

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Neurochirurgie des
Universitätsklinikums Halle (Saale)
Direktor: Prof. Dr. med. C. Strauss

**Dreidimensionale Darstellung der motorischen Hirnnervenkerne von
Nervus facialis und Nervus abducens, sowie des Colliculus facialis im
humanen Hirnstamm**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

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

von
Alexandra Rachinger (geb. Beißwenger)
geboren am 08.11.1979 in Stuttgart

Gutachter: 1. Prof. Dr. C. Strauss
2. Prof. Dr. F. Paulsen, Erlangen
3. PD Dr. J. Kreutzer, Nürnberg

04.12.2012

26.09.2013

Referat

Hintergrund und Ziele: Vor allem bei Operationen im Bereich des Hirnstamms besteht das Risiko, gesundes, angrenzendes Gewebe zu verletzen und dadurch zerebrale Funktionen zu beeinträchtigen. Es sind daher Verfahren erforderlich, die die intraoperative Sicherheit erhöhen, indem sie funktionell bedeutsame Areale visualisieren und lokalisieren.

Methoden: Drei humane Hirnstämme wurden seriell zu 50µm dicken Präparateschnitten aufgearbeitet und mit Kresylviolett gefärbt. Sie wurden anschließend via Scanner digitalisiert. Die motorischen Hirnnervenkerne von N. facialis und N. abducens wurden mittels geeigneter Software markiert. Ein Teil der Präparateschnitte eines Hirnstammes wurde entfärbt und anschließend mit Silber imprägniert, sodass die Fasern des Colliculus facialis sichtbar wurden und ebenfalls markiert werden konnten.

Ergebnisse: Anhand der beschriebenen Methoden konnten die Nuclei motorius n. facialis und n. abducentis, sowie der Colliculus facialis dargestellt und markiert werden. Mittels der entwickelten Software wurden die seriellen Schnitte aneinander gefügt und danach dreidimensional rekonstruiert. Es wurde ein 3D-Modell erzeugt, in welchem die Hirnnervenkerne und der Colliculus facialis sichtbar wurden.

Schlussfolgerungen: Das erzeugte 3D-Modell liefert Informationen über Lage und Größe der untersuchten Strukturen im Hirnstamm. Es kann damit die intraoperative Orientierung erleichtern und einen Beitrag zur Minimierung der Operationsmorbidity leisten, insbesondere wenn es gelingt, das Modell in die Neuronavigation zu implementieren.

Bibliographische Beschreibung: Rachinger, Alexandra: Dreidimensionale Darstellung der motorischen Hirnnervenkerne von Nervus facialis und Nervus abducens, sowie des Colliculus facialis im humanen Hirnstamm. Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 36 Seiten, 2012

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----|---------------------------------------|----|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 2. | Ziel der Arbeit | 5 |
| 3. | Material und Methoden | 6 |
| 3.1 | Konservierung der Präparate | 6 |
| 3.2 | Herstellung der Gewebeschnitte | 6 |
| 3.3 | Färbung mit Kresylviolett | 6 |
| 3.4 | Silberimprägnation nach <i>Gomori</i> | 7 |
| 3.5 | Reagenzien | 9 |
| 3.6 | Geräte | 9 |
| 3.7 | Auswertung der Gewebeschnitte | 10 |
| 3.8 | Dreidimensionale Rekonstruktion | 13 |
| 4. | Ergebnisse | 14 |
| 5. | Diskussion | 26 |
| 6. | Schlussfolgerungen und Perspektiven | 31 |
| 7. | Zusammenfassung | 32 |
| 8. | Literaturverzeichnis | 33 |

Abkürzungen

| | |
|------------|---------------------------------|
| Aa. | Arteriae |
| Abb. | Abbildung |
| Aqua dest. | Aqua destillata |
| CT | Computertomogramm |
| 3D | dreidimensional |
| EDV | Elektronische Datenverarbeitung |
| EMG | Elektromyogramm |
| g | Gramm |
| m. | motorius |
| µg | Mikrogramm |
| µm | Mikrometer |
| mm | Millimeter |
| ml | Milliliter |
| MR | Magnetresonanz |
| MRT | Magnetresonanztomogramm |
| N. | Nervus |
| n. | nervi |
| Ncl. | Nucleus |
| S. | Sulcus |
| s. | siehe |

1. Einleitung

Gemäß einer Erhebung des Robert-Koch-Instituts erkrankten im Jahr 2006 weltweit 11,9 pro 100.000 Menschen an Tumoren des zentralen Nervensystems (Neuerkrankungsrate, standardisiert), wovon der Großteil intrazerebral gelegen war (<http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Doc/KID2010.pdf>). Die weltweite Inzidenz des primären, malignen Hirntumors liegt bei Männern und Frauen bei ca. 3,7 bzw. 2,6 pro 100.000. Von allen Hirntumoren sind Gliome mit 30-50% am häufigsten (Moskopp und Wassmann, 2004). Hierzu gehören astrozytäre, oligodendrogiale und oligoastrozytäre Tumoren. Weitere Tumoren des neuroepithelialen Gewebes sind Neubildungen des Ependyms und des Plexus choroideus, neuronale und gemischt neuronal-gliöse Tumore, Pinealisparenchym- und embryonale Tumore, Läsionen mit meningealem oder mesenchyalem Ursprung, außerdem Lymphome und hämatopoetische Neubildungen (Louis, Ohgaki et al., 2007). Des Weiteren kommen Neubildungen der kranialen und paraspinalen Nerven, der Sellaregion und Metastasen vor. Als Behandlungsstrategien kommen Radiatio, Chemotherapie und Operation in Betracht. Die operative Therapie besitzt dabei in vielen Fällen einen hohen Stellenwert. Operationen können in subtotale und totale Resektionen, sowie in Biopsien unterteilt werden. Allen gemeinsam ist die Notwendigkeit eines operativen Zugangsweges zur betroffenen Region. Im Bereich von Cerebrum und Cerebellum sind viele Zugangswege bekannt und Jahrzehnte lang erprobt. Insbesondere durch die Magnetresonanztomographie können heutzutage risikoreiche Areale präoperativ ebenso identifiziert werden, wie der tumoröse Prozess selbst. Hierdurch wird eine differenzierte Zugangsplanung möglich, deren Ziel zum einen eine ideale Tumorexposition ist, die zum anderen aber auch eine Schonung eloquenter Areale ermöglichen soll.

In diesem Kontext wurden auch durch die Einführung der rahmenlosen Stereotaxie, die sogenannte „Neuronavigation“, große Verbesserungen erzielt. Mit diesen Systemen ist eine dreidimensionale Visualisierung des Gehirns und der raumfordernden Prozesse möglich. Auf dem Computermonitor können die Bilddaten in verschiedener Art und Weise dargestellt und bearbeitet werden, Segmentierungen und volumetrische Untersuchungen sind möglich. Des Weiteren kann ein dreidimensionales Modell des Patientenkopfes frei im Raum bewegt werden. Der eigentliche Zweck dieser Systeme ist allerdings die intraoperative Verknüpfung von Bildraum (= präoperativ gewonnener Bilddatensatz des Patienten) mit dem Objektraum (= in der Mayfieldhalterung fixierter

Patientenkopf). Auf diese Weise kann die Position der Spitze eines Zeigeinstrumentes, welches in den Situs, z.B. auf den Tumor oder die Schädelbasis, gehalten wird, in der präoperativ angefertigten Bildgebung dargestellt werden. Dies hat sich bei der intraoperativen Lokalisation der zu entfernenden Läsion als ebenso hilfreich erwiesen, wie bei der Identifikation zu schonender Areale. Dieser Effekt wird durch die Möglichkeit, präoperativ segmentierte Strukturen direkt in den Strahlengang des Operationsmikroskopes einzuspiegeln, noch verstärkt. Neben der rein morphologischen Darstellung des Gehirns rückte in den letzten Jahren zunehmend aber auch das Interesse an der Sichtbarmachung von Funktionen des Gehirns in den Mittelpunkt des Interesses. Hier konnte sich die funktionelle Kernspintomographie etablieren, mit der beispielsweise die Identifikation des primären Motorcortex gelingt. Auch diese Daten können in die Neuronavigation integriert werden, sodass hier ein weiterer Zugewinn an Information und Sicherheit bei der Eingriffsplanung und -durchführung entsteht.

So hilfreich und notwendig die im Wesentlichen auf bildgebenden Verfahren beruhenden, präoperativ gewonnenen Informationen für den Neurochirurgen auch sind, von genauso großem Interesse sind die intraoperative Funktionsüberwachung und die Verifizierung der präoperativen, funktionellen Untersuchungen. Neben der Durchführung von Operationen am wachen Patienten stehen zu diesen Zwecken elektrophysiologische Stimulationsverfahren zur Verfügung (Cedzich, Taniguchi et al., 1996). Weiter kann der Motorcortex beispielsweise mithilfe der sogenannten Phasenumkehr lokalisiert werden (Tomas, 2006; Romstöck, 2002). Hierbei wird z.B. der N. medianus am kontralateralen Handgelenk stimuliert und mittels einer mehrpoligen Plattenelektrode die Stimulationswelle in der Gegend des mutmaßlichen Sulcus centralis abgelesen. Zwischen den zwei Polen, zwischen denen der S. centralis zu liegen kommt, beobachtet man die Phasenumkehr. Daraus folgt, dass der vordere dieser Pole im Bereich des Motorcortex zu liegen kommt, der hintere hingegen postzentral gelegen ist (Sala, Krzan et al., 2002). Mit elektrophysiologischen Mitteln ist aber auch eine kontinuierliche Funktionsüberwachung möglich. Eine solche wird, um postoperative Funktionseinbußen zu reduzieren, z.B. bei der Entfernung von Vestibularisschwannomen angewendet. Man bedient sich dabei der Elektromyographie (EMG), wobei Potentiale, z.B. an der mimischen Gesichtsmuskulatur, abgeleitet werden. Das Auftreten von unterschiedlichen EMG-Aktivitätsmustern korreliert hier mit der Nervenfunktion postoperativ. Spontan auftretende, sog. A-Trains zeigen eine potentielle Schädigung des N. facialis an, wobei die Gesamtzeit dieser A-trains von prognostischem Wert hinsichtlich der Funktion des Nerven im postoperativen Verlauf

ist und die Echtzeit-Messung der Trainzeit eine Anpassung der Operationsstrategie erlaubt (Prell, Rachinger et al., 2010; Romstöck, Strauss et al., 2000; Prell, Rampp et al., 2007). Darüber hinaus stehen zur Funktionsüberwachung die Ableitung evozierter Potentiale (z.B. akustisch oder somatosensibel evozierte Potentiale) und zur Identifikation von Hirnnerven im Situs deren Direktstimulation mittels uni- oder bipolarer Stimulationselektroden zur Verfügung.

Der Einsatz bzw. der Nutzen dieser Methoden, die zum Großteil seit Jahren zur Verfügung stehen, ist im Bereich des Hirnstamms limitiert. Dies hat zunächst anatomische Gründe. Der Hirnstamm setzt sich zusammen aus Mesencephalon, Pons und Medulla oblongata. Am kraniodorsalen Ende wird er von viertem Ventrikel und Cerebellum, nach kranial vom Diencephalon begrenzt. Auf den gesamten Hirnstamm verteilt, liegen die Kerne der Hirnnerven III-VII und IX-XII. Des Weiteren verlaufen darin die somatischen und viszerale Afferenzen und Efferenzen. Die neurochirurgische Problematik begründet sich darin, dass diese funktionell bedeutsamen Strukturen zum einen räumlich sehr eng zusammenliegen und zum anderen bildgebend nur sehr eingeschränkt dargestellt werden können. Hieraus resultiert, dass bislang nur wenige chirurgische Korridore zu intrinsischen Hirnstammläsionen bekannt sind, bei denen ein vollständiger Erhalt der neurologischen Funktionen möglich ist (Bogucki, Czernicki et al., 2000). Im Bereich des Bodens des IV. Ventrikels machte man sich diesbezüglich die dort bekannte Anatomie zur Entwicklung des infra- und supracolliculären Zugangsweges (Strauss, Lütjen-Drecoll et al., 1997; Strauss, Romstöck et al., 1999), bei denen der Colliculus facialis als Landmarke dient, zunutze. Unterstützt wird der Neurochirurg bei der Nutzung dieses Zugangs durch die Möglichkeit der elektrischen Stimulation des N. facialis, sowie des N. abducens und der motorischen, kaudalen Hirnnervenkerne am Boden der Rautengrube mit entsprechender EMG-Ableitung. Allerdings ist eine Visualisierung der wichtigen, motorischen Hirnnervenkerne aktuell weder operationsmikroskopisch, noch kernspintomographisch möglich. Dies kann insbesondere dann problematisch sein, wenn durch ein pathologisches Geschehen der Colliculus facialis nicht mehr sicher identifizierbar ist und eine elektrische Stimulation nicht eindeutig bzw. gar nicht möglich ist. Eine elektrophysiologische oder anderweitige Identifikation nicht-motorischer Kerne ist derzeit nicht möglich, was eine weitere Limitation im Rahmen der Chirurgie im Boden des IV. Ventrikels bedeutet. Zur Verbesserung der räumlichen Orientierung wäre daher ein digital verfügbares, dreidimensionales Modell des Hirnstammes, insbesondere den Bereich der Pons umfassend, wünschenswert, welches die relevanten, motorischen Hirnnervenkerne enthält und über deren Größe und Lagebeziehungen zueinander Auskunft gibt. Dieses

Modell könnte dann mittels geeigneter Software auf einen Patientendatensatz referenziert und in die intraoperative Neuronavigation integriert werden. Im Rahmen eines solchen Projektes entstand die vorliegende Arbeit.

2. Ziel der Arbeit

Die operative Behandlung von intrinsischen Hirnstammläsionen ist auf Grund des engen topographischen Bezuges zu eloquenten Arealen schwierig. Da die Funktion nur mancher gefährdeter Strukturen bislang auch nur mittels Elektrophysiologie intraoperativ überwacht, und nicht die betreffende Struktur selbst dargestellt werden kann, ist es Ziel dieser Arbeit, ein Modell zu generieren, welches die motorischen Hirnnervenkerne von N. facialis, N. abducens und den Colliculus facialis dreidimensional dargestellt enthält.

3. Material und Methoden

Für die vorliegende Arbeit wurden drei humane Hirnstämme von Körperspendern unmittelbar nach ihrem Versterben aufgearbeitet.

3.1 Konservierung der Präparate

Die Leichen wurden nach einer MRT-Bildgebung zur 2. Leichenschau in das Institut für Rechtsmedizin gebracht. Im Weiteren wurden die Aa. femorales präpariert und mit 2 Knopfkanülen versehen. Zur Konservierung wurde eine Perfusionsfixierung begonnen, welche nach 4-8 Stunden beendet war. Im Anschluss daran wurden die Gehirne, welche zu diesem Zeitpunkt nur leicht „anfixiert“ waren, entnommen. Zur weiteren Konservierung wurde das Gehirn für ca. 14 Tage in eine 10%-ige Formaldehyd-Lösung gegeben. Als letzter Schritt erfolgte eine Immersionsfixierung für ca. 6 Wochen in 75% Ethanol.

Im Anschluss daran wurden die Hirnstämme oberhalb des Colliculus facialis vom restlichen Gehirn getrennt. Die insgesamt zehn Hirnstämme, welche als Serie vorbereitet wurden, erhielten zur besseren Unterscheidung die Kennzeichnungen G1-10, wobei in der vorliegenden Arbeit die Präparate G1, G8 und G9 aufgearbeitet wurden.

3.2 Herstellung der Gewebeschnitte

Die humanen Hirnstämme wurden nach der Fixierung in Paraffin eingebettet und erneut mittels Computertomographie dargestellt. Mit dem Mikrotom wurden 50µm dicke Präparateschnitte angefertigt und auf die vordruckierten Objektträger aufgenommen.

3.3 Färbung mit Kresylviolett

Kresylviolett ist ein Farbstoff zur Anfärbung von Nervengewebe. Er bindet an basophile Verbindungen wie DNA oder RNA und färbt so Nucleoli und Ribosomen blau. Die Kresylviolett-färbemethode nach Kratochvil (Denk, Forster et al., 1968) für den humanen Hirnstamm, wurde mit dem Schritt der Entparaffinierung begonnen. Hierfür

wurden die Präparateschnitte zweimal für 10 Minuten in Xylol und 5 Minuten in Isopropanol gegeben. Danach erfolgte die Dehydrierung in einer absteigenden Alkoholreihe, bei der die Schnitte jeweils für 5 Minuten in 96%, 80%, 70% und 60% iger Alkoholmischung verblieben. Danach folgten zweimal 3 Minuten in destilliertem Wasser.

Danach wurde der eigentliche Färbevorgang begonnen, bei dem die Präparate zunächst für 3 Minuten in Kresylviolett gefärbt und danach für zweimal 3 Minuten in destilliertem Wasser gespült wurden. Zur Differenzierung der Zellen wurden die Schnitte danach für 25-30 Minuten in Eisessig (100ml destilliertes Wasser mit 10 Tropfen Essigsäure) gebracht. Als letzter Schritt folgte eine aufsteigende Alkoholreihe, beginnend mit jeweils 5 Minuten in 90%igem, dann 96%igem Alkohol. Danach 5-10 Minuten Isopropanol und zum Abschluss zweimal 5 Minuten Xylol.

Im Anschluss wurden die Präparate mit wenigen Tropfen Entellan und Deckgläschen eingedeckelt.

| | | |
|-----------|-----------------------|---------------------|
| Lösungen: | Konservierungslösung: | 10 L Ethanol 96% |
| | | 1 L Glycerol |
| | | 1 L Formaldehyd 5% |
| | | 1 L Aqua dest. |
| | Kresylviolett: | 1g Kresylviolett |
| | | 100ml Aqua tridest. |

Bei der Beurteilung der mit Kresylviolett gefärbten Schnittpräparate fiel auf, dass der Colliculus facialis in mehreren Ebenen gut sichtbar ist. Da für eine dreidimensionale Darstellung die Erkennbarkeit nicht ausreichte, wurden die entsprechenden Präparate für eine erneute Färbung vorbereitet. Hierzu wurden die eingedeckelten Präparate zunächst für eine Woche in Trizol gegeben. Nachdem sich die Deckgläschen gelöst hatten, wurden die Schnitte zur Entfärbung für einige Minuten in Isopropanol gelegt.

3.4 Silberimprägnation nach *Gomori*

Zur Darstellung der Nervenfasern erfolgte eine Färbung mit Silbernitrat nach *Gomori* (Gomori, 1937). Die Färbung beruht auf einer Imprägnation mit Silbernitrat, ein Salz der Salpetersäure. Es wurden selektiv nur einzelne Nervenzellen angefärbt, diese

allerdings vollständig, sodass Neurone, Dendriten und Axone sichtbar wurden. Die hier verwendete Methode ist eine Modifikation der Golgi-Methode (Golgi, 1989).

Die entfärbten Schnitte wurden in einer absteigenden Alkoholreihe (90%, 80%, 70% und 60%) dehydriert und in destilliertem Wasser gespült. Danach folgte eine Oxidierung in 0,5%iger Kaliumpermanganatlösung für 1-2 Minuten. Nach einem Waschvorgang folgte die Entfärbung mit 2%iger Kaliumdisulfitlösung für 1 Minute und ein erneutes Auswaschen in Wasser. Die Präparate wurden dann in 2%iger Eisenammoniumsulfatlösung sensibilisiert und einmal in Leitungswasser, sowie zweimal in destilliertem Wasser für jeweils 3-5 Minuten gewaschen. Die Imprägnation mit alkalischer Silbernitratlösung folgte für 1 Minute, anschließendes Spülen mit destilliertem Wasser für 5-10 Sekunden. Die Reduktion erfolgte mit 10%iger Formaldehyd-Lösung für 5 Minuten. Nach erneutem Auswaschen in Wasser wurden die Schnitte in 0,1%iger Goldchloridlösung getönt. Nach Spülen in destilliertem Wasser wurden die Objekte in 2%iger Kaliumdisulfitlösung 1 Minute lang reduziert und in 1%iger Natriumthiosulfitlösung für 1 Minute fixiert. Nach gründlichem Spülen in Wasser folgte nach der Hydrierung in der aufsteigenden Alkoholreihe (60%, 70%, 80%, 90%, Isopropanol und Xylol für jeweils 5 Minuten) die Eindeckelung mit Entellan.

| | | |
|-----------|--------------------------------|---|
| Lösungen: | 0,5% Kaliumpermanganat-Lösung: | 0,5g Kaliumpermanganat 99,5ml Aqua dest. |
| | 2% Kaliumdisulfitlösung: | 2g Kaliumdisulfit 98ml Aqua dest. |
| | 2% Eisenammoniumsulfat-Lösung: | 2g Eisenammoniumsulfat 98ml Wasser |
| | Formol-Wasser: | 10ml Formol 90ml Aqua dest. |
| | Goldchlorid-Lösung: | 0,1g Goldchlorid 99,9ml Aqua dest. |
| | 1% Natriumthiosulfit-Lösung: | 1g Natriumthiosulfit 99ml Aqua dest. |
| | Silbernitratlösung: | 10g Silbernitratlösung 90ml Aqua dest |
| | 10% Kaliumhydroxid-Lösung: | 10g Kaliumhydroxid 90ml Aqua dest. |

Herstellung der Silbernitratlösung: Zu 10ml einer 10%igen Silbernitratlösung, die man in einem 25ml Becherglas auf dem Magnetrührer stehen hat, werden 2ml einer

10%igen Kaliumhydroxid-Lösung hinzu gegeben. Es entsteht sofort ein Niederschlag. Topfenweise wird Ammoniak zugegeben, wobei nach jedem Tropfen die Wirkung abgewartet werden muss. Wenn der Niederschlag vollständig gelöst ist, wird tropfenweise Silbernitratlösung zugefügt. Die Schlieren, bzw. Niederschläge verschwinden langsam. Die Lösung wird auf das Doppelte des Volumens mit Aqua dest. aufgefüllt.

3.5 Reagenzien

| | |
|--|-------|
| Ethanol 96% | Roth |
| Propanol | Roth |
| Entellan | Merck |
| Xylol | Roth |
| Essigsäure | Roth |
| Kresylviolett | Merck |
| Kaliumpermanganat $\geq 99\%$ | Roth |
| Kaliumdisulfit $\geq 96\%$ | Roth |
| Natriumthiosulfat-Pentahydrat | Roth |
| Ammoniumeisen(III)-sulfat-Dodecahydrat $\geq 98\%$ | Roth |
| Silbernitrat $\geq 99,9\%$ | Roth |
| Kaliumhydroxid | Roth |
| Ammoniak 25% | Merck |
| Formaldehyd 37% | Roth |
| Tetrachlorogold(III)-säure-Trihydrat $\geq 99,5\%$ | Roth |

3.6 Geräte

| | |
|-----------------------------|---------------|
| Mikrotom Hn 40 | Reichert Jung |
| Scanner Perfection 0750 Pro | Epson |
| Mikroskop Axiostar plus | Zeiss |

3.7 Auswertung der Gewebeschnitte

Die gefärbten Gewebeschnitte wurden mit dem Scanner digitalisiert. Danach erfolgte die Bearbeitung mit dem Photoshop. Hierbei wurden die motorischen Kerne, die sich dreieckig darstellen, farblich markiert, wobei die gezielte Beurteilung parallel mittels Mikroskop erfolgte, siehe Abb. 1 und 2.

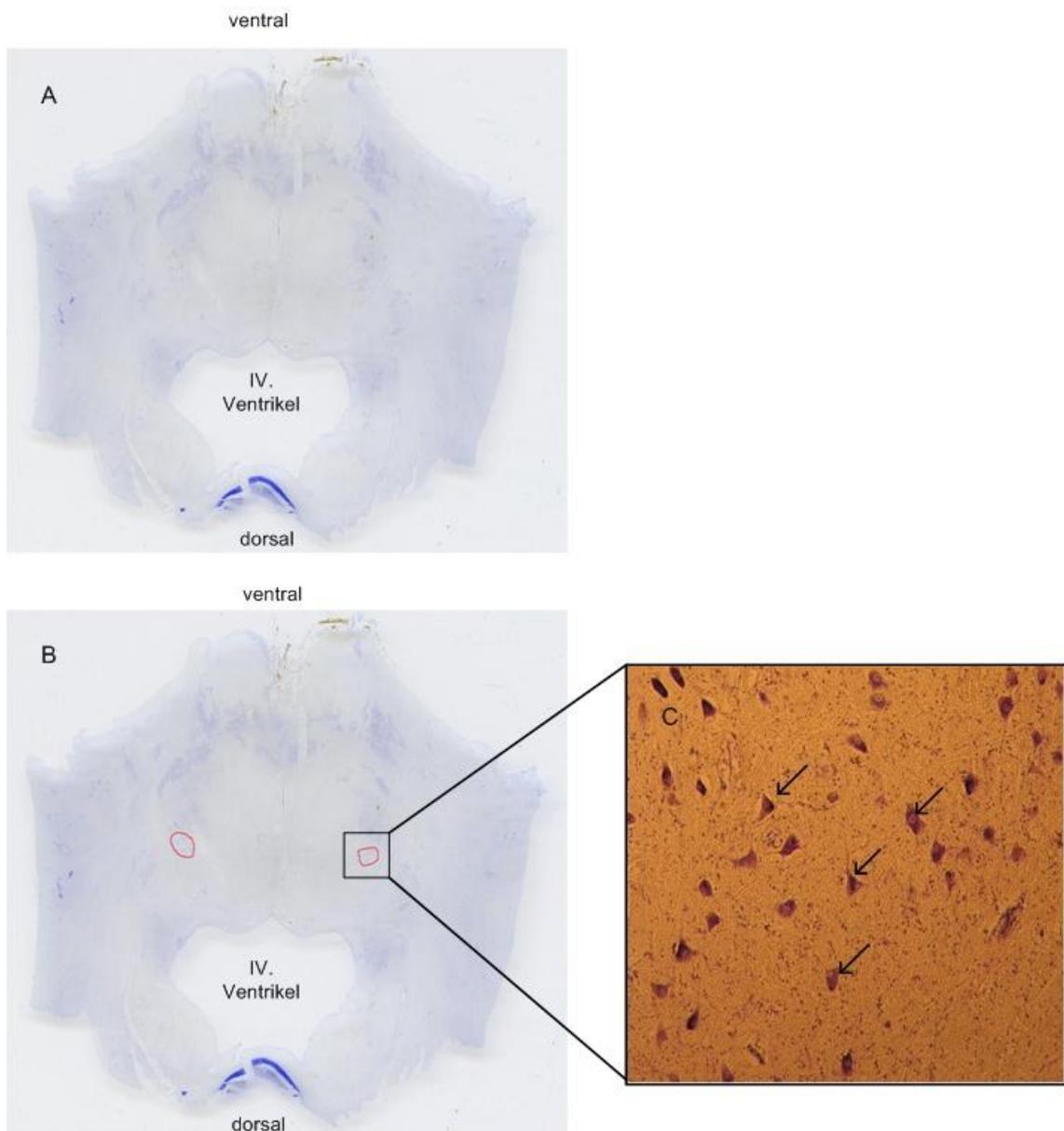


Abbildung 1 A-C: Hirnstamm in axialer Schnittführung ohne (A) und mit markiertem Ncl. n. facialis (B), motorische Zellkerne (→) des linken Ncl. motorius n. facialis (C).

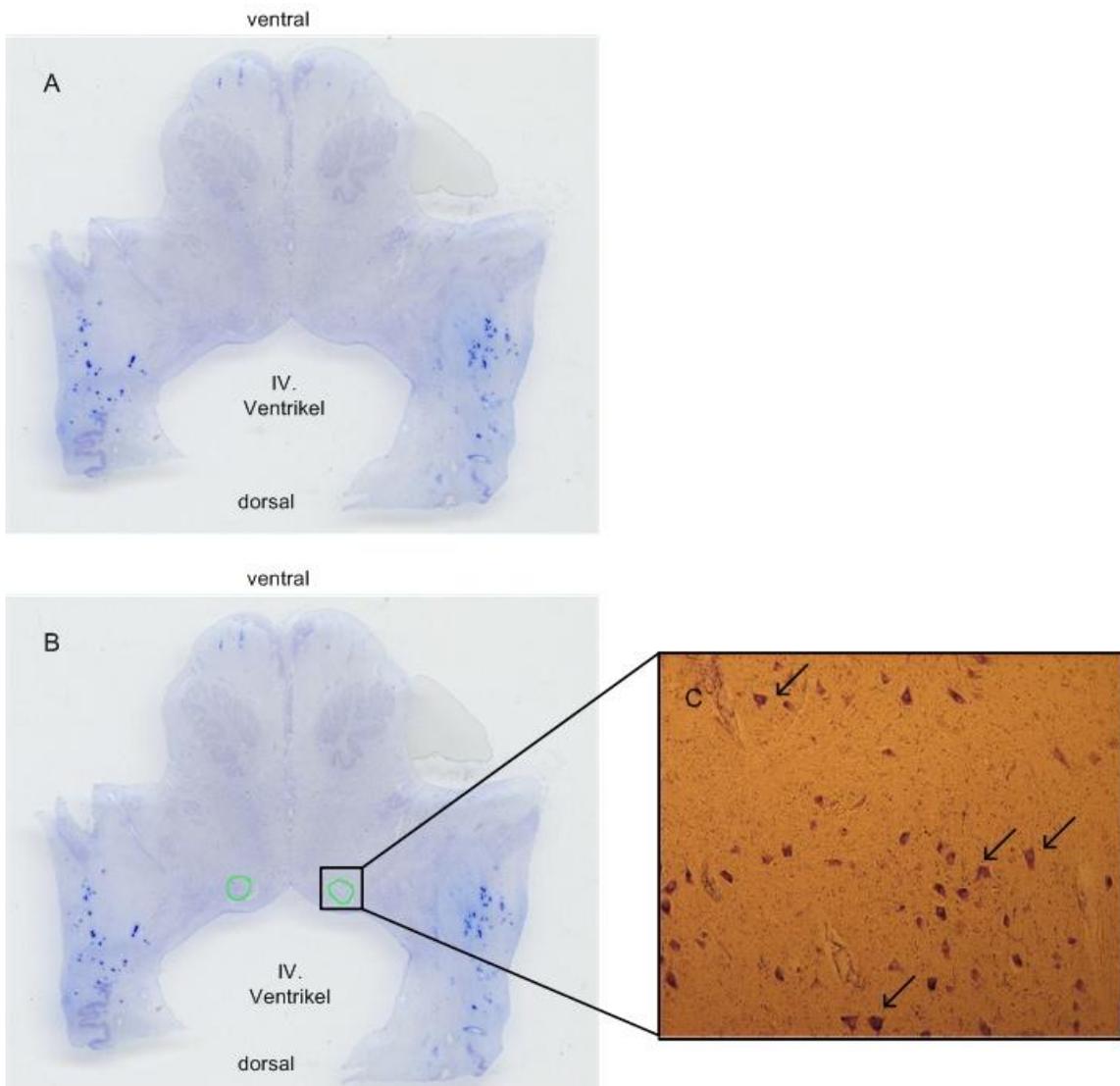


Abbildung 2 A-C: Hirnstamm in axialer Schnitfführung ohne (A) und mit markiertem Ncl. n. abducentis (B), motorische Zellkerne (→) des linken Ncl. n. abducentis (C).

Nach dem Einscannen der Bilder wurden die motorischen Hirnnervenkerne Ncl. n. facialis und Ncl. n. abducentis markiert und die Schichten ihrer jeweiligen Ausdehnung auf beiden Seiten bestimmt. Die Markierung des Colliculus facialis erfolgte dann in Zusammenschau der mit Kresylviolett gefärbten, sowie der mit Silber imprägnierten Schnitte.

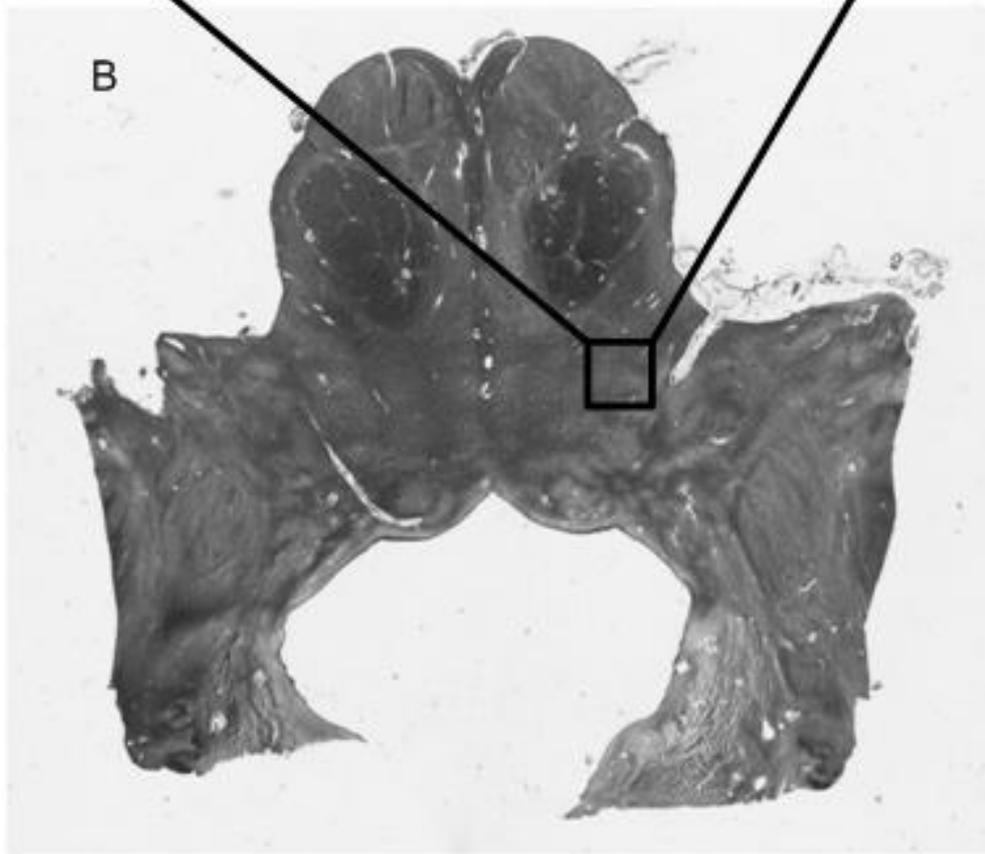
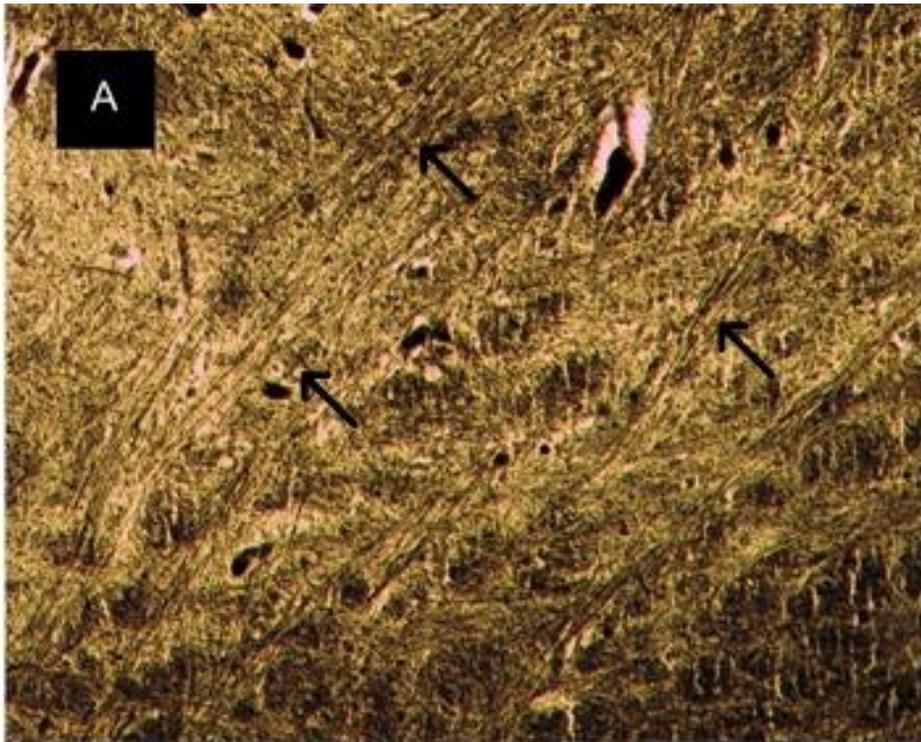


Abbildung 3 A, B: Schnitt des Hirnstammes nach Färbung mit Silbernitrat. B Übersichtsaufnahme, A Vergrößerung mit Darstellung der Fasern (→).

3.8 Dreidimensionale Rekonstruktion

Die digitalisierten Bilder wurden zur Bearbeitung auf 10% der Scan-Auflösung verkleinert. Danach erfolgte die Ausrichtung, bzw. Koregistrierung der einzelnen Schnitte zueinander. Hierbei wurde zunächst eine automatische Koregistrierung von jeweils benachbarten Schnitten mittels MIPAV (Medical Imaging Processing, Analysis and Visualization (<http://mipav.cit.nih.gov>)) durchgeführt. Mit einer speziell hierfür entwickelten Software, VolumeLab, wurden Korrekturen vorgenommen und die Koregistrierung manuell verändert und angepasst. Zur Korrektur von systematischen Koregistrierungsfehlern, die im Rahmen einiger weniger Schnitte zwar kaum merklich waren, insgesamt jedoch zu erheblichen Abweichungen führten und sich auf die gesamte Achse des Präparates auswirkten, erfolgte ein Abgleich mit dem Post-Fixierungs-CT. Hierbei kam ebenfalls die Software VolumeLab zur Anwendung. Nach der Ausrichtung der Schnitte in der Achse, wurden die Volumina von Hirnstamm und Hirnnervenkernen aus den koregistrierten Schnitten konstruiert. Hierzu wurden aus den koregistrierten Schnitten jeweils die 3D-Volumen der Präparatekontur, sowie der Kerngebiete interpoliert. Dies geschah unter Reduktion der räumlichen Auflösung um 50% in alle Raumrichtungen, um den Speicheranforderungen zu entsprechen. Gespeichert wurde nun im Analyse-Format. Als letzter Schritt folgte die 3D-Visualisierung, das sogenannte „Volumenrendering“, mit VolumeLab. Das Programm wurde hierzu erweitert, um eine beliebige Anzahl von Volumendatensätzen simultan darstellen zu können. Es wurde ein Volumenrendering-Ansatz implementiert, der Intensitätswerte und -bereiche auf verschiedene Farbtöne und Opazitäten abbildete und dadurch eine flexible Darstellung anatomischer Verhältnisse ermöglichte. Die Visualisierung unterstützte die flexible Interaktion in Echtzeit.

4. Ergebnisse

Der speziell-viszeromotorische Kern des N. facialis, der Ncl. n. facialis, liegt in der mittleren Pons, lateral des Colliculus facialis im Boden der Rautengrube und ist umgeben von der Formatio reticularis. Die Fasern der Nervenzellen ziehen zunächst dorsal und bilden dort den Colliculus facialis. Sie ziehen um den Ncl. n. abducentis, welcher paramedian im Tegmentum der Pons unter der Fossa rhomboidea liegt, herum nach medial und bilden hierbei das Genu nervi facialis, um dann im pontomedullären Sulcus, gemeinsam mit dem N. vestibulocochlearis, aus dem Hirnstamm auszutreten. Der Mittelwert der Kernlänge des Ncl. n. facialis beträgt 5,2 mm (G1: 6,1 mm, G8: rechts: 4,8 mm, links: 5,7 mm, G9: 5,2 mm), wobei sich im Präparat G8 eine Seitendifferenz zeigt. Der Ncl. n. abducentis kann mit einer mittleren Länge von 3,48 mm beschrieben werden (G1: 3,2 mm, G8: 3,25 mm, G9: 4,2 mm). Die Länge der Kerne und in welchen Schichten sie sichtbar sind, kann aus Tabelle 1 entnommen werden.

Tabelle 1: Übersicht über die craniocaudale Länge der Hirnnervenkerne der drei Hirnstämme.

| Hirnstamm | G1 | G8 | G9 |
|---------------------------|------------|------------------|------------|
| Kern | Länge (mm) | Länge (mm) | Länge (mm) |
| Ncl. motorius n. facialis | 6,1 | re: 4,8; li: 5,7 | 5,2 |
| Ncl. n. abducentis | 3,2 | 3,25 | 4,2 |

Der Ncl. motorius n. facialis liegt bei den hier untersuchten Hirnstämmen links ca. 7,72mm (Mittelwert) und rechts 6,7mm (Mittelwert) lateral der Mittellinie (einzelne Werte siehe Tabellen 2-4) und links 6,33mm, bzw. rechts 6,67mm von der Fossa rhomboidea (s. Tabellen 5-7) entfernt, wobei die Messungen jeweils die kürzeste Distanz zwischen äußerem Rand des Kerns und der Fossa rhomboidea darstellen. Der Ncl. motorius n. facialis zeigt in der Mitte einen durchschnittlichen Durchmesser von 2,63mm (links) und 2,74mm (rechts), s. Tabellen 9-11.

Tabelle 2: Kürzeste Entfernung zur Mittellinie der Hirnnervenkerne des Präparates G1 mit Messung am obersten und untersten Ende, sowie exakt in der Mitte.

| Kern | links | | | rechts | | |
|---------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | oben | Mitte | unten | oben | Mitte | unten |
| Ncl. m. n. facialis | 14,59 | 12,23 | 13,08 | 16,15 | 11,83 | 14,25 |
| Ncl. n. abducentis | 7,22 | 6,58 | 6,52 | 5,55 | 5,23 | 6,54 |

Tabelle 3: Kürzeste Entfernung zur Mittellinie der Hirnnervenkerne des Präparates G8 mit Messung am obersten und untersten Ende, sowie exakt in der Mitte.

| Kern | links | | | rechts | | |
|---------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | oben | Mitte | unten | oben | Mitte | unten |
| Ncl. m. n. facialis | 5,42 | 4,19 | 5,23 | 5,02 | 4,28 | 4,8 |
| Ncl. n. abducentis | 1,65 | 1,59 | 1,34 | 2,1 | 1,76 | 1,65 |

Tabelle 4: Kürzeste Entfernung zur Mittellinie der Hirnnervenkerne des Präparates G9 mit Messung am obersten und untersten Ende, sowie exakt in der Mitte.

| Kern | links | | | rechts | | |
|---------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | oben | Mitte | unten | oben | Mitte | unten |
| Ncl. m. n. facialis | 4,97 | 4 | 4,51 | 4,87 | 4,57 | 4,93 |
| Ncl. n. abducentis | 1,61 | 1,59 | 2,12 | 1,71 | 1,74 | 1,88 |

Tabelle 5: Kürzeste Entfernung zur Fossa rhomboidea der Hirnnervenkerne des Präparates G1 mit Messung am obersten und untersten Ende, sowie exakt in der Mitte.

| Kern | links | | | rechts | | |
|---------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | oben | Mitte | unten | oben | Mitte | unten |
| Ncl. m. n. facialis | 9,31 | 8,97 | 14,54 | 11,18 | 9,44 | 13,78 |
| Ncl. n. abducentis | 2,22 | 0,95 | 1,69 | 2,12 | 1,08 | 1,12 |

Tabelle 6: Kürzeste Entfernung zur Fossa rhomboidea der Hirnnervenkerne des Präparates G8 mit Messung am obersten und untersten Ende, sowie exakt in der Mitte.

| Kern | links | | | rechts | | |
|---------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | oben | Mitte | unten | oben | Mitte | unten |
| Ncl. m. n. facialis | 2,79 | 2,96 | 5,31 | 3,47 | 3,51 | 5,59 |
| Ncl. n. abducentis | 0,93 | 0,72 | 0,47 | 0,83 | 0,66 | 0,7 |

Tabelle 7: Kürzeste Entfernung zur Fossa rhomboidea der Hirnnervenkerne des Präparates G9 mit Messung am obersten und untersten Ende, sowie exakt in der Mitte.

| Kern | links | | | rechts | | |
|---------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | oben | Mitte | unten | oben | Mitte | unten |
| Ncl. m. n. facialis | 3,49 | 4,32 | 5,27 | 3,85 | 3,92 | 5,5 |
| Ncl. n. abducentis | 0,8 | 0,38 | 0,53 | 0,95 | 0,76 | 0,66 |

Tabelle 8: Geringster Abstand der Hirnnervenkerne aller Präparate zum Obex in mm.

| Entfernung zum Obex | G1 (mm) | G8 (mm) | G9 (mm) |
|---------------------|---------|--------------------|---------|
| Ncl. m. n. facialis | 13,3 | li:20,3; re: 15,55 | 21,85 |
| Ncl. n. abducentis | 16,15 | 20,75 | 21,15 |

Tabelle 9: Durchmesser der einzelnen Hirnnervenkerne des Präparates G1 mit Messung am obersten und untersten Ende, sowie exakt in der Mitte.

| Kern | links | | | rechts | | |
|---------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | oben | Mitte | unten | oben | Mitte | unten |
| Ncl. m. n. facialis | 1,63 | 3,49 | 0,91 | 0,76 | 3,98 | 1,1 |
| Ncl. n. abducentis | 2,22 | 4,21 | 2,43 | 2,2 | 5,21 | 2,58 |

Tabelle 10: Durchmesser der einzelnen Hirnnervenkerne des Präparates G8 mit Messung am obersten und untersten Ende, sowie exakt in der Mitte.

| Kern | links | | | rechts | | |
|---------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | oben | Mitte | unten | oben | Mitte | unten |
| Ncl. m. n. facialis | 0,72 | 2,03 | 0,42 | 0,89 | 2,16 | 0,99 |
| Ncl. n. abducentis | 1,16 | 1,59 | 1,12 | 0,95 | 1,97 | 1,06 |

Tabelle 11: Durchmesser der einzelnen Hirnnervenkerne des Präparates G9 mit Messung am obersten und untersten Ende, sowie exakt in der Mitte.

| Kern | links | | | rechts | | |
|---------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | oben | Mitte | unten | oben | Mitte | unten |
| Ncl. m. n. facialis | 1,29 | 2,37 | 0,74 | 1,14 | 2,07 | 1,12 |
| Ncl. n. abducentis | 1,4 | 1,82 | 1,14 | 1,29 | 1,74 | 1,02 |

Im Folgenden ist zunächst die CT-Bildgebung des im Paraffinblock befindlichen Hirnstammes zu sehen, s. Abb. 4. Danach folgen die dreidimensionalen Rekonstruktionen einzelner Schnitte ohne (Abb. 5) und mit markierten Hirnnervenkernen, wobei der Ncl. n. abducentis grün und der Ncl. motorius n. facialis rot zur Darstellung kommen (Abb. 6-8). Im Anschluss folgen dann die Hirnnervenkerne als 3D-Rekonstruktion von allen Seiten ohne Hirnstamm (Ncl. n. abducentis grün und Ncl. motorius n. facialis rot), Abb. 9-11.



Abbildung 4: Computertomogramm eines in Paraffin eingebetteten Hirnstammes von allen Seiten. Ansichten von A = caudal, B = lateral, C = ventral, D = ventrolateral.

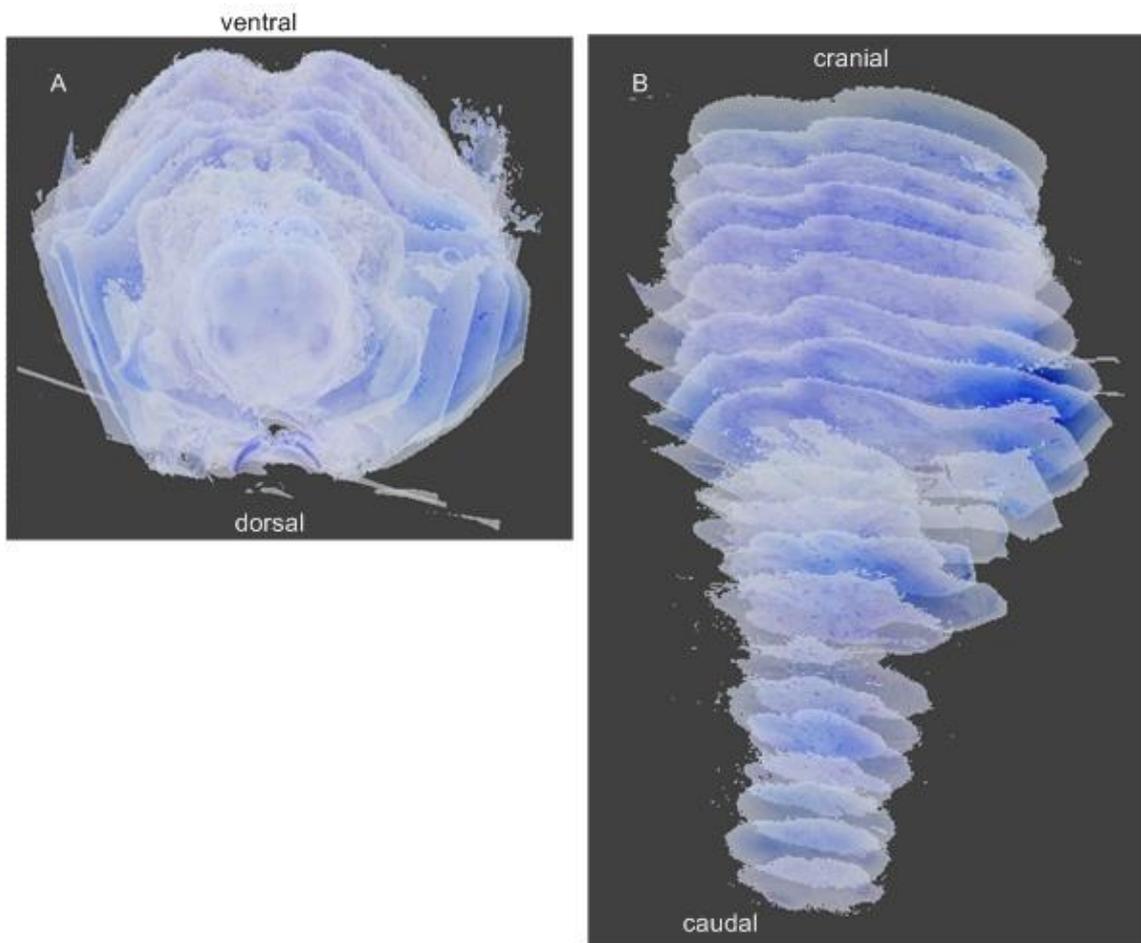


Abbildung 5: Dreidimensionale Rekonstruktion der Präparateschnitte. Aufsichten von: A = caudal, B = ventrolateral.

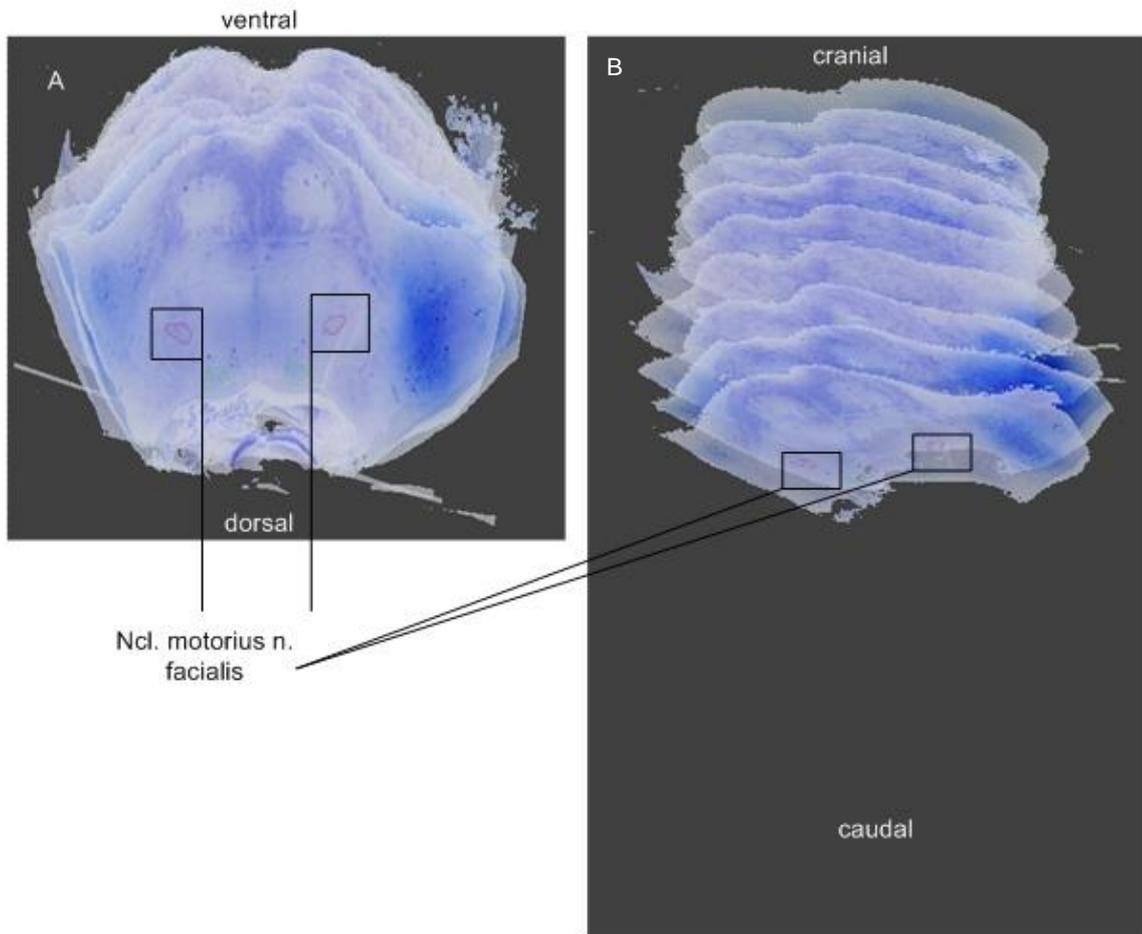


Abbildung 6: Dreidimensionale Rekonstruktion der Präparateschnitte mit markiertem Ncl. motorius n. facialis. Aufsichten von: A = caudal, B =ventrolateral.

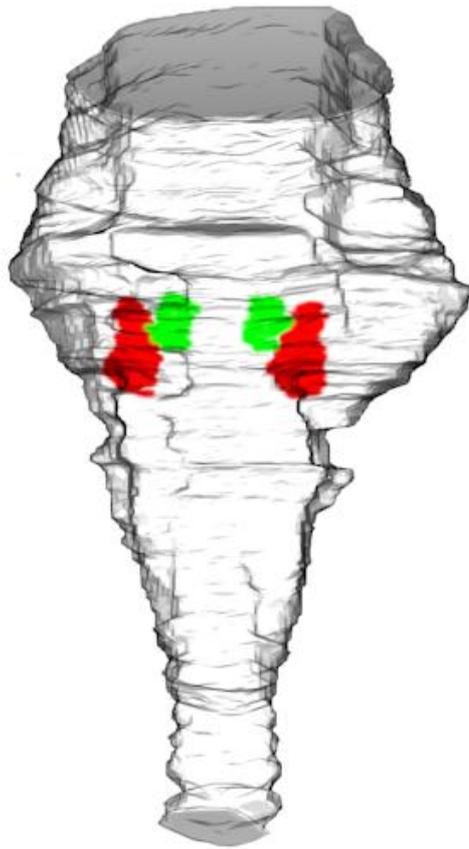


Abbildung 7: Dreidimensionale Rekonstruktion der Hirnnervenkerne Nucleus motorius n. facialis (rot) und Nucleus n. abducentis (grün) von dorsal.

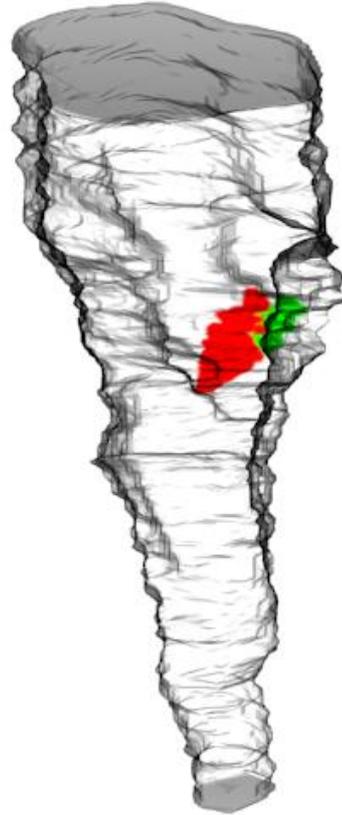


Abbildung 8: Dreidimensionale Rekonstruktion der Hirnnervenkerne Nucleus motorius n. facialis (rot) und Nucleus n. abducentis (grün) von lateral (links im Bild = ventral, rechts im Bild = dorsal).

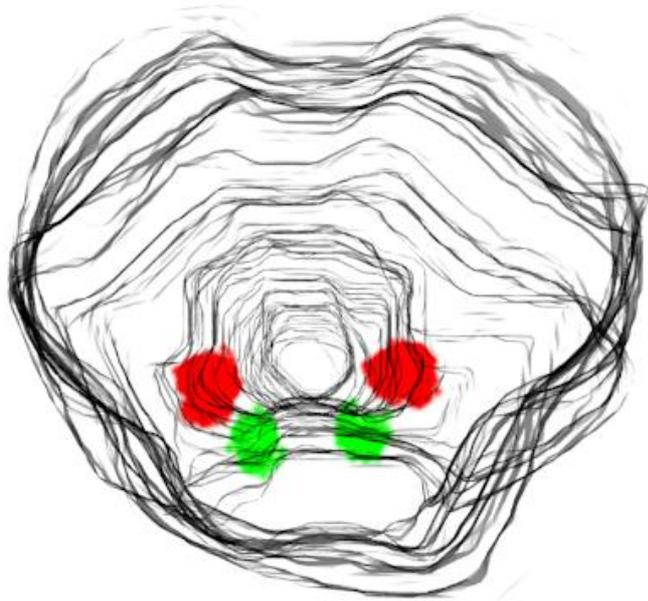


Abbildung 9: Dreidimensionale Rekonstruktion der Hirnnervenkerne Nucleus motorius n. facialis (rot) und Nucleus n. abducentis (grün) von caudal (oben im Bild = ventral, unten im Bild = dorsal).

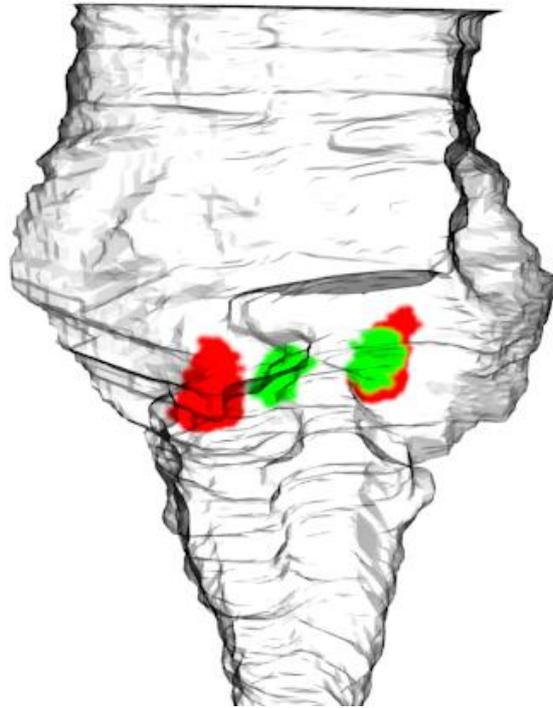


Abbildung 10: Dreidimensionale Rekonstruktion der Hirnnervenkerne Nucleus motorius n. facialis (rot) und Nucleus n. abducentis (grün) von dorsolateral.

In Abb. 11 ist der markierte Colliculus facialis dargestellt, in Abb. 12 und 13 die dreidimensionale Rekonstruktion.

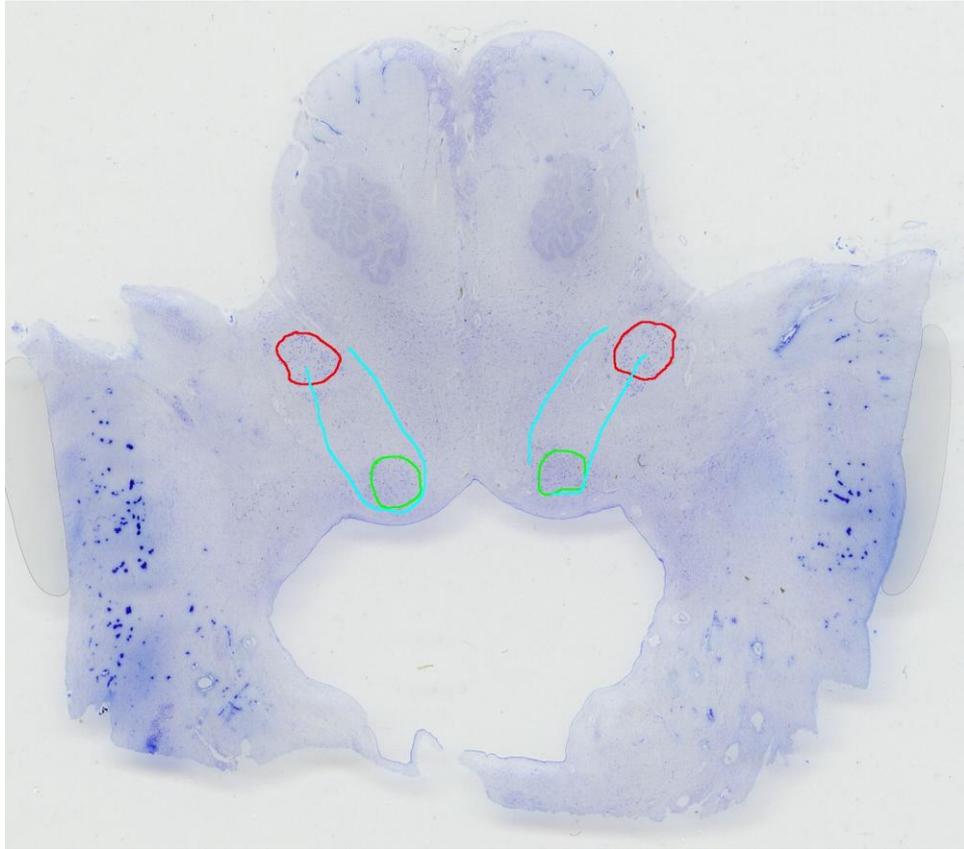


Abbildung 11: Schnitt des Hirnstammes mit Ncl. n. abducentis (grün), Ncl. motorius n. facialis (rot) und Colliculus facialis (türkis).

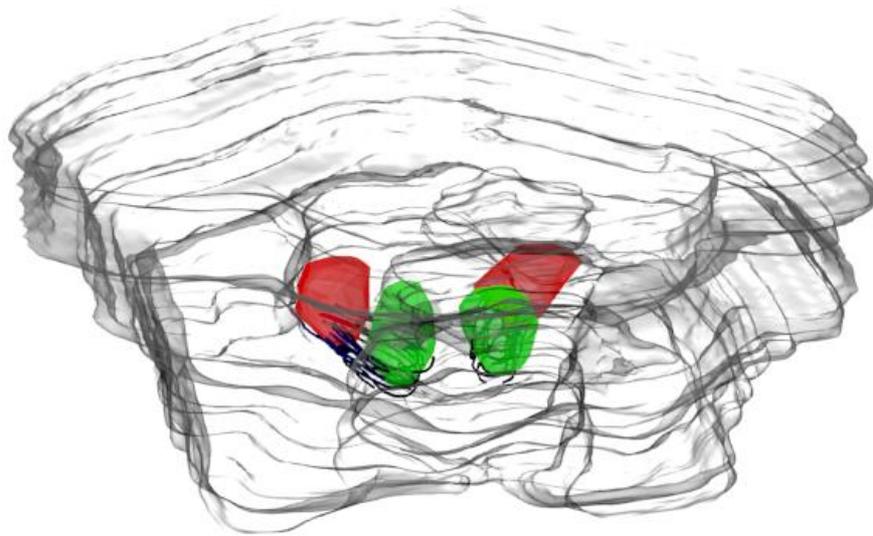


Abbildung 12: Dreidimensionale Rekonstruktion des Hirnstammes mit Ncl. n. abducentis (grün), Ncl. motorius n. facialis (rot) und Colliculus facialis (blau) im Hirnstamm von dorsal.

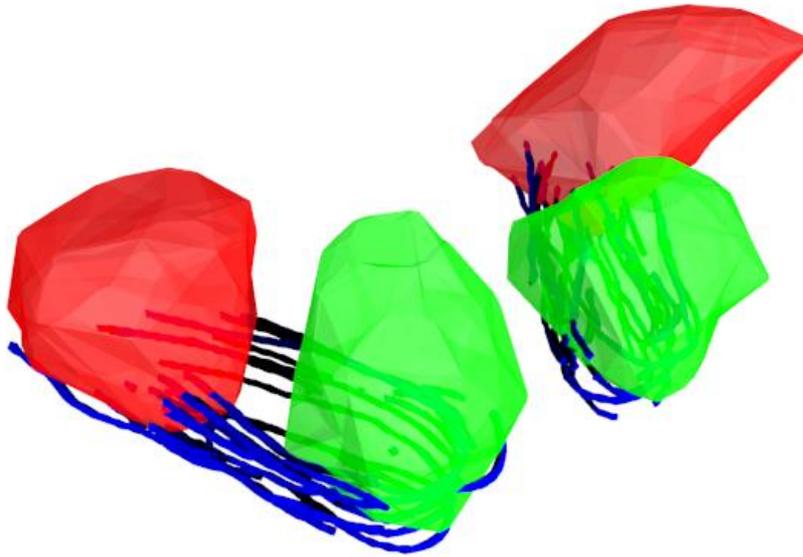


Abbildung 13: Dreidimensionale Rekonstruktion des Hirnstammes mit Ncl. n. abducentis (grün), Ncl. motorius n. facialis (rot) und Colliculus facialis (blau) ohne Hirnstamm von links dorsolateral.

5. Diskussion

Die dreidimensionale Darstellung des Hirnstammes mit den motorischen Kernen von N. abducens und N. facialis, sowie dem Colliculus facialis könnten mit einem dreidimensional rekonstruierten MR-Datensatz eines Patienten fusioniert werden und ein Hilfsmittel darstellen, welches bereits bei der Planung der Operation zur Anwendung kommen kann. Hierbei könnten die Hirnnervenkerne in die mittels MRT-Bildgebung erstellte Neuronavigation eingefügt und anhand von Ableitungen motorischer EMG-Antworten intraoperativ verifiziert werden. In der vorliegenden Arbeit wurden die Hirnnervenkerne Ncl. n. abducentis und Ncl. motorius n. facialis mittels der Kresylviolett-Färbung in seriell geschnittenen humanen Hirnstämmen dargestellt. Der Hirnstamm wurde sodann rekonstruiert, sodass die Kerne dort in ihrer tatsächlichen Lage und Größe sichtbar wurden.

Die drei genannten Strukturen liegen im Hirnstamm, wobei der Ncl. nervi abducentis weit medial im caudalen Pons liegt, der Ncl. motorius n. facialis liegt im mittleren Pons, unterhalb des Trigeminskerns. Die Fasern des Ncl. n. facialis ziehen von ventrolateral nach dorsal um den Ncl. nervi abducentis herum nach medial und bilden dabei das innere Fazialisknie. Die Fasern werfen den Colliculus facialis auf, der im Boden der Rautengrube liegt.

Es ist keine Arbeit bekannt, welche serielle Schnitte des humanen Hirnstammes nutzt, um die Ncl. motorius n. facialis und Ncl. n. abducentis dreidimensional darzustellen. In verschiedenen anatomischen Studien wurde eine serielle Schnittführung verwendet, um die zweidimensionale Topographie des Hirnstammes bestimmen zu können. Im Atlas of the Human Brainstem von Paxinos (Paxinos, 1995), wurde ein humaner Hirnstamm mit einer Länge von 6,4cm mit dem Kryotom in 1600 40µm dicke Präparateschnitte aufgearbeitet, auf Objektträger gebracht und im Wechsel mit Kresylviolett und Acetylcholinesterase gefärbt. Danach wurden die Schnitte fotografiert und via Scanner digitalisiert. Die auf den Schnitten sichtbaren, anatomischen Strukturen wurden identifiziert und markiert. Die Beurteilung erfolgte in 1mm Schritten ausgehend vom Obex, welcher als Nullpunkt festgelegt wurde, nach oben bzw. nach unten. Paxinos et al. stellten eine Gesamtlänge des Ncl. motorius n. facialis von 4mm fest. Verglichen hiermit ist der motorische Kern des N. facialis in der vorliegenden Arbeit mit im Mittel 5,52mm (G1:6,1mm, G8: rechts 4,8mm, links 5,7mm, G9: 5,2mm) länger. Im genannten Atlas zeigt sich eine Länge des Ncl. n. abducentis von 4mm, der

Mittelwert der hier ausgewerteten Kerne zeigt eine Länge von 3,55mm (G1: 3,2mm, G8: 3,25mm, G9: 4,2mm). Die unterschiedlichen Ergebnisse können eine Differenz der einzelnen Individuen anzeigen, oder auf eine unterschiedliche Beurteilung hindeuten. Paxinos beurteilte 40µm dicke Schnitte und beschreibt den Hirnstamm im Atlas in 1mm Schichten. In der hier vorliegenden Arbeit wurde jeder der 50µm dicken Schnitte zur Beurteilung verwendet, was zur Folge haben kann, dass auch einzelne Nervenzellkerne mit einbezogen wurden, da keine 1mm-Abstufung vorgenommen wurde, wie dies im Atlas geschah. Dies kommt vor allem in den Randbereichen der Kerne zum tragen mit möglicherweise different zum Atlas festgelegten oberen und unteren Rändern der Kerne. Andererseits ist auch denkbar, dass Paxinos et al. vereinzelte Zellkerne nicht als hinzugehörend werteten und diese im Atlas nicht beschrieben. In den hier untersuchten Hirnstämmen ist der Ncl. motorius n. facialis zwischen 13,3mm im Präparat G1 und 21,85mm im Präparat G9 erstmalig oberhalb des Obex sichtbar (G8: links 20,3mm, rechts 15,55mm). Der Ncl. n. abducentis ist zwischen 16,15mm (G1) und 21,15mm (G9) oberhalb des Obex sichtbar (G8: 20,75mm). Da auch Unterschiede in Bezug auf den Obex (caudalster Punkt der Rautengrube, an der Arachnoidea und Ependym in einander übergehen) zu Tage treten, ist auch von nicht unerheblichen interindividuellen Unterschieden auszugehen.

Strauss et al. fertigten eine serielle Schnittbildgebung von 6 humanen Hirnstämmen in Höhe des Colliculus facialis an (Strauss, Lütjen-Drecoll et al., 1997). Die 4-10µm dicken Präparateschnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin und jeder 10. der Schnitte mit einer Bodiansilber-Lösung gefärbt. Alle Schnitte wurden bzgl. des Colliculus facialis und der Kerne von N. motorius n. facialis und N. abducens morphometrisch analysiert. Dies ergab eine Distanz des Ncl. n. facialis zur Fossa rhomboidea von 5,1mm (4,37-5,79mm) und 4,8mm zur Mittellinie (alle Werte stellen Mittelwerte dar). Verglichen mit der vorliegenden Arbeit, zeigen sich geringe Differenzen, wobei der Mittelwert (s. Ergebnisteil) der geringsten Entfernung zur Fossa rhomboidea mit 6,33mm (links) und 6,67mm (rechts), sowie die geringste Entfernung zur Mittellinie mit 7,72mm (links) und 6,7mm (rechts) festgehalten werden konnte. Für die morphometrischen Bestimmungen des Ncl. n. abducentis ergab sich bei Strauss et al. eine craniocaudale Länge von 3,9mm, eine Entfernung zur Mittellinie von 2,9mm und zur Fossa rhomboidea von 2mm. Die gesamte Länge des Ncl. n. abducentis stellte sich im Mittelwert in der vorliegenden Arbeit mit 3,55mm dar. Die Entfernung zur Mittellinie betrug 3,25mm (Mittelwert) und zur Fossa rhomboidea 0,68mm (Mittelwert). Im Vergleich zur eigenen Untersuchung bestehen also geringe Lage- und Größenunterschiede, welche einerseits interindividuellen Ursprungs sein könnten, andererseits aber auch auf die bei

Strauss et al. verwendete Schnittführung zurückgeführt werden könnte. Hierbei wurde der Hirnstamm medial geteilt und die eine Seite in axialer, die andere in sagittaler Schnittführung aufgearbeitet, wodurch es zu einer minimalen Verschiebung der Mittellinie gekommen sein kann.

In einer Arbeit von Vraa-Jensen aus dem Jahr 1942 wurden fünf Hirnstämme von verstorbenen, zerebral gesunden Menschen untersucht. Hierzu wurden die Hirnstämme in 10µm Präparate geschnitten und auf Objektträger aufgebracht. Zwei der Hirnstämme wurden als vollständige Serie untersucht und mit Galloxyanin-Chromalaun gefärbt. Von den anderen drei Hirnstämmen wurde nur jeder fünfte Schnitt gefärbt, wobei zwei Präparateserien gemäß dem Weil-Kern-Echtröt Protokoll und einer mit Toluidinblau behandelt wurden. Der Fazialiskern zeigte hier eine Länge von 3 bis 3,5 mm. Die frontale Ausdehnung betrug 2,5 bis 3mm und sagittal ca. 1mm.

Auch andere Aufzeichnungen sind bekannt, die den Hirnstamm, Hirnnerven im Bereich des Hirnstamms oder Hirnnervenkerne untersuchten und darstellten. Häufig untersucht und erforscht wurden dabei Nagetiere wie Frettchen (Bishop, McClung et al., 2007), Ratten (Toga, Samaie et al., 1989) oder Meerschweinchen (Staiger und Nurnberger, 1991) aber auch Salamander (Roth, Nishikawa et al., 1988). Außerdem wurden Versuche mit Katzen (Watson, Sakai et al., 1982), Hunden (Coben, 1967) und Affen (Halliday und Tork, 1986) durchgeführt, sowie mit Seekühen (Marshall, Vaughn et al., 2007) und verschiedenen Reptilienarten (Atobe, Nakano et al., 2004; Zhu und Keifer, 2005).

Courville untersuchte die Topographie des Nucleus motorius n. facialis an Katzen (Courville, 1966). Ziel der Arbeit war die Untersuchung des Ncl. facialis, wobei die Frage beantwortet werden sollte, ob jeder vom N. facialis innervierte Muskel, bzw. der zugehörige Nervenast einer speziellen Region im Hirnnervenkern zugeordnet werden kann. Hierzu wurde zehn neugeborenen Katzen während einer Narkose mit Nembutal der linke N. facialis oder einer seiner Äste durchtrennt und elektrisch stimuliert, um eine Zuordnung zur innervierten Muskulatur vornehmen zu können. Am 4. postoperativen Tag wurden die Versuchstiere durch eine Überdosis Nembutal getötet und die Hirnstämme entnommen. Diese wurden nach der Dehydratation in Paraffin eingebettet und seriell in 15µm dicke Präparate in axialer und horizontaler Ebene geschnitten. Jeder fünfte Schnitt wurde mit Thionin gefärbt und mit dem Mikroskop beurteilt. Topographisch ergab sich hieraus, dass der Nucleus n. facialis mit seinem ventrolateralen Anteil im vorderen Bereich der Medulla oblongata liegt, oral die obere

Olive berührt und nach caudal an den Nucleus ambiguus heranreicht. Medial reicht der Kern bis zur Formatio reticularis und lateral, sowie ventral an den Funiculus lateralis. Eine Zuordnung der Nervenäste konnte folgendermaßen vorgenommen werden: die intermediär gelegenen Zellkerne sind für die Innervierung von Ramus temporalis und Ramus zygomaticoorbitalis verantwortlich, die laterale Gruppe für die Rami buccolabialis superior und inferior, die ventromediale Gruppe für den Ramus colli und die dorsomedialen Zellkerne versorgen den Ramus auricularis posterior.

Auch der Nucleus nervi abducentis wurde bislang größtenteils an Tieren untersucht. Beispielsweise haben Bishop et al. den Musculus rectus lateralis, sowie den Ncl. n. abducentis an Frettchen untersucht (Bishop, McClung et al., 2007). Dies geschah in zwei Teilschritten. Zuerst wurden EMG-Untersuchungen und anschließend anatomische Studien durchgeführt. Vor der Tötung erhielten die Tiere 25-40µg einer Mischung aus horseradish-peroxidase und der Untereinheit des Cholera-toxins. Anschließend wurden serielle Schnitte mit einer Dicke von 50µm aus drei entnommenen Hirnstämmen angefertigt und mit rotem Farbstoff gegen gefärbt. Das Resultat nach Beurteilung mit dem Mikroskop waren 183 ± 27 verstreut liegende Motoneuronen ventral des Genu facialis. Der Durchmesser betrug im Mittel $27,1 \pm 4,3\mu\text{m}$ und eine korrespondierende Länge von $\sim 650\mu\text{m}$.

Wesentlich häufiger als durch anatomische Studien, wurden humane Hirnstämme mittels funktionellem MRT untersucht. Die funktionelle Magnetresonanztomographie ist ein Verfahren, bei dem physiologische Vorgänge des Körpers mittels MRT-Bildgebung visualisiert werden. So haben beispielsweise Komisaruk et al. mit funktionellen MRT-Untersuchungen ermittelt, ob bestimmte Areale des Hirnstamms, bzw. Hirnnervenkerne im Hirnstamm dargestellt werden können, wenn Probanden bestimmte Bewegungen durchführen, oder sensorischen Reizen ausgesetzt werden (Komisaruk, Mosier et al., 2002). Als Untersuchungstechnik wurde die BOLD (blood oxygenation level dependent) -Kontrastmethode verwendet, bei der das Bildsignal vom Sauerstoffgehalt der roten Blutkörperchen abhängt (Belliveau, Kennedy et al., 1991; Dale und Buckner, 1997).

Mittels dieser Methode untersuchten Komisaruk et al. neben der sensorischen Trigeminafunktion durch Berühren der Haut, die hypoglossale Funktion durch Drücken der Zunge an den harten Gaumen, die Funktion des Nucleus ambiguus durch Schlucken auch die Funktion des Nucleus tractus solitarii durch Schmecken von süßen, sauren, salzigen und bitteren Aromen. Des Weiteren wurden die Lagen der

Hirnnervenkerne von N. facialis und N. abducens ermittelt. Der N. facialis wurde stimuliert, indem die Probanden lächeln und die Lippen verziehen mussten. Bei der Lokalisation des Ncl. n. abducentis bestand die Aufgabe, die Augen von rechts nach links zu bewegen. Für die beiden letztgenannten Hirnnervenkerne ergab sich eine Reizantwort, die zu 44% reproduzierbar war. Die beste und am besten zu reproduzierende Reizantwort ergab die Untersuchung des Ncl. ambiguus mit 78%. Der N. trigeminus konnte mit der untersuchten Methode am schlechtesten (33%) dargestellt werden. Diese Methode der räumlichen Darstellung kann somit nur unter Vorbehalt angewandt werden und keine erhöhte Sicherheit während einer Operation darstellen.

In Zusammenschau der Literatur kann festgehalten werden, dass sowohl der Ncl. n. abducentis, als auch der Ncl. motorius n. facialis nicht hinlänglich untersucht sind, um eine räumliche Darstellung der Strukturen zu erreichen, welche im Rahmen neurochirurgischer Operationen hilfreich sind. Mit den gängigen Methoden können die z. B. elektrophysiologisch identifizierten Strukturen geschont, jedoch nicht visualisiert werden.

Um den Verlauf der Fazialisfasern darzustellen, welche den Colliculus facialis aufwerfen, erfolgte nach Entfärbung der gewünschten Präparateschnitte eine Färbung mit Silbernitrat. Als Ergebnis stellte sich der Verlauf dar, der bereits einige Male in der Literatur vorbeschrieben wurde (Strauss, Lütjen-Drecoll et al., 1997). Diese vorbeschriebenen Ergebnisse beinhalten jedoch keine EDV-gestützten, mehrdimensionalen Abbildungen, ein direkter Vergleich ist somit in der vorliegenden Arbeit nicht möglich. Die hier gelungene dreidimensionale, digitalisierte Darstellung bildet aber die Grundlage für die Integration der Topographie in die Neuronavigation und damit für die intraoperative Anwendung.

6. Schlussfolgerung und Perspektiven

Das Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist ein Teilbereich eines größeren Projektes, bei dem neben den hier beschriebenen Strukturen noch weitere motorische Hirnnervenkerne des Hirnstamms dreidimensional dargestellt wurden. Ziel des gesamten Projektes war es, ein dreidimensionales Modell des Hirnstammes zu entwickeln, welches die wichtigsten motorischen Kerne enthält. Das Modell, das auch hinsichtlich von Schrumpfungprozessen während der Präparateherstellung untersucht wurde, soll mit dem MR-Datensatz eines Patienten koregistriert und intraoperativ mit der Neuronavigation genutzt werden. So kann mittels Navigation die Lokalisation der Hirnnervenkerne erleichtert und die räumliche Orientierung verbessert werden.

Perspektivisch ist es denkbar, mit der verwendeten Methode noch weitere Hirnnervenkerne, wie beispielsweise die Augenmuskelkerne im Mittelhirn darzustellen. Auch die Darstellung des Ncl. ambiguus könnte mit einer hierfür speziell konzipierten Methode gelingen. Dies wäre interessant, da es sich um einen neurochirurgisch wichtigen Kern handelt, der sich elektrophysiologisch oft nicht selektiv stimulieren lässt, da er weit in der Tiefe liegt. Des Weiteren wäre die Darstellung anderer Strukturen, welche im Rahmen eines Zugangs zum Hirnstamm durch den vierten Ventrikel gefährdet sind, sinnvoll, so zum Beispiel der Fasciculus longitudinalis medialis, welcher als auf- und absteigende Verbindung wichtig für die Koordination der konjugierten Augenbewegung ist.

7. Zusammenfassung

Die raumfordernden Prozesse im Hirnstamm erfordern häufig eine operative Behandlung. Zur Schonung des umliegenden Gewebes bestehen etablierte Verfahren, wie die Neuronavigation und die intraoperative Funktionsüberwachung mittels elektrophysiologischer Stimulation. Über letztere können funktionell wichtige Areale erkannt und dadurch geschont werden. Eine dreidimensionale Darstellung des Hirnstamms mit den sensiblen Strukturen ist jedoch bislang nicht erfolgt.

In dieser Arbeit wurde eine Methode vorgestellt, um auf der Basis feingeweblicher Schnitte humaner Hirnstämme, mit etablierten Verfahren schwer zu lokalisierende Strukturen darzustellen. Als Beispiel für die Anwendung wurden die motorischen Hirnnervenkerne von N. facialis und N. abducens, sowie der Colliculus facialis dreidimensional dargestellt.

In der klinischen Anwendung können das erstellte Model und der MR-Datensatz eines Patienten fusioniert und während neurochirurgischer Operationen als weitere Sicherheitsmaßnahme eingesetzt werden.

8. Literaturverzeichnis

Atobe, Y, Nakano M, Kadota T, Hisajima T, Goris RC, Funakoshi K (2004). "Medullary efferent and afferent neurons of the facial nerve of the pit viper *Gloydius brevicaudus*." *J Comp Neurol* 472(3): 345-57.

Belliveau JW, Kennedy DN Jr., McKinstry RC, Buchbinder BR, Weisskoff RM, Cohen MS, Vevea JM, Brady TJ, Rosen BR (1991). "Functional mapping of the human visual cortex by magnetic resonance imaging." *Science* 254(5032): 716-9.

Bishop KN, McClung JR, Goldberg SJ, Shall MS (2007). "Anatomic and physiological characteristics of the ferret lateral rectus muscle and abducens nucleus." *J Appl Physiol* 103(5): 1706-14.

Bogucki J, Czernicki Z, Gielecki J (2000). "Cytoarchitectonic basis for safe entry into the brainstem." *Acta Neurochir (Wien)* 142(4): 383-7.

Cedzich C, Taniguchi M, Schäfer S, Schramm J (1996). "Somatosensory evoked potential phase reversal and direct motor cortex stimulation during surgery in and around the central region." *Neurosurgery* 38(5): 962-70.

Coben LA (1967). "Absence of a foramen of Magendie in the dog, cat, rabbit, and goat." *Arch Neurol* 16(5): 524-8.

Courville J (1966). "The nucleus of the facial nerve; the relation between cellular groups and peripheral branches of the nerve." *Brain Res* 1(4): 338-54.

Dale AM, Buckner RL (1997). "Selective averaging of rapidly presented individual trials using fMRI." *Hum Brain Mapp* 5(5): 329-40.

Denk H, Forster O, Kovac W, Kraft D (1968). "[Arthus reaction in the rat paw. Histological and immunofluorescent studies and their correlation to the edema formation]." *Zentralbl Bakteriol Orig* 208(1): 227-45.

Golgi C (1989). "On the structure of nerve cells. 1898." *J Microsc* 155(Pt 1): 3-7.

Gomori G (1937). "Silver Impregnation of Reticulum in Paraffin Sections." *Am J Pathol* 13(6): 993-1002 5.

Halliday GM, Tork I (1986). "Comparative anatomy of the ventromedial mesencephalic tegmentum in the rat, cat, monkey and human." *J Comp Neurol* 252(4): 423-45.

- Komisaruk BR, Mosier KM, Liu WC, Criminale C, Zaborszky L, Whipple B, Kalnin A (2002). "Functional localization of brainstem and cervical spinal cord nuclei in humans with fMRI." *AJNR Am J Neuroradiol* 23(4): 609-17.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Scheithauer BW, Kleihues P (2007). "The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system." *Acta Neuropathol* 114(2): 97-109.
- Marshall CD, Vaughn SD, Sarko DK, Reep RL (2007). "Topographical organization of the facial motor nucleus in Florida manatees (*Trichechus manatus latirostris*)." *Brain Behav Evol* 70(3): 164-73.
- Moskopp D, Wassmann H (2004). *Neurochirurgie*. Stuttgart.
- Paxinos G (1995). *Atlas of the Human Brainstem*. San Diego, Academic Press.
- Prell J, Rachinger J, Scheller C, Alfieri A, Strauss C, Rampp S (2010). "A real-time monitoring system for the facial nerve." *Neurosurgery* 66(6): 1064-73; discussion 1073.
- Prell J, Rampp S, Romstöck J, Fahlbusch R, Strauss C (2007). "Train time as a quantitative electromyographic parameter for facial nerve function in patients undergoing surgery for vestibular schwannoma." *J Neurosurg* 106(5): 826-32.
- Romstöck J, Strauss C, Fahlbusch R (2000). "Continuous electromyography monitoring of motor cranial nerves during cerebellopontine angle surgery." *J Neurosurg* 93(4): 586-93.
- Roth G, Nishikawa K, Dicke U, Wake DB (1988). "Topography and cytoarchitecture of the motor nuclei in the brainstem of salamanders." *J Comp Neurol* 278(2): 181-94.
- Sala F, Krzan MJ, Deletis V (2002). "Intraoperative neurophysiological monitoring in pediatric neurosurgery: why, when, how?" *Childs Nerv Syst* 18(6-7): 264-87.
- Staiger JF, Nurnberger F (1991). "The efferent connections of the lateral septal nucleus in the guinea pig: projections to the diencephalon and brainstem." *Cell Tissue Res* 264(3): 391-413.
- Strauss C, Lütjen-Drecoll E, Fahlbusch R (1997). "Pericolicular surgical approaches to the rhomboid fossa. Part I. Anatomical basis." *J Neurosurg* 87(6): 893-9.

Strauss C, Romstöck J, Fahlbusch R (1999). "Pericollicular approaches to the rhomboid fossa. Part II. Neurophysiological basis." *J Neurosurg* 91(5): 768-75.

Toga AW, Sarnaie M, Payne BA (1989). "Digital rat brain: a computerized atlas." *Brain Res Bull* 22(2): 323-33.

Tomas R, Haninec P, Houstava L (2006). "The relevance of the corticographic median nerve somatosensory evoked potentials (SEPs) phase reversal in the surgical treatment of brain tumors in central cortex." *Neoplasma* 53(1): 37-42.

Watson CR, Sakai S, Armstrong W (1982). "Organization of the facial nucleus in the rat." *Brain Behav Evol* 20(1-2): 19-28.

Zhu D, Keifer J (2005). "Distribution of facial motor neurons in the pond turtle *Pseudemys scripta elegans*." *Neurosci Lett* 373(2): 134-7.

Thesen

1. Serielle Hirnstammschnitte, Kresylviolett-färbung, Silberimprägnation, Digitalisierung und Segmentierung eignen sich zur topographischen Analyse wichtiger Areale im Boden der Rautengrube.
2. Mit der angewendeten Technik lassen sich die Hirnnervenkerne Ncl. motorius n. facialis, Ncl. n. abducentis und der Colliculus facialis dreidimensional darstellen.
3. Diese 3D-Darstellung liefert Informationen über Lage und Größe der Kerne, sowie über deren räumliche Beziehung zu benachbarten Strukturen.
4. Durch diese Informationen wird dem Neurochirurgen ein neues Hilfsmittel an die Hand gegeben, das die räumliche Orientierung verbessern hilft.
5. Das Modell lässt sich um andere interessante Strukturen erweitern.

Lebenslauf

| | |
|----------------------|--------------------------------------|
| Name | Alexandra Rachinger, geb. Beißwenger |
| Geburtsdatum | 08.11.1979 |
| Geburtsort | Stuttgart |
| Nationalität | Deutsch |
| Familienstand | Verheiratet |

Schulbildung

| | |
|-------------------|--------------------------------|
| 09/1986 – 03/1998 | Freie Waldorfschule Winterbach |
| 03/1998 – 07/2000 | Merz-Gymnasium Stuttgart |
| 07/2000 | Allgemeine Hochschulreife |

Studium

| | |
|-----------|---|
| 2001-2009 | Humanmedizin, Martin-Luther-Universität Halle, Staatsexamen und Approbation als Ärztin |
| 03/2006 - | Studium der Gesundheitsökonomie an der SRH Fernfachhochschule Riedlingen |
| 03/2008 | Betriebswirt für Gesundheitsökonomie (FH/HB) |

Berufsweg

| | |
|--------------|--|
| seit 07/2009 | Assistenzärztin, Universitätsklinik und Poliklinik für Neurochirurgie, Martin-Luther-Universität Halle- Wittenberg |
|--------------|--|

Alexandra Rachinger

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbst und nur unter Hinzuziehung der im Literaturverzeichnis aufgeführten Hilfsmittel verfasst habe.

Halle, 28.11.2012

Alexandra Rachinger

Danksagung und Widmung

Ich danke meinem Ehemann und Betreuer für die fortwährende Unterstützung.

Gewidmet sei diese Arbeit meinen Eltern, die mich zu jeder Zeit motiviert und unterstützt haben.