

Aus der Klinik für Anaesthesiologie
der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. med. J. Tarnow, FRCA)

**Implantation durchtrennter Baroafferenzen in Gefäße des
Hoch- und Niederdrucksystems – Einfluss des
Implantationsortes auf Regenerationsprozesse von Nerven**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Henning Hermanns

2005

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
gez.: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Wolfgang H.-M. Raab
Dekan

Referent: Prof. Dr. Lipfert

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Novotny

<u>Inhaltsangabe:</u>	2
1 Einleitung:	3
1.1 Frage	3
1.2 Bekanntes	3
1.3 Hypothesen	5
2 Material und Methoden	6
2.1 Vorbereitende Maßnahmen	6
2.2 Registrierungen	6
2.3 Versuchsplan	7
2.3.1 Versuche „Zeitreihen“	7
2.3.2 Versuche „Struktur / Funktion“	8
2.3.3 Versuche „Reversibilität“	8
2.4 Morphologie	9
2.5 Statistik	12
3 Ergebnisse	13
3.1 Versuche „Zeitreihen“	13
3.2 Versuche „Struktur / Funktion“	18
3.3 Versuche „Reversibilität“	22
4 Diskussion	26
5 Zusammenfassung	30
6 Literaturverzeichnis	31
7 Danksagung	34

1 Einleitung:

1.1 Frage

Beeinflussen Struktur oder Funktion von Gefäßen, in die baroaffere Nerven nach Durchtrennung implantiert werden, die Neusynthese von Rezeptoren? Ändert sich das Faserspektrum der Nerven in Abhängigkeit von Struktur oder Funktion der Gefäße?

1.2 Bekanntes

Die Reaktionen eines peripheren Nerven auf Durchtrennung reichen von minimalen Veränderungen bis hin zum irreversiblen Untergang des Neurons [Kiernan, 1979; Fu et Gordon, 1997; Burnett et Sager, 2004]. Dabei hängt die Regenerationsfähigkeit von Art und Ort der Läsion ab [Seckel, 1995]. Weiterhin ist von Bedeutung, ob die Nervenfasern ihr Endorgan nach einer Durchtrennung wieder erreichen können. Wird der Kontakt zum distalen Nervenstumpf bzw. zum ursprünglichen Endorgan mechanisch verhindert, sprossen die Axone nur äußerst spärlich aus, und retrograde Degenerationen sind zu beobachten [MacKinnon et al., 1992]. Schließlich spielen bei der Regeneration peripherer Nerven trophische Faktoren eine zentrale Rolle. Dazu gehören seit der Entdeckung des nerve growth factors [Levi-Montalcini et al., 1968] eine Reihe von Wachstumsfaktoren: growth hormone (GH) [Kanje et al., 1988], ciliary neurotrophic factor (CNTF) [Sendtner et al., 1992; Siegel et al., 2000], brain derived neurotrophic factor (BDNF) [Hohn et al., 1990; Zhang et al., 2000], insulin like growth factor (IGF-1) [Rabinovsky, 2004]. Inwieweit Funktion und Struktur des Endorgans die Regeneration eines Nerven beeinflussen, wurde bisher wenig beachtet. Es existieren lediglich Hinweise auf die Bedeutung des Implantationsortes für die Nervenregeneration:

Nach Durchtrennung und Implantation des Karotissinusnerven in eine Arterie, nicht aber in einen Muskel, sind die implantierten Fasern gegenüber Änderungen der Sauerstoffsättigung des Blutes empfindlich [Mitchell et al., 1972; Kieneker et al., 1978]. Nach diesen Untersuchungen bilden die regenerierenden Nervenfasern also auch ohne Glomusorgan die für sie charakteristische Sensibilität aus, d. h. sie fungieren als Rezeptoren. Diese Schlussfolgerung wird aber durch andere Befunde in Frage gestellt, wonach nur Fasern mit Anschluss an Glomuszellen wieder Chemosensibilität aufweisen [Ponte et al., 1989]. Die Bedeutung von Struktur und Funktion des Implantationsortes für die Regeneration ist nach diesen Untersuchungen also weiterhin unklar. Möglicherweise sind diese widersprüchlichen Befunde auf die Besonderheiten des Karotissinusnerven zurückzuführen; er enthält chemo-

und barosensible Fasern [Heymans et al., 1958]. Deshalb ist der nahezu ausschließlich barosensible N. depressor (Rr. cardiaci superiores) des Kaninchens von Vorteil für die Untersuchung.

Der kreislaufregulatorische Effekt des Nerven wurde schon früh von Cyon und Ludwig beschrieben. Danach senkt elektrische Stimulation des Nerven den Blutdruck, und sie schlugen daher vor, den Nerven N. depressor zu nennen [Cyon et Ludwig, 1866]. Köster und Tschermak wiesen nach, dass der Nerv nicht, wie zunächst angenommen, ein Reflexnerv des Herzmuskels ist, sondern seine Rezeptoren in der Adventitia / Media der Aorta liegen. Die Perikaryen des Nerven identifizierten sie im Ganglion jugulare [Köster et Tschermak, 1902 / 1903].

Bisher wurde nach Durchtrennung des Depressornerven und Implantation in verschiedene Gewebe nur Einzelfaserableitung durchgeführt. Dabei bildeten diejenigen Nerven, welche in die A. carotis communis implantiert worden waren, in einem Teil der Fälle wieder pulssynchrone Aktivität aus [Arndt et al., 1981]. Fraglich blieb dabei jedoch, ob die Nerven wieder an der Blutdruckregulation beteiligt waren. Auch die Struktur der neu gebildeten Afferenzen bzw. Rezeptoren ist unbekannt. Es soll also geklärt werden, ob und inwieweit die Regeneration sensibler Nerven nach ihrer Durchtrennung und Implantation in Gefäße durch Struktur (Wand) oder Funktion (Höhe des Blutdrucks, pulsatile Aktivität) dieser Gefäße beeinflusst wird.

1.3 Hypothesen

1. Nach welcher Zeit bilden sich barosensible Nervenendigungen oder neue Barorezeptoren in der Wand des jeweiligen Implantationsortes, und wie sehen sie aus?
2. Beeinflussen Struktur bzw. Funktion des Implantationsortes auch die Morphologie des Nerven (Anzahl der Fasern, Durchmesser von Axonen und Myelinscheiden), d. h. ergeben sich Unterschiede in der Morphologie des Nerven nach Implantation in eine Arterie bzw. Vene?
3. Nehmen die neu gebildeten Endigungen an der Kreislaufregulation teil, d. h. lassen sich durch direkte Gefäßwanddehnung oder durch intraluminale Druckänderungen via neugebildeter Nervenendigungen Baroreflexe auslösen?
4. Sind die Veränderungen der Morphologie des Nerven nach Durchtrennung reversibel? Mit der Beantwortung dieser Frage soll modellhaft dargestellt werden, ob und inwieweit sich nicht nur Degenerationsprozesse durch geeignete Wahl des Implantationsortes beeinflussen lassen, sondern bei geeignetem Implantationsort auch Regenerationsvorgänge induziert werden können. Stellen C-Fasern ein Reservesystem des peripheren Nervensystems dar? Können sie bei Bedarf myelinisiert werden?

2 Material und Methoden

2.1 Vorbereitende Maßnahmen

Die Experimente wurden an 32 männlichen narkotisierten Neuseeland-Kaninchen (2,4 – 3,5 kg) durchgeführt. Die Kaninchen wurden über einen intravenösen Zugang in einer Ohrvene narkotisiert (Pentobarbital 30 mg/kg KG), intubiert und mit 100% Sauerstoff stoffwechseladäquat beatmet. Die Narkose wurde aufrechterhalten mittels Infusion von 10 mg/kg/h Pentobarbital. Unter sterilen Bedingungen wurde die Carotisregion über einen lateralen Halsschnitt aufgesucht und mit Hilfe eines Operationsmikroskops vom umgebenden Bindegewebe freipräpariert. Der Depressornerv wurde aufgesucht und von der oberen Thoraxapertur bis zum Eintritt in die Schädelbasis dargestellt. Nach Abschluss der neurophysiologischen Untersuchungen und Entnahme der histologischen Präparate erfolgte der fachgerechte Wundverschluss. Postoperativ wurden die Kaninchen im Tierstall gehalten und der Heilungsverlauf regelmäßig kontrolliert. Nach 6 Wochen, 3 bzw. 10 Monaten wurden die Nerven erneut neurophysiologisch untersucht und wiederum Nerven-, sowie Gefäßpräparate zur histologischen Aufarbeitung entnommen.

2.2 Registrierungen

Perioperativ wurden das EKG mittels Nadelelektroden, der arterielle Blutdruck (Kanülierung einer Ohrarterie) sowie die expiratorische CO₂-Konzentration überwacht. Die Körpertemperatur wurde rektal gemessen und über eine Wärmelampe konstant (38 – 39,5° C) gehalten. Regelmäßig wurden Blutgasanalysen durchgeführt und gegebenenfalls Beatmung und Säure-Basen Haushalt adaptiert. Der von Bindegewebe und Perineurium befreite Nerv wurde mit Ringer-Lösung angefeuchtet. Lediglich während der Messung der Nervenaktivität wurde der Nerv in Luft elektrisch isoliert. Das Summenaktionspotential wurde mittels einer bipolaren Platin-Iridium-Elektrode mit elektrodennahem Verstärker abgeleitet. Sowohl das Originalsignal als auch das gemittelte Signal (Root Mean Square-Technik) wurden mittels MacLab-Datenanalysesystems aufgezeichnet. Gleichzeitig wurde das Originalsignal über einen Audiomonitor abgehört.

2.3 Versuchsplan

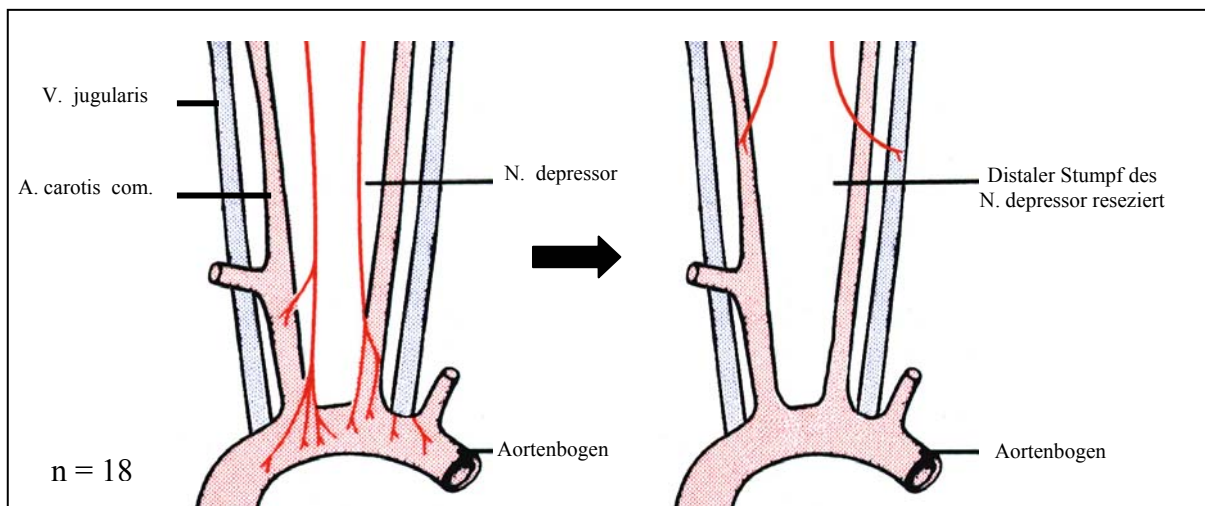
Um zu klären, ob und inwieweit die Regeneration sensibler Nerven nach ihrer Durchtrennung und Implantation in Gefäße durch Struktur (Wand) oder Funktion (Höhe des Blutdrucks, pulsatile Aktivität) beeinflusst wird, wurden Struktur bzw. Funktion des Implantationsortes auf dreierlei Art variiert:

2.3.1 Versuche „Zeitreihen“

In der ersten Versuchsreihe wurde der kraniale Stumpf des N. depressor der einen Halsseite nach seiner Durchtrennung in die gleichseitige A. carotis communis, auf der kontralateralen Seite in die V. jugularis externa implantiert. Dabei erfolgte die Auswahl der Seite nach dem Zufallsprinzip. Der kaudale Stumpf wurde an der Thoraxapertur reseziert. Somit war der kraniale Nervenstumpf auf der einen Seite morphologisch dem Einfluss einer Arterie (Hochdrucksystem), auf der anderen Seite dem Einfluss einer Vene (Niederdrucksystem) ausgesetzt (Abb. 1).

Nach 6 Wochen, 3 bzw. 10 Monaten wurden die Nerven erneut freigelegt, elektrophysiologisch untersucht und Präparate zur histologischen Untersuchung entnommen.

Abb. 1: Implantation des N. depressor in die A. carotis communis bzw. V. jugularis interna



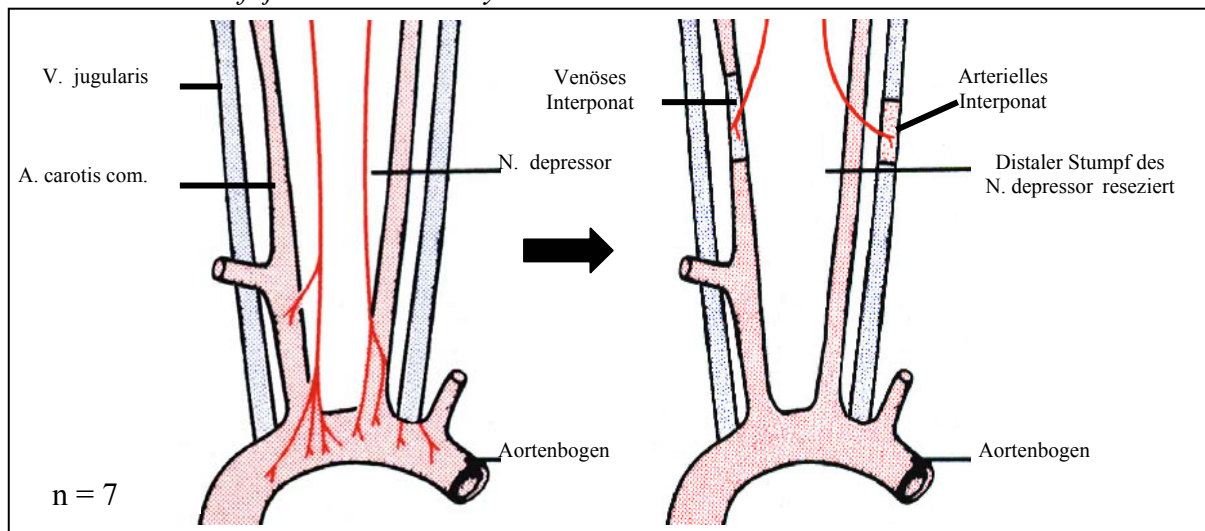
Links sieht man die native Anatomie des N. depressor und seiner Endigungen. Die rechte Skizze gibt die Anatomie nach Resektion des distalen N. depressor wider; auf der einen Seite Implantation in die Vene, auf der anderen Seite in die Arterie.

2.3.2 Versuche „Struktur / Funktion“

In der zweiten Versuchsreihe wurde ein Stück der A. carotis communis entnommen und End-zu-End in die V. jugularis externa derselben Seite anastomosiert. Auf der Gegenseite wurde ein Stück der V. jugularis externa entnommen und End-zu-End in die A. carotis communis eingenäht. In die anastomosierten heterotopen Gefäßsegmente wurde der jeweilige kraniale Stumpf des durchtrennten gleichseitigen N. depressor eingenäht (Abb.2).

Auch hier wurde zufällig ausgewählt, in welches Gefäß der Nerv implantiert wurde. Somit war der kraniale Nervenstumpf der einen Seite morphologisch dem Einfluss einer Arterienwand und funktionell dem des Niederdrucksystems ausgesetzt, auf der Gegenseite waren Venenwand und Hochdrucksystem prägend. Nach Prüfung der Durchgängigkeit der Anastomosen erfolgte der Wundverschluss. Dabei wurden keine Antikoagulantien verabreicht. Nach 3 Monaten wurden die Nerven erneut freigelegt, elektrophysiologisch untersucht, und Präparate zur histologischen Untersuchung entnommen.

Abb. 2: Implantation des N. depressor in arterielles Gefäß im Niederdrucksystem, bzw. in venöses Gefäß im Hochdrucksystem



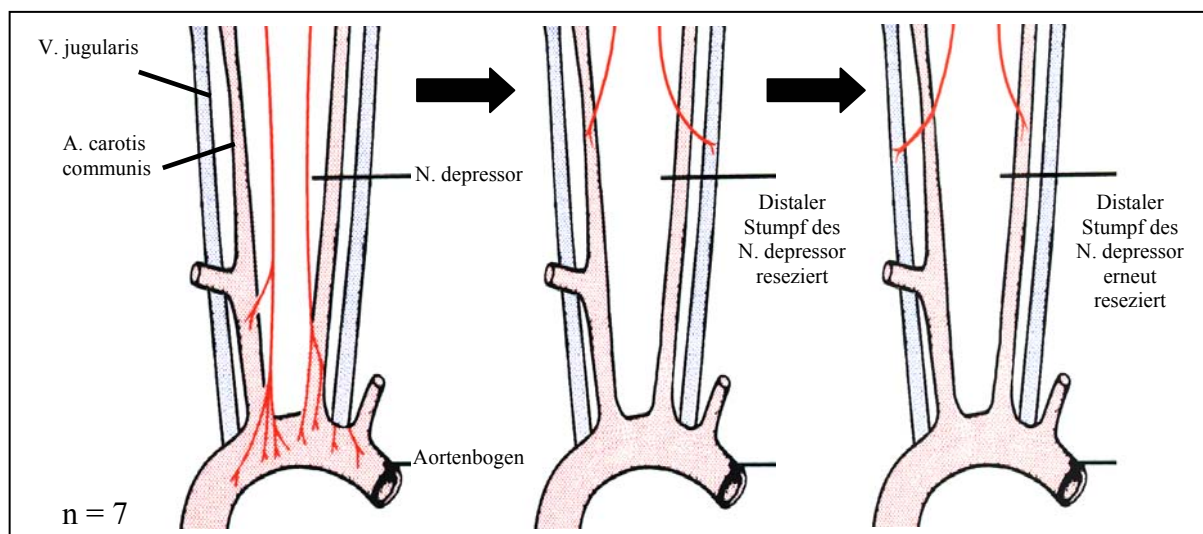
Links wieder die native Anatomie, rechts nach Implantation des Nerven in die arterielle bzw. venöse Anastomose.

2.3.3 Versuche „Reversibilität“

Um zu klären, ob der Einfluss von Struktur bzw. Funktion des Implantationsortes auf die Regeneration des Nerven reversibel ist, wurden in der dritten Versuchsreihe die implantierten Nerven kranial der Implantationsstelle in die A. carotis communis bzw. V. jugularis externa

nach 3 Monaten erneut durchtrennt und in das jeweils andere Gefäß eingenäht. Auch hier erfolgte die Auswahl der Seite randomisiert. Nach weiteren 3 Monaten wurden die implantierten Nerven erneut freigelegt, elektrophysiologisch untersucht und zur histologischen Untersuchung entnommen (Abb. 3).

Abb. 3: Implantation des N. depressor zunächst in eine Vene und dann in eine Arterie (linke Halsseite) bzw. umgekehrt (rechte Halsseite)



Links die native Anatomie, in der Mitte Implantation der Nerven in Arterie bzw. Vene nach 3 Monaten und rechts Implantation der Nerven in das jeweils andere Gefäß der ipsilateralen Seite nach weiteren 3 Monaten.

2.4 Morphologie

Bei jeder Nervendurchtrennung sowie nach dem jeweils letzten Versuch wurden beidseits ca. 2 mm große Präparate entnommen. Die Nerven wurden über Nacht in 2,5 % Glutaraldehyd fixiert und nach mehrfachem Waschen in Phosphatpuffer mit Osmiumtetroxid kontrastiert. Nach Dehydrierung in Aceton wurde in aufsteigenden Konzentrationen Spurr-Medium hinzugefügt, bis die Präparate schließlich in reinem Spurr eingebettet und zur Polymerisation über acht Stunden im Wärmeschrank bei 70° C inkubiert wurden.

Es wurden Semidünnschnitte von 1 µm angefertigt, welche mit p-Phenylendiamin gefärbt wurden. Anschließend wurden die Nervenquerschnitte in 100-facher Vergrößerung mit Hilfe einer Olympus DP10-Digitalkamera photographiert (Auflösung 72 ppi, Farbtiefe 8 Bit). Mittels eines Rechners mit geeigneter Software (Adobe Photoshop 6.0 und Fovea Pro 2.0)

wurden die Nervenquerschnitte morphometriert, um quantitative Vergleiche durchzuführen (Abb. 4). Hierbei wurden zunächst grobe störende Elemente, wie z. B. Artefakte der Färbung oder Kapillaren, per Hand entfernt. Dann wurde eine standardisierte Kontrastverstärkung durchgeführt. Dabei berechnet das Programm unabhängig vom Benutzer mittels eines t-Tests den Punkt im Helligkeitshistogramm, an dem in jedem Teil des Bildes die höchste Wahrscheinlichkeit eines signifikanten Helligkeitsunterschiedes besteht. Dadurch konnte eine maximale Ausnutzung der Farbtiefe erreicht werden.

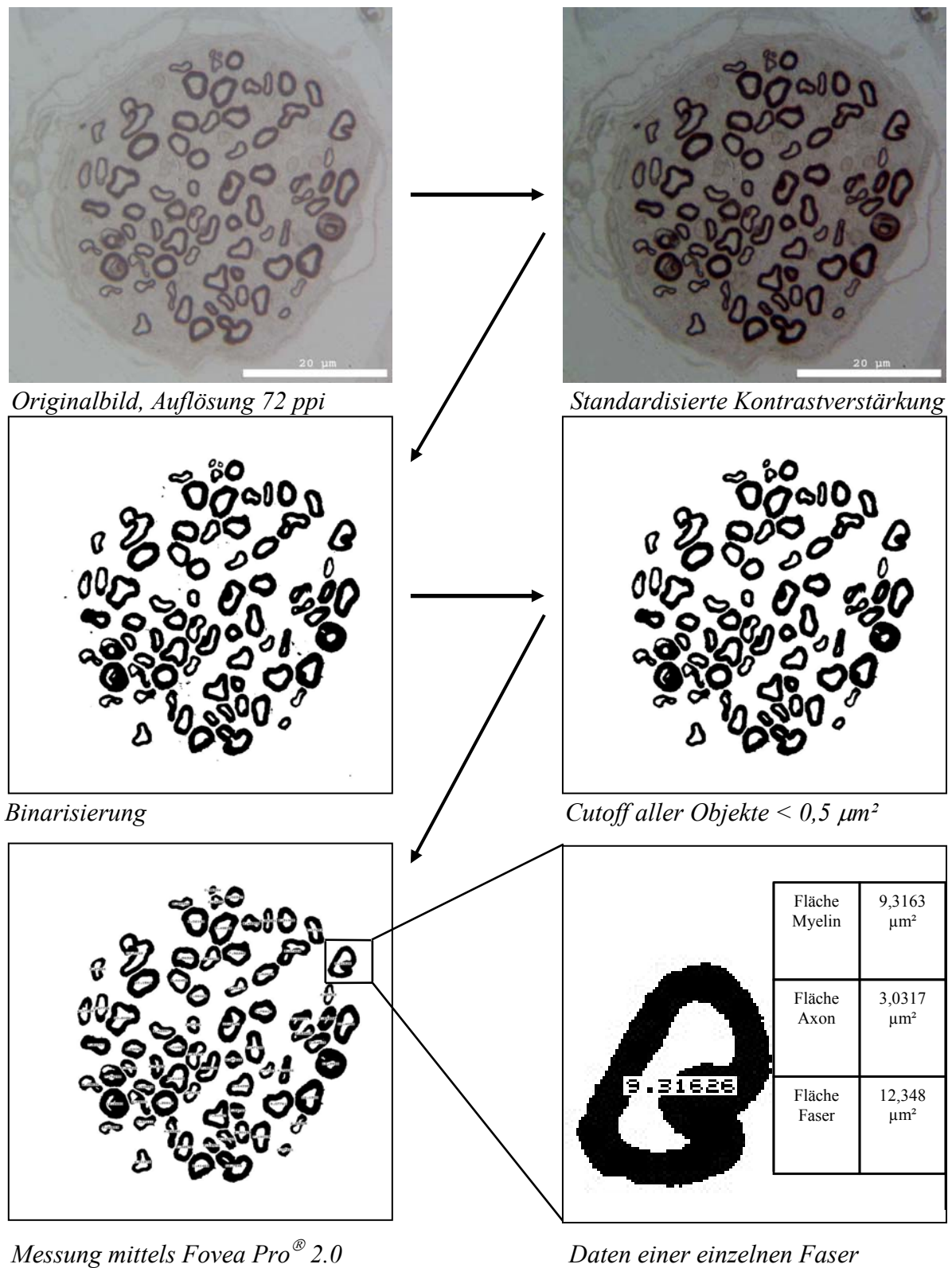
Als nächster Schritt wurde eine standardisierte Binarisierung des Bildes durchgeführt. Hierbei wurden den hellsten und dunkelsten Pixeln im Bild Schwarz- und Weißwerte zugeordnet. Anschließend wurden alle Objekte mit einer Fläche kleiner als $0,5 \mu\text{m}^2$ entfernt („Cutoff“) – es wurde davon ausgegangen, dass es sich hierbei aufgrund der geringen Größe nicht um Nervenfasern handelt, vor allem nicht um myelinisierte Fasern [Romero et al., 2000]. Nach einem abschließenden Vergleich mit dem Originalbild wurden die verbleibenden Nervenfasern automatisiert vermessen. Als Parameter wurden festgehalten: die Anzahl der myelinisierten Fasern, die Fläche der Axone, der Myelinscheiden und der gesamten Nerven.

Zur morphologischen Untersuchung der Nervenendigungen wurden in jeder Gruppe zum Versuchsende an einigen Tieren der Nerv sowie das entsprechende Blutgefäß, in welches der Nerv zuvor implantiert worden war, entnommen, in Formalin fixiert und anschließend in Paraffin eingebettet. Die neu gebildeten Endigungen wurden zur Charakterisierung mittels Versilberung und Immunhistologie miteinander verglichen.

Die Immunhistologie erfolgte zum einen mit Antikörpern (Sigma, Maus) gegen Growth Associated Protein-43 [GAP-43], die selektiv an neu ausgesprossene Nervenendigungen binden, sowie mit Antikörpern (BioTrend, Maus) gegen Tyrosin-Hydroxylase [TH] als Marker für sympathische Nervenfasern.

Die Auswertung der Antikörper-gefärbten Gefäßpräparate erfolgte semiquantitativ an verblindeten Längsschnitten der Gefäße in 40-facher Vergrößerung. Es wurde ein Punktwert von 0 (keine Anfärbung) bis 5 (sehr starke Anfärbung) vergeben. Dabei wusste der Auswerter nicht, aus welcher Versuchsgruppe die Präparate stammten.

Abb. 4: Methodik bei der Bildanalyse der Nervenquerschnitte



2.5 Statistik

Die Anzahl der Nerven, welche nach Implantation in Arterie bzw. Vene wieder pulssynchrone Aktivität aufwiesen, wurden mittels Fishers exaktem Test verglichen. Die Anzahl myelinisierter Fasern sowie die Mediane der Axonflächen wurden mit dem Vorzeichentest verglichen ($p = 0,05$ signifikant).

3 Ergebnisse

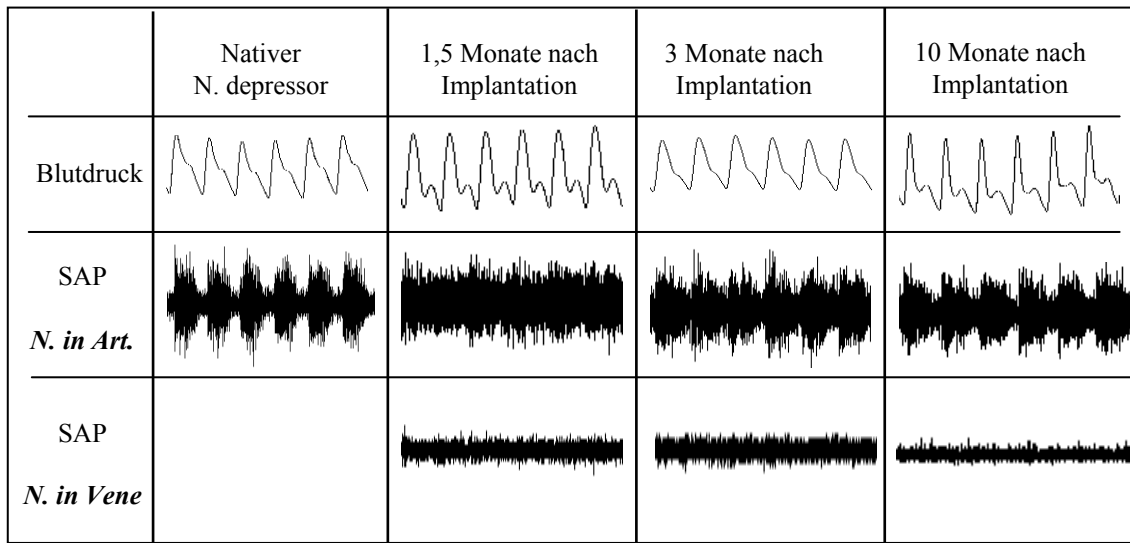
3.1 Versuche „Zeitreihen“

Nach 6 Wochen zeigten 4 der 6 in die A. carotis communis implantierten Nerven bei der Ableitung mittels einer bipolaren Elektrode wieder pulssynchrone Aktivität. Bei den 6 in die V. jugularis externa implantierten Nerven zeigte sich keinerlei Aktivität, weder spontan noch durch Druck oder Zug am Gefäß. Nach 3 Monaten konnte bei 4 von 6 in die A. carotis communis implantierten Nerven pulssynchrone Aktivität nachgewiesen werden. Bei den 6 in die Vene implantierten Nerven zeigte sich wiederum keine Aktivität. Nach 10 Monaten wiesen 4 von 6 in die Arterie eingenähten Nerven pulssynchrone Aktivität auf. Auch hier waren die 6 in die Vene implantierten Nerven ohne nachweisbare Aktivität (Tab. 1, Abb. 5). Insgesamt erlangten also 12 von 18 Nerven, die in Arterien implantiert wurden, wieder pulssynchrone Aktivität, hingegen keiner der in Venen implantierten Nerven ($p = 0,001$; Fishers exakter Test).

Tab. 1: Ergebnis der neurophysiologischen Untersuchung der Versuchsreihe „Zeitreihen“

Zeit	1,5 Monate	3 Monate	10 Monate
Nerv in Arterie	n = 6	n = 6	n = 6
Spontanaktivität	4 von 6	4 von 6	4 von 6
Aktivität auf Zug am Gefäß	4 von 6	4 von 6	4 von 6
Nerv in Vene	n = 6	n = 6	n = 6
Spontanaktivität	0 von 6	0 von 6	0 von 6
Aktivität auf Zug am Gefäß	0 von 6	0 von 6	0 von 6

Abb. 5: Exemplarische Blutdruckkurven und Summenaktionspotentiale (SAP) zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten

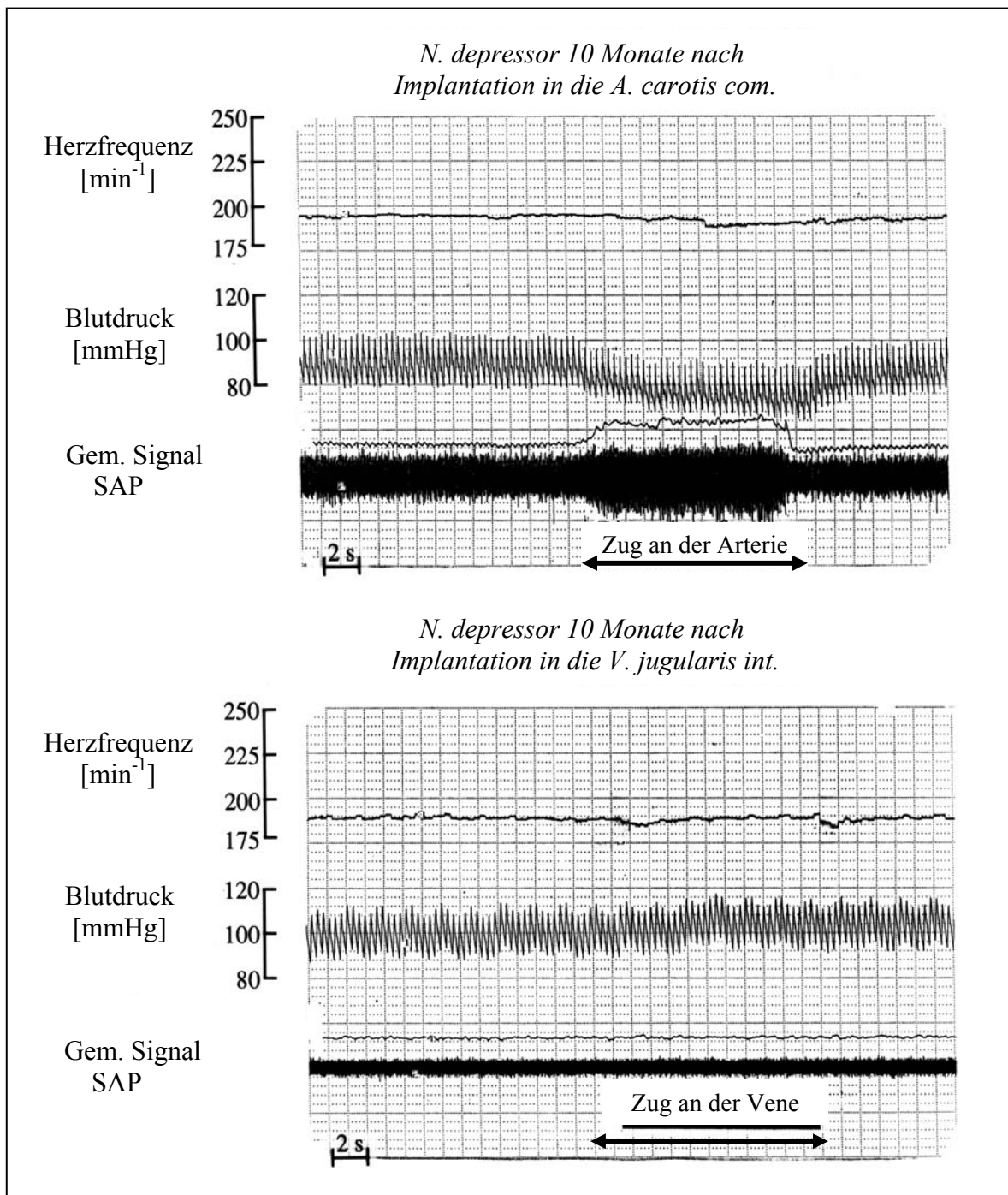


Bei Ableitung der in eine Arterie implantierten Nerven zeigt sich im Summenaktionspotential (SAP) pulssynchrone Aktivität, nicht aber bei den in eine Vene implantierten Nerven.

Bei zwei Versuchen nahmen die in eine Arterie implantierten Nerven wieder an der Blutdruckregulierung teil. Dies wurde überprüft, indem auf das jeweilige Gefäß ein Zug ausgeübt wurde. Bei Zug an der Arterie zeigte sich sowohl eine erhöhte Aktivität im Summenaktionspotential als auch ein blutdrucksenkender Effekt. Bei Zug an der kontralateralen Vene konnte das Phänomen nicht nachgewiesen werden (Abb. 6).

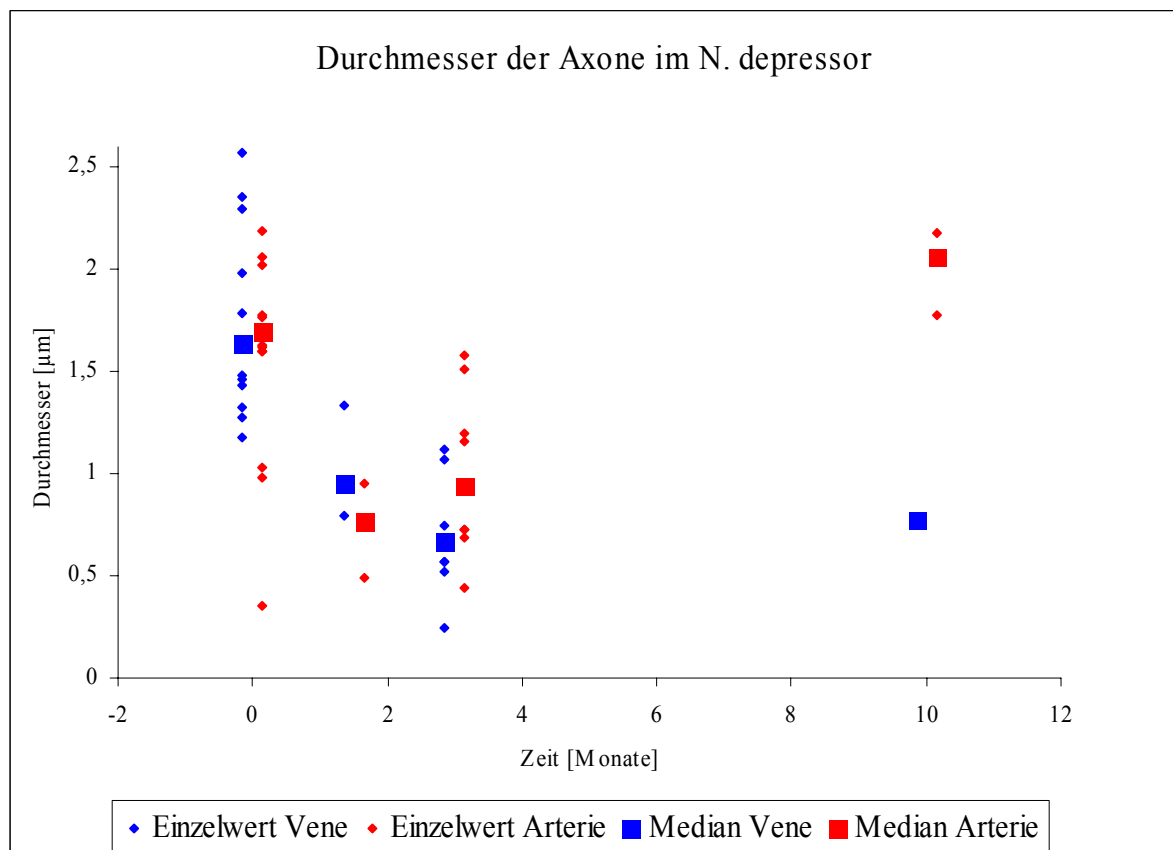
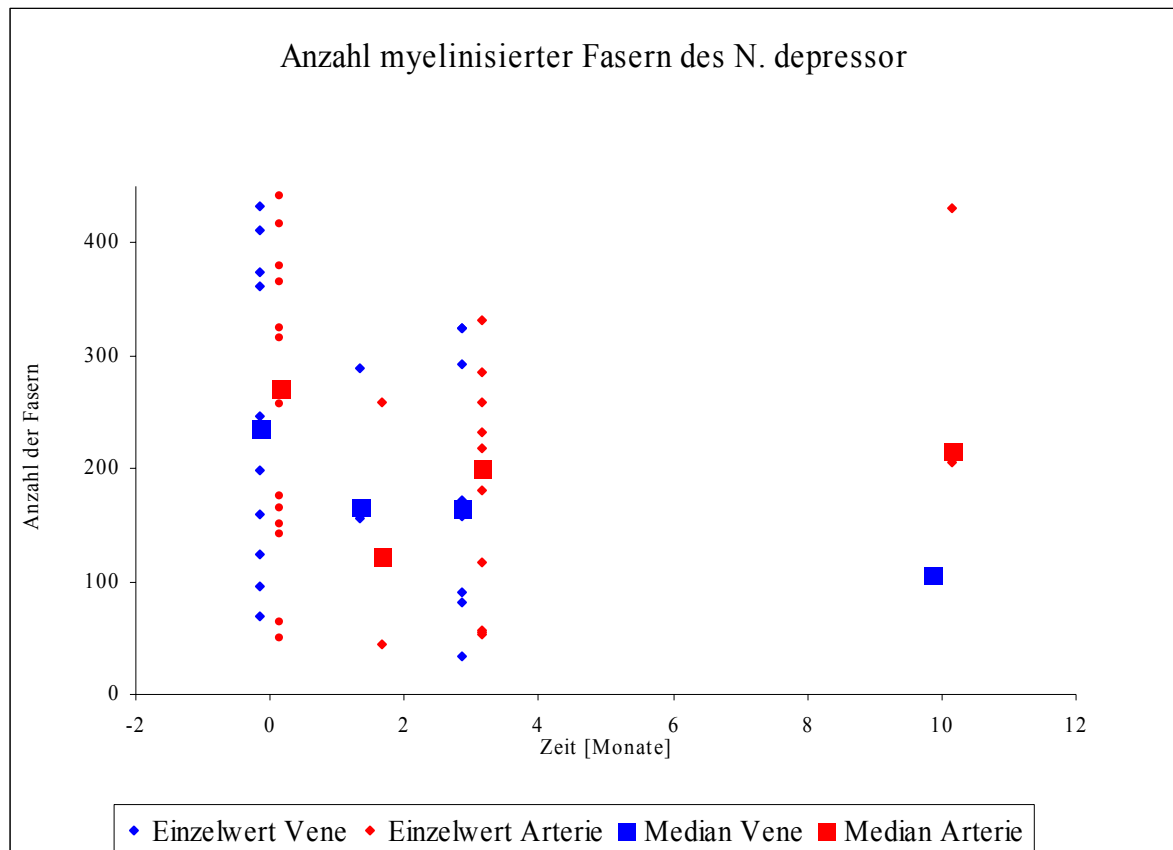
Die Nervenquerschnitte wiesen zunächst eine ausgeprägte interindividuelle Variabilität bezüglich der Anzahl der myelinisierten Nervenfasern in nativen und durchtrennten Nerven auf. Auch die intraindividuellen Seitenunterschiede waren größer als erwartet. Bei allen Nerven, die durchtrennt worden waren, wurde eine Abnahme der Anzahl der myelinisierten Fasern festgestellt, die jedoch bei Nerven, die in arterielle Gefäße eingenäht worden waren, geringer ausgeprägt war. Sowohl die Anzahl der myelinisierten Fasern, als auch der Durchmesser der Axone nahmen ab (Abb. 7).

Abb. 6: Darstellung von Herzfrequenz, Blutdruck und Summenaktionspotential / gemittelte Signal bei Zug an der Arterie bzw. der Vene, in welche der N. depressor implantiert war



Bei Zug an der Arterie zeigt sich ein blutdrucksenkender Effekt sowie eine Steigerung im Summenaktionspotential (SAP) bei der Ableitung des implantierten N. depressor. Bei Zug an der Vene treten diese Effekte nicht auf.

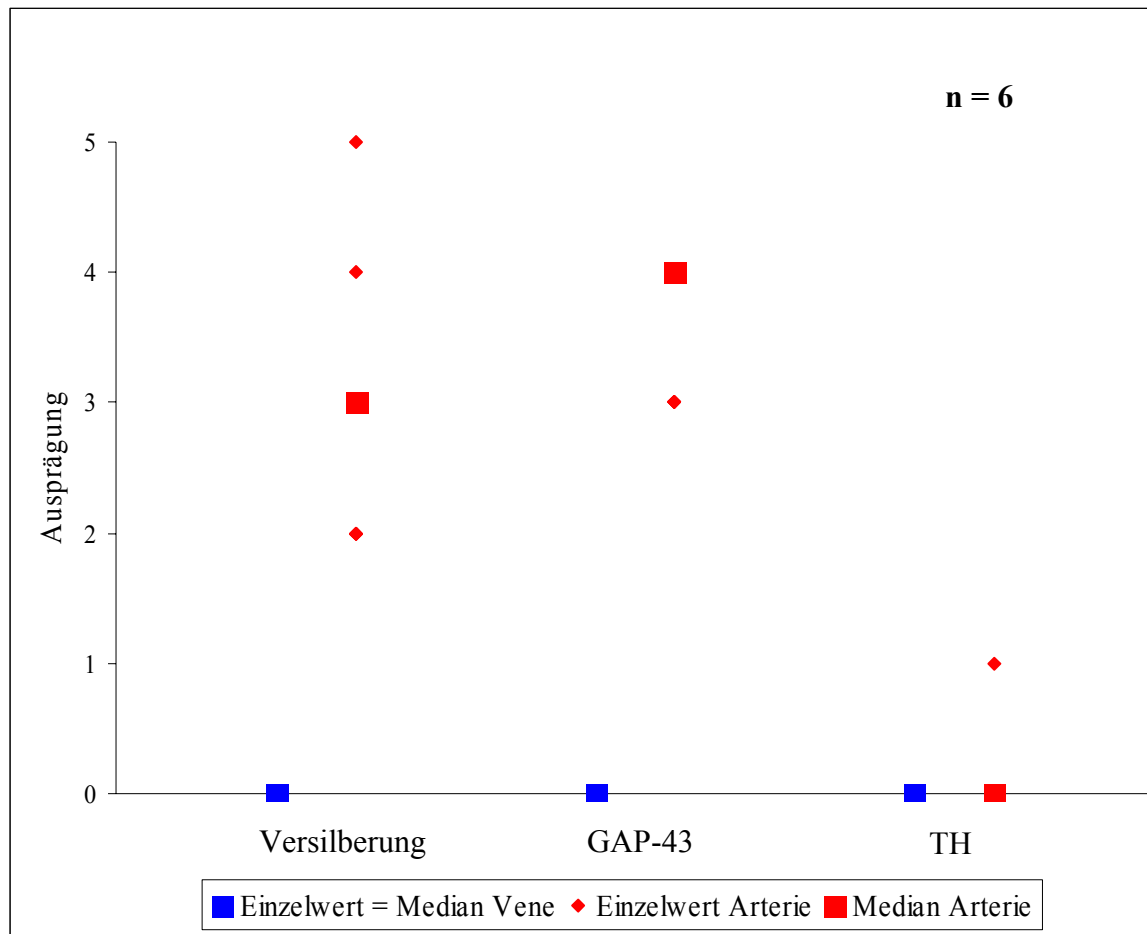
Abb. 7: Anzahl myelinisierter Fasern und Durchmesser der Axone beim nativen Nerven sowie nach Implantation in Arterie bzw. Vene nach 1,5, 3 und 10 Monaten (Einzelwerte und Mediane)



Die entnommenen Blutgefäße wurden der Versilberung und Immunhistologie zugeführt. Dabei konnten in den arteriellen Gefäßen, in die Depressornerven eingenäht worden waren, in der Adventitia bis hin zur Grenze zur Media eine große Zahl von Nervenfasern dargestellt werden. Sie liegen den bindegewebigen Elementen in der Adventitia eng an bzw. schlängeln sich um sie herum. In der Antikörper-Färbung mit GAP-43 zeigte sich ebenfalls eine große Anzahl neu gebildeter Nervenendigungen, besonders an der Adventitia/Media-Grenze. Jene Fasern ließen sich nicht mit Tyrosin-Hydroxylase als Marker für sympathische Fasern anfärben. In den venösen Gefäßen, in die der Nerv eingenäht wurde, ließen sich weder in der Versilberung noch in der Antikörperfärbung Nervenendigungen nachweisen. Lediglich in der direkten Umgebung von (arteriellen) Vasa vasorum wurden vereinzelt Nervenendigungen mit GAP-43 angefärbt (Abb. 10). GAP-43-Immunreaktion konnte somit nur in der Nähe von Arterien nachgewiesen werden.

Elektronenmikroskopische Aufnahmen der Arterienwand zeigen, dass die neu gebildeten Nervenendigungen in ihrer Morphologie dem Aussehen nativer Barorezeptoren entsprechen (Abb. 11). So zeigen sie einen geschlängelten Verlauf zwischen elastischen Fasern und zeichnen sich weiterhin durch zahlreiche Neurotubuli und Mitochondrienreichtum aus.

Abb. 8: Ergebnis der semiquantitativen Auswertung (Einzelwerte und Mediane)

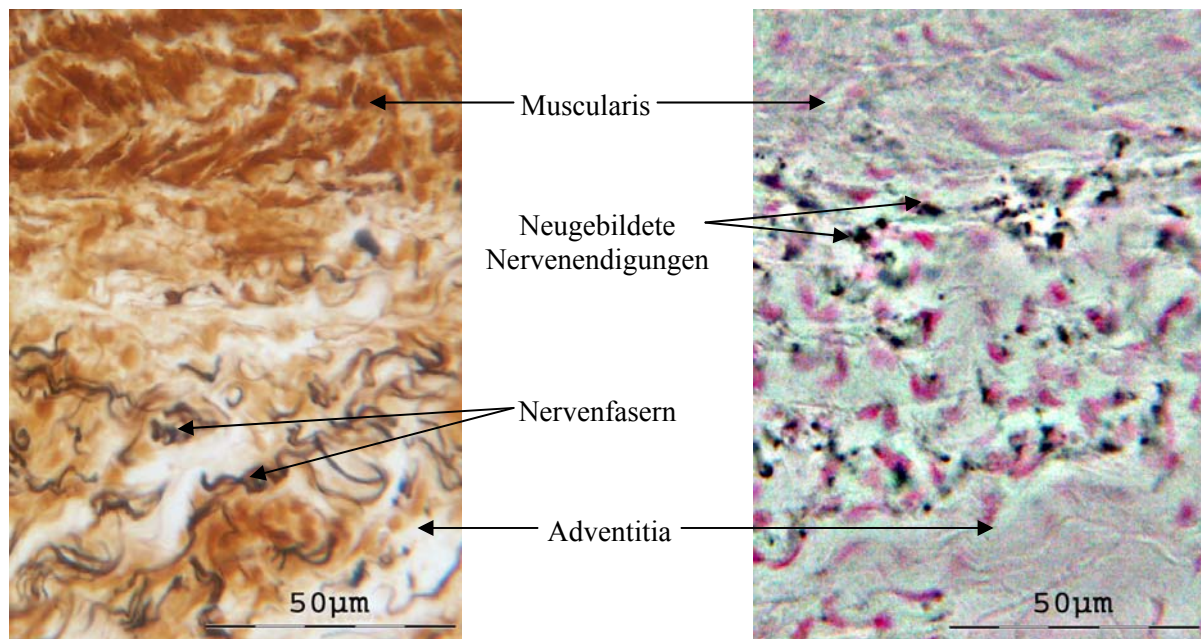


Ausprägung bei der semiquantitativen Auswertung; Versilberung und Antikörperfärbung mit GAP-43 zeigen viele Nervenendigungen in der Media /Adventitia der Arterien, nicht aber der Venen.

3.2 Versuche „Struktur / Funktion“

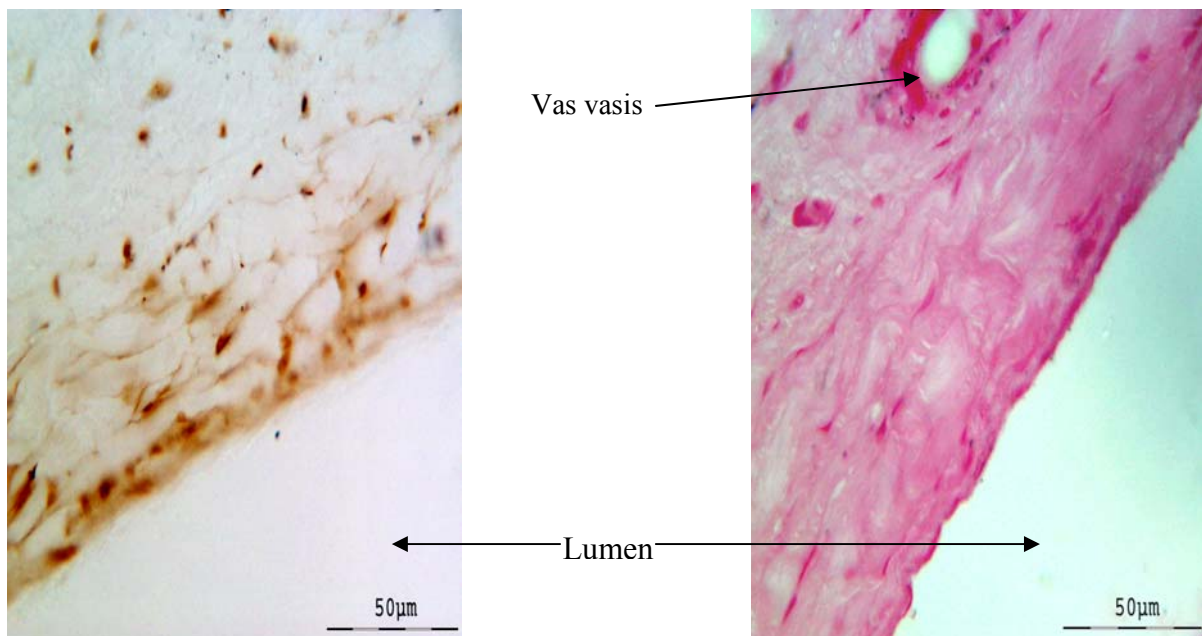
Von den 8 End-zu-End in eine Arterie anastomosierten Venen waren nach drei Monaten 5 thrombosiert. Diese 5 Nerven wiesen keinerlei pulssynchrone Aktivität auf. Von den 3 Depressornerven, die in die noch durchbluteten Anastomosen implantiert worden waren, zeigte einer wieder pulssynchrone Aktivität. 6 arterielle Interponate wurden in die V. jugularis anastomosiert. Hiervon waren nach drei Monaten 4 thrombosiert, 2 noch durchblutet. Von keinem der Nerven ließen sich pulssynchrone Potentiale ableiten. In der Adventitia der Transponate zeigten sich in der Versilberung und in der Antikörperfärbung zahlreiche Nervenendigungen, unabhängig davon, ob die Anastomosen vollständig thrombosiert oder noch durchblutet waren.

Abb. 9: *A. carotis communis*, 3 Monate nach Implantation



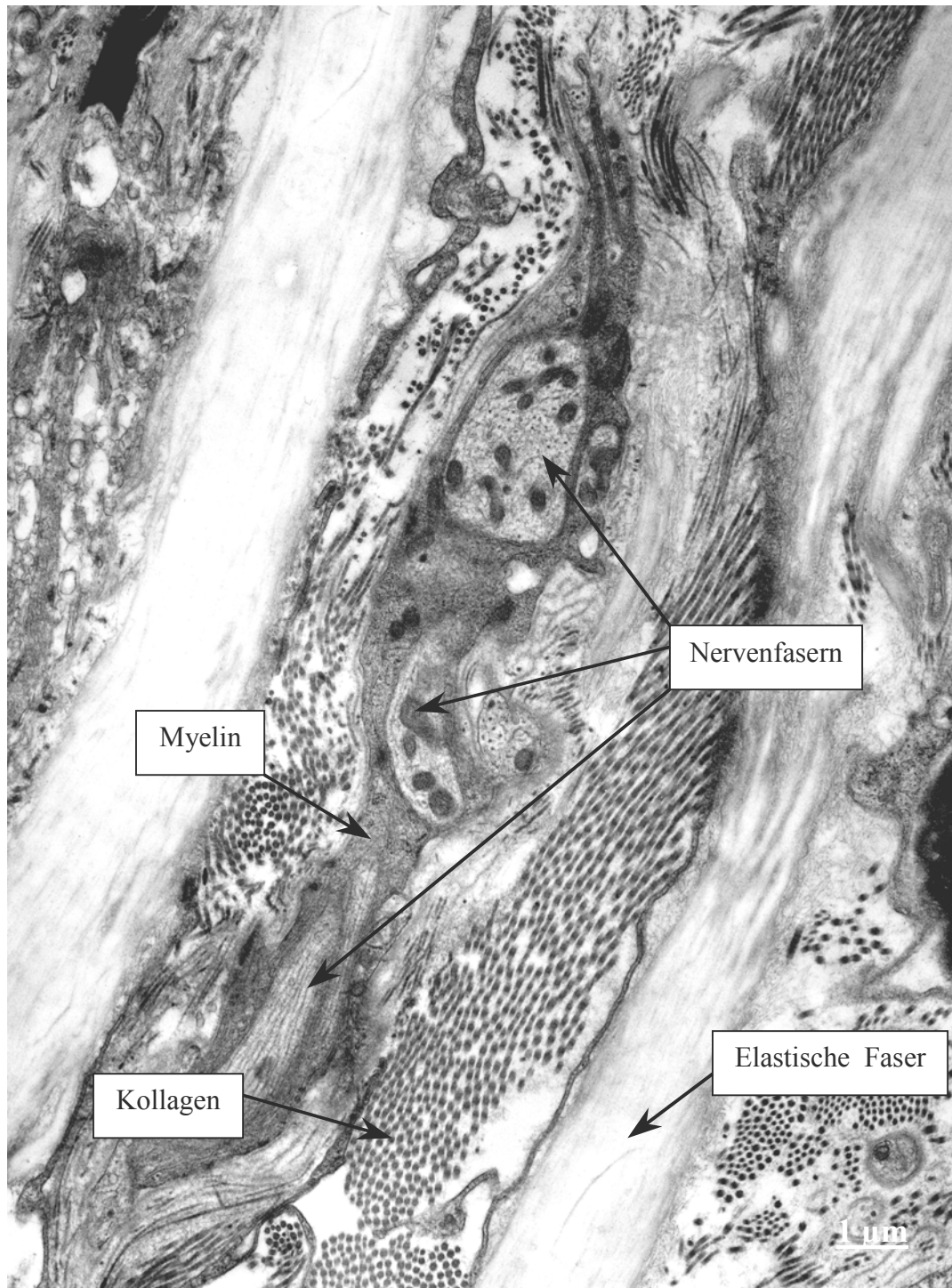
Links die Versilberung, rechts die Antikörperfärbung mit GAP-43 der Arterienwand; zahlreiche Nervenendigungen (Pfeile) in der Adventitia, bis hin zur Grenze der Media

Abb. 10: *V. jugularis externa*, 3 Monate nach Implantation



Links Versilberung, rechts Färbung mit GAP-43-Antikörpern; keine Nervenendigungen nachweisbar – lediglich im Bereich eines (arteriellen) Vas vasis diskrete Anfärbung mit GAP-43 Antikörpern

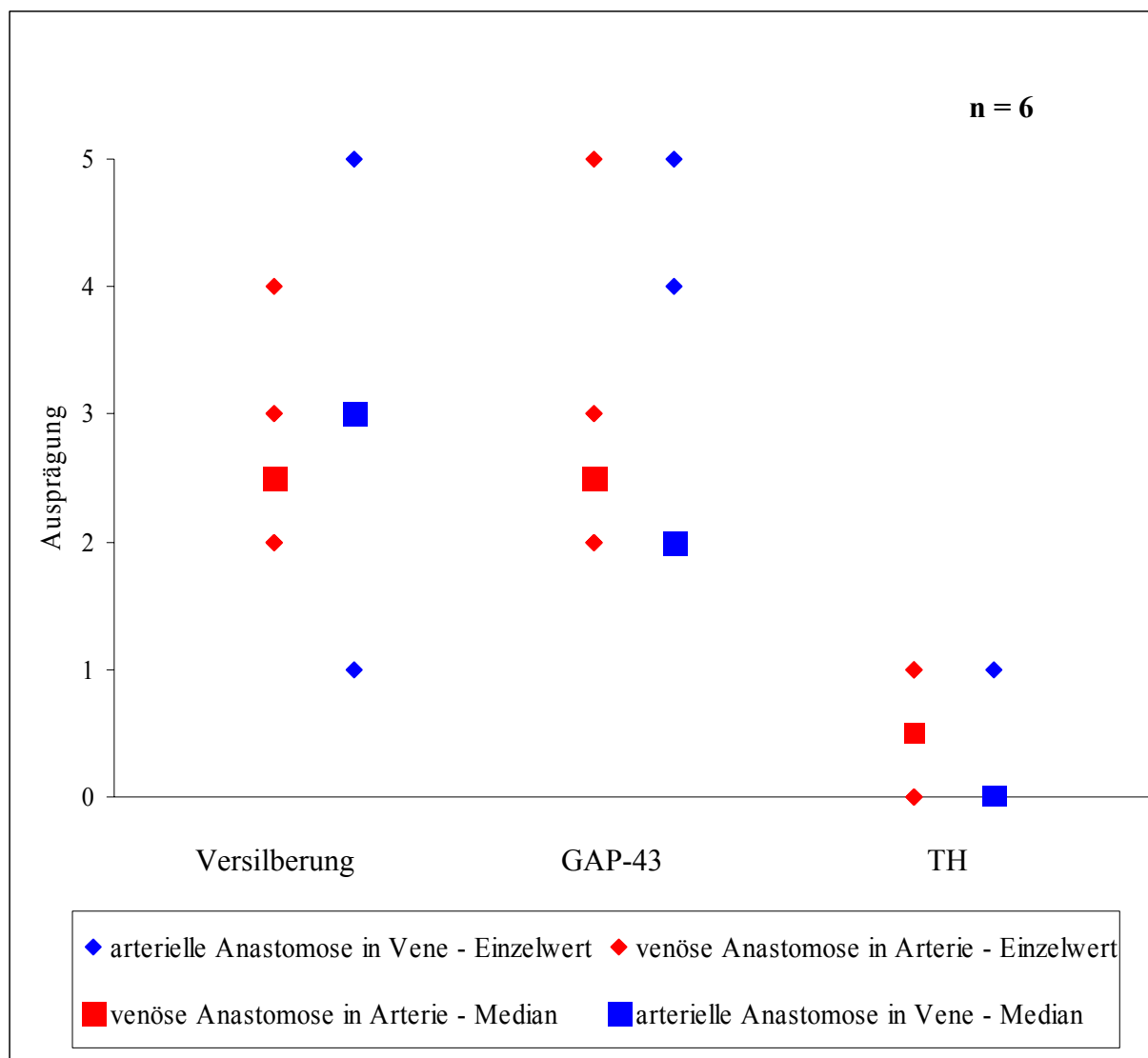
Abb. 11: Elektronenmikroskopische Aufnahme der *A. carotis communis*, 3 Monate nach Implantation



Man sieht über das Bild hinweg eine Nervenfaser mit dem für sensible Nervenfasern typischen neurofilamentreichen Stroma mit zahlreichen Organellen und Mitochondrien. Die Nervenfaser zieht um die elastischen Elemente und kollagenen Fasern herum; weiter in der Peripherie verlieren die Fasern ihre Myelinisierung. Die verästelte Morphologie dieser afferenten, neu gebildeten Nervenendigung entspricht dem Aussehen nativer Barorezeptoren. [Krauh, 1979; Knoche, 1977]

Dies ließ sich sowohl bei den arteriellen Anastomosen im venösen System als auch bei den venösen Transplantaten in der A. carotis nachweisen. In einigen Fällen wurde beobachtet, dass Nervenfasern von ihrer Implantationsstelle in einer venösen Anastomose seitlich entlang des Gefäßinterponats hin zur Arterie zogen. Ebenso wurde in einigen Fällen im Bereich um die thrombosierte Anastomosen eine ausgeprägte Vaskularisation gefunden. In der semiquantitativen Auswertung war die Anzahl der Nervenfasern in der Adventitia der Transponate zwar niedriger als die Anzahl der Fasern in der Adventitia der Arterien, in die ein Depressornerv implantiert worden war, jedoch eindeutig höher als in der Adventitia der venösen Gefäße (Abb. 12).

Abb. 12: Ergebnis der semiquantitativen Auswertung (Einzelwerte und Mediane)



3.3 Versuche „Reversibilität“

Nach 3 Monaten zeigte sich bei 5 von 6 in die Arterie implantierten Nerven pulssynchrone Aktivität. Dieselben Nerven, auf der ipsilateralen Seite in die Vene implantiert, zeigten nach weiteren 3 Monaten keine Aktivität mehr. Keiner der 7 primär in die Vene eingenähten Nerven wies pulssynchrone Aktivität auf. Bei denselben, auf der ipsilateralen Seite in die Arterie verpflanzten Nerven konnte nach 3 weiteren Monaten in 5 Fällen wieder pulssynchrone Aktivität nachgewiesen werden (Tab. 2).

Tab. 2: Ergebnis der neurophysiologischen Untersuchung der Versuchsreihe „Reversibilität“

Zeit	3 Monate		6 Monate
Nerv in Arterie	n = 6	⇒ Nerv in Vene	n = 6
Spontanaktivität	5 von 6		0 von 6
Aktivität auf Zug am Gefäß	5 von 6		0 von 6
Nerv in Vene	n = 7	⇒ Nerv in Arterie	n = 7
Spontanaktivität	0 von 7		5 von 7
Aktivität auf Zug am Gefäß	0 von 7		5 von 7

Die Nervenquerschnitte wiesen erneut eine ausgeprägte interindividuelle Variabilität der nativen Depressornerven auf. Zusätzlich konnte eine Korrelation der elektrophysiologischen Daten mit dem Ergebnis der Histologie beobachtet werden:

Bei Implantation des N. depressor in eine Arterie zeigt sich nur eine geringe Änderung des Faserspektrums. Nach Implantation desselben Nerven in eine Vene 3 Monate später hingegen ist eine deutliche Demyelinisierung festzustellen (Abb. 13). Wurde der Nerv zunächst in eine Vene implantiert, degenerierte er, bildete jedoch nach Implantation in eine Arterie wieder neue myelinisierte Fasern aus (Abb. 14).

Die Anzahl der myelinisierten Fasern nahm ab, wenn der Nerv zunächst in eine Arterie implantiert wurde. Diese Degeneration nahm noch zu, wenn der Nerv anschließend in eine Vene implantiert wurde. Wurde der Nerv jedoch zuerst in eine Vene implantiert, erreichte die Degeneration nach 3 Monaten ein Maximum. Nach erneuter Implantation in eine Arterie bildeten sich in 7 von 7 Fällen neue markhaltige Fasern.

Abb. 13: Korrelation der elektrophysiologischen Daten mit dem Ergebnis der Histologie;
Implantation des N. depressor zunächst in eine Arterie, nach 3 Monaten Implantation
des gleichen Nerven in die ipsilaterale Vene

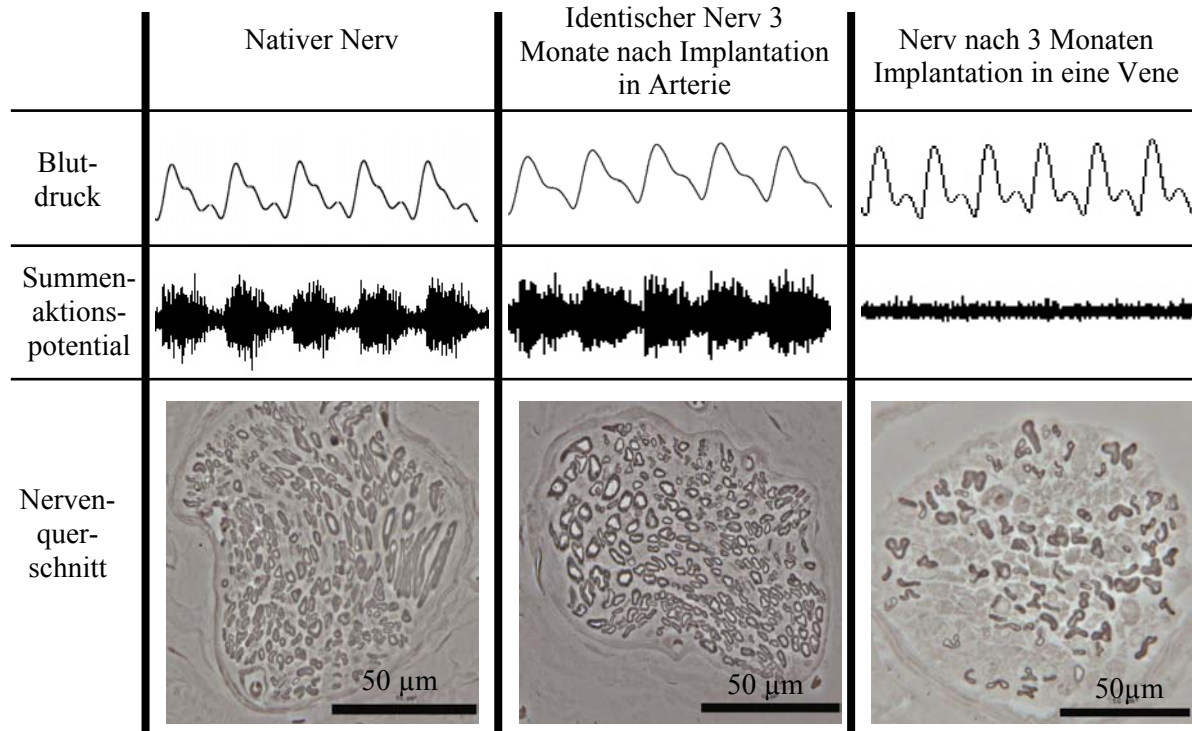
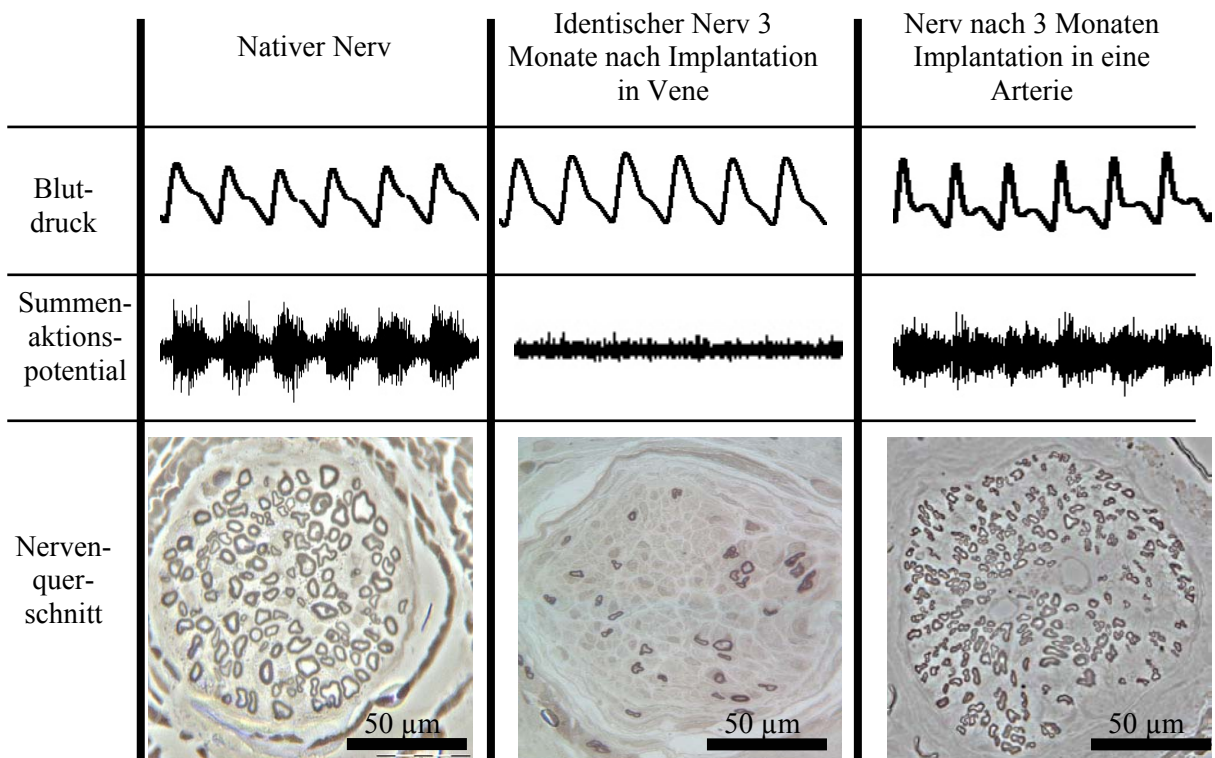
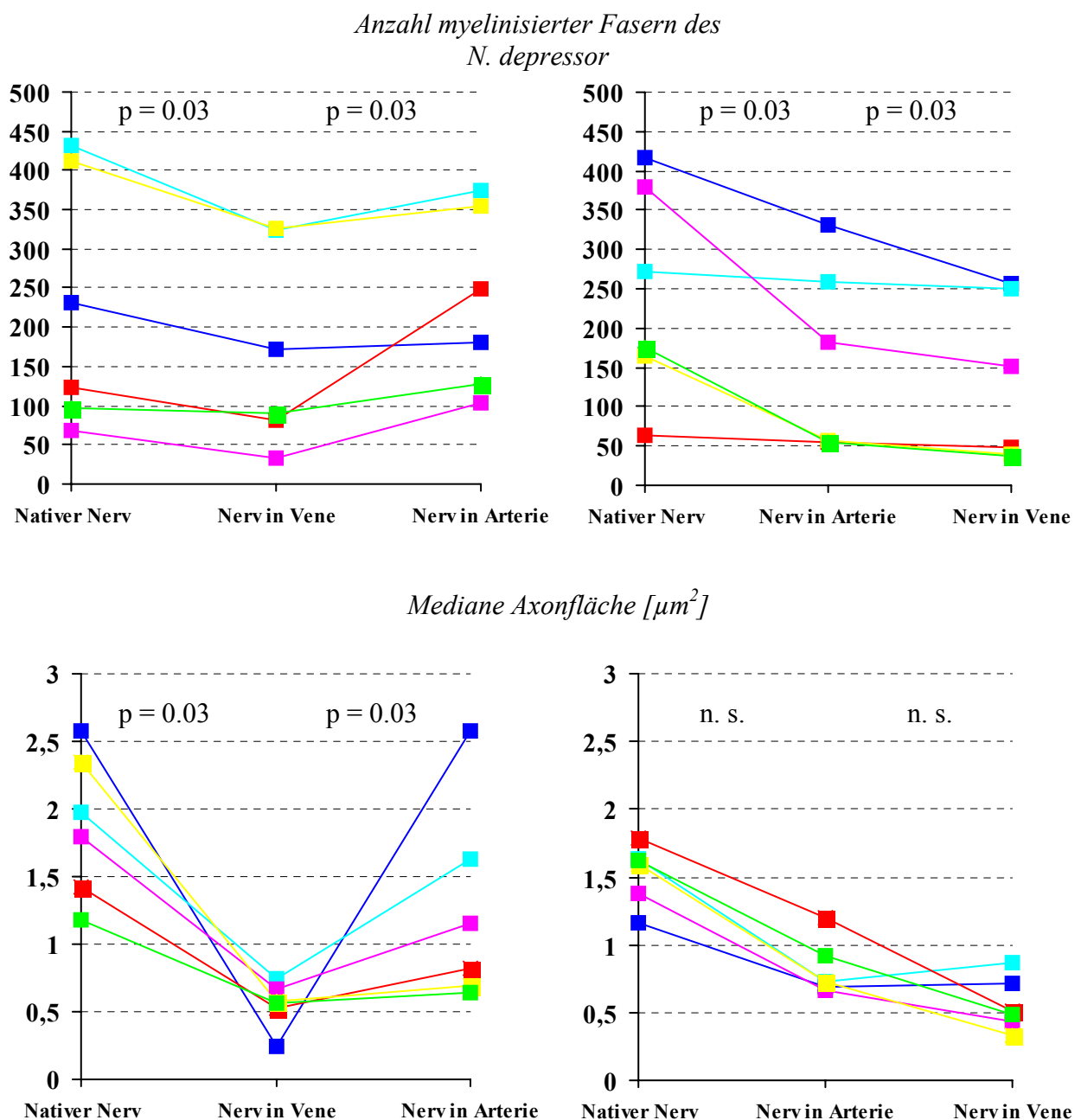


Abb. 14: Korrelation der elektrophysiologischen Daten mit dem Ergebnis der Histologie;
Implantation des N. depressor zunächst in eine Vene, nach 3 Monaten Implantation
des gleichen Nerven in die ipsilaterale Arterie



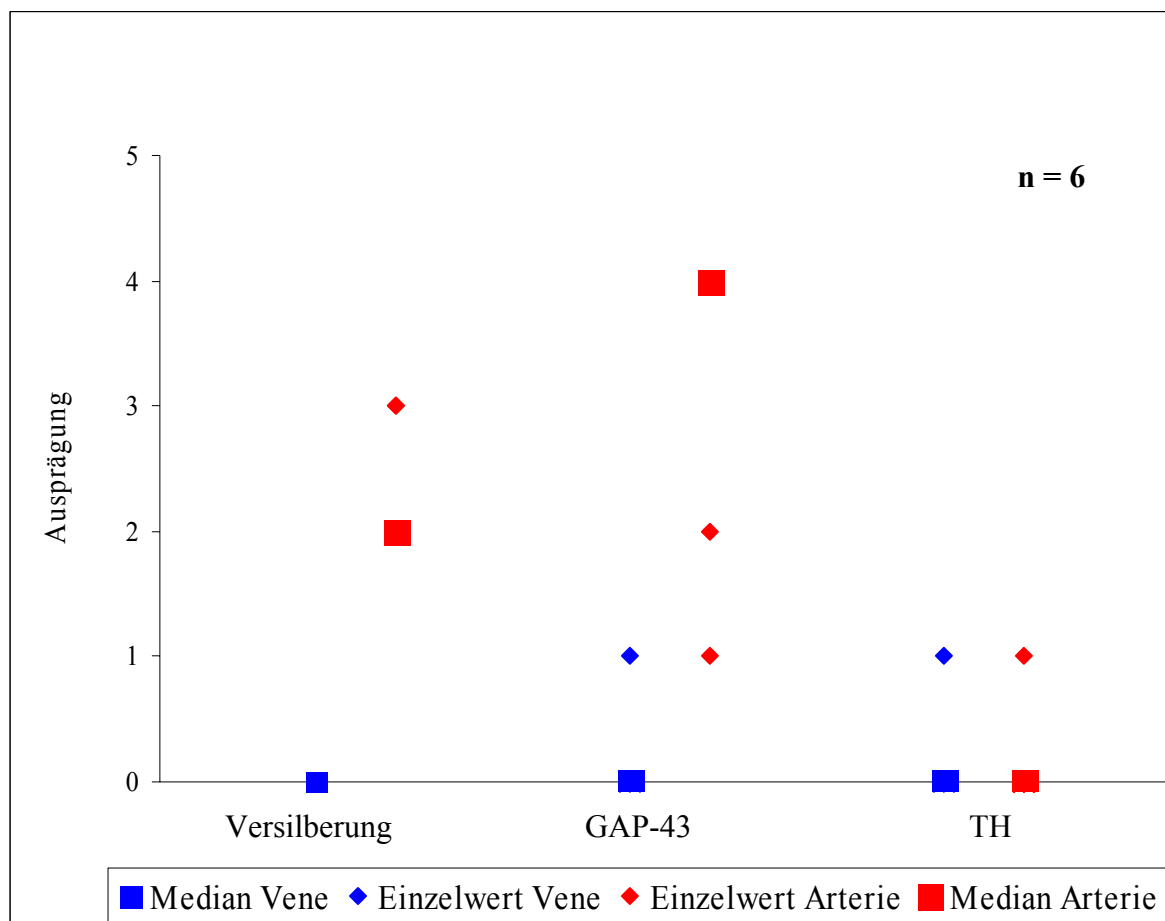
Ähnliches ergab die Morphometrie der Axonflächen: Die Fläche der Axone nahm nach einer Durchtrennung ebenfalls ab, sowohl bei Implantation in eine Arterie also auch bei Implantation in eine Vene, wobei die Abnahme bei Implantation in eine Vene größer war. Wurde der durchtrennte Nerv jedoch zuerst in eine Vene und anschließend in eine Arterie implantiert, so nahm die Fläche der Axone wieder zu (Abb. 15).

Abb. 15: Anzahl myelinisierter Fasern und Fläche der Axone beim nativen Nerven sowie nach Implantation in Arterie bzw. Vene



Die semiquantitative Auswertung der versilberten bzw. mit Antikörper gefärbten Gefäßpräparate ergab ein der Versuchsreihe „Zeitreihen“ ähnliches Bild: In der Adventitia und Media der Arterien, in die der Depressornerv eingenäht worden war, konnten viele Nervenfasern nachgewiesen werden. Bei den Venen war dies nicht der Fall (Abb. 16).

Abb. 16: Ergebnis der semiquantitativen Auswertung (Einzelwerte und Mediane)



4 Diskussion

Um den Einfluss des Zielgewebes auf die Regeneration afferenter Nerven zu untersuchen, wurde aus mehreren Gründen der Depressornerv ausgewählt:

1. Der Depressornerv ist ein paarig angelegter Nerv und erlaubt somit intraindividuelle Kontrollen.
2. Die Durchtrennung des N. depressor ist nicht assoziiert mit Behinderungen für die Tiere, insbesondere treten keine Schmerzen auf. Auch führt die Durchtrennung von ein oder zwei der vier baroafferenten Nerven nicht zu Langzeitveränderungen bzgl. der Kreislaufregulation [Cowley et al., 1973].
3. Der Depressornerv enthält ausschließlich afferente Fasern, welche baro- oder chemosensibel sind. Das homogene Faserspektrum des Nerven – er besteht überwiegend aus A δ - und C-Fasern – bietet einen Vorteil gegenüber gemischten peripheren Nerven. Darüber hinaus besteht der Depressornerv bei Kaninchen hauptsächlich aus baroafferenten Fasern [Rees, 1967; Fidone 1969; Aumonier, 1972].

Aus methodischen Gründen ist also der N. depressor ideal, um die Regeneration von myelinisierten Nervenfasern im peripheren Nervensystem zu untersuchen. Das Summenaktionspotential des Nerven spiegelt fast ausschließlich die Aktivität der Baroafferenzen vom A δ -Typ wider, da deren Spikes eine wesentlich höhere Amplitude und Frequenz als jene der C-Fasern aufweisen. C-Fasern sind jedoch für die genannten Fragestellungen vernachlässigbar, da sie gegenüber A-Fasern eine deutlich höhere Erregungsschwelle und bei konstantem Druck nur einen geringen tonischen Einfluss auf das vasomotorische Zentrum aufweisen [Thoren, 1977; Thoren, 1999].

Ein Nachteil der Versuche an Nerven des vegetativen Systems ist die möglicherweise eingeschränkte Übertragbarkeit der Ergebnisse auf das somatische Nervensystem, welches klinisch von größerem Interesse hinsichtlich der Regeneration peripherer Nerven sein mag. Es war jedoch Ziel der Untersuchung, die grundsätzlichen Mechanismen der Nervenregeneration zu beobachten, bevor Rückschlüsse auf klinisch orientierte Fragen gezogen werden.

Sowohl am nativen als auch am implantierten Nerven waren nur in einer Minderzahl der Fälle Reflexe auszulösen. Dies könnte an der Art der Narkoseführung als Barbiturat-Mononarkose ohne Relaxierung gelegen haben, denn Barbiturate dämpfen die Kreislaufreflexe [Watkins et Maixner, 1991]. Es war jedoch nicht das Hauptziel der Studie, die Regeneration von Baroreflexen zu untersuchen. Daher wurde die durch Manipulation am Nerven potentiell gewebeschädigende Untersuchung verlassen, nachdem festgestellt wurde, dass nur sporadisch systemische Reaktionen durch baroafferente Stimulation auslösbar waren. Es bleibt jedoch

festzuhalten, dass Nervenendigungen, welche in Arterien implantiert wurden, wieder an der Kreislaufregulation teilnehmen können. Dies konnte bisher in keiner Untersuchung an afferenten autonomen Nerven gezeigt werden [Mitchell, 1972; Kieneker, 1978; Ponte 1989; Arndt, 1981].

Die histomorphologischen Untersuchungen der Nervenendigungen wurden mittels vier verschiedener Techniken durchgeführt: Versilberung, GAP-43-Antikörper, TH-Antikörper, Elektronenmikroskopie. Die Versilberung als Färbetechnik dient als panneuronaler Marker und wurde vor allem entwickelt, um Nervenendigungen des peripheren und zentralen Nervensystems zu identifizieren [Novotny, 1988; Novotny, 1998]. Anhand versilberter Präparate kann jedoch weder zwischen efferenten und afferenten, noch zwischen älteren und neu gebildeten Nervenfasern unterschieden werden. Aus diesem Grund wurden zusätzlich immunhistochemische Färbungen durchgeführt; zum einen TH-Ak, um sympathische (efferente) Innervation auszuschließen – wie erwartet färbten sich die Arterien nur diskret, und die Venen gar nicht mit TH-Ak an; zum anderen GAP-43-Ak, welches einen Marker für axonale Aussprossungen im zentralen und peripheren Nervensystem darstellt [Fu, 1997; Ide, 1996; Koeberle, 2004]. Obwohl die Spezifität von GAP-43-Ak als Marker für axonale Aussprossungen nicht unumstritten ist, beweist doch die hier gezeigte Selektivität von GAP-43, dass Arterien, nicht aber Venen die Generation von Baroafferenzen induzieren können.

Möglicherweise wäre es von Vorteil gewesen, die Struktur und Ultrastruktur der Gefäßwände und der Nervenendigungen anhand des gleichen Präparates zu untersuchen – dies ist jedoch aus methodischen Gründen nicht möglich, da hierfür unterschiedliche Techniken bezüglich Fixierung und Färbung zur Anwendung kommen. Daher wurde nur in wenigen Fällen die Ultrastruktur untersucht. Die Ergebnisse der Lichtmikroskopie ähnelten stark jenen der Immunhistochemie. Die stichprobenartige ultrastrukturelle Analyse unterstreicht die Ergebnisse der Immunhistochemie der Nervenendigungen in den verschiedenen Blutgefäßen. Keine solcher Endigungen wurde in den Venen gefunden, auch nicht in direkter Nachbarschaft zum implantierten Depressornerven. Die Endigungen in der Wand der Arterien hingegen ähnelten jenen nativer Barorezeptoren [Knoche, 1964; Arndt, 1991]. Somit konnte erstmalig gezeigt werden, dass Arterien – nicht aber Venen – die de-novo Synthese von Barorezeptoren induzieren können. Diese Rezeptoren sind funktionstüchtig und nehmen an der Kreislaufregulation teil.

Bei den morphometrischen Untersuchungen kam ein Algorithmus zur Anwendung, welcher jenen anderer Arbeiten ähnelt [Romero, 2000; Vita, 1992]. Der Algorithmus basiert auf kommerziell zu erwerbender Software und ist daher eher simpel und robust gegenüber

Software-Artefakten. Analog zu anderen Untersuchungen zeigte sich, dass die Auszählung von Nervenfasern per Hand anfälliger für Fehler ist [Romero, 2000; Vita 1992]. Die große inter- und intraindividuelle Variabilität der Faserzahl nativer Nerven (zwischen 69 und 574) verhinderte ein deutliches Ergebnis bei der Anzahl der Tiere. Auch von anderen Autoren [Evans, 1954] wurde beschrieben, dass die Faserzahl autonomer Nerven (N. vagus) bei Kaninchen um den Faktor sieben variieren kann. Daher ist es nicht verwunderlich, dass die morphometrische Untersuchung nur bei Paarvergleichen zu signifikanten Ergebnissen führte, wie in der Reversibilitätsreihe.

Die erste baroafferente Aktivität konnte bereits nach sechs Wochen beobachtet werden, wobei die elektrische Aktivität nach zehn Monaten stärker ausgeprägt war. Diese Beobachtung geht einher mit dem zunehmenden Grad der Myelinisierung im Zeitverlauf, welche bei in Arterien implantierten Nerven gesehen wurde. Im Gegensatz dazu gab es einen Trend zu fortschreitender Demyelinisierung bei Nerven, die in venöse Gefäße eingenäht waren.

Möglicherweise produzieren Venen einen Faktor, der die Aussprossung von Nerven und die Formierung von Neuomen inhibiert, wie es bei somatischen Nerven der Fall ist [Koch, 2003; Low, 1999], und ebenso zur Demyelinisierung der betroffenen Nerven führt. Die regenerative Kapazität der Arterien im Gegensatz zu den Venen könnte im höheren Sauerstoff- bzw. Nährstoffgehalt des arteriellen Systems begründet sein. Die erfolgreiche Behandlung schmerzhafter Neurome durch Implantation der Nerven in venöse Gefäße auch an den Akren widerspricht allerdings dieser These, da dort aufgrund arteriovenöser Shunts der Sauerstoff- und Nährstoffgehalt dem von Arterien gleicht. Die Ursache für den neurodegenerativen Impetus der Venen liegt demnach nicht im Sauerstoffgehalt. Ein weiterer, der Induktion axonaler Aussprossung zu Grunde liegender Mechanismus ist möglicherweise die Pulsatilität arterieller Gefäße. Diese Hypothese steht jedoch im Gegensatz zu den Untersuchungen bei neurovaskulären Kompressionssyndromen wie der Trigeminusneuralgie: pulsatiler neurovaskulärer Kontakt führt hier zu fokalen Demyelinisierungsprozessen [Love, 2001]. Bisher unbekannte trophische Faktoren innerhalb der Gefäßwand könnten ebenso für die De- oder Regeneration von Nervenfasern verantwortlich sein. Diese Faktoren könnten zu de-novo Synthese von Barorezeptoren in Arterien und zur Inhibierung neuronaler Aussprossung in Venen führen.

Welcher Mechanismus auch immer für die Regeneration von Nervenendigungen und myelinisierten Fasern in Arterien sowie die Degeneration von in Venen implantierten Nerven verantwortlich ist – er ist prinzipiell reversibel.

Es gibt drei denkbare Mechanismen, durch die solche „neuen“ myelinisierten Fasern zustande kommen könnten:

1. Aus den Nervenzellen des Ganglion jugulare sprossen neue Nervenfasern entlang des Nerven aus, welche später myelinisieren. Es scheint jedoch sehr unwahrscheinlich, dass der periphere Stimulus am Endorgan Veränderungen am Ganglion induziert.
2. Nervenfasern des Implantationsortes in der Arterienwand sprossen retrograd entlang des Nerven aus und werden später myelinisiert. Ein solcher Mechanismus wurde bei der Ausbildung peripherer Neurome beobachtet [Vernadakis, 2003] und könnte die morphologischen Veränderungen erklären. Die Wiederkehr baroafferenter Funktion kann jedoch nicht durch retrogrades Faserwachstum erklärt werden.
3. Primär oder sekundär demyelinisierte Fasern remyelinisieren infolge eines adäquaten Stimulus oder Faktors, welche vom Endorgan induziert bzw. sezerniert wird. Dies ist die wahrscheinlichste Erklärung für das beobachtete Phänomen. Leider war es nicht möglich zu entscheiden, ob diese remyelinisierten Fasern primär oder sekundärer demyelinisiert waren. Wie dem auch sei – dieses Phänomen zeigt, dass auch adulte C-Fasern die Fähigkeit besitzen, Myelinscheiden auszubilden. Dementsprechend stellen sie möglicherweise ein potentielles Reservesystem des peripheren Nervensystem dar.

Irreversibler Schaden peripherer Nerven tritt nach etwa ein Jahr auf [Vernadakis, 2003]. Daher liegen die Ergebnisse in dem Zeitrahmen in welchem Veränderungen der Nervenregeneration induziert werden können.

Die Frage, ob Struktur oder Funktion des Implantationsortes für die beobachteten Phänomene verantwortlich sind, kann anhand der Untersuchung nicht abschließend geklärt werden. Die Tatsache, dass in einem Fall der Depressornerv, der in ein Veneninterponat in einer Arterie implantiert worden war, wieder pulssynchrone Aktivität aufwies bietet jedoch einen Hinweis, dass die Funktion des Implantationsortes (in dem Fall Hochdrucksystem) die entscheidende Rolle spielen könnte.

Baroafferenzen haben also die Fähigkeit, nach Durchtrennung und Implantation in Arterien neue Barorezeptoren auszubilden. Die physiologische Myelinisierung und Fasergröße kann im Zeitverlauf wieder hergestellt werden, wohingegen Venen das Aussprossen von Nervenfasern und die Regeneration verletzter Nervenfasern zu verhindern scheinen. Dieser Prozess ist reversibel, was zeigt, dass unmyelinisierte C-Fasern bei Bedarf myelinisiert werden und somit als ein potentielles Reservesystem des peripheren Nervensystems dienen können.

5 Zusammenfassung

Die Reaktion eines peripheren Nerven auf Durchtrennung seines Axons hängt von vielen Faktoren ab. In der vorliegenden Untersuchung wurde der Einfluss des Zielgewebes auf die Regeneration afferenter peripherer Nerven untersucht. Die Hypothese, dass in adäquates Zielgewebe implantierte Nerven ihre Funktion wieder aufnehmen, wohingegen sie degenerieren, wenn sie in anderes Gewebe implantiert werden, wurde untersucht. Zu diesem Zweck wurde der Depressornerv bei Kaninchen durchtrennt und in die A. carotis communis bzw. V. jugularis externa implantiert. Sowohl Struktur als auch Funktion der Nerven wurden nach 1,5, drei bzw. zehn Monaten untersucht. In einer Versuchsgruppe wurden die Nerven ein zweites Mal durchtrennt und in das jeweils andere Gefäß implantiert, um die Reversibilität der Vorgänge zu untersuchen.

Zwölf von achtzehn Nerven, welche nach Durchtrennung in Arterien implantiert worden waren, erlangten wieder ihre typische neurophysiologische Aktivität, jedoch keiner der in Venen implantierten Nerven. In zwei Fällen konnten sogar Baroreflexe über die neu ausgebildeten Nervenendigungen ausgelöst werden. Die Struktur der Nervenendigungen in den Arterien ähnelt der nativer Barorezeptoren, wohingegen in den Venen kein Faserwachstum beobachtet wurde. Morphometrische Untersuchungen ergaben, dass die Faseranzahl sowie der Faserdurchmesser innerhalb des beobachteten Zeitraums zunahm, wenn die Nerven in Arterien implantiert wurden. Nerven, die zunächst in Venen implantiert wurden, nach drei Monaten erneut durchtrennt und dann in Arterien implantiert wurden, erlangten ebenfalls wieder ihrer neurophysiologische Aktivität. Wiederum wurden neue Barorezeptoren gebildet und Faseranzahl sowie Faserdurchmesser nahmen signifikant zu.

Verletzte baroafferente Nervenfasern können also neue Barorezeptoren regenerieren und normale Myelinisierung und Fasergröße wiedererlangen, wenn sie in Arterien implantiert werden. Venen hingegen inhibieren das Aussprossen von Nervenfasern und die Regeneration durchtrennter Nervenfasern. Diese Prozesse sind reversibel – unmyelinisierte Fasern können also bei Bedarf myelinisiert werden und demnach als potentielle Reserve des peripheren Nervensystems dienen.

6 Literaturverzeichnis

- Arndt JO, Krossa M, Samodelov LF: Regeneration of barosensitivity in the aortic nerve of cats when severed and transposed on various vessels in the neck. *Journal of Physiology (Lond.)* 311: 453-61, 1981
- Arndt JO: Baroreceptors: Morphology and mechanics of receptor zones and discharge properties of baroafferents, *Reflex Control of Circulation*. Edited by Zucker IH, Gilmore JP. Boston, CRC Press, pp 103-38, 1991
- Benowitz LI, Routtenberg A: GAP-43: an intrinsic determinant of neuronal development and plasticity. *Trends in Neurosciences*. 20(2): 84-91, 1997
- Burnett MG, Zager EL: Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurgical Focus*. 16(5):E1, 2004
- Cowley AW, Liard JF, Guyton AC: Role of baroreceptor reflex in daily control of arterial blood pressure and other variables in dogs. *Circulation Research* 32(5): 564 – 76, 1973
- Cyon E, Ludwig C: Die Reflexe eines der sensiblen Nerven des Herzen auf die motorischen Blutgefäße. *Ber Saechs Ges Akad Wissenschaften*. 18: 307-329, 1866
- Evans DHL, Murray JG: Histological and functional studies on the fibre composition of the vagus nerve of the rabbit. *Journal of Anatomy*. 88: 320-334, 1954
- Fu SY, Gordon T: The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Molecular Neurobiology* 14: 67-116, 1997
- Heymans C, Neil E: Methods of study of baroreceptors and chemoreceptor reflex. Pp. 26-33 in *Reflexogenic areas of the cardiovascular system*. Boston, J. &A. Churchill Ltd., 1958
- Hohn A, Leibrock J, Bailey K, Barde Y-A: Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor/ brain-derived neurotrophic factor family. *Nature* 344: 339-341, 1990
- Kanje M, Skottner A, Lundborg G: Effects of growth hormone treatment on the regeneration of the rat sciatic nerve. *Brain Research* 475: 254-58, 1988
- Kieneker EW, Knoche H, Bingmann D: Functional properties of regenerating sinus nerve fibers in the rabbit. *Neuroscience* 3: 977-988, 1978
- Kiernan JA: Hypotheses concerned with axonal regeneration in the mammalian nervous system. *Biological Review* 54: 155-197, 1979
- Knoche, H, Walther-Wenke G, Addicks K: Die Feinstruktur der barorezeptorischen Nervenendigungen in der Wand des Sinus caroticus der Katze. *Acta anatomica* 97: 403 – 418, 1977
- Köster G, Tschermak A: Ueber Ursprung und Endigung des N. depressor und N. laryngeus superior beim Kaninchen. *Arch. Anat. Entwicklungsgeschicht*. 25: 255-294, 1902 Suppl.

Köster G, Tschermak A: Ueber den Nervus depressor als Reflexnerv der Aorta. *Pflügers Archiv Ges. Physiologie*. 93: 24-39, 1903

Kraus JM: Structure of rat aortic baroreceptors and their relationship to connective tissue. *Journal of Neurocytology* 8(4): 401 – 14, 1979

Levi-Montalcini R, Angeletti PU: Nerve growth factor. *Physiological Reviews* 48: 534-569, 1968

Love S, Coakham HB: Trigeminal neuralgia: pathology and pathogenesis. *Brain* 124(12): 2347-60, 2001

MacKinnon SE, Dellon AL: Reinnervation of distal sensory nerve environments by regenerating sensory axons. *Neuroscience* 46: 595-603, 1992

Mitchell RA, Sinha AK, McDonald DM: Chemoreceptive properties of regenerated endings of the carotid sinus nerve. *Brain Research* 43: 681-85, 1972

Novotny GE, Gommert-Novotny E: Silver impregnation of peripheral and central axons. *Stain Technology* 63(1): 1-14, 1988

Novotny GE, Mertens I: A silver impregnation utilizing only reagent-grade chemicals visualization of peripheral axons and fibroblasts. *Journal of Microscopy* 189(2): 154-62, 1998

Ponte J, Sadler CL: Studies on the regenerated carotid sinus nerve of the rabbit. *Journal of Physiology (Lond.)* 410: 411-424, 1989

Rabinovsky ED: The multifunctional role of IGF-1 in peripheral nerve regeneration. *Neurological Research*. 26(2): 204-10, 2004

Romero E, Cuisenaire O, Deneff JF, Delbeke J, Macq B, Veraart C: Automatic morphometry of nerve histological sections. *Journal of Neuroscience Methods*. 97: 111-122, 2000

Sakura S, Bollen AW, Ciriales R, Drasner K: Local anaesthetic neurotoxicity does not result from blockade of voltage-gated sodium channels. *Anesth Analg* 81: 338-348, 1995

Seckel BR: Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve* 13: 785-800, 1990

Sendtner M, Schmalbruch H, Stockli KA, Carroll P, Kreutzberg GW, Thoenen H: Ciliary neurotrophic factor prevents degeneration of motor neurons in mouse mutant progressive motor neuronopathy. *Nature* 358: 502-504, 1992

Siegel SG, Patton B, English AW: Ciliary neurotrophic factor is required for motoneuron sprouting. *Experimental Neurology* 166: 205-212, 2000

Stevens MF, Novotny GEK, Lipfert P: Inactivation of baroafferents leads to loss of barosensitivity without changes in nerve morphology. *Journal of the Autonomic Nervous System* 68: 125-34, 1998

Strata P, Buffo A, Rossi F: Mechanisms of axonal plasticity. *Arch Ital Biol*. 137(2-3): 181-92, 1999

Thoren P, Jones JV: Characteristics of aortic baroreceptors C-fibers in the rabbit. *Acta Physiologica Scandinavica* 99(4): 448-56, 1977

Thoren P, Munch PA, Brown AM: Mechanisms for activation of aortic baroreceptors C-fibers in rabbits and rats. *Acta Physiologica Scandinavica* 166(3): 167-74, 1999

Vita G, Santoro M, Trombetta G, Leonardi L, Messina C: A computer-assisted automatic method for myelinated nerve fiber morphometry. *Acta Neurologica Scandinavica* 85: 18-22, 1992

Watkins L, Maixner W: The effect of pentobarbital anaesthesia on the autonomic nervous system control of heart rate during baroreceptor activation. *Journal Of The Autonomic Nervous System* 36(2): 107 – 14, 1991

Zhang J, Luo X, Liu Z, Zhou X: Endogenous BDNF is required for myelination and regeneration of injured sciatic nerve in rodents. *European Journal of Neuroscience*, 12: 4171-4180, 2000

7 Danksagung

Herrn Prof. Dr. P. Lipfert, Oberarzt und Stellvertreter des Direktors der Klinik für Anaesthesiologie, gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas und die Unterstützung, die diese Arbeit ermöglicht hat.

Herrn Dr. M.F. Stevens, DEAA, Oberarzt der Klinik für Anaesthesiologie, für die Unterstützung in allen praktischen und theoretischen Belangen der Arbeit, sowie die anregenden Diskussionen der Ergebnisse.

Herrn Univ.-Prof. Dr. G.E.K. Novotny, Direktor des Instituts für Anatomie I, möchte ich für die Unterstützung bei der Interpretation und Diskussion der morphologischen Resultate danken.

Allen Mitarbeitern des Instituts für Experimentelle Anaesthesiologie und des Instituts für Anatomie I sei für ihre tatkräftige Hilfe bei der Durchführung der Versuche und der Aufarbeitung der histologischen Präparate gedankt: Allen voran Frau Mertens, Frau Schmidt, Frau Sommerfeld und Frau Nebert.

Besonderer Dank gilt der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die durch finanzielle Unterstützung (Ste 983/1-1) die Durchführung der Experimente ermöglicht hat.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Henning Hermanns
Geboren	10. Juni 1976 in Mettmann
Eltern	Hans Hartmut Hermanns Ulrike Hermanns, geb. Heissenberg

Schulbildung

1982 – 1986	Grundschule Rohdenhaus
1986 – 1995	Gymnasium Wülfrath
1995	Allgemeine Hochschulreife mit der Gesamtnote 2,0

Wehrpflicht

1995 – 1996	Zivildienst im EVK Wülfrath
-------------	-----------------------------

Hochschulbildung

1997 – 2003	Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
1999 – 2002	Famulaturen: EVK Wülfrath, Abteilung für Innere Medizin Klinik für Anaesthesiologie der HHU Düsseldorf Kaohsiung Medical University Hospital (Taiwan), Pädiatrie
2002 – 2003	Praktisches Jahr: Universitätsklinikum Düsseldorf
2003	Staatsexamen mit der Gesamtnote 1,66

Berufstätigkeit

1996 – 2000	Pflegetätigkeit im EVK Wülfrath
2000 – 2001	studentische Hilfskraft im Institut für Experimentelle Anaesthesiologie der HHU Düsseldorf (DFG – Stelle)
2001	studentische Hilfskraft im Institut für Anatomie der HHU Düsseldorf
seit 2003	wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Klinik für Anaesthesiologie der HHU Düsseldorf