The same pattern was seen in the group with the implantation of homologous schwann cells and also an intracavernous injection of VEGF/PBS solution. A correlation between the increase of the neurons and the increase of the nuclei was in evidence. The density of the neurons per mm^2 is in all groups significant higher compared to the positive control group. But likely the reason of this increase of the density is not a higher score of neurons but rather the multiple counting of postmitotic neurons with two or three nucleoli. The number of satellite cells, which surround the neurons, is in all groups getting an excision of the cavernous nerves elevated. However

all groups compared to the positive control group did not show an increased occurrence of vacuolated neurons.

7. Literaturverzeichnis

- Alexandrow**, M. G. & Moses, H. L. 1995. Transforming growth factor beta and cell cycle regulation. *Cancer Res*, **55**, 1452-7.
- Ansselin**, A. D., Fink, T. & Davey, D. F. 1997. Peripheral nerve regeneration through nerve guides seeded with adult Schwann cells. *Neuropathol Appl Neurobiol*, **23**, 387-98.
- Ball**, R. A., Richie, J. P. & Vickers, M. A., Jr. 1992. Microsurgical nerve graft repair of the ablated cavernosal nerves in the rat. *J Surg Res*, **53**, 280-6.
- Berse**, B., Brown, L. F., Van de Water, L., Dvorak, H. F. & Senger, D. R. 1992. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors. *Mol Biol Cell*, **3**, 211-20.
- Bianchine**, J. R., Levy, L. & Farah, A. E. 1964. Chromatolysis in the Superior Cervical Ganglion of the Rat. *Exp Mol Pathol*, **34**, 128-40.
- Blesch**, A. & Tuszynski, M. H. 2001. GDNF gene delivery to injured adult CNS motor neurons promotes axonal growth, expression of the trophic neuropeptide CGRP, and cellular protection. *J Comp Neurol*, **436**, 399-410.
- Blesch**, A. & Tuszynski, M. H. 2003. Cellular GDNF delivery promotes growth of motor and dorsal column sensory axons after partial and complete spinal cord transections and induces remyelination. *J Comp Neurol*, **467**, 403-17.
- Bolender**, R. P., Charleston, J., Mottet, K. & McCabe, J. T. 1991. Quantitative morphology of the nervous system: expanding horizons. *Anat Rec*, **231**, 407-15.
- Brattgard**, S. O., Edstrom, J. E. & Hyden, H. 1957. The chemical changes in regenerating neurons. *J Neurochem*, **1**, 316-25.
- Bryan**, D. J., Wang, K. K. & Chakalis-Haley, D. P. 1996. Effect of Schwann cells in the enhancement of peripheral-nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg*, **12**, 439-6.
- Buj-Bello**, A., Buchman, V. L., Horton, A., Rosenthal, A. & Davies, A. M. 1995. GDNF is an age-specific survival factor for sensory and autonomic neurons. *Neuron*, **15**, 821-8.
- Burgers**, J. K., Nelson, R. J., Quinlan, D. M. & Walsh, P. C. 1991. Nerve growth factor, nerve grafts and amniotic membrane grafts restore erectile function in rats. *J Urol*, **146**, 463-8.
- Buti**, M., Verdu, E., Labrador, R. O., Vilches, J. J., Fores, J. & Navarro, X. 1996. Influence of physical parameters of nerve chambers on peripheral nerve regeneration and reinnervation. *Exp Neurol*, **137**, 26-33.
- Carmel**, P. W. & Stein, B. M. 1969. Cell changes in sensory ganglia following proximal and distal nerve section in the monkey. *J Comp Neurol*, **135**, 145-66.
- Catalona**, W. J. & Basler, J. W. 1993. Return of erections and urinary continence following nerve sparing radical retropubic prostatectomy. *J Urol*, **150**, 905-7.

- Catalona, W. J. & Bigg, S. W.** 1990. Nerve-sparing radical prostatectomy: evaluation of results after 250 patients. *J Urol*, **143**, 538-43; discussion 544.
- Cavanaugh, M. W.** 1951. Quantitative effects of the peripheral innervation area on nerves and spinal ganglion cells. *J Comp Neurol*, **94**, 181-219.
- Cervos-Navarro, J.** 1962. [Electron microscopic findings in normal and pathological nerve cell nuclei.]. *Arch Psychiatr Nervenkr Z Gesamte Neurol Psychiatr*, **203**, 575-98.
- Chaikin, D. C., Broderick, G. A., Malloy, T. R., Malkowicz, S. B., Whittington, R. & Wein, A. J.** 1996. Erectile dysfunction following minimally invasive treatments for prostate cancer. *Urology*, **48**, 100-4.
- Chang, D. W., Wood, C. G., Kroll, S. S., Youssef, A. A. & Babaian, R. J.** 2003. Cavernous nerve reconstruction to preserve erectile function following non-nerve-sparing radical retropubic prostatectomy: a prospective study. *Plast Reconstr Surg*, **111**, 1174-81.
- Coggeshall, R. E. & Chung, K.** 1984. The determination of an empirical correction factor to deal with the problem of nucleolar splitting in neuronal counts. *J Neurosci Methods*, **10**, 149-55.
- Coggeshall, R. E., La Forte, R. & Klein, C. M.** 1990. Calibration of methods for determining numbers of dorsal root ganglion cells. *J Neurosci Methods*, **35**, 187-94.
- Conley, J. J.** 1955. Facial nerve grafting in treatment of parotid gland tumors; new technique. *AMA Arch Surg*, **70**, 359-66.
- Dahlin, L. B. & Lundborg, G.** 2001. Use of tubes in peripheral nerve repair. *Neurosurg Clin N Am*, **12**, 341-52.
- Dail, W. G.** 1996. The pelvic plexus: innervation of pelvic and extrapelvic visceral tissues. *Microsc Res Tech*, **35**, 95-106.
- Dail, W. G., Evan, A. P. & Eason, H. R.** 1975. The major ganglion in the pelvic plexus of the male rat: a histochemical and ultrastructural study. *Cell Tissue Res*, **159**, 49-62.
- Dail, W. G., Trujillo, D., de la Rosa, D. & Walton, G.** 1989. Autonomic innervation of reproductive organs: analysis of the neurons whose axons project in the main penile nerve in the pelvic plexus of the rat. *Anat Rec*, **224**, 94-101.
- Danielsen, N., Dahlin, L. B., Lee, Y. F. & Lundborg, G.** 1983. Axonal growth in mesothelial chambers. The role of the distal nerve segment. *Scand J Plast Reconstr Surg*, **17**, 119-25.
- Danielsen, N., Kerns, J. M., Holmquist, B., Zhao, Q., Lundborg, G. & Kanje, M.** 1995. Predegeneration enhances regeneration into acellular nerve grafts. *Brain Res*, **681**, 105-8.
- Danielsson, P., Dahlin, L. & Povlsen, B.** 1996. Tubulization increases axonal outgrowth of rat sciatic nerve after crush injury. *Exp Neurol*, **139**, 238-43.
- Danielsson, P. A., Adolfsson, L. & Dahlin, L. B.** 2001. Different effect on axonal outgrowth of application of non-absorbable or absorbable tubes around a nerve repair. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, **35**, 347-53.

- Davies, A. M.** 1994. The role of neurotrophins in the developing nervous system. *J Neurobiol*, **25**, 1334-48.
- Diaz-Flores, L., Gutierrez, R., Varela, H., Evora, P., Valladares, F., Rodriguez, M., et al.** 1995. Contribution of the proximal and distal nerve stumps to peripheral nerve regeneration in silicone chambers. *Histol Histopathol*, **10**, 937-46.
- Ducker, T. B. & Hayes, G. J.** 1968. Experimental improvements in the use of Silastic cuff for peripheral nerve repair. *J Neurosurg*, **28**, 582-7.
- Fenzi, F., Benedetti, M. D., Moretto, G. & Rizzuto, N.** 2001. Glial cell and macrophage reactions in rat spinal ganglion after peripheral nerve lesions: an immunocytochemical and morphometric study. *Arch Ital Biol*, **139**, 357-65.
- Ferrara, N. & Davis-Smyth, T.** 1997. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*, **18**, 4-25.
- Fields, R. D., Le Beau, J. M., Longo, F. M. & Ellisman, M. H.** 1989. Nerve regeneration through artificial tubular implants. *Prog Neurobiol*, **33**, 87-134.
- Foidart-Dessalle, M., Dubuisson, A., Lejeune, A., Severyns, A., Manassis, Y., Delree, P., et al.** 1997. Sciatic nerve regeneration through venous or nervous grafts in the rat. *Exp Neurol*, **148**, 236-46.
- Gabella, G., Berggren, T. & Uvelius, B.** 1992. Hypertrophy and reversal of hypertrophy in rat pelvic ganglion neurons. *J Neurocytol*, **21**, 649-62.
- Giuliano, F., Rampin, O., Bernabe, J. & Rousseau, J. P.** 1995. Neural control of penile erection in the rat. *J Auton Nerv Syst*, **55**, 36-44.
- Gordon, T., Sulaiman, O. & Boyd, J. G.** 2003. Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. *J Peripher Nerv Syst*, **8**, 236-50.
- Greenwood, D., Coggeshall, R. E. & Hulsebosch, C. E.** 1985. Sexual dimorphism in the numbers of neurons in the pelvic ganglia of adult rats. *Brain Res*, **340**, 160-2.
- Gulati, A. K.** 1988. Evaluation of acellular and cellular nerve grafts in repair of rat peripheral nerve. *J Neurosurg*, **68**, 117-23.
- Gundersen, H. J., Bagger, P., Bendtsen, T. F., Evans, S. M., Korbo, L., Marcussen, N., et al.** 1988a. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*, **96**, 857-81.
- Gundersen, H. J., Bendtsen, T. F., Korbo, L., Marcussen, N., Moller, A., Nielsen, K., et al.** 1988b. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*, **96**, 379-94.
- Gundersen, H. J. & Jensen, E. B.** 1987. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc*, **147**, 229-63.
- Heath, C. A. & Rutkowski, G. E.** 1998. The development of bioartificial nerve grafts for peripheral-nerve regeneration. *Trends Biotechnol*, **16**, 163-8.

- Henderson**, C. E., Phillips, H. S., Pollock, R. A., Davies, A. M., Lemeulle, C., Armanini, M., *et al.* 1994. GDNF: a potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle. *Science*, **266**, 1062-4.
- Henry**, E. W., Chiu, T. H., Nyilas, E., Brushart, T. M., Dikkes, P. & Sidman, R. L. 1985. Nerve regeneration through biodegradable polyester tubes. *Exp Neurol*, **90**, 652-76.
- Hobson**, M. I., Green, C. J. & Terenghi, G. 2000. VEGF enhances intraneural angiogenesis and improves nerve regeneration after axotomy. *J Anat*, **197 Pt 4**, 591-605.
- Hogan**, B. L. 1996. Bone morphogenetic proteins: multifunctional regulators of vertebrate development. *Genes Dev*, **10**, 1580-94.
- Holmberg**, L., Bill-Axelson, A., Helgesen, F., Salo, J. O., Folmerz, P., Haggman, M., *et al.* 2002. A randomized trial comparing radical prostatectomy with watchful waiting in early prostate cancer. *N Engl J Med*, **347**, 781-9.
- Hsieh**, P. S., Bochinski, D. J., Lin, G. T., Nunes, L., Lin, C. S. & Lue, T. F. 2003. The effect of vascular endothelial growth factor and brain-derived neurotrophic factor on cavernosal nerve regeneration in a nerve-crush rat model. *BJU Int*, **92**, 470-5.
- Jeno**, L. & Geza, L. 1975. A simple differential staining method for semi-thin sections of ossifying cartilage and bone tissues embedded in epoxy resin. *Mikroskopie*, **31**, 1-4.
- Jing**, S., Wen, D., Yu, Y., Holst, P. L., Luo, Y., Fang, M., *et al.* 1996. GDNF-induced activation of the ret protein tyrosine kinase is mediated by GDNFR-alpha, a novel receptor for GDNF. *Cell*, **85**, 1113-24.
- Kanjhan**, R., Osborne, P. B., Ouyang, M. & Keast, J. R. 2003. Postnatal maturational changes in rat pelvic autonomic ganglion cells: a mixture of steroid-dependent and -independent effects. *J Neurophysiol*, **89**, 315-23.
- Keast**, J. R. 1995. Visualization and immunohistochemical characterization of sympathetic and parasympathetic neurons in the male rat major pelvic ganglion. *Neuroscience*, **66**, 655-62.
- Keast**, J. R. 1999. Unusual autonomic ganglia: connections, chemistry, and plasticity of pelvic ganglia. *Int Rev Cytol*, **193**, 1-69.
- Keast**, J. R. 2006. Plasticity of pelvic autonomic ganglia and urogenital innervation. *Int Rev Cytol*, **248**, 141-208.
- Keast**, J. R., Booth, A. M. & de Groat, W. C. 1989. Distribution of neurons in the major pelvic ganglion of the rat which supply the bladder, colon or penis. *Cell Tissue Res*, **256**, 105-12.
- Kim**, E. D., Nath, R., Slawin, K. M., Kadmon, D., Miles, B. J. & Scardino, P. T. 2001. Bilateral nerve grafting during radical retropubic prostatectomy: extended follow-up. *Urology*, **58**, 983-7.
- Klotz**, L. 1999. Advances in nerve sparing for radical prostatectomy. *Urology*, **54**, 956-9.
- Kriegelstein**, K., Henheik, P., Farkas, L., Jaszai, J., Galter, D., Krohn, K., *et al.* 1998. Glial cell line-derived neurotrophic factor requires transforming growth factor-beta for

- exerting its full neurotrophic potential on peripheral and CNS neurons. *J Neurosci*, **18**, 9822-34.
- Laurikainen**, A., Hiltunen, J. O., Vanhatalo, S., Klinge, E. & Saarma, M. 2000. Glial cell line-derived neurotrophic factor is expressed in penis of adult rat and retrogradely transported in penile parasympathetic and sensory nerves. *Cell Tissue Res*, **302**, 321-9.
- Lepor**, H., Gregerman, M., Crosby, R., Mostofi, F. K. & Walsh, P. C. 1985. Precise localization of the autonomic nerves from the pelvic plexus to the corpora cavernosa: a detailed anatomical study of the adult male pelvis. *J Urol*, **133**, 207-12.
- Levi**, A. D., Sonntag, V. K., Dickman, C., Mather, J., Li, R. H., Cordoba, S. C., *et al.* 1997. The role of cultured Schwann cell grafts in the repair of gaps within the peripheral nervous system of primates. *Exp Neurol*, **143**, 25-36.
- Lieberman**, A. R. 1971. The axon reaction: a review of the principal features of perikaryal responses to axon injury. *Int Rev Neurobiol*, **14**, 49-124.
- Lin**, G., Chen, K. C., Hsieh, P. S., Yeh, C. H., Lue, T. F. & Lin, C. S. 2003. Neurotrophic effects of vascular endothelial growth factor and neurotrophins on cultured major pelvic ganglia. *BJU Int*, **92**, 631-5.
- Lin**, L. F., Doherty, D. H., Lile, J. D., Bektesh, S. & Collins, F. 1993. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. *Science*, **260**, 1130-2.
- Lue**, T. F., Gleason, C. A., Brock, G. B., Carroll, P. R. & Tanagho, E. A. 1995. Intraoperative electrostimulation of the cavernous nerve: technique, results and limitations. *J Urol*, **154**, 1426-8.
- Lue**, T. F., Zeineh, S. J., Schmidt, R. A. & Tanagho, E. A. 1984. Neuroanatomy of penile erection: its relevance to iatrogenic impotence. *J Urol*, **131**, 273-80.
- Lundborg**, G., Dahlin, L. B., Danielsen, N., Gelberman, R. H., Longo, F. M., Powell, H. C., *et al.* 1982a. Nerve regeneration in silicone chambers: influence of gap length and of distal stump components. *Exp Neurol*, **76**, 361-75.
- Lundborg**, G., Gelberman, R. H., Longo, F. M., Powell, H. C. & Varon, S. 1982b. In vivo regeneration of cut nerves encased in silicone tubes: growth across a six-millimeter gap. *J Neuropathol Exp Neurol*, **41**, 412-22.
- May**, F., Schoeler, S., Vroemen, M., Matiasek, K., Apprich, M., Erhardt, W., *et al.* 2005a. [Nerve repair strategies for restoration of erectile function after radical pelvic surgery]. *Urologe A*, **44**, 780-4.
- May**, F., Vroemen, M., Matiasek, K., Henke, J., Brill, T., Lehmer, A., *et al.* 2005b. Nerve replacement strategies for cavernous nerves. *Eur Urol*, **48**, 372-8.
- May**, F., Weidner, N., Matiasek, K., Caspers, C., Mrva, T., Vroemen, M., *et al.* 2004. Schwann cell seeded guidance tubes restore erectile function after ablation of cavernous nerves in rats. *J Urol*, **172**, 374-7.
- Melvin**, J. E. & Hamill, R. W. 1986. Gonadal hormone regulation of neurotransmitter synthesizing enzymes in the developing hypogastric ganglion. *Brain Res*, **383**, 38-46.

- Menei, P.,** Montero-Menei, C., Whittemore, S. R., Bunge, R. P. & Bunge, M. B. 1998. Schwann cells genetically modified to secrete human BDNF promote enhanced axonal regrowth across transected adult rat spinal cord. *Eur J Neurosci*, **10**, 607-21.
- Molander, H.,** Olsson, Y., Engkvist, O., Bowald, S. & Eriksson, I. 1982. Regeneration of peripheral nerve through a polyglactin tube. *Muscle Nerve*, **5**, 54-7.
- Montorsi, F.,** Briganti, A., Salonia, A., Rigatti, P. & Burnett, A. L. 2004. Current and future strategies for preventing and managing erectile dysfunction following radical prostatectomy. *Eur Urol*, **45**, 123-33.
- Mosahebi, A.,** Fuller, P., Wiberg, M. & Terenghi, G. 2002. Effect of allogeneic Schwann cell transplantation on peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol*, **173**, 213-23.
- Mulhall, J. P.,** Slovick, R., Hotaling, J., Aviv, N., Valenzuela, R., Waters, W. B., *et al.* 2002. Erectile dysfunction after radical prostatectomy: hemodynamic profiles and their correlation with the recovery of erectile function. *J Urol*, **167**, 1371-5.
- Nehra, A.,** Goldstein, I., Pabby, A., Nugent, M., Huang, Y. H., de las Morenas, A., *et al.* 1996. Mechanisms of venous leakage: a prospective clinicopathological correlation of corporeal function and structure. *J Urol*, **156**, 1320-9.
- Oppenheim, R. W.** 1991. Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci*, **14**, 453-501.
- Oppenheim, R. W.,** Houenou, L. J., Johnson, J. E., Lin, L. F., Li, L., Lo, A. C., *et al.* 1995. Developing motor neurons rescued from programmed and axotomy-induced cell death by GDNF. *Nature*, **373**, 344-6.
- Pakkenberg, B. &** Gundersen, H. J. 1989. New stereological method for obtaining unbiased and efficient estimates of total nerve cell number in human brain areas. Exemplified by the mediodorsal thalamic nucleus in schizophrenics. *APMIS*, **97**, 677-81.
- Palma, C. A. &** Keast, J. R. 2006. Structural effects and potential changes in growth factor signalling in penis-projecting autonomic neurons after axotomy. *BMC Neurosci*, **7**, 41.
- Pannese, E.** 1960. Observations on the morphology, submicroscopic structure and biological properties of satellite cells (s.c.) in sensory ganglia of mammals. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, **52**, 567-97.
- Pannese, E.** 1963. Investigations on the Ultrastructural Changes of the Spinal Ganglion Neurons in the Course of Axon Regeneration and Cell Hypertrophy. I. Changes during Axon Regeneration. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, **60**, 711-40.
- Pannese, E.,** Ledda, M., Cherkas, P. S., Huang, T. Y. & Hanani, M. 2003. Satellite cell reactions to axon injury of sensory ganglion neurons: increase in number of gap junctions and formation of bridges connecting previously separate perineuronal sheaths. *Anat Embryol (Berl)*, **206**, 337-47.
- Papka, R. E.,** Traurig, H. H. & Klenn, P. 1987. Paracervical ganglia of the female rat: histochemistry and immunohistochemistry of neurons, SIF cells, and nerve terminals. *Am J Anat*, **179**, 243-57.
- Pover, C. M. &** Coggeshall, R. E. 1991. Verification of the disector method for counting neurons, with comments on the empirical method. *Anat Rec*, **231**, 573-8.

- Purinton**, P. T., Fletcher, T. F. & Bradley, W. E. 1973. Gross and light microscopic features of the pelvic plexus in the rat. *Anat Rec*, **175**, 697-705.
- Quinlan**, D. M., Epstein, J. I., Carter, B. S. & Walsh, P. C. 1991a. Sexual function following radical prostatectomy: influence of preservation of neurovascular bundles. *J Urol*, **145**, 998-1002.
- Quinlan**, D. M., Nelson, R. J. & Walsh, P. C. 1991b. Cavernous nerve grafts restore erectile function in denervated rats. *J Urol*, **145**, 380-3.
- Ribeiro**, A. A., Davis, C. & Gabella, G. 2004. Estimate of size and total number of neurons in superior cervical ganglion of rat, capybara and horse. *Anat Embryol (Berl)*, **208**, 367-80.
- Rodriguez**, F. J., Verdu, E., Ceballos, D. & Navarro, X. 2000. Nerve guides seeded with autologous schwann cells improve nerve regeneration. *Exp Neurol*, **161**, 571-84.
- Sayers**, S. T., Khan, N., Ahmed, Y., Shahid, R. & Khan, T. 1998. Preparation of brain-derived neurotrophic factor- and neurotrophin-3-secreting Schwann cells by infection with a retroviral vector. *J Mol Neurosci*, **10**, 143-60.
- Schmalbruch**, H. 1987. The number of neurons in dorsal root ganglia L4-L6 of the rat. *Anat Rec*, **219**, 315-22.
- Schmidt**, C. E. & Leach, J. B. 2003. Neural tissue engineering: strategies for repair and regeneration. *Annu Rev Biomed Eng*, **5**, 293-347.
- Scott**, W. W. 1997. Origins of radical perineal and nerve-sparing retropubic prostatectomy. *Prostate*, **32**, 149-51.
- Seckel**, B. R. 1990. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve*, **13**, 785-800.
- Sedel**, L. & Nizard, R. S. 1993. Nerve grafting for traction injuries of the common peroneal nerve. A report of 17 cases. *J Bone Joint Surg Br*, **75**, 772-4.
- Siegel**, T., Moul, J. W., Spevak, M., Alvord, W. G. & Costabile, R. A. 2001. The development of erectile dysfunction in men treated for prostate cancer. *J Urol*, **165**, 430-5.
- Slawin**, K. M., Canto, E. I., Shariat, S. F., Gore, J. L., Kim, E., Kattan, M. W., *et al.* 2002. Sural Nerve Interposition Grafting during Radical Prostatectomy. *Rev Urol*, **4**, 17-23.
- Stephanian**, E., Sekhar, L. N., Janecka, I. P. & Hirsch, B. 1992. Facial nerve repair by interposition nerve graft: results in 22 patients. *Neurosurgery*, **31**, 73-6; discussion 77.
- Sterio**, D. C. 1984. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc*, **134**, 127-36.
- Strasser**, H., Ninkovic, M., Hess, M., Bartsch, G. & Stenzl, A. 2000. Anatomic and functional studies of the male and female urethral sphincter. *World J Urol*, **18**, 324-9.
- Tabatai**, M., Booth, A. M. & de Groat, W. C. 1986. Morphological and electrophysiological properties of pelvic ganglion cells in the rat. *Brain Res*, **382**, 61-70.

- Te, A. E., Santarosa, R. P., Koo, H. P., Buttyan, R., Greene, L. A., Kaplan, S. A., et al.** 1994. Neurotrophic factors in the rat penis. *J Urol*, **152**, 2167-72.
- Treanor, J. J., Goodman, L., de Sauvage, F., Stone, D. M., Poulsen, K. T., Beck, C. D., et al.** 1996. Characterization of a multicomponent receptor for GDNF. *Nature*, **382**, 80-3.
- Tuszynski, M. H., Weidner, N., McCormack, M., Miller, I., Powell, H. & Conner, J.** 1998. Grafts of genetically modified Schwann cells to the spinal cord: survival, axon growth, and myelination. *Cell Transplant*, **7**, 187-96.
- Unsicker, K., Flanders, K. C., Cissel, D. S., Lafyatis, R. & Sporn, M. B.** 1991. Transforming growth factor beta isoforms in the adult rat central and peripheral nervous system. *Neuroscience*, **44**, 613-25.
- Vera, P. L. & Nadelhaft, I.** 1992. Afferent and sympathetic innervation of the dome and the base of the urinary bladder of the female rat. *Brain Res Bull*, **29**, 651-8.
- Villers, A., McNeal, J. E., Redwine, E. A., Freiha, F. S. & Stamey, T. A.** 1989. The role of perineural space invasion in the local spread of prostatic adenocarcinoma. *J Urol*, **142**, 763-8.
- Vroemen, M. & Weidner, N.** 2003. Purification of Schwann cells by selection of p75 low affinity nerve growth factor receptor expressing cells from adult peripheral nerve. *J Neurosci Methods*, **124**, 135-43.
- Walsh, P. C.** 1998. Anatomic radical prostatectomy: evolution of the surgical technique. *J Urol*, **160**, 2418-24.
- Walsh, P. C.** 2001. Nerve grafts are rarely necessary and are unlikely to improve sexual function in men undergoing anatomic radical prostatectomy. *Urology*, **57**, 1020-4.
- Watson, W. E.** 1968. Observations on the nucleolar and total cell body nucleic acid of injured nerve cells. *J Physiol*, **196**, 655-76.
- Weidner, N., Blesch, A., Grill, R. J. & Tuszynski, M. H.** 1999. Nerve growth factor-hypersecreting Schwann cell grafts augment and guide spinal cord axonal growth and remyelinate central nervous system axons in a phenotypically appropriate manner that correlates with expression of L1. *J Comp Neurol*, **413**, 495-506.
- Zhang, W., Ochi, M., Takata, H. & Ikuta, Y.** 1997. Influence of distal nerve segment volume on nerve regeneration in silicone tubes. *Exp Neurol*, **146**, 600-3.

8. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BDNF	Brain derived neurotrophic factor
GDNF	Glial cell line-derived neurotrophic factor
Gzf	Ganglienzellfläche
Lap	Laparotomie
M.	Musculus
MW	Mittelwert
N.	Nervus
Nervex	Nervenexzision
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
Op	Operation
p	Signifikanz
Pi-3 Kinase	Phosphoinositid-3 Kinase
Stabw	Standartabweichung
Silikon ⁻	ungefülltes Silikonröhrchen
Silikon ⁺	mit Schwanschen Zellen gefülltes Silikonröhrchen
Silikon ⁺ +GDNF	mit Schwanschen Zellen, die GDNF überexprimieren, gefülltes Silikonröhrchen
Silikon ⁺ +VEGF/PBS	mit Schwanschen Zellen und VEGF/PBS Puffer gefülltes Silikonröhrchen
Silikon ⁺ +GFP	mit Schwanschen Zellen und Green fluorescent protein gefülltes Silikonröhrchen
Stabw	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
Transpl	Nerventransplantation
VEGF	Vascular endothelial growth factor
Zkf	Zellkernfläche

9. Anhang

9.1 Mittelwerte der Hauptstudie

		Ganglion		p		Gzf	Zkf	Dichte	Sat	Vak
		li	re	li	re					
Lap	3107	ja	ja	74	70	1.113,28	182,24	103,89	0,76	0,070
	3108	ja	ja	59	40	1.283,14	229,46	87,04	0,65	0,032
	3109	ja	ja	45	13	768,01	151,70	98,18	0,36	0,027
	3110	ja	ja	69	76	607,22	135,83	123,92	0,63	0,081
Nervex	3127	nein	nein	13	22	1.428,79	213,41	113,34	1,10	0,073
Silikon-	3139	nein	nein	0	0	1.444,92	230,68	114,76	1,27	0,038
	3144	ja	ja	verst	verst	1.311,70	196,76	129,02	1,21	0,097
	3145	nein	nein	0	0	1.464,15	215,83	124,31	1,12	0,043
	3146	ja	nein	0	0	891,83	149,99	181,33	0,72	0,065
	3157	ja	ja	0	21	976,40	166,03	195,78	0,92	0,047
	3160	ja	ja	49	82	1.516,35	230,19	132,72	1,19	0,030
	3165	nein	nein	15	0	779,60	138,23	187,43	1,11	0,094
	3166	ja	ja	0	19	1.043,08	167,76	169,10	0,94	0,090
Transpl	3128	ja	ja	18	0	1.669,98	248,84	90,55	1,15	0,107
	3141	nein	nein	14	0	999,29	164,78	151,25	0,98	0,075
	3164	ja	ja	64	15	1.069,33	175,55	160,84	0,82	0,032
	3189	nein	nein	0	0	1.266,55	197,64	158,85	1,26	0,031
	3203	nein	nein	0	0	1.487,64	213,65	122,57	1,07	0,048
	3204	nein	nein	0	0	1.063,15	180,68	158,62	1,05	0,046
Silikon+	3206	nein	nein	0	49	984,05	168,14	164,54	1,05	0,019
	3175	nein	ja	verst	verst	1.071,00	187,65	93,39	0,75	0,034
	3181	ja	ja	0	9	1.274,47	191,75	114,51	0,93	0,058
	3193	ja	ja	123	127	162,14	30,78	134,15	0,91	0,050
	3194	ja	nein	0	verst	1.363,54	215,92	106,45	0,72	0,016
	3196					1.105,37	170,79	134,27	0,68	0,042

9. Anhang

	3205	ja	ja	19	0	1.038,92	179,89	127,08	0,84	0,064
	3216	ja	ja	55	31	1.015,25	158,45	132,01	0,96	0,037
	3228	ja	ja	31	78	1.212,40	188,46	128,76	0,88	0,072
Silikon++	3290	ja	ja	29	24	1.080,28	137,11	173,43	0,89	0,053
	3291	ja	nein	18	11	1.008,34	166,20	110,91	0,88	0,040
	3292	ja	ja	60	24	727,01	123,50	149,26	0,77	0,034
	3306	ja	ja	13	28	899,54	143,08	128,86	0,88	0,071
	3307	ja	ja	60	19	1.388,91	187,06	134,89	1,05	0,099
	3308	ja	ja	51	84	995,99	171,90	119,82	1,06	0,046
	3311	ja	ja	35	64	998,56	176,02	149,36	1,01	0,101
	3312	ja	ja	16	28	1.118,19	205,86	126,77	1,27	0,093
	3348	ja	ja	48	32	727,93	111,21	138,10	0,37	0,071
	3349	ja	ja	57	30	1.219,92	205,96	138,96	1,20	0,061
Silikon++ VEGF/PBS	3170	-	-	-	-	1.078,70	171,85	138,17	1,45	0,080
	3177	-	-	-	-	1.069,74	156,45	181,79	1,16	0,048
	3183	-	-	-	-	770,31	129,05	195,53	1,17	0,067
	3184	-	-	-	-	743,43	120,13	187,78	1,23	0,054
	3192	-	-	-	-	1.084,36	185,76	154,66	0,78	0,061
	3197	-	-	-	-	1.173,05	200,85	159,33	1,29	0,139
	3211	-	-	-	-	817,60	161,03	187,13	0,76	0,034
	3212	-	-	-	-	1.227,35	191,98	180,07	1,06	0,051
	3213	-	-	-	-	954,68	160,46	167,31	0,87	0,121
Silikon++ GFP	3294	ja	ja	78	38	1.237,81	208,53	114,69	0,93	0,114
	3296	ja	ja	131	40	807,36	152,92	196,38	0,86	0,099
	3297	nein	ja	33	98	780,84	166,93	195,75	0,57	0,066
	3298	ja	ja	131	103	875,85	170,25	170,47	0,99	0,039
	3309	ja	ja	68	35	1.034,87	216,28	136,70	0,96	0,159
	3460	nein	nein		24	694,32	118,39	210,59	0,76	0,081

9.2 Mittelwerte der Verlaufsstudie

			Ganglion		δp					
			li	re	li	re	Gzf	Zkf	Sat	Vak
Lap	2 Wochen	3340	ja	ja	23	19	1.033,88	171,55	1,19	0,46
		3341	ja	ja	51	78	995,86	141,20	1,64	0,84
	4 Wochen	3338	ja	ja	31	70	1.167,19	179,25	1,28	0,95
		3339	ja	ja	57	53	1.232,50	190,76	1,46	0,56
	6 Wochen	3336	ja	ja	77	105	488,64	96,43	0,98	0,15
		3337	ja	ja	89	56	384,99	56,30	0,83	0,51
	8 Wochen	3335	ja	ja	72	104	955,75	153,92	0,98	0,45
Nervex	2 Wochen	3142	nein	nein	0	0	841,40	160,94	0,75	0,19
	4 Wochen	3235	nein	nein	0	0	936,67	163,91	0,91	0,20
	6 Wochen	3234	nein	nein	25	28	1.041,02	168,68	1,63	0,60
	8 Wochen	3255	nein	nein	0	0	1.500,94	211,47	1,67	0,52
		3230	nein	nein	0	0	1.280,68	203,16	1,35	1,35
	10 Wochen	3226	nein	nein	0	89	1.320,44	192,68	1,20	0,45
Silikon-	2 Wochen	3208	nein	nein	0	0	1.289,55	197,21	1,83	1,23
		3180	nein	nein	0	0	942,33	141,15	1,31	0,41
	4 Wochen	3252	nein	ja	39	11	1.005,74	167,38	1,21	0,08
		3251	nein	nein	0	0	1.136,19	152,86	1,68	0,65
	6 Wochen	3185	nein	nein	0	0	1.133,36	162,54	0,99	0,38
	8 Wochen	3176	ja	nein	0	0	745,14	150,39	0,91	0,41
		3187	ja	ja	13	47	924,15	189,97	0,93	0,61
	10 Wochen	3247	nein	ja	0	96	1.093,09	169,18	0,96	0,44
Silikon+	2 Wochen	3174	ja	nein	26	0	1.010,75	187,45	1,03	0,57
		3172	nein	nein	0	0	1.197,67	210,94	1,39	0,30
	4 Wochen	3250	nein	ja	0	32	1.027,27	180,02	1,36	1,09
	6 Wochen	3241	nein	ja	6	29	797,05	115,23	0,89	0,37

9. Anhang

		3178	ja	ja	16	0	829,49	127,06	1,02	1,09
	8 Wochen	3179	nein	ja	0	66	1.105,40	163,40	1,24	0,47
		3218	nein	nein	0	0	1.092,42	183,23	0,98	0,42
	10 Wochen	3239	nein	nein	0	0	1.468,87	225,87	1,18	1,04
		3240	ja	ja	92	122	1.423,33	205,41	1,41	1,28
Silikon+										
+GDNF	2 Wochen	3214	nein	nein	0	0	1.009,67	171,50	1,25	0,42
		3215	nein	nein	0	0	928,46	131,03	1,21	0,56
	4 Wochen	3186	nein	ja	13	31	718,71	133,28	0,91	0,60
	6 Wochen	3191	ja	ja	60	73	1.247,09	185,86	1,34	1,07
		3257	ja	ja	22	36	1.421,03	205,33	1,26	0,75
	8 Wochen	3209	ja	ja	10	90	919,74	116,64	1,05	1,00
		3351	ja	ja	53	34	1.246,66	170,61	1,44	0,41
	10 Wochen	3253	ja	ja	29	90	1.265,19	180,01	1,13	0,75
		3254	ja	ja	42	41	1.025,85	164,02	1,16	0,56
Silikon+										
+GFP	2 Wochen	3342	nein	ja			1.147,76	183,52	1,11	0,54
		3350	nein	nein			797,09	129,18	1,05	1,01
	4 Wochen	3343	ja	ja			736,81	119,11	1,22	0,36
	6 Wochen	3345	ja	nein			1.005,68	177,65	1,01	0,93
		3305	ja	ja	21	22	956,22	168,40	1,27	0,53
	8 Wochen	3458					1.281,37	175,72	1,26	0,85
	10 Wochen	3346	ja	ja			745,98	145,19	1,09	0,87
		3347	nein	ja			1.020,06	153,74	1,27	1,26

10. Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die bei diesem Projekt mitgeholfen haben. Besonders bei meinen Eltern möchte ich mich zuerst für die Unterstützung während des Studiums und der Doktorarbeit ganz herzlich bedanken.

Ein besonderer Dank geht an Prof. Schmahl für die Übernahme und ebenso an Dr. Kaspar Matiassek für die Betreuung, Leitung und Korrektur dieser Doktorarbeit.

Aber ich möchte mich auch bei den Mitarbeiterinnen des neuropathologischen Instituts der Ludwigs-Maximilians-Universität ganz herzlich für die Hilfe bei der Anfertigung meiner Semidünnschnitte und meiner Färbungen bedanken.

Ein lieber Dank geht an Sophie Bader und Daniela Thinner, die mir während der Anfertigung dieser Arbeit stets mit Rat und Tat zur Seite standen. Zuguterletzt möchte ich mich bei meiner Schwester Andrea bedanken, die mich während dieser Zeit besonders unterstützt hat. Danke

11. Lebenslauf

Name: Katharina Birkmann

Adresse: Maistraße 67
80337 München

Geburtsdatum: 09.02.1982

Geburtsort: Krefeld

Eltern: Dr. Andreas Birkmann, Justizminister a.D.
Renate Birkmann, Lehrerin

Schulbildung: 1989 Von-Drais-Schule Karlsruhe
1989-1993 Grundschule Gernsbach
1993-2001 Gymnasium Gernsbach

Studium: 2001-2007 Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
27.03.2007 Approbation als Tierärztin
ab März 2007 Doktorarbeit am Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie der Ludwig-Maximilians-Universität München