

Aus dem Institut für Anatomie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. Jürgen Westermann

**Morphometrische Untersuchungen des
enterischen Nervensystems im
menschlichen Rektum**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Medizinischen Fakultät -

Vorgelegt von
Kathrin Soost
aus Georgsmarienhütte

Lübeck 2005

1. Berichterstatter: PD Dr. med. Thilo Wedel

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Erich Reusche

.....

Tag der mündlichen Prüfung: 18.07.2005.....

Zum Druck genehmigt,

Lübeck, den 18.07.2005.....

gezeichnet: Prof. Dr. med. Wolfgang Jelkmann

.....

Dekan der Fakultät Klinische Medizin

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG UND LITERATURÜBERSICHT	1
1.1	Das enterische Nervensystem	1
1.1.1	Definition	1
1.1.2	Historisches	1
1.1.3	Strukturelle Organisation	2
1.1.4	Funktionen	6
1.2	Besonderheiten des enterischen Nervensystems im menschlichen Rektum	7
1.2.1	Morphologie	7
1.2.2	Morphometrische Daten	8
1.2.3	Klinische Relevanz	10
2	ZIEL DER UNTERSUCHUNGEN	12
3	MATERIAL UND METHODEN	14
3.1	Material	14
3.1.1	Rektum-Präparate	14
3.2	Methoden	15
3.2.1	Aufarbeitung und Fixierung	15
3.2.2	Histologie	16
3.2.3	Immunhistochemie	16
3.2.4	Morphometrie	17
3.2.5	Befunddokumentation	21
4	ERGEBNISSE	22
4.1	Strukturelle Organisation des enterischen Nervensystems im menschlichen Rektum	22
4.1.1	Plexus myentericus	22
4.1.2	Besonderheiten des rektalen enterischen Nervensystems	24
4.2	Morphometrische Befunde des enterischen Nervensystems	

	des menschlichen Rektums	27
4.2.1	Ganglien	27
4.2.2	Nervenzellen	31
4.2.3	Nervenzellgehalt der Ganglien	33
4.2.4	Nervenfasern	35
4.2.5	Ratio zwischen Ganglien und Nervenfasern	37
4.2.6	Einfluß von Alter und Geschlecht	38
5	DISKUSSION	40
5.1	Strukturelle Organisation des enterischen Nervensystems des menschlichen Rektums	40
5.1.1	Histologische Darstellungsmöglichkeiten des enterischen Nervensystems	40
5.1.2	Morphologie des enterischen Nervensystems im menschlichen Rektum	41
5.2	Morphometrie des enterischen Nervensystems im menschlichen Rektum	44
5.3	Klinische Relevanz	48
5.3.1	Präoperative Diagnostik von Störungen der intestinalen Innervation	48
5.3.2	Beurteilung des enterischen Nervensystems in Ganzwandbiopsien	49
5.3.3	Morphometrische Befundung des enterischen Nervensystems als therapeutische Entscheidungshilfe	49
6	ZUSAMMENFASSUNG	51
7	LITERATUR	53
8	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	60
9	DANKSAGUNG	61

1 EINLEITUNG UND LITERATURÜBERSICHT

1.1 Das enterische Nervensystem

1.1.1 Definition

Der Gastrointestinaltrakt (GIT) verfügt über ein ausgedehntes und komplexes intramurales Nervensystem, das enterische Nervensystem (ENS). Zum ENS gehören alle neuronalen und glialen Elemente innerhalb des Gastrointestinaltraktes, in der Gallenblase, in den extrahepatischen Gallenwegen sowie im Pankreas (Costa et al. 1987). Es koordiniert und kontrolliert wesentliche gastrointestinale Funktionen wie Motilität, Resorption und Sekretion (Surprenant 1994). Das ENS stellt die größte Ansammlung von Nervenzellen außerhalb des Zentralnervensystems (ZNS) dar und agiert als intrinsisches System weitgehend unabhängig von übergeordneten nervalen Zentren. Der evolutionäre Gewinn der topographischen Auslagerung von Nervengewebe besteht in einer größeren Effizienz bei der Kontrolle gastrointestinaler Funktionen, in die das ZNS lediglich modulatorisch über extrinsische Nervenverbindungen eingreift. Diese Eigenschaften rechtfertigen die Abgrenzung des ENS als eigenständigen Teil des autonomen Nervensystems im Sinne eines "Cerebrum abdominale" oder "brain within the gut" (Wood 1987).

1.1.2 Historisches

John Newport Langley (1900) prägte um die Jahrhundertwende erstmals den Begriff des „enteric nervous system“ und bezeichnete es als „third division of the autonomic nervous system“. Damit revidierte er die tradierte Vorstellung, dass die Nerven des GIT lediglich Endstrecken des parasympathischen und sympathischen Nervensystems darstellen, und räumte dem ENS eine Sonderstellung innerhalb des Vegetativums ein.

Von Georg Meissner („Über die Nerven der Darmwand“, 1857) und

Leopold Auerbach („Fernere vorläufige Mitteilung über den Nervenapparat des Darmes“, 1864) stammen die ersten ausführlichen Monografien über die Anatomie des ENS. Diese Autoren gelten als Pioniere der morphologischen Charakterisierung des ENS und lieferten mit den in der damaligen Zeit zur Verfügung stehenden histologischen Techniken anatomisch überzeugende Darstellungen. Neben Henle (1879), Schabadasch (1930) und Stöhr (1952) wurden sie zu den Namensgebern der intestinalen Nervengeflechte.

Den ersten Beleg dafür, dass die Nervenzellen innerhalb dieser Nervengeflechte keine uniforme Zytoarchitektur aufweisen sondern unterschiedlichen Typen zuzuordnen sind, stellten die detaillierten Zeichnungen von Alexander S. Dogiel (1899) dar. Ausgehend von Dogiels „Drei-Neuronen-Theorie“ konnte Stach (zusammenfassende Darstellung bei Stach, 1989) in den Siebziger Jahren mit Hilfe von Versilberungstechniken eine „Multi-Neuronen-Theorie“ etablieren, nach der sich über sechs Nervenzellpopulationen innerhalb des ENS morphologisch abgrenzen lassen.

1.1.3 Strukturelle Organisation

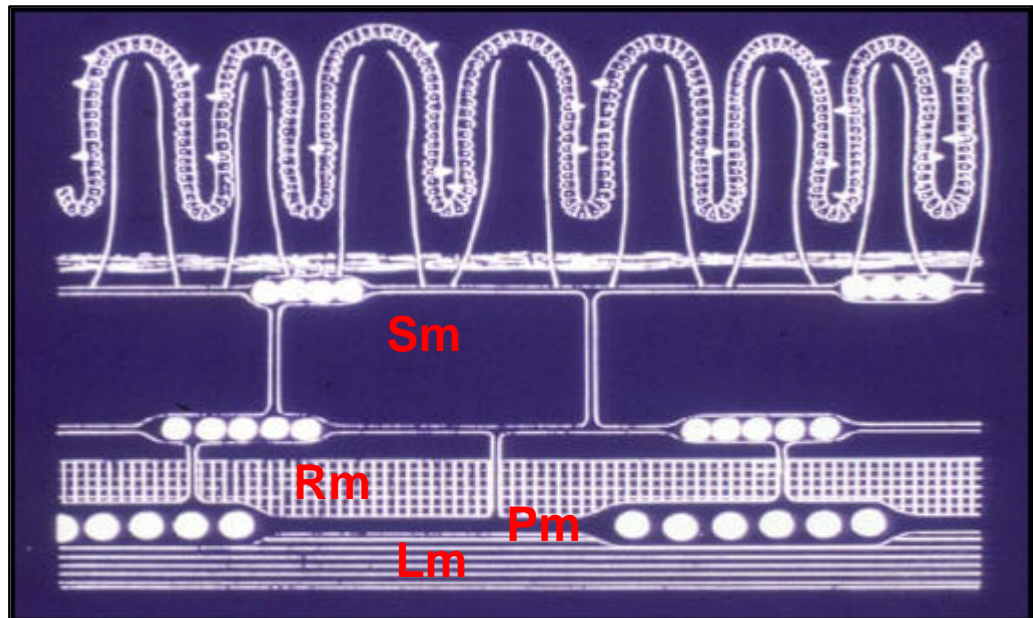
Die Gesamtanzahl der im GIT befindlichen Nervenzellen wird auf etwa 150 Millionen beziffert und ist damit der Anzahl der Rückenmarksneurone vergleichbar (Furness und Costa 1987). Diesem hohen intramuralen Nervenzellgehalt steht eine relativ geringe Anzahl von circa 2000 efferenten Fasern des Nervus vagus gegenüber (Hoffmann und Schnitzlein 1969). Deshalb wird trotz einer möglichen divergenten nervalen Versorgung eine sinnvolle, allein zentral gesteuerte Koordinierung der Darmfunktionen bezweifelt und das Konzept einer relativen Unabhängigkeit des ENS propagiert (Gershon 1981).

Kleinste Baueinheiten des ENS sind die enterischen Nervenzellen als eigentliche erregungsleitende Strukturen, bestehend aus Soma, Axon und Dendriten, sowie die enterischen Gliazellen mit Nähr- und

Stützfunktionen. Beide Zellpopulationen gruppieren sich zu Ganglien, die durch interganglionäre Nervenfasernstränge verbunden sind und flächenhafte Netzwerke, die sog. Plexus, innerhalb der Darmwand bilden.

Die intramuralen Plexus befinden sich in verschiedenen Ebenen und zeigen eine für jede Darmwandschicht charakteristische Architektur. Die Bemühungen um eine einheitliche Nomenklatur wurden vor allem dadurch erschwert, dass die Arrangements der Plexus in den unterschiedlichen Abschnitten des GIT sowie bei verschiedenen Spezies zum Teil erheblichen Variationen unterliegen. Trotz dieser architektonischen Unterschiede lassen sich bei allen Säugetieren in zwei Etagen der Darmwand ganglionäre Plexus nachweisen (Abb. 1): Der Plexus myentericus (Auerbach-Plexus) in der Tunica muscularis zwischen Längs- und Ringmuskelschicht sowie der Plexus submucosus (Meissner-Plexus) innerhalb der Tela submucosa.

Abbildung 1: ENS-Plexus im Querschnitt



Sm: Submucosa, Rm: Ringmuskelschicht; Pm: Plexus myentericus, Lm: Längsmuskelschicht

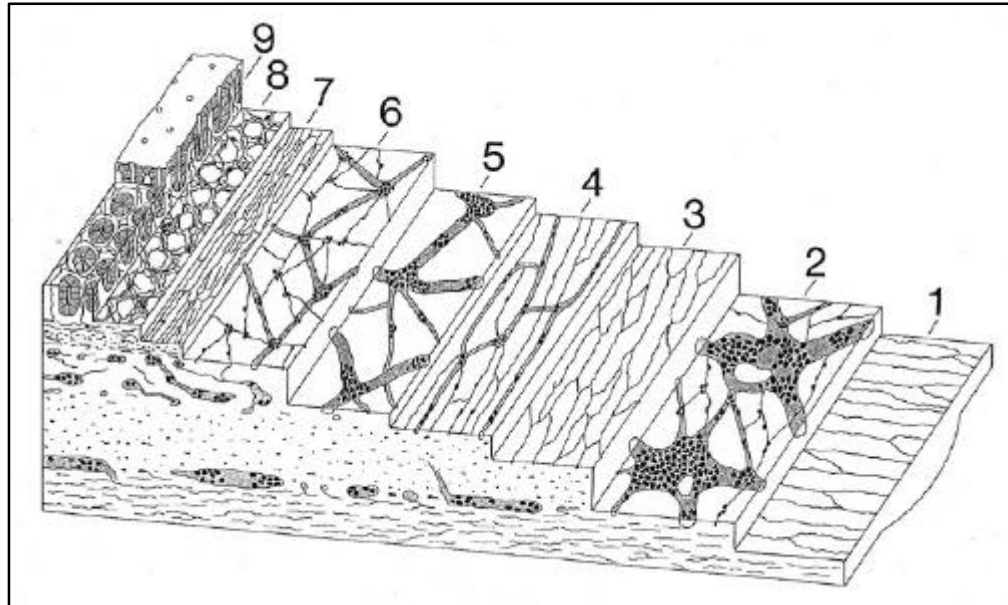
Widersprüchliche Auffassungen bestehen über die Existenz zweier separater submuköser Nervengeflechte. Während einige Autoren lediglich ein submuköses Nervengeflecht beschreiben (Schoefield 1968; Furness und Costa 1980, 1987), unterscheiden andere Arbeitsgruppen insbesondere bei größeren Säugern aufgrund der Topographie, Architektur und Neurotransmitterausstattung jeweils einen der Ringmuskelschicht aufliegenden Plexus submucosus externus (Schabadasch-Plexus) und einen der Schleimhaut benachbarten Plexus submucosus internus (Meissner-Plexus) (Gunn 1968; Ohkubo 1936; Schabadasch 1930; Scheuermann und Stach 1984; Stach 1977; Stach et al. 1993; Timmermans et al. 1992, 1997).

Neben diesen ganglionären Plexus wird die Darmwand darüber hinaus von nervenzellfreien bzw. -armen Plexus durchzogen. Sie bestehen aus vorwiegend parallel verlaufenden Nervenfasernsträngen, die häufig als Fortsätze der genannten Hauptplexus aufgefasst werden (Gershon 1981; Krammer 1993a) und folgende Nervengeflechte umfassen: den Plexus mucosus in der Lamina propria mucosae, den Plexus muscularis mucosae in der Lamina muscularis mucosae, den Plexus muscularis circularis im Stratum circulare sowie den Plexus muscularis longitudinalis im Stratum longitudinale der Tunica muscularis.

Für das menschliche Kolon konnte basierend auf Befunden an Schnitt- und Schichtpräparaten ein Bauplan des ENS erstellt werden (Wedel et al. 1999), der alle oben genannten Plexus einschließt (Abb. 2)

Obwohl die einzelnen Nervengeflechte eine horizontale Anordnung innerhalb der Darmwandschichten aufweisen, stehen alle intramuralen Plexus durch vertikal verlaufende Nervenfasernstränge eng miteinander in Verbindung. So konnte mit Hilfe supravitaler und postmortaler Tracing-Studien aufgezeigt werden, dass Nervenzellen aus unterschiedlichen Provenienzen, d.h. sowohl aus myenterischen als auch aus submukösen Ganglien, bis in die Zotten der Mukosa hinein projizieren (Brehmer et al. 1999).

Abbildung 2: Dreidimensionales Schema des ENS im menschlichen Kolon (nach Wedel et al. 1999)



1: *Plexus muscularis longitudinalis*; 2: *Plexus myentericus*; 3: *Plexus muscularis circularis*; 4: *Plexus submucosus extremus*; 5: *Plexus submucosus externus*; 6: *Plexus submucosus internus*; 7: *Plexus muscularis mucosae*; 8: *Plexus mucosus subglandularis*; 9: *Plexus mucosus periglandularis*;

Eine neurochemische Charakterisierung enterischer Nervenzellen ergab, dass fast alle der ursprünglich im ZNS nachgewiesenen Neurotransmitter bzw. Neuromodulatoren auch innerhalb des ENS angetroffen werden (Gershon et al. 1994). Neben den klassischen Transmittern des parasympathischen und sympathischen Nervensystems verfügen die Darmwandnervenzellen über non-adrenerge, non-cholinerge (NANC) Überträgerstoffe unterschiedlichster Substanzklassen wie z.B. Amine, Aminosäuren, Peptide, Purine, Opioide oder Gase. Dieses breite Spektrum neuroaktiver Substanzen ermöglicht es dem ENS, auf Organebene komplexe lokalnervöse Reflexbögen auszuführen und zu modulieren (Furness und Bornstein 1995).

1.1.4 Funktionen

Das ENS verfügt, wie andere integrative Systeme, über drei funktionelle Komponenten (Gershon 1981): sensorischer Input - verschaltendes Interneuron - motorischer Output. Es gewährleistet damit sowohl die Registrierung als auch die Verarbeitung und Beantwortung von Reizen. Sensorische Rezeptoren (z.B. Mechano-, Nozi-, Chemo- oder Osmorezeptoren) empfangen Informationen über die Funktionszustände des GIT und leiten sie an Interneurone weiter, die den Hauptanteil der enterischen Nervenzellen ausmachen. Sie verarbeiten und modulieren die sensorischen Informationen und kontrollieren die Aktivität exzitatorisch oder inhibitorisch wirkender Motorneurone. Diese sind in der Lage, Reaktionsmuster in den verschiedensten Effektorsystemen auszulösen, zu erhalten oder zu hemmen (Wood 1987). Zu den wesentlichen Effektoren, auf die das ENS im GIT wirkt, zählen die glatten Muskelzellen, das exkretorische und resorptive Epithel, die Blutgefäße sowie enteroendokrine und immunkompetente Zellen (Gabella 1976). Entsprechend beeinflusst das ENS neuroendokrine, neuroimmunologische und neurosekretorische Interaktionen und ist an der Regulierung der Resorption von Nährstoffen, Wasser und Elektrolyten beteiligt (Cooke 1987).

Eine der vorrangigen Aufgaben des ENS ist die Generierung und Koordinierung einer regelrechten gastrointestinalen Motilität (Wood 1987). Der peristaltische Reflex, der zur rhythmischen Kontraktion und Dilatation der Darmwand führt und einen gerichteten Transport des Darminhaltes ermöglicht, beruht auf den bereits erwähnten lokalnervösen Mechanismen, den sog. „intestinal reflex circuits“. Die essentielle Rolle des ENS bei der Vermittlung koordinierter motorischer Funktionen wird besonders deutlich, wenn enterische Nervenzellen anlagebedingt fehlen bzw. postnatal geschädigt worden sind. In diesen Fällen verliert der betroffene Darmabschnitt seine Fähigkeit zur Generation geordneter Motilitätsmuster und verfällt aufgrund der ausbleibenden modulatorischen Aktivität des ENS in einen dauerhaften

Spasmus.

1.2 Besonderheiten des enterischen Nervensystems im menschlichen Rektum

1.2.1 Morphologie

Der Grundbauplan des ENS des Rektums entspricht weitgehend dem des übrigen Kolons (siehe Abb. 2). Dennoch bestehen in diesem letzten Abschnitt des GIT morphologische Besonderheiten.

Aldrige und Campbell (1968) wiesen erstmals darauf hin, dass die Gangliendichte offensichtlich nach aboral, d.h. in Richtung Analsphinkter, abnimmt. Auch Kumar und Phillips (1989) zeigten in ihrer deskriptiven Untersuchung des menschlichen Plexus myentericus, dass im Bereich des Rektums weniger Ganglien auszumachen sind als in den übrigen Kolonabschnitten. In einer weiteren Studie (Fleischhauer et al. 1965) wird ebenfalls festgestellt, dass die Nervenzellanzahl im menschlichen Kolon nach aboral abnimmt. Darüber hinaus sind nach Fleischhauer et al. im Bereich des M. sphincter ani internus weder in der Tunica muscularis (Plexus myentericus) noch innerhalb der Tela submucosa (Plexus submucosus) Ganglienzellen zu finden. Entsprechend ist nach Ansicht dieser Autoren der letzte Abschnitt des Rektums physiologischerweise als aganglionär zu bezeichnen.

Im Gegensatz dazu gehen Aldrige und Campbell (1968) von einer sog. hypoganglionären Zone aus, deren Ausmaß variabel ist. Sie wird definiert als die Zone zwischen Linea dentata (Übergang vom rektalen Zylinderepithel zum Plattenepithel des Anoderm) und dem Beginn des normoganglionären Rektumabschnittes.

Weinberg (1970) beschäftigte sich ebenfalls mit dem Ausmaß bzw. der Definition der hypoganglionären Zone anhand von Rektumpräparaten und definierte sie als die Strecke gemessen ab dem M. sphincter ani internus bis zum vollständig entwickelten Plexus myentericus. Aufgrund der diskrepanten Datenlage ließ sich bisher keine eindeutige Aussage

darüber treffen, ob das physiologische Innervationsmuster des distalen Rektums als hypo- oder aganglionär anzusehen ist.

In anderen Zusammenhängen wird der Begriff Hypoganglionose als pathologisches Innervationsmuster verstanden. So wird beispielsweise beim M. Hirschsprung die Übergangszone zwischen dem aganglionären Kolonsegment und den normal innervierten Kolonabschnitten als hypoganglionär bezeichnet. Auch anderen intestinalen Motilitätsstörungen zugrunde liegende histopathologische Veränderungen des ENS, wie z.B. beim Megakolon und oder der sog. Slow-transit constipation, werden als Hypoganglionosen beschrieben (Stoss et al. 1994, Howard et al. 1984, Wedel et al. 2002a). Eine Hypoganglionose wurde ebenfalls als neuropathologisches Korrelat bei der idiopathischen intestinalen Pseudoobstruktion sowie der chronischen Obstipation bei Kindern nachgewiesen (Ariel et al. 1985, Munakata et al. 1992, Meier-Ruge et al. 1997).

Neben der verminderten Ganglienausstattung stellt das Vorkommen von myelinisierten Nervenfasern eine weitere Besonderheit des Rektums dar. Während die Nervenfasern im distalen Rektumabschnitt prominent und zahlreich sind, nimmt ihr Durchmesser und ihre Anzahl proximalwärts ab. Beim Menschen sind sie im Sigma nicht mehr nachweisbar. Topographisch befinden sich die Nervenfasern in unmittelbarer Nähe zum Plexus myentericus (Weinberg 1970). Sie werden auch als sog. Shunt-Faszikel (Kumar und Phillips 1989) bzw. ascendierende pelvine Nerven (Stach 1989) bezeichnet, da angenommen wird, dass sie die nervale Verbindung zwischen dem Plexus pelvicus bzw. Plexus hypogastricus inferior einerseits und dem ENS andererseits darstellen.

1.2.2 Morphometrische Daten

In der Literatur liegen nur wenige Studien vor, die sich auf Basis morphometrischer Kriterien mit der Innervation des menschlichen Rektums beschäftigten. So gaben Fleischhauer et al. (1965) ihre

Befunde in semiquantitativer Form wieder, indem jede Ganglionzelle mit einem Punkt im Schnittpräparat gekennzeichnet und damit nur ungefähre Angaben zur Verteilung der Nervenzelldichte möglich waren.

Weinberg (1970) verwandte Hämatoxylin-Eosin gefärbte, longitudinal geschnittene Präparate, um die histologischen Besonderheiten des Plexus myentericus beim kindlichen Rektum zu beschreiben. Dabei wurden drei definierte Zonen vermessen: Zone A entspricht dem distalen Rand des M. sphincter ani internus (Hilton Linie) bis zur Linea dentata, Zone B der Hilton Linie bis zum Erscheinen der ersten Ganglionzelle, Zone C der Hilton Linie bis zum vollständig entwickelten Plexus myentericus.

Die bisher detailliertesten Angaben stammen von Aldrige und Campbell (1968), die die Nervenzell- und Ganglienverteilung des Rektums anhand morphometrisch nachvollziehbarer Kriterien untersuchten. So wurden sowohl in longitudinalen als auch in transversalen Schnitten Ganglien und Nervenzellen ausgezählt (Anzahl/cm). Allerdings erfolgten die Messungen lediglich in drei Höhen (0.5 cm, 1.5 cm und 2.5 cm ab Linea dentata) und basierten auf konventionellen histologischen Färbungen (Hämatoxylin-Eosin). Somit konnten neuronale Strukturen nicht spezifisch markiert werden, wie dies mit immunhistochemischen Färbungen möglich gewesen wäre. Darüber hinaus handelte es sich ausschließlich um kindliche Rektumpräparate. Morphometrische Daten zur Morphologie der Nervenfasern wurden nicht erhoben, sondern lediglich deskriptiv dargestellt.

Kumar und Phillips (1989) verwendeten ebenfalls keine immunhistochemischen Färbemethoden für die Darstellung des rektalen ENS, sondern verwandten silberimprägnierte Häutchenpräparate. Ähnliches gilt für die von Christensen et al. (1983, 1987) erhobenen Befunde, die in deskriptiver Form eine morphologische Charakterisierung des rektalen Plexus myentericus wiedergeben. Es handelte sich dabei um vergleichende Studien unterschiedlicher Tierspezies ohne Einbeziehung menschlicher

Präparate.

Zusammenfassend läßt sich festhalten, dass keine der aufgeführten Untersuchungen hinsichtlich der eingesetzten Färbetechnik (spezifische Darstellung des ENS durch immunhistochemische Methoden), der morphometrischen Parameter (Ganglien, Nervenzellen und Nervenfasern), der interessierenden Region (gesamtes Rektum) sowie des untersuchten Kollektives (erwachsene Altersklassen) vollständige Daten vorlegen konnte. Somit sind keine Voraussetzungen gegeben, um eine reliable histopathologische Diagnostik des rektalen ENS beim Menschen – insbesondere bei erwachsenen Patientenkollektiven – durchführen zu können.

1.2.3 Klinische Relevanz

Die Beurteilung und Diagnose von non-aganglionären kolorektalen Innervationsstörungen erfolgt bis zum heutigen Zeitpunkt nicht einheitlich und unterliegt häufig subjektiven Kriterien. Hierbei bereiten vor allem die Hypoganglionose und die intestinale neuronale Dysplasie (IND) diagnostische Schwierigkeiten – wie in einer Interobserver-Studie von Koletzko et al. (1999) aufgezeigt werden konnte. So kamen verschiedene Pathologen nach histopathologischer Beurteilung derselben Präparate zu unterschiedlichen Bewertungen der zugrunde liegenden intestinalen Innervationsstörungen.

Um eine zuverlässige histopathologische Diagnostik zu ermöglichen, werden Normwerte benötigt, die an gesunden Kontrollkollektiven erhoben werden müssen. Entscheidend ist dabei die Erfassung sowohl der Ganglienanzahl- und -größe als auch die Anzahl der darin enthaltenen Nervenzellen sowie die morphometrische Charakterisierung der begleitenden Nervenfaserverstränge. Diese Parameter sollten separat für unterschiedliche Höhen innerhalb des Rektums von der Sphinkterebene bis zum proximalen Ende des Rektums ermittelt werden.

Nur auf diese Weise ist es möglich, rektale Ganzwandbiopsien

histopathologisch im Vergleich zum Normalkollektiv beurteilen zu können. Klinisch relevant wird dieses Bestreben vor allem dann, wenn bei Patienten mit kolorektalen Passagestörungen ohne Vorliegen einer Aganglionose andere, sog. non-aganglionäre Innervationsstörungen ausgeschlossen bzw. nachgewiesen werden sollen. Vor Indikation einer Kolonteilresektion wäre es in diesen Fällen wünschenswert, durch transanal gewonnene Ganzwandbiopsien eine Aussage über den „neuronalen Status“ der Darmwand treffen und der intestinalen Passagestörung ggf. ein organisches Korrelat zuordnen zu können.

2 ZIEL DER UNTERSUCHUNGEN

Vor dem Hintergrund des aktuellen Wissenstandes müssen bezüglich des rektalen ENS folgende Feststellungen gemacht werden:

- ? Aufgrund diskrepanter Literaturangaben bleibt die Frage ungeklärt, ob das Rektum des Menschen in seinem letzten Abschnitt durch eine physiologische Hypoganglionose oder Aganglionose charakterisiert ist.
- ? Bisherige morphometrische Daten zum ENS sind zu ungenau, um als Grundlage für eine histopathologische Diagnostik herangezogen zu werden. Es liegen keine Untersuchungen vor, in denen eine systematische Quantifizierung des ENS des menschlichen Rektums vorgenommen wurde. So wurde das ENS häufig mit unspezifischen Färbungen dargestellt, seine Komponenten unvollständig erfaßt, die Höhenangaben zu ungenau wiedergegeben, oder lediglich kindliches Untersuchungsmaterial verwendet.
- ? Aus klinischer Sicht ist die histopathologische Beurteilung des ENS eine wichtige Säule in der Diagnostik chronischer kolorektaler Passagestörungen. Insbesondere, wenn keine komplette Aganglionose (M. Hirschsprung) vorliegt und der Verdacht auf hypoganglionäre Veränderungen besteht, sind exakte Referenzwerte für eine zuverlässige Diagnose erforderlich.

Aus den aufgeführten Punkten ergeben sich folgende Arbeitsziele:

- ? Die systematische Beschreibung der strukturellen Organisation des ENS im menschlichen Rektum.
- ? Die Optimierung der selektiven immunhistochemischen Darstellung des ENS an Schnittpräparaten des menschlichen Rektums.
- ? Die morphometrische Analyse aller strukturellen Komponenten des ENS des menschlichen Rektums.
- ? Die Erstellung von Normwerten zur histopathologischen Beurteilung

transmuraler Rektumbiopsien bei Patienten mit chronischen kolorektalen Passagestörungen.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material

3.1.1 Rektum-Präparate

Als Untersuchungsmaterial dienten Rektum-Präparate von Patienten (n=15, 5 Frauen und 10 Männer, Altersspanne: 32- 89 Jahre, Durchschnittsalter: 62,2 Jahre), die im Institut für Pathologie obduziert wurden (Tab. 1). Die Todesursachen dieser Patienten waren ausschließlich extra-gastrointestinalen Genese. In der Vorgeschichte ergaben sich keine Hinweise für gastrointestinale Erkrankungen, insbesondere für gastrointestinale Motilitätsstörungen.

Tabelle 1: Patientenkollektiv

Alter (Jahre)	Geschlecht	Grunderkrankung
52	w	Zerebrale Blutung
32	m	Ösopagusvarizen, Leberzirrhose, Nierenversagen
59	m	Pharynx-Karzinom
47	m	Subdurale Hirnblutung
77	w	Aortendissektion, koronare Herzkrankheit
38	m	Akute myeloische Leukämie, Aspergillensepsis
46	w	Septischer Schock bei Z.n. Lebertransplantation
67	m	Subarachnoidale Hirnblutung
70	m	Chronische lymphatische Leukämie
78	w	Intracerebrale Blutung
76	w	Herzinfarkt
83	m	Chronisch-obstruktive Lungenerkrankung, Herzinfarkt
53	m	Zungengrund- Karzinom
89	m	Herzinfarkt, Pneumonie
67	m	Metastasierendes Bronchial- Karzinom

m = männlich, w = weiblich

Zwischen Eintritt des Todes und dem Zeitpunkt der Präparatentnahme lagen weniger als 8 Stunden. Die Präparatentnahme erfolgte mit Einverständnis des Institutes für Pathologie der Universität Lübeck. Vor

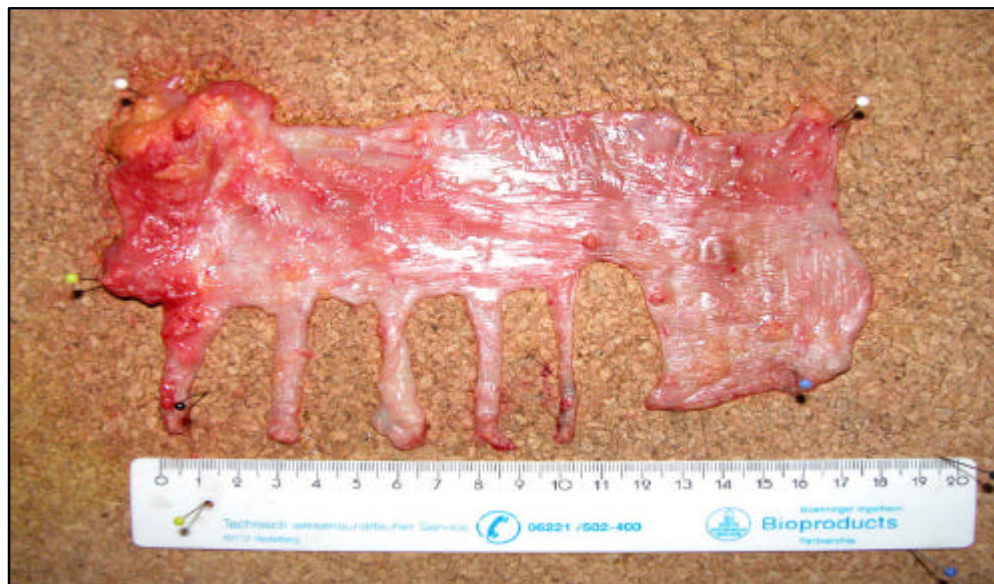
der weiteren Aufarbeitung wurde das Präparat sorgfältig auf etwaige Pathologica inspiziert.

3.2 Methoden

3.2.1 Aufarbeitung und Fixierung

Das gesamte intakte Rektum einschließlich der Sphinkterregion und des Anoderms wurde im Institut für Pathologie reseziert, der Länge nach aufgeschnitten, gesäubert und inspiziert. Das Präparat wurde für die nachfolgenden Untersuchungen – beginnend von der Linea dentata nach oral – in sechs, jeweils 2 cm breite Abschnitte unterteilt, deren Längsseite parallel zur Verlaufsrichtung der Ringmuskelschicht orientiert war (Abb. 3).

Abbildung 3: Natives Rektum-Präparat mit Einteilung der Segmente



Längsinziertes Rektumpräparat mit rechteckigen Entnahmestellen der 6 Segmente. Der aborale Rand mit der Sphinkterregion liegt links im Bild.

Folgende Kodierung wurde für die jeweiligen Abschnitte vorgenommen: Abschnitt 1 (0-2 cm), Abschnitt 2 (2-4 cm), Abschnitt 3 (4-6 cm), Abschnitt 4 (6-8 cm), Abschnitt 5 (8-10 cm), Abschnitt 6 (10-12 cm). Um die normalen in-situ-Verhältnisse zu wahren, wurde das Präparat vor Einteilung in die verschiedenen Abschnitte auf eine Korkplatte spannungsfrei aufgenadelt. Die anschließende Immersionsfixierung

erfolgte im sog. Zamboni-Fixans (0.1 M PBS, 4% Paraformaldehyd, 0.2% Pikrinsäure) für 24 h.

3.2.2 Histologie

Zur allgemeinen histologischen Orientierung und Beurteilung der Rektumwand wurden zunächst konventionelle histologische Färbungen durchgeführt. Dazu wurden die transmuralen Gewebeblöcke in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und über Xylol in Paraffin eingebettet. Die angefertigten Serienschnitte (Schnittdicke: 6 µm) wurden mit Hämatoxylin-Eosin und Azan gefärbt.

3.2.3 Immunhistochemie

Die selektive Darstellung des ENS durch immunhistochemische Verfahren wurde im Rahmen von Vorexperimenten zunächst an Gefrierschnitten durchgeführt. Hierbei zeigte sich jedoch, dass der als neuronaler Marker eingesetzte Antikörper gegen Protein Gene Product (PGP) 9.5 auch an Paraffinschnitten zur vergleichbaren Immunreaktivität bei einem insgesamt besseren Strukturerhalt führte. Deshalb konnte für die immunhistochemische Visualisierung des ENS auf Paraffinserienschnitte zurückgegriffen werden. Eine Vorbehandlung der Schnittpräparate im Sinne eines Antigen-Retrievals war nicht erforderlich. Das detaillierte Protokoll ist der Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 2: Protokoll für immunhistochemischen Nachweis des ENS an Paraffinschnitten der Rektumwand

Fixierung	4% Zamboni-Fixans	24 h
	Dehydrierung in Alkoholreihe, Xylol Überführung in Paraffin	3 Tage
Primärinkubation	Einstellen in PBS	10 min
	PGP 9.5, in Diluent 1:800	über Nacht
Sekundärinkubation	Spülen mit PBS	5 min
	GAR, in Diluent	Über Nacht
Farbentwicklung	Spülen mit PBS	10 min
	PAP, rabbit 1:100	1 h
	Spülen mit PBS	10 min
	AEC	1-2 min
	Spülen mit PBS	15 min
Gegenfärbung	Hämalaun	20 min
	Bläuen in Leitungswasser	10 min
	Eindecken mit Aquatex	

Zamboni:	<i>0.1 M PBS, 4% Paraformaldehyd, 0.2% Pikrinsäure</i>
PBS:	<i>0.1 M Phosphatpuffer (phosphate buffered saline), pH 7.4</i>
Diluent	<i>Antikörperverdünnungsmedium (Fa. DAKO)</i>
PGP 9.5:	<i>Protein Gene Product 9.5 (Ultraclone, U.K.), 1:800</i>
GAR:	<i>Goat-Anti-Rabbit-IgG (DAKO, Dänemark), 1:100</i>
PAP:	<i>Peroxidase-Anti-Peroxidase-Complex (DAKO, Dänemark), 1:100</i>
AEC:	<i>Gebrauchslösung: 250 µl Amino-Ethyl-Carbazol (8 mg/ml), 7,25 ml Acetat-Puffer (pH 5.2), 75 µl 3% H₂O₂</i>

3.2.4 Morphometrie

Die morphometrischen Untersuchungen des rektalen ENS erfolgten an PGP 9.5-markierten, mit Hämalaun gegengefärbten Schnittpräparaten. Die Messapparatur bestand aus einem Lichtmikroskop (Axiophot, Zeiss), einer Digitalkamera (Axiocam, Zeiss) sowie einem PC (Abb. 4). Die interessierenden Regionen wurden mit einem 10x Objektiv digital registriert und mit Hilfe der KS 100 Software (Zeiss) vermessen. Dazu wurde ein spezielles Makro geschrieben, das ein schnelles Einlesen der Messparameter erlaubte. Die anschließende Bearbeitung der Rohdaten

sowie die statistischen Berechnungen erfolgten mit entsprechenden Software-Paketen (Excel 7.0, SPSS 11, Sigmaplot 7.0).

Abbildung 4: Versuchsaufbau zur morphometrischen Analyse des ENS



Das Lichtmikroskop ist mit einer Digitalkamera ausgerüstet, die an eine PC-Einheit angeschlossen ist und das Ausmessen der Strukturen am gescannten Bild durch entsprechende Software erlaubt.

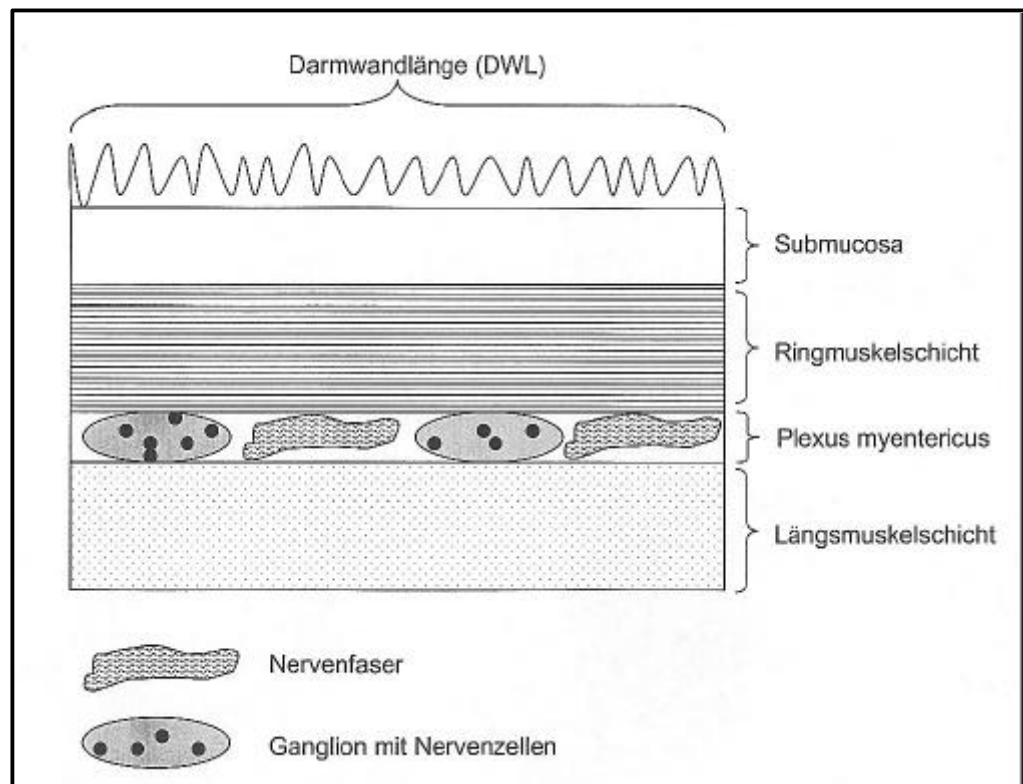
Folgende Komponenten des ENS des Plexus myentericus wurden morphometrisch erfaßt (Abb. 5):

- ? Ganglien: PGP 9.5-immunreaktive Strukturen wurden als Ganglien definiert, wenn sie Nervenzellen enthielten. Registriert wurden die Fläche, der Umfang sowie der minimale und maximale Durchmesser. Darüber hinaus wurde ein sog. Formfaktor ermittelt, der Aussage darüber zuläßt, ob das jeweilige Gebilde eher kreisrund oder langgestreckt war.
- ? Nervenzellen: Zellen, deren Kerne bzw. Zytoplasma immunreaktiv für PGP 9.5 waren, wurden als Nervenzellen definiert. Nervenzellen, deren Zellkerne sich außerhalb der Schnittebene befanden, wurden aus stereologischen Gründen von den anschließenden

Berechnungen ausgeschlossen, um eine Überschätzung der tatsächlich im Schnitt befindlichen Anzahl von Nervenzellen zu vermeiden. Registriert wurde die Anzahl der Nervenzellen innerhalb eines Ganglions.

- ? Nervenfasern: In Bündeln verlaufende, parallel zueinander ausgerichtete, PGP 9.5-immunreaktive Strukturen wurden als Nervenfasern definiert. Es wurden – wie bei den Ganglien – Fläche, Umfang sowie der minimale und maximale Durchmesser und der Formfaktor bestimmt. Feinste Nervenfasern mit einer Fläche $<500\mu\text{m}^2$ wurden zwar vermessen, jedoch von den Auswertungen ausgeschlossen.

Abbildung 5: Schematische Darstellung der morphometrisch erfaßten Komponenten des Plexus myentericus



Grundlage für die morphometrische Analyse des ENS in den unterschiedlichen Rektumabschnitten stellten folgende Variablen dar, die aus den Rohdaten berechnet wurden.

Ganglien

- ? Fläche
- ? Anzahl pro 100 mm Darmwandlänge
- ? Minimaler und maximaler Durchmesser
- ? Formfaktor

Nervenzellen

- ? Anzahl pro 100 mm Darmwandlänge
- ? Anzahl pro Ganglion

Nervenfasern

- ? Fläche
- ? Anzahl pro 100 mm Darmwandlänge
- ? Minimaler und maximaler Durchmesser
- ? Formfaktor

Ganglien und Nervenfasern

- ? Ratio: Anzahl der Ganglien zu Anzahl der Nervenfasern
- ? Ratio: Fläche der Ganglien zu Fläche der Nervenfasern

Als statistisches Verfahren zur Ermittlung signifikanter Unterschiede hinsichtlich der Verteilung von Ganglien, Nervenzellen und Nervenfasern wurde der Trendtest nach Page angewendet. Hierbei wurde in Abhängigkeit von $n=15$ und $k=6$ (Anzahl der Segmente) mittels einer Rangordnungstabelle der Wert „L beobachtet“ ermittelt und mit dem festgelegten Wert „L kritisch“ verglichen. Als Signifikanzniveau wurde 0.05 zugrunde gelegt.

Als ein weiteres statistisches Verfahren zur Ermittlung eines signifikanten Einflusses des Alters und des Geschlechtes der Patienten kam der U-Test (Mann-Whitney) für verteilungsfreie, unabhängige Stichproben zur Anwendung. Ein P-Wert > 0.05 wurde als signifikant bezeichnet. Die Berechnungen erfolgten gemeinsam mit dem Institut für Medizinische Biometrie und Statistik (Direktor: Prof. Dr. rer. nat. Ziegler) der Universität zu Lübeck.

3.2.5 Befunddokumentation

Zur lichtmikroskopischen Dokumentation der Befunde wurde die Software Axiovision (Zeiss) verwendet.

4 ERGEBNISSE

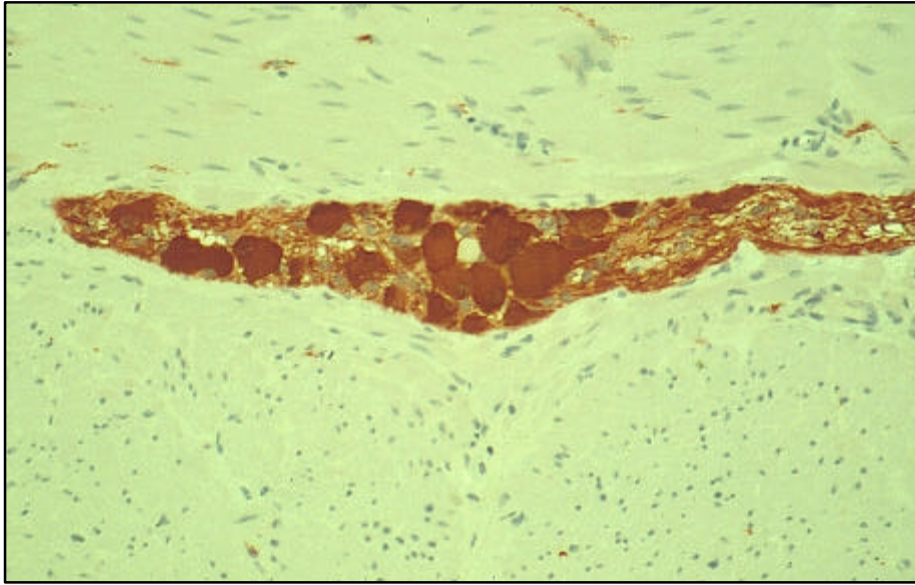
4.1 Strukturelle Organisation des enterischen Nervensystems im menschlichen Rektum

Die strukturelle Organisation des rektalen ENS entspricht weitgehend dem Bauplan des restlichen Kolons. Eine zusammenfassende Darstellung der anatomisch-topographischen Normverhältnisse ist der Abbildung 2 (Abschnitt 1.1.3) zu entnehmen. Im Folgenden werden die morphologischen Merkmale der einzelnen Plexuskompartimente am Beispiel des Plexus myentericus vorgestellt.

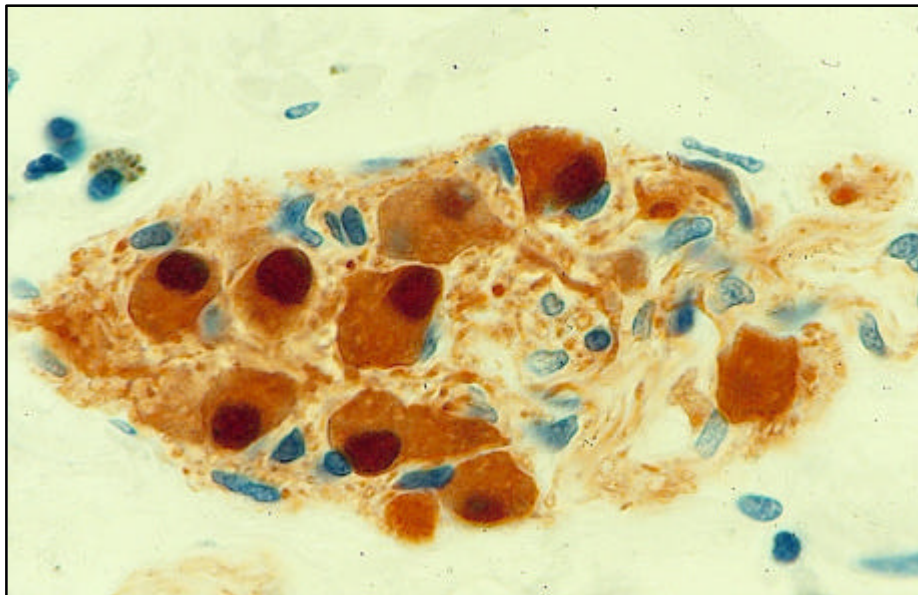
4.1.1 Plexus myentericus

Der Plexus myentericus erstreckte sich mit Ausnahme kleinerer Nervenfaserteile zwischen Ring- und Längsmuskelschicht der Darmwand (Abb. 6). Durch die polygonale Anordnung des myenterischen Nervengeflechtes erschien der Plexus im histologischen Querschnitt als eine Kette von Ganglien und Nervenfasernsträngen, die in regelmäßigen Abständen durch das Bindegewebe der intermuskulären Loge getrennt sind.

Innerhalb der Ganglien gruppierten sich die Nervenzellen häufig zu größeren Clustern. Das dazwischen befindliche ganglionäre Neuropil bestand aus ungeordnet verlaufenden Nervenzellfortsätzen und Gliazellen. In der PGP 9.5-Markierung und Hämalaun-Gegenfärbung ließen sich beide Zelltypen gut von einander unterscheiden (Abb. 7). Gliazellen zeigten keine PGP 9.5-Immunreaktivität auf und besaßen relativ kleine, rundliche und teilweise indentierte Zellkerne. Das umgebende Zytoplasma ließ sich aufgrund der unregelmäßigen Begrenzungen auf lichtmikroskopischer Ebene nicht klar abgrenzen. Nervenzellen waren immunreaktiv für PGP 9.5 und wiesen nach Farbreaktion mit Aminoethylcarbazol (AEC) hellrote Perikarya und dunkelrot-bräunliche Zellkerne mit prominenten Nucleoli auf.

Abbildung 6: Plexus myentericus

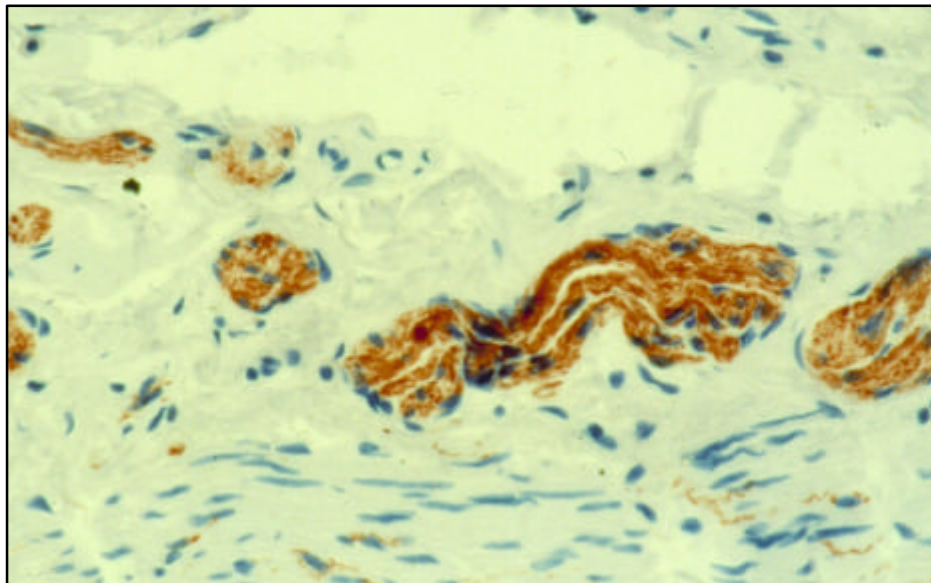
Plexus myentericus in der Bindegewebsloge zwischen Stratum circulare und longitudinale der Tunica muscularis. Das längliche Ganglion enthält zahlreiche dunkelrot angefärbte Nervenzellen, die vom ganglionären Neuropil umgeben sind. PGP 9.5-Färbung, Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung x 100.

Abbildung 7: Ganglion

Ganglion mit Nervenzellen, Gliazellen und Neuropil zusammen. Die Nervenzellen sind durch rote Perikarya und dunkelbraune Zellkerne gekennzeichnet. Gliazellen sind nicht immunoreaktiv für PGP 9.5 und durch ihre kleineren, blaugefärbten Zellkerne erkennbar. PGP 9.5-Färbung, Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung x 1000.

Die Ganglien wurden durch Nervenfasern miteinander verbunden. Charakteristisch für diese Komponenten des ENS waren in Bündeln und parallel zueinander verlaufende PGP 9.5-immunreaktive Zellfortsätze (Abb. 8). Die Ausrichtung der Nervenfasern war abhängig vom Anschnitt des Präparates, so dass sowohl Längs- als auch Querschnitte angetroffen wurden.

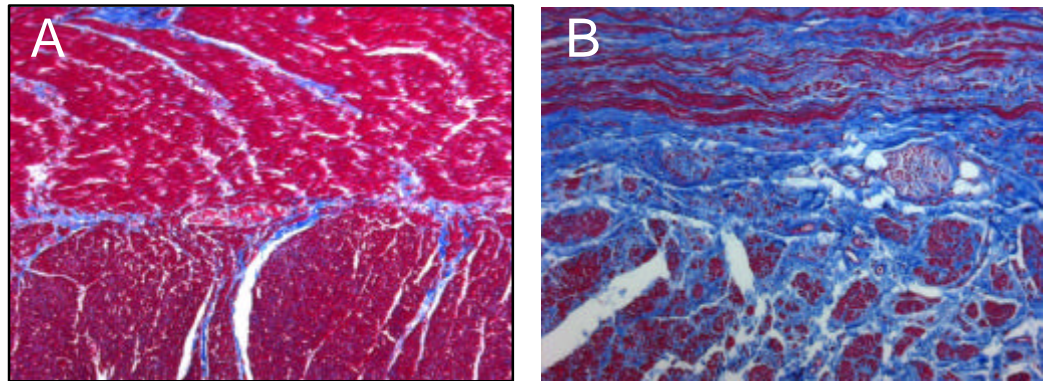
Abbildung 8: Nervenfasern



Nervenfasern sind gekennzeichnet durch parallel ausgerichtete, rot gefärbte neuronale Fortsätze. Die in den Nervenfasern eingelagerten Gliazellen sind nicht immunreaktiv für PGP 9.5 und lassen sich durch ihre blau gefärbten Nuclei abgrenzen. PGP 9.5-Färbung, Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung x 400.

4.1.2 Besonderheiten des rektalen enterischen Nervensystems

Im Vergleich zum restlichen Kolon wies das ENS des Rektums morphologische Besonderheiten auf, die im Folgenden hervorgehoben werden sollen. So nahm z.B. die bindegewebige Loge des Plexus myentericus nach aboral deutlich an Breite zu. Während im proximalen Rektum nur ein schmaler Bindegewebssaum Ring- und Längsmuskulatur voneinander trennte, verbreiterte sich die Plexusloge nach distal und wurde neben dem ENS häufig von größeren Blutgefäßen durchzogen (Abb. 9).

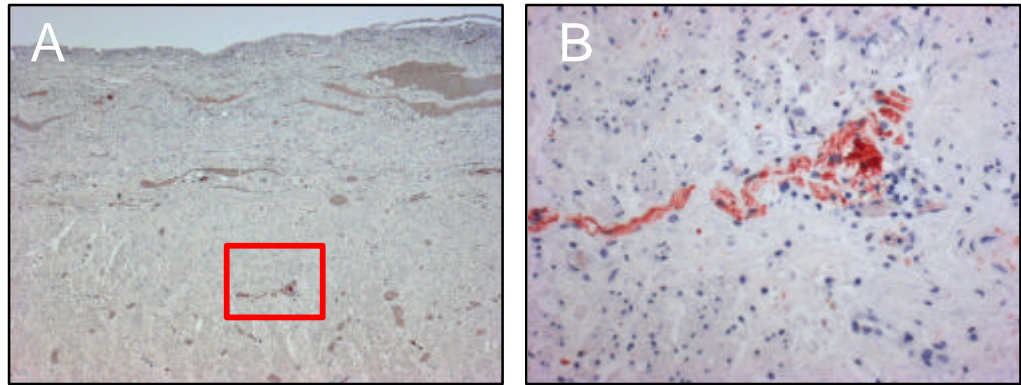
Abbildung 9: Loge des rektalen Plexus myentericus

A: Die Loge des Plexus myentericus in proximalen Rektumabschnitten ist schmal und von wenig Bindegewebe durchzogen. B: Nach aboral wird die Loge des Plexus myentericus deutlich breiter und enthält reichlich Bindegewebe zwischen der Ring- und Längsmuskelschicht. Färbung: Azan, Originalvergrößerung x 100.

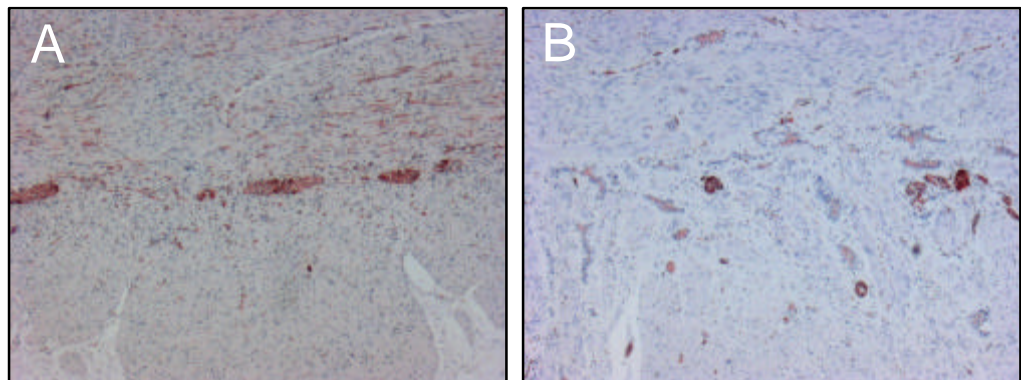
Auch die einheitliche, kettenförmige Anordnung von Ganglien und Nervenfasern in einer Ebene, wie sie innerhalb des proximalen Rektums typisch ist, wurde nach aboral von einem ungeordneteren Bild abgelöst. Ganglien und Nervenfasern des Plexus myentericus ordneten sich hier teilweise in zwei Ebenen an und zeigten keine klassischen kettenförmigen Formationen mehr.

Darüber hinaus befanden sich in distalen Rektumabschnitten kleinere Ganglien sowie einzelne Nervenzellen auch außerhalb der bindegewebigen Plexusloge. Sie waren sowohl in die Längs- als auch in die Ringmuskulatur der Rektumwand verlagert. Diese für das restliche Kolon untypische Ganglienlokalisierung wird als Ektopie oder Heteroropie bezeichnet, ist jedoch im distalen Rektum offensichtlich als Normalbefund anzusehen (Abb. 10).

Bereits bei bloßer Durchsicht der Präparate fiel auf, dass die Anzahl der Ganglien nach aboral abnimmt (Abb. 11). Dennoch ließen sich auch im am weitesten distal gelegenen Segment (Segment 1: 0-2 cm) Ganglien bzw. Nervenzellen nachweisen. Damit kann das tradierte Konzept einer physiologischen Aganglionose des distalen Rektums nicht unterstützt werden.

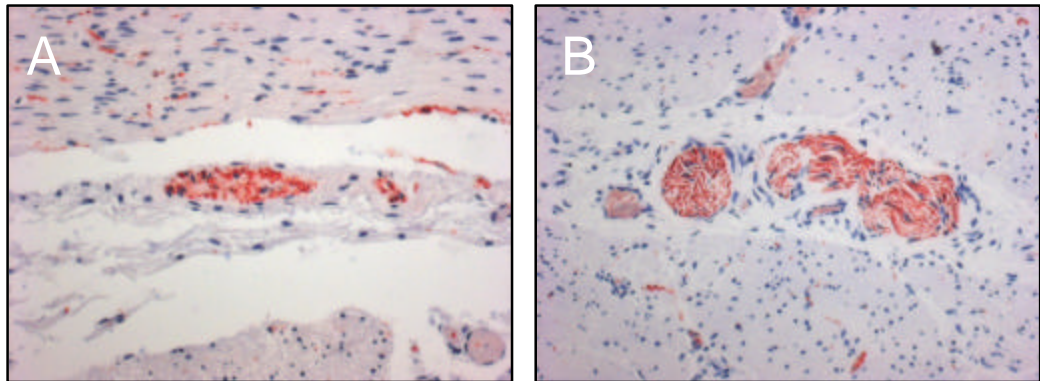
Abbildung 10: Heterotope Ganglien innerhalb der Rektumwand

A: Übersicht der distalen Rektumwand. Ein heterotopes bzw. ektopes Ganglion befindet sich ausserhalb der Loge des Plexus myentericus in der Langmuseklschicht. B: Vergrößerter Ausschnitt aus A (rotes Rechteck). PGP 9.5 – Färbung, Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung x 25 (A), x 200 (B).

Abbildung 11: Plexus myentericus des proximalen und distalen Rektum

A: Plexus myentericus des proximalen Rektum (Segment 6) mit einer Kette von längsovalen Ganglien. B: Plexus myentericus des distalen Rektum (Segment 1) mit rundlichen und spärlich verteilten Ganglien. PGP 9.5 – Färbung, Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung x 50.

Eine Durchmusterung der Nervenfasernstränge zeigte auf, dass im distalen Rektum zahlreiche großkalibrige Nervenfasernstränge die Plexusloge durchzogen (Abb. 12). Zum Teil besaßen sie ein eigenes ein- bis zweischichtiges Perineurium. Nach oral nahm die Anzahl dieser prominenten Nervenfasernstränge ab. Im proximalen Rektum ließen sie sich nicht mehr beobachten.

Abbildung 12: Nervenfasern des proximalen und distalen Rektum

A: Kleinkalibrige Nervenfasern im proximalen Rektum (Segment 6). B: Prominente Nervenfasern im distalen Rektum (Segment 1) mit längs- und querangeschnittenen Bündeln. PGP 9.5-Färbung, Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung x 200.

Zusammenfassend wies das rektale ENS innerhalb des Plexus myentericus folgende morphologische Besonderheiten auf:

- ? Verbreiterung der Plexusloge nach aboral
- ? Intramuskuläre Lage von Ganglien (Heterotopien)
- ? Abnahme der Gangliendichte nach aboral
- ? Zunahme großkalibriger Nervenfasern nach aboral

4.2 Morphometrische Befunde des enterischen Nervensystems des menschlichen Rektums

Im Folgenden werden die morphometrischen Daten des Plexus myentericus des menschlichen Rektums vorgestellt, die auf den unter 3.2.4 beschriebenen morphometrischen Untersuchungen basieren.

4.2.1 Ganglien

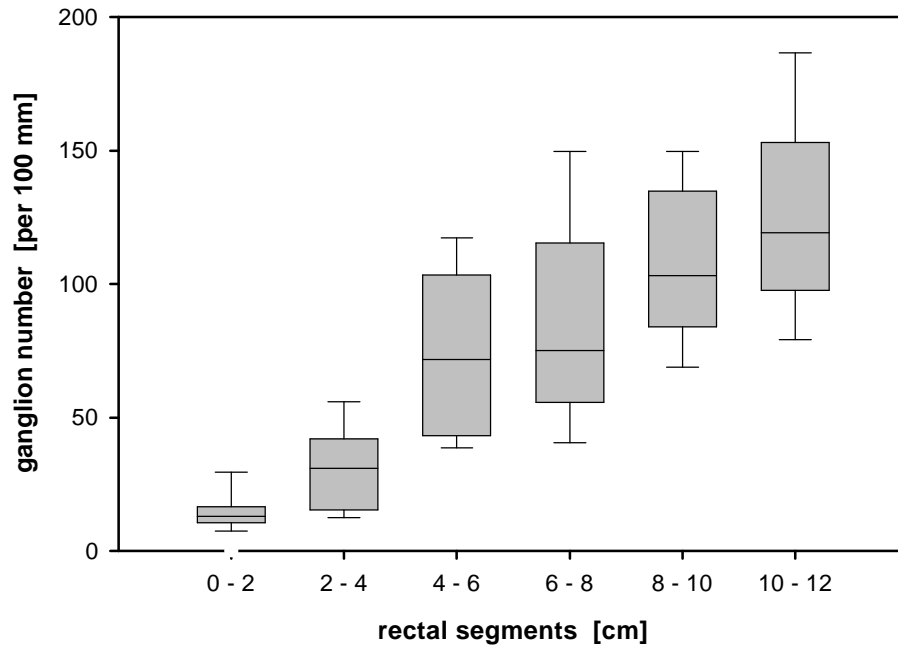
Die bereits bei bloßer Durchsicht der Präparate auffallende Abnahme der Ganglienzahl von proximal nach aboral ließ sich in der statistischen Auswertung bestätigen (Tab. 3).

Tabelle 3: Ganglien

Ganglien	Rektum-Abschnitte					
	1 (0-2 cm)	2 (2-4 cm)	3 (4-6 cm)	4 (6-8 cm)	5 (8-10 cm)	6 (10-12 cm)
Anzahl *	16 ?7,7	31,6 ?17,0	74,1 ?31,6	87,1 ?45,5	105,7 ?35,2	126,7 ?40,5
Fläche (μm^2)	6726,4 ?7993,6	9110,7 ?9551,7	12817,1 ?10891,9	11062,9 ?10457,8	7060,0 ?5500,2	7797,6 ?6379,8
Max DM (μm)	142,6 ?81,9	212,3 ?118,9	276,4 ?152,5	247,9 ?136,2	201,9 ?100,3	209,0 ?109,2
Min DM (μm)	61,7 ?31,9	62,2 ?28,7	72,7 ?31,9	68,8 ?30,3	54,1 ?20,4	57,8 ?23,5
Formfaktor	0,59 ?0,18	0,46 ?0,16	0,42 ?0,18	0,42 ?0,16	0,44 ?0,17	0,44 ?0,16

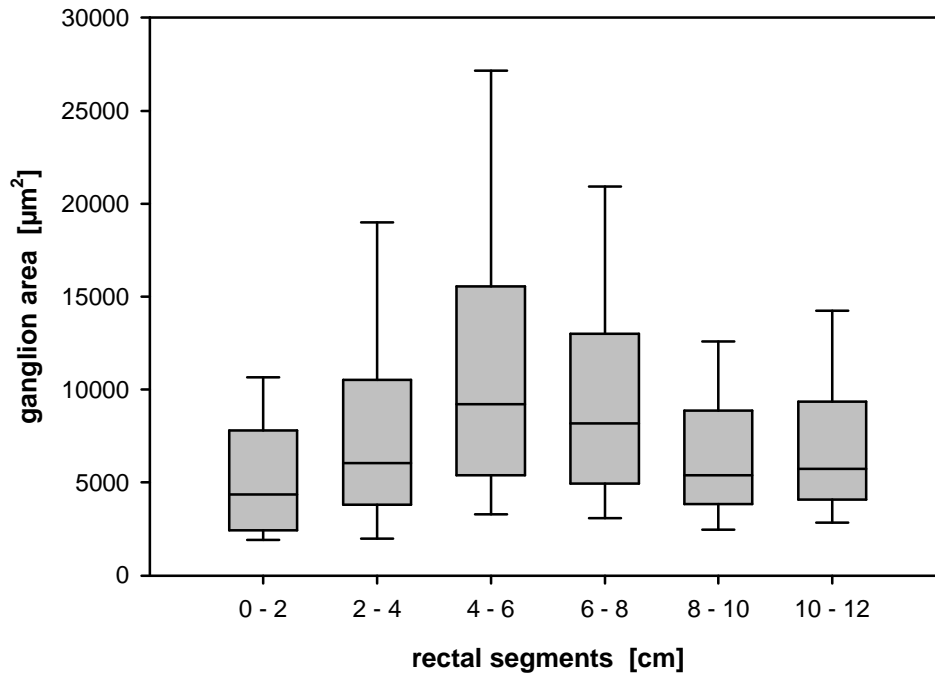
*Angabe der Daten als Mittelwert, ? Standardabweichung, * pro 100 mm Darmwandlänge, Max DM = maximaler Durchmesser, Min DM= minimaler Durchmesser*

Durchschnittlich sank die Anzahl der Ganglien pro 100 mm Darmwandlänge kontinuierlich von 126,7 im proximalen Rektum (Segment 6) bis auf 16 innerhalb des distalen Rektum (Segment 1) ab. Mit dem durchgeführten Trendtest nach Page konnte hierfür eine statistische Signifikanz nachgewiesen werden (Abb. 13).

Abbildung 13: Anzahl der Ganglien pro 100 mm Darmwandlänge

Dargestellt sind alle Werte zwischen dem 10. (unterer Whisker) und 90. (oberer Whisker) Perzentil. Die 25. und 75. Perzentile liegen innerhalb der Box. Der Median ist durch die Box-Linie gekennzeichnet.

Eine gleichsinnige Abnahme der Gangliengröße konnte jedoch nicht verzeichnet werden (Abb. 14). Während die größten Ganglien mit $12.817 \mu\text{m}^2$ in mittleren Rektumabschnitten gefunden wurden (Segment 3), traten sowohl nach distal als auch nach proximal kleinere Ganglien auf. Das distale Rektum (Segment 1) unterschied sich hier mit einer durchschnittlichen Fläche von $6726 \mu\text{m}^2$ nur unwesentlich vom proximalen Rektum (Segment 6) mit $7797 \mu\text{m}^2$. Mit dem Trendtest nach Page konnte keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden.

Abbildung 14: Fläche der Ganglien

Dargestellt sind alle Werte zwischen dem 10. (unterer Whisker) und 90. (oberer Whisker) Perzentil. Die 25. und 75. Perzentile liegen innerhalb der Box. Der Median ist durch die Box-Linie gekennzeichnet.

Erwartungsgemäß verhielt sich dazu der maximale Gangliendurchmesser (Tab. 3). Er war mit 276 µm am größten im mittleren Rektum (Segment 3) und fiel nach proximal wie distal ab. Allerdings blieb der Durchmesser der Ganglien im proximalen Rektum (Segment 6) mit 209 µm größer als im distalen Abschnitt mit 142 µm (Segment 1). Der minimale Durchmesser verhielt sich ähnlich, lag jedoch in den Segmenten 5 und 6 unter dem minimalen Durchmesser des ersten Segmentes.

Der ermittelte Formfaktor (Tab. 3) zeigte eine in etwa gleich bleibende ovaläre Form der Ganglien auf. Lediglich im distalen Rektumabschnitt (Segment 1) deuteten die Werte des Formfaktors mit 0.59 auf eine eher kreisrunde Kontur der Ganglien hin.

4.2.2 Nervenzellen

Wie die Anzahl der Ganglien, so nahm auch die Anzahl der Nervenzellen pro 100 mm Darmwandlänge von proximal nach distal stetig ab (Tab. 4).

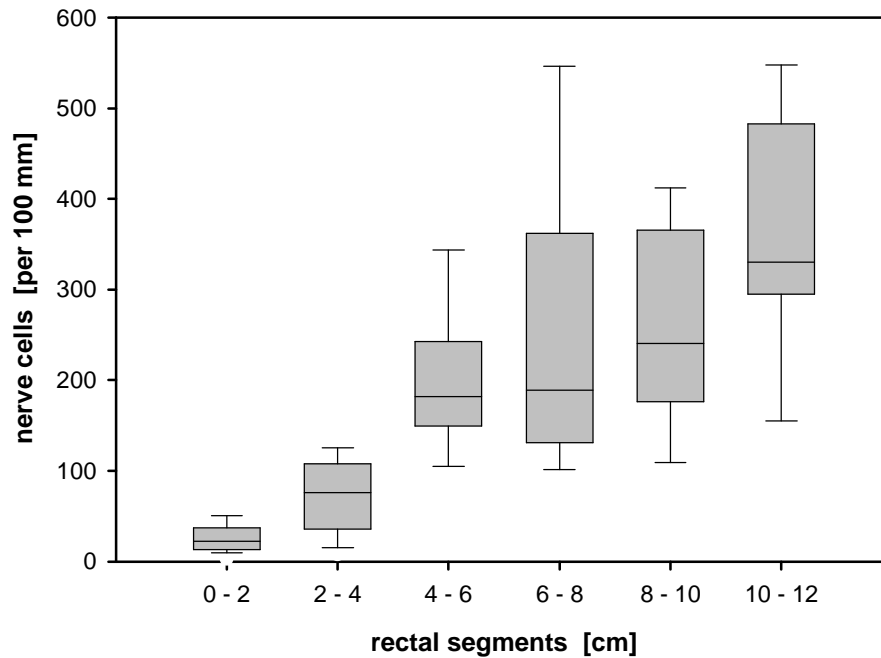
Tabelle 4: Nervenzellen

Nervenzellen	Rektum-Abschnitte					
	1 (0-2 cm)	2 (2-4 cm)	3 (4-6 cm)	4 (6-8 cm)	5 (8-10 cm)	6 (10-12 cm)
Anzahl*	32,2 ?31,4	75,4 ?47,0	184,3 ?102,1	267,1 ?186,3	259,3 ?117,2	368,9 ?139,8
Anzahl pro Ganglion*	1,9 ?1,0	2,3 ?0,68	2,7 ?0,71	2,9 ?0,99	2,4 ?0,58	2,9 ?0,73

*Angabe der Daten als Mittelwert, ? Standardabweichung, * pro 100 mm Darmwandlänge*

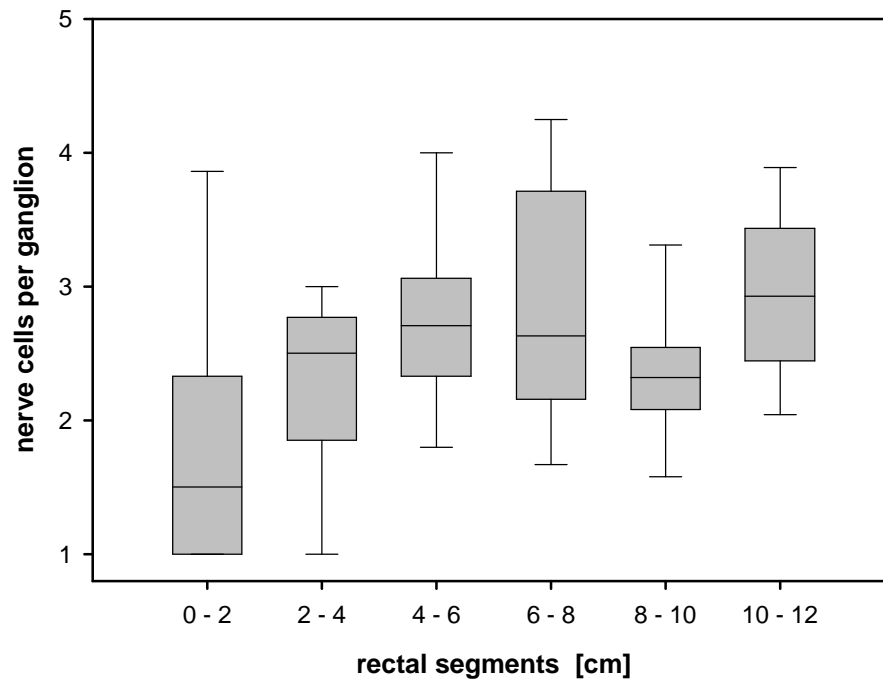
Während der proximale Rektumabschnitt (Segment 6) durchschnittlich 369 Nervenzellen pro 100 mm Darmwandlänge enthielt, ließen sich im distalen Rektum (Segment 1) lediglich 32 Nervenzellen im Durchschnitt zählen. Ähnlich wie die Ganglienanzahl betrug auch die Nervenanzahl hier nur noch etwa 10% der Werte in proximalen Rektumsegmenten. Für diese Beobachtung konnte eine statistische Signifikanz ermittelt werden (Abb. 15).

Trotz der deutlich sinkenden Anzahl an Nervenzellen bzw. Ganglien konnten in jedem der untersuchten Präparate beide Strukturen regelmäßig gefunden werden. Ein aganglionärer Abschnitt ließ sich somit nicht nachweisen.

Abbildung 15: Anzahl der Nervenzellen pro 100 mm Darmwandlänge

Dargestellt sind alle Werte zwischen dem 10. (unterer Whisker) und 90. (oberer Whisker) Perzentil. Die 25. und 75. Perzentile liegen innerhalb der Box. Der Median ist durch die Box-Linie gekennzeichnet.

Wurde der durchschnittliche Nervenzellgehalt pro Ganglion berechnet, so ergab sich ein weniger deutliches Bild (Tab. 4, Abb. 16).

Abbildung 16: Anzahl der Nervenzellen pro Ganglion

Dargestellt sind alle Werte zwischen dem 10. (unterer Whisker) und 90. (oberer Whisker) Perzentil. Die 25. und 75. Perzentile liegen innerhalb der Box. Der Median ist durch die Box-Linie gekennzeichnet.

Die proximalen und mittleren Rektumabschnitte (Segmente 2-6) mit Werten von 2,3, 2,7, 2,9, 2,4 und 2,9 Nervenzellen pro Ganglion unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Lediglich der unterste Rektumabschnitt (Segment 1) mit einem einem Nervenzellgehalt von 1,9 pro Ganglion lag unterhalb der übrigen Werte.

4.2.3 Nervenzellgehalt der Ganglien

Neben der durchschnittlichen Nervenzellanzahl pro Ganglion interessierte auch die prozentuale Verteilung der Ganglien bezüglich ihres Nervenzellgehaltes innerhalb der verschiedenen Rektumsegmente. Mit dieser Berechnung konnte aufgezeigt werden, welche "Gangliengattung", d.h. Ganglien mit einer, zwei, drei oder mehr Nervenzellen, am häufigsten innerhalb eines untersuchten Rektumabschnittes vorkommt (Tab. 5).

Tabelle 5: Häufigkeit der Ganglien bezüglich des Nervenzellgehaltes

Nervenzell- gehalt des Ganglion	Rektum-Abschnitte					
	1 (0-2 cm) absolut relativ	2 (2-4 cm) absolut relativ	3 (4-6 cm) absolut relativ	4 (6-8 cm) absolut relativ	5 (8-10 cm) absolut relativ	6 (10-12cm) absolut relativ
1	19 50%	28 38,4%	48 28,9%	55 27,8%	82 35,0%	53 27,0%
2	7 18,4%	18 24,7%	42 25,3%	56 28,3%	65 27,8%	55 28,1%
3	6 15,8%	10 13,7%	37 22,3%	26 13,1%	45 19,2%	34 17,3%
4	4 10,5%	10 13,7%	13 7,8%	22 11,1%	19 8,1%	22 11,2%
5	1 2,6%	3 4,1%	9 5,4%	14 7,1%	8 3,4%	10 5,1%
6	1 2,6%	4 5,5%	8 4,8%	7 3,5%	6 2,4%	7 3,6%
= 7			9 5,4%	18 9,5%	9 3,8%	15 7,6%
Total	38 100%	73 100%	166 100%	198 100%	234 100%	196 100%

Ganglien mit lediglich einer Nervenzelle nahmen nach aboral an Häufigkeit zu und machten im distalen Rektum (Segment 1) 50% der gesamten Ganglienpopulation aus. Ganglien mit zwei Nervenzellen nahmen hingegen nach oral an Häufigkeit zu und stellen in mittleren und proximalen Rektumabschnitten etwa 25% der Gesamtpopulation. Ganglien mit drei Nervenzellen lagen zwischen 13% und 22%, Ganglien mit vier Nervenzellen zwischen 8% und 14%. Ganglien mit fünf und sechs Nervenzellen erreichten höchstens 7% der Gesamtpopulation. Ganglien mit sieben oder mehr Nervenzellen fehlten in distalen Rektumabschnitten (Segmente 1 und 2) vollständig und wurden erst in mittleren und proximalen Abschnitten beobachtet (Segmente 3-6). Hier rangierten sie zwischen 4% und 9% der Gesamtpopulation. Häufigste "Gangliengattung" in allen untersuchten Segmenten waren solche mit ein oder zwei Nervenzellen, die immer mindestens die Hälfte aller Ganglien ausmachen.

4.2.4 Nervenfasern

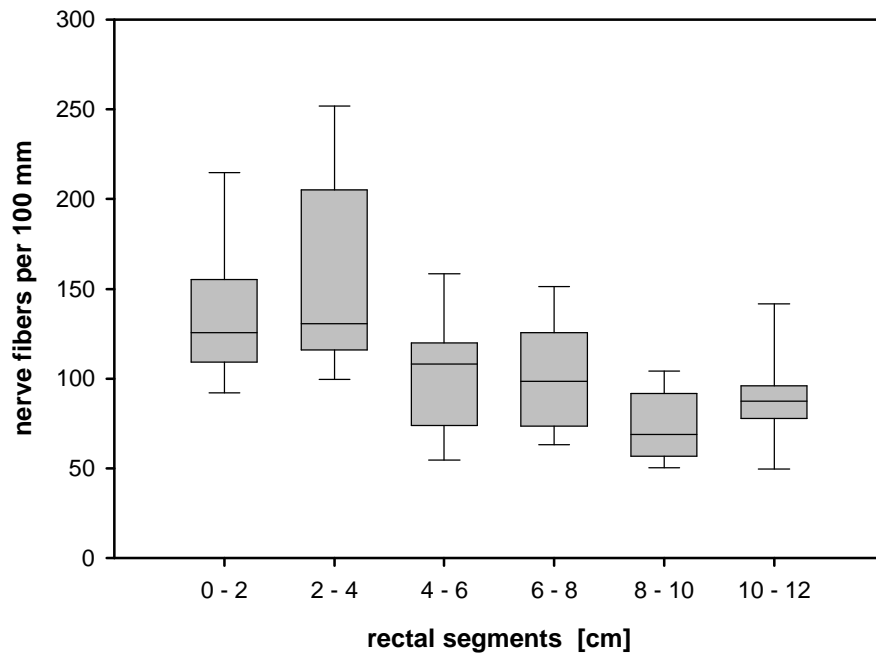
Bei Auswertung der Nervenfasern ergab sich bezüglich ihrer Anzahl ein umgekehrtes Bild im Vergleich zu den Ganglien (Tab. 6).

Tabelle 6: Nervenfasern

Nervenfasern	Rektum-Abschnitte					
	1 (0-2 cm)	2 (2-4 cm)	3 (4-6 cm)	4 (6-8 cm)	5 (8-10 cm)	6 (10-12cm)
Anzahl*	133,7 ?44,0	167,4 ?85,5	114,8 ?44,7	101,6 ?32,8	73,5 ?23,8	91,8 ?34,2
Fläche (μm^2)	4813,1 ?4004,6	6153,3 ?6274,3	6511,8 ?5648,8	5885,4 ?5337,8	4754,7 ?2901,6	4099,8 ?2616,6
Max DM (μm)	123,7 ?69,2	153,8 ?100,4	164,7 ?96,2	159,6 ?100,8	146,1 ?61,9	128,2 ?57,8
Min DM (μm)	54,8 ?22,6	57,5 ?23,8	58,0 ?24,7	54,1 ?21,2	49,0 ?17,5	47,2 ?18,6
Form- faktor	0,63 ?0,18	0,56 ?0,19	0,54 ?0,18	0,52 ?0,17	0,52 ?0,16	0,55 ?0,17

*Angabe der Daten als Mittelwert, ? Standardabweichung, * pro 100 mm Darmwandlänge, Max DM = maximaler Durchmesser, Min DM= minimaler Durchmesser*

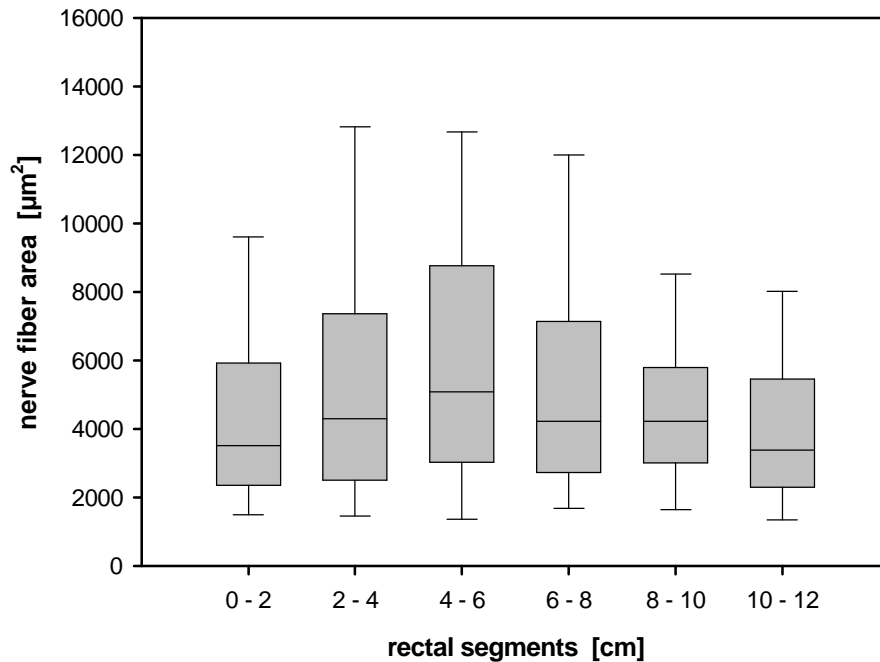
Die Nervenfasernzahl nahm nach aboral stetig zu – von 73,5 (Segment 5) auf 167,4 (Segment 2). Mit dem Trendtest nach Page konnte eine Signifikanz für diese Werte ermittelt werden. Lediglich im distalsten Rektumabschnitt (Segment 1) fiel die Anzahl der Nervenfasern wieder leicht auf 133,7 ab.

Abbildung 17: Anzahl der Nervenfasern pro 100mm Darmwandlänge

Dargestellt sind alle Werte zwischen dem 10. (unterer Whisker) und 90. (oberer Whisker) Perzentil. Die 25. und 75. Perzentile liegen innerhalb der Box. Der Median ist durch die Box-Linie gekennzeichnet.

Ein ähnliches Bild ergab sich für die durchschnittliche Fläche der Nervenfasern (Abb 18). Sie vergrößerte sich ebenfalls kontinuierlich nach aboral und verringerte sich leicht im distalen Rektumabschnitten (Segmente 1 und 2). Gleichsinnige Veränderungen ließen sich auch bei den maximalen und minimalen Durchmesser der Nervenfasern feststellen.

Eine Analyse des Formfaktors ergab, dass sich die Kontur der Nervenfasern nach aboral von ovalären in eher kreisrunde Gebilde veränderte.

Abbildung 18: Fläche der Nervenfasern

Dargestellt sind alle Werte zwischen dem 10. (unterer Whisker) und 90. (oberer Whisker) Perzentil. Die 25. und 75. Perzentile liegen innerhalb der Box. Der Median ist durch die Box-Linie gekennzeichnet.

4.2.5 Ratio zwischen Ganglien und Nervenfasern

Bei der Berechnung der Ratio zwischen Ganglien und Nervenfasern hinsichtlich ihrer Anzahl und Fläche ergaben sich für die einzelnen Rektumabschnitte folgende Verhältnisse (Tab. 7).

Tabelle 7: Ratio Ganglien – Nervenfasern (Anzahl und Fläche)

Ratio	Rektum-Abschnitte					
	1 (0-2 cm)	2 (2-4 cm)	3 (4-6 cm)	4 (6-8 cm)	5 (8-10 cm)	6 (10-12cm)
Anzahl Ganglien zu Nervenfasern	0,12	0,21	0,65	0,84	1,38	1,51
Fläche Ganglien zu Nervenfasern	1,4	1,48	1,97	1,88	1,48	1,9

Im distalen Rektumabschnitt (Segment 1) kamen auf ein Ganglion fast acht Nervenfasern. Das Verhältnis verringerte sich kontinuierlich nach oral, so dass im Segment 4 Ganglien und Nervenfasern etwa gleich häufig vorkamen. In proximalen Rektumabschnitten kehrte sich das Verhältnis um – hier kamen auf acht Ganglien nur etwa fünf Nervenfasern.

Die Ratio der Ganglienflächen zur Fläche der Nervenfasern verhielt sich folgendermaßen: In allen untersuchten Segmenten zeigte sich, dass die Ganglien eine größere Fläche einnahmen als die Nervenfasern. In den Segmenten 3, 4 und 6 war die Ganglienfläche doppelt so groß wie die Nervenfasernfläche, in den Segmenten 1, 2 und 5 ergab sich ein Verhältnis von etwa 1,5 zu 1.

4.2.6 Einfluß von Alter und Geschlecht

Zur Prüfung des Einflusses des Alters auf die ermittelten Daten wurden die Patienten in zwei Gruppen unterteilt: Gruppe 1 mit einem Alter von 30 – 60 Jahre (n=7), Gruppe 2 mit einem Alter von 60 – 90 Jahre (n=8). Es zeigte sich, dass das Alter weder auf die Anzahl der Nervenzellen ($p=0.60$) noch auf die Ganglienanzahl ($p=0.58$) einen signifikanten Einfluß hatte. Gleiches galt für die Anzahl der Nervenzellen pro Ganglion ($p=0.86$) sowie für die Anzahl der Nervenfasern ($p=0.56$).

Ähnliche Ergebnisse wurden für den Einfluß des Geschlechtes

gefunden. Zwischen weiblichen (n=5) und männlichen (n=10) Präparaten zeigten sich hinsichtlich der Anzahl von Nervenzellen ($p=0.31$), von Ganglien ($p=0.73$) und der Nervenfasern ($p=0.81$) sowie für die Nervenzellanzahl pro Ganglion ($p=0.88$) kein signifikanter Einfluß.

5 DISKUSSION

5.1 Strukturelle Organisation des enterischen Nervensystems des menschlichen Rektums

5.1.1 Histologische Darstellungsmöglichkeiten des enterischen Nervensystems

Grundsätzlich ist jede histologische Färbung, die eine Affinität zu Zellkernen bzw. zytoplasmatischen Fortsätzen aufweist, dazu geeignet, das ENS darzustellen. Zur detaillierten Beschreibung der strukturellen Organisation des ENS bedarf es jedoch selektiver histologischer Färbetechniken, bei denen die übrigen Gewebebestandteile der Darmwand in den Hintergrund treten. Neben Versilberungstechniken und enzymhistochemischen Nachweisen bieten vor allem immunhistochemische Verfahren die Möglichkeit, die einzelnen strukturellen Komponenten des ENS gezielt zur Darstellung zu bringen.

Mittlerweile steht eine ganze Palette von Antikörpern zur Verfügung, mit denen eine immunhistochemische Visualisierung des ENS gelingt. Die Antikörper sind entweder gegen neuronale (z.B. Neurofilamente, Peripherin, Neuronen-spezifische Enolase) oder gliale (z.B. Protein S-100, Glial Fibrillary Acidic Protein) Epitope gerichtet und lassen sich zumeist auch an in Paraffin eingebettetem Material verwenden.

In Voruntersuchungen wurden diverse immunhistochemische Färbungen getestet und miteinander verglichen. So waren die Ergebnisse mit Peripherin oder S-100 weniger zufriedenstellend als nach Inkubation mit PGP 9.5 – ein panneuronaler Antikörper, mit dem sich sowohl neuronale Perikarya als auch deren Fortsätze zuverlässig darstellen ließen. Diese Markierungseigenschaften erlaubten die eindeutige Identifikation von einzelnen Nervenzellen, Ganglienformationen und Nervenfaserversträngen, d.h. von allen neuronalen Komponenten, aus denen sich das ENS zusammensetzt. Eine zusätzliche Markierung mit dem glialen Marker Protein S-100 war

nicht erforderlich, da sich die Gliazellen auch durch eine einfach durchzuführende Hämalaun-Gegenfärbung klar von den immunhistochemisch markierten Nervenzellen abgrenzen ließen.

PGP 9.5 ist ein in Neuronen und neuroendokrinen Zellen vorkommendes Protein, das der Familie der zytoplasmatischen Ubiquitin Carboxy-terminalen Hydrolase-Isoenzyme angehört (Wilkinson et al. 1992). Aufgrund der aufgeführten Vorteile wurde PGP 9.5 bereits von mehreren Arbeitsgruppen für immunhistochemische Untersuchungen des ENS eingesetzt (Sams et al. 1992; Romanska et al. 1993; Krammer et al. 1993 b; Park et al. 1995; Wedel et al. 1998 a,b). Es sei hier angemerkt, dass für die selektive Darstellung von Nervenzellen auch andere Methoden (z.B. „nerve cell body“-antiserum, c-Myc, Fos-related antigen, cuprolinic blue) eingeführt worden sind, die ebenfalls zu zuverlässigen Ergebnissen geführt haben (Young et al. 1993; Parr und Sharkey 1994a, b; Karaosmanoglu et al. 1996; Wester et al. 1998). Diese Verfahren bleiben in ihrer Aussagekraft allerdings lediglich auf die Identifikation von Nervenzellperikarya beschränkt und erfassen somit nicht die Struktur und Topographie der neuronalen Fortsätze, d.h. den Verlauf von intra- und extraganglionären Nervenfasern.

5.1.2 Morphologie des enterischen Nervensystems im menschlichen Rektum

Das ENS des menschlichen Rektums zeigt einen Grundbauplan auf, wie er auch in anderen Abschnitten des GIT beim Menschen und höheren Säugern zu finden ist (Furness und Costa 1987). Dennoch besitzt das ENS des menschlichen Rektums einige morphologische Besonderheiten, die sowohl für vergleichende anatomische Studien als auch für die Beurteilung histopathologischer Veränderungen von Bedeutung sind.

Eine frühe Untersuchung von Aldridge und Campbell (1968) sowie eine spätere Studie (Kumar und Phillips 1989) wiesen bereits darauf hin,

dass im Bereich des Rektums weniger Nervenzellen auszumachen sind als in den übrigen Abschnitten des Kolons, bzw. dass die Gangliendichte nach aboral abnimmt. Die immunhistochemischen Befunde sowie die morphometrischen Auswertungen der vorliegenden Untersuchungen bestätigen diese Annahme.

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Loge des Plexus myentericus nach aboral an Breite zunimmt und myenterische Ganglien auch außerhalb der bindegewebigen Loge in den umgebenden Muskelschichten regelmäßig anzutreffen sind. Letzere Tatsache ist insofern von Bedeutung, als dass solche Ganglienektopien in anderen Abschnitten des GIT normalerweise nicht vorkommen und hier durchaus einem pathologischen Innervationsmuster entsprechen können. So wurden bei Patienten mit chronischen kolorektalen Motilitätsstörungen u.a. Ganglienektopien als organisches Korrelat der Passagestörung nachgewiesen (Holschneider et al. 1994, Krammer et al. 1994). Die Ektopien wurden hier allerdings in höheren Abschnitten des GIT nachgewiesen. Im Gegensatz dazu scheinen sie innerhalb des Rektums, insbesondere in distalen Segmenten, keinen krankheitswertigen Befund darzustellen.

Die Literatur läßt aufgrund einer diskrepanten Datenlage bisher keine eindeutige Aussage darüber zu, ob das physiologische Innervationsmuster des distalen Rektums als hypo- oder aganglionär anzusehen ist. Nach Ansicht von Fleischhauer et al. (1965) ist der letzte Abschnitt des Rektums physiologischerweise aganglionär, da sich im Bereich des M. sphincter ani internus weder zwischen den Muskelschichten (Plexus myentericus) noch innerhalb der Tela submucosa (Plexus submucosus) Ganglien nachweisen ließen. Aldridge und Campbell (1968) gehen demgegenüber von einer sog. hypoganglionären Zone aus, deren Ausmaß variabel ist. Auch Weinberg (1970) beschreibt eine hypoganglionäre Zone und definiert sie als die Strecke gemessen zwischen dem M. sphincter ani internus bis zum vollständig entwickelten myenterischen Nervenplexus.

In der vorliegenden Untersuchung ließen sich in allen untersuchten Präparaten, einschließlich in dem am weitesten distal gelegenen Segment (Segment 1: 0-2 cm), Ganglien nachweisen. Allerdings waren die Anzahl der Ganglien sowie deren Nervenzellgehalt im Vergleich zu proximalen Rektumabschnitten deutlich erniedrigt – was erklären könnte, dass diese Ganglien bei Anwendung unspezifischer Nachweismethoden übersehen wurden. Festzuhalten bleibt, dass aufgrund der vorliegenden Ergebnisse das distale Rektum nicht als aganglionär, sondern als hypoganglionär anzusehen ist.

Aus physiologischer Sicht machen derartige morphologische Verhältnisse Sinn: Der Nettoeffekt enterischer Nervenzellen auf die glatte Muskulatur führt normalerweise zu einer Relaxation. Eine Erniedrigung der Nervenzellanzahl würde entsprechend zu einer Zunahme des glattmuskulären Tonus führen – wie es für einen Verschlussapparat wie dem inneren Analsphinkter notwendig ist. Ein vollständiges Fehlen von Nervenzellen würde allerdings eine Unfähigkeit zur glattmuskulären Relaxation durch den Mangel an inhibitorischen Neurotransmittern bedingen. Damit wäre die zur Defäkation erforderliche Entspannung des inneren Analsphinkters behindert – wie es z.B. bei einer dem Morbus Hirschsprung zugrunde liegenden Aganglionose der Fall ist.

Eine weitere Besonderheit des Rektums stellt das Vorkommen von relativ großkalibrigen, mit Perineurium umgebenen und zumeist myelinisierten Nervenfasern dar. Diese Nervenfasern sind im distalen Rektumabschnitt sehr prominent und zahlreich vorhanden. Proximalwärts nimmt ihr Durchmesser ab, beim Menschen sind sie im Sigma nicht mehr nachweisbar. Das in der vorliegenden Untersuchung gefundene Verteilungsmuster entsprach den Ergebnissen anderer Studien: Die prominenten Nervenfasern befanden sich topographisch in unmittelbarer Nähe zum Plexus myentericus (Weinberg 1970). Sie werden u.a. als ascendierende pelvine Nerven (Stach 1989) bzw. als sog. Shunt-Faszikel (Kumar und Phillips 1989)

bezeichnet, da angenommen wird, dass sie die nervale Verbindung zwischen dem pelvinen Nervenplexus einerseits und dem ENS andererseits darstellen.

Im Rahmen der histopathologischen Diagnostik besteht die Möglichkeit einer Verwechslung mit hypertrophen Nervenfasern, wie sie bei der Aganglionose, d.h. dem Morbus Hirschsprung, typischerweise angetroffen werden (Holschneider et al. 1994, Wedel et al. 1998a). Im Gegensatz zur Aganglionose lassen sich allerdings beim gesunden Rektum auch in distalen Segmenten immer nervenzellhaltige Ganglien nachweisen. Darüber hinaus liegt die Anzahl und die Größe der hypertrophen Nervenfasern bei der Aganglionose deutlich über den Verhältnissen wie sie beim normalinnervierten Rektum gefunden werden.

5.2 Morphometrie des enterischen Nervensystems im menschlichen Rektum

Zur Darstellung der intramuralen Nervenplexus bedarf es selektiver immunhistochemischer Techniken, die sowohl die deskriptive histopathologische Befundung als auch eine objektive morphometrische Beurteilung des ENS erlauben. Bisher liegen nur wenige Studien vor, die sich auf der Basis klarer morphometrischer Kriterien mit der Innervation des menschlichen Rektums beschäftigt haben.

So gaben Fleischhauer et al. (1965) ihre Befunde lediglich in semiquantitativer Form wieder, indem jede Nervenzelle mit einem Punkt im Schnittpräparat gekennzeichnet wurde. Damit waren nur ungefähre Angaben zur Verteilung der Nervenzelldichte möglich. In dieser Studie wurde der letzte Abschnitt des Rektums als aganglionär beschrieben, in weiter proximal gelegenen Abschnitten wurde lediglich über das „Vorhandensein einiger Ganglienzellen in Form kleinerer Gruppen“ berichtet.

Weinberg (1970) verwendete Hämatoxylin-Eosin gefärbte, longitudinal

geschnittene Präparate des kindlichen Rektums, in dem drei definierte Zonen vermessen wurden. Der Abstand von der Anokutanlinie bis zum Auftreten der ersten Ganglienzelle in dem Präparat wurde zwischen 4,9 mm und 10,3 mm angegeben. Die Strecke bis zum Erscheinen des vollständig ausgebildeten Plexus myentericus wurde zwischen 5,9 mm und 15 mm ab der Anokutanlinie angegeben. Eine spezifische Markierung neuronaler Strukturen wurde nicht durchgeführt.

Die detailliertesten morphometrischen Angaben stammen von Aldridge und Campbell (1968), die anhand nachvollziehbarer Kriterien die Nervenzell- und Ganglierverteilung im menschlichen Rektum untersuchten. Im Bereich der Anokutanlinie bis 0,5 cm proximal dieser Linie wurden durchschnittlich 1 Ganglion und 2 Nervenzellen pro Zentimeter beobachtet. Im Abschnitt von 0,5 cm bis 1,5 cm wurden 4 Ganglien und 11 Nervenzellen pro Zentimeter beschrieben. In einem dritten Abschnitt, der sich bis 2,5 cm ab der Anokutanlinie erstreckte, wurden 5 Ganglien und 16 Nervenzellen gezählt. Diese Befunde entsprechen in etwa den eigenen Beobachtungen und bestätigen, dass der distale Rektumabschnitt nicht durch eine Aganglionose, sondern durch eine Hypoganglionose gekennzeichnet ist. Allerdings liegen die eigenen Werte für die Nervenzellanzahl in den Segmenten 1 und 2 (3,2 bzw. 7,5 Nervenzellen pro Zentimeter) unterhalb der von Aldridge und Campbell gefundenen Daten, was darauf zurückzuführen ist, dass es sich bei diesem Kollektiv um kindliche Präparate gehandelt hatte. Morphometrische Untersuchungen hinsichtlich der Anzahl und Größe von rektalen Nervenfasern blieben in der Studie von Aldridge und Campbell (1968) unberücksichtigt.

Kumar und Phillips (1989) verwendeten anstelle immunhistochemischer Färbemethoden silberimprägnierte Häutchenpräparate für die Darstellung des rektalen ENS. Dieser methodische Ansatz erlaubte zwar eine anschauliche Charakterisierung des rektalen myenterischen Nervengeflechtes, ließ jedoch keine morphometrischen Angaben zu. Ähnliches gilt für die Arbeiten von Christensen et al. (1983, 1987), bei

denen es sich um vergleichende deskriptive Studien unterschiedlicher Tierspezies handelte ohne Einbeziehung menschlicher Präparate.

Morphometrische Studien mit Angaben zur durchschnittlichen Nervenzellanzahl wurden überwiegend am Plexus myentericus des Kolons, nicht aber des Rektums durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten zum Teil beträchtliche Diskrepanzen auf: Während Schuffler et al. (1978, 1982) über eine myenterische Nervenzelldichte von 50 pro 100 mm Darmwandlänge berichteten, kamen Meier-Ruge et al. (1970) auf eine Anzahl von über 7000. Die differierenden Angaben lassen sich dabei weniger auf uneinheitliche Patientenkollektive als vielmehr auf unterschiedliche methodische Ansätze zurückführen. So wird eine direkte Vergleichbarkeit der Daten u.a. dadurch erschwert, dass in den einzelnen Studien keine einheitliche Vorgehensweise hinsichtlich der Darstellung des ENS (konventionelle Histochemie, Enzymhistochemie, Immunhistochemie, Metallimprägnationen), der Schnittdicke des Materials (von 3 μm bis 15 μm) sowie der zugrundegelegten histologischen Kriterien zur Erkennung relevanter Strukturen (Nervenzellen, Nervenzellfortsätze, Gliazellen, Ganglien) vorlag.

Ein direkter Vergleich der eigenen Daten zur durchschnittlichen Nervenzellanzahl mit den Angaben von Schuffler et al. (1978, 1982) und von Meier-Ruge et al. (1970) ist nur bedingt möglich, weil es sich bei der vorliegenden Untersuchung um das Rektum handelte. Legt man jedoch den proximalsten Rektumabschnitt (Segment 6) zugrunde, der sich direkt an das sigmoidale Kolon anschließt, so liegen die Werte (368,9 Nervenzellen pro 100 mm Darmwandlänge) zwischen denen von Schuffler et al. (1978, 1982) und von Meier-Ruge et al. (1970).

Die uneinheitliche Datenlage spiegelt zum einen die Schwierigkeit wider, die strukturellen Komponenten des ENS vollständig und objektiv zu quantifizieren. Zum anderen unterstreicht sie die Notwendigkeit, reliable und standardisierte morphometrische Verfahren an größeren Kontrollkollektiven einzusetzen, um alters- und geschlechtsabhängige Normwerte erstellen zu können. Während der Diagnose eines Morbus

Hirschsprung (komplette Aganglionose) eindeutige histopathologische Kriterien zugrundeliegen, führt die Beurteilung von non-aganglionären intestinalen Innervationsstörungen - wie in einer prospektiven Multizenterstudie gezeigt werden konnte (Koletzko et al. 1999) - häufig zu unverträglich hohen Interobserver-Variationen. Zu Recht weisen Koletzko et al. (1999) darauf hin, dass es zur validen Diagnosestellung exakter Referenzwerte bedarf, die auf der Grundlage eindeutig definierter morphometrischer Techniken zu ermitteln sind. Letzterer Forderung wird die vorliegende Untersuchung gerecht, da die eingesetzte Methodik eine vollständige Erfassung der strukturellen Komponenten des ENS sowie deren morphometrische Auswertung ermöglichte. Zur Etablierung von Referenzwerten, die sämtliche Altersklassen einschließlich möglicher Geschlechtsunterschiede erfassen, wären allerdings Untersuchungen an entsprechend größeren Kollektiven erforderlich.

Aufgrund der durchgeführten statistischen Prüfung ergab sich kein Anhalt dafür, dass die Daten bezüglich der unterschiedlichen Altersklassen sowie des Geschlechtes statistisch signifikanten Schwankungen unterliegen.

Zusammenfassend lassen sich aufgrund der eigenen Ergebnisse folgende Aussagen zur Morphologie und Morphometrie des rektalen humanen ENS treffen:

- ? Die Ganglienanzahl nimmt nach aboral um etwa das Achtfache ab, die Nervenzellanzahl um etwa das Zwölffache.
- ? Die durchschnittliche Nervenzellanzahl pro Ganglion nimmt von 2,9 in den oberen Abschnitten auf 1,9 nach aboral ab.
- ? In allen Rektumabschnitten machen Ganglien mit einer oder zwei Nervenzellen über die Hälfte aller Ganglien aus. Ganglien mit sieben oder mehr Nervenzellen werden nur in mittleren und proximalen Rektumabschnitten gefunden.
- ? Die Nervenfasernzahl nimmt um etwa das Anderhalbfache nach

aboral zu. Die Ratio zwischen Anzahl der Ganglien und Anzahl der Nervenfasern kehrt sich entsprechend von 8:5 auf 1:10 nach aboral um.

5.3 Klinische Relevanz

5.3.1 Präoperative Diagnostik von Störungen der intestinalen Innervation

Ein häufig präoperativ durchgeführtes Verfahren zur Diagnostik von Fehlbildungen des ENS ist die Entnahme submuköser Biopsien aus dem rektosigmoidalen Kolonsegment. Das hierdurch gewonnene Gewebe reicht zwar aus, um eine komplette Aganglionose (Morbus Hirschsprung) auszuschließen bzw. eine IND des Plexus submucosus nachzuweisen (Holschneider et al. 1994). Es gelingt jedoch nicht, eine Beurteilung tiefer gelegener submuköser Plexusstrukturen sowie des Plexus myentericus vorzunehmen. Beide Plexuskompartimente sind jedoch maßgeblich an der Vermittlung intestinaler Motilität beteiligt – entsprechend wichtig ist es, sie in die histopathologische Beurteilung miteinbeziehen zu können.

In vorherigen Studien der eigenen Arbeitsgruppe konnte belegt werden, dass auch non-aganglionäre Fehlbildungen des ENS zu schweren kolorektalen Passagestörungen führen können. So zeigte sich bei Patienten mit einer Slow-transit Obstipation oder mit adultem Megacolon eine Hypoganglionose des Plexus myentericus als zugrunde liegendes organisches Korrelat (Wedel et al. 2002a, Wedel et al. 2002b). Diese Befunde wurden postoperativ an resezierten Kolonresektaten erhoben.

Wünschenswert wäre es, bei schweren chronischen kolorektalen Motilitätsstörungen bereits vor einem resezierendem Eingriff einen vollständigen „neurohistologischen Status“ der Darmwand zu erhalten. Hierzu sind Ganzwandbiopsien erforderlich, die alle Nervenplexus erfassen. Zur Materialgewinnung kann eine umschriebene Exzision der

Rektumwand über einen transanalen Zugang durchgeführt werden. Die Bauchhöhle wird nicht eröffnet, so dass der Eingriff auch ambulant durchgeführt werden kann.

5.3.2 Beurteilung des enterischen Nervensystems in Ganzwandbiopsien

Stehen Ganzwandbiopsien zur Verfügung, so können alle enterischen Nervengeflechte der Darmwand – einschließlich der tiefer gelegenen Plexus – histopathologisch beurteilt werden. Um Abweichungen vom Normalbefund zuverlässig feststellen zu können, lassen sich die Daten der vorliegenden Untersuchung als orientierende Referenzwerte heranziehen. Dies gilt sowohl für morphologische als auch morphometrische Parameter. Da die Daten für alle Etagen des Rektums bestimmt wurden, können die Ganzwandbiopsien unterschiedlicher Entnahmehöhen den entsprechenden Normwerten zugeordnet werden.

5.3.3 Morphometrische Befundung des enterischen Nervensystems als therapeutische Entscheidungshilfe

Während beim Morbus Hirschsprung, d.h. einer Aganglionose, die Indikation zu einem resezierenden Eingriff unumstritten ist, bestehen bei anderen chronischen kolorektalen Passagestörungen unterschiedliche Auffassungen. Insbesondere bei der Slow-transit Obstipation basiert die Indikation zur operativen Therapie bisher auf der Anamnese und Befunden aus der klinisch-funktionellen Diagnostik.

Mit der Beurteilung von Ganzwandbiopsien ließe sich überprüfen, ob der klinisch bestehende Passagestörung ein organisches Korrelat innerhalb des ENS zuzuordnen ist. Zeigt sich in der präoperativen histopathologischen Diagnostik ein pathologischer ENS-Befund, so würde damit ein weiteres Argument für einen resezierenden Eingriff gegeben sein. Voraussetzung für eine reliable Beurteilung und morphometrische Auswertung des rektalen ENS sind u.a. die in der

vorliegenden Untersuchung erhobenen Daten.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Das enterische Nervensystem (ENS) des Rektums zeigt im Vergleich zum ENS-Bauplan des übrigen Gastrointestinaltraktes verschiedene Besonderheiten auf. Die bisherigen Angaben dazu basierten jedoch auf unspezifische Darstellungsmethoden des ENS und lieferten unvollständige morphometrische Angaben. Die diskrepante Datenlage, insbesondere zur Ganglienausstattung des distalen Rektumabschnitts (physiologische Aganglionose versus Hypoganglionose), spiegelt die Schwierigkeit wider, die strukturellen Komponenten des ENS reliabel und standardisiert zu quantifizieren. Aus klinischer sowie histopathologischer Sicht ist die Ermittlung von Normwerten allerdings Voraussetzung dafür, um im Rahmen einer diagnostischen Abklärung schwerer kolorektaler Passagestörungen einen „neurohistologischen Status“ der rektalen Darmwand erheben und ggf. ein neuropathologisches Korrelat identifizieren zu können.

Ziel der Untersuchung war es deshalb, eine systematische Beschreibung der strukturellen ENS-Organisation des menschlichen Rektums mit Hilfe spezifischer Darstellungsmethoden vorzunehmen sowie eine morphometrische Quantifizierung der ENS-Komponenten innerhalb der einzelnen Rektumabschnitte durchzuführen.

Für die Untersuchung wurden Rektumpräparate von darmgesunden Patienten (n=15, 5 Frauen und 10 Männer, Altersspanne: 32- 89 Jahre) verwendet und in jeweils 6 Segmente unterteilt. Die immunhistochemische Färbung mit dem panneuronalen Antikörper Protein Gene Product 9.5 erlaubte die selektive Darstellung und morphometrische Erfassung von Ganglien, Nervenzellen und Nervenfasern innerhalb des Plexus myentericus.

Deskriptiv ließen sich folgende morphologische Besonderheiten des ENS innerhalb der Rektumwand beobachten: (1) Verbreiterung der bindegewebigen Plexusloge zwischen Längs- und Ringmuskelschicht nach aboral, (2) intramuskuläre Lage (Heterotopien bzw. Ektopien) von myenterischen Ganglien, (3) Abnahme der Gangliendichte und der

Nervenzellanzahl nach aboral, (4) Zunahme großkalibriger Nervenfaserverstränge nach aboral.

Die morphometrische Analyse bestätigte die deskriptiven Befunde und ergab zusammenfassend folgende Ergebnisse: (1) Abnahme der Ganglienanzahl um etwa das Achtfache nach aboral, (2) Abnahme der Nervenzellanzahl um etwa das Zwölffache nach aboral, (3) Abnahme der durchschnittlichen Nervenzellanzahl pro Ganglion von 2,9 auf 1,9 nach aboral, (4) Zunahme der Nervenfasernzahl um etwa das Anderhalbfache nach aboral, (5) Umkehr der Ratio zwischen Ganglien- und Nervenfasernzahl von 8:5 auf 1:10 nach aboral. In allen Rektumsegmenten machten Ganglien mit einer oder zwei Nervenzellen über die Hälfte aller Ganglien aus. Ganglien mit sieben oder mehr Nervenzellen wurden lediglich in mittleren und proximalen Rektumabschnitten gefunden.

Mit der vorliegenden Untersuchung konnten zum einen die Hypothese eines physiologisch aganglionären Rektumabschnittes widerlegt, zum anderen exakte Angaben über die Verteilung von Ganglien, Nervenzellen und Nervenfasern innerhalb der einzelnen Rektumsegmente zu Verfügung gestellt werden. Diese morphometrischen Daten lassen sich als orientierende Referenzwerte zur histopathologischen Beurteilung von transmuralen Rektumbiopsien bzw. Rektumresektaten heranziehen, um bei schweren kolorektalen Passagestörungen Fehlbildungen des ENS als mögliche Ursache sicher identifizieren zu können.

7 LITERATUR

- 1) Ariel I, Hershlag A, Lernau OZ, Nissan S, Rosenmann E (1985) Hypoganglionosis of the myenteric plexus with normal Meissner's plexus: a new variant of colonic ganglion cell disorders. *J Pediat Surg* 20: 90-92
- 2) Aldridge AT, Campbell PE (1968) Ganglion cell distribution in the normal rectum and anal canal. A basis for the diagnosis of Hirschsprungs disease by anorectal biopsy. *J Pediat Surg* 4: 475-489
- 3) Auerbach L (1864) Fernere vorläufige Mitteilung über den Nervenapparat des Darmes. *Arch Pathol Anat Physiol* 30: 457
- 4) Brehmer A, Schrödl F, Neuhuber W, Hens J, Timmermans JP (1999) Comparison of enteric neuronal morphology as demonstrated by Dil-tracing under different tissue-handling conditions. *Anat Embryol* 199: 57-62
- 5) Christensen J, Stiles MJ, Rick GA, Sutherland J (1983) Comparative anatomy of the myenteric plexus of the distal colon in eight mammals. *Gastroenterology* 86, 706-713
- 6) Christensen J, Rick GA (1987) Distribution of myelinated nerves in ascending nerves and myenteric plexus of colon cat. *The American journal of Anatomy* 178: 250-258
- 7) Christensen J, Rick GA (1987) Intrinsic nerves in the mammalian colon: confirmation of a plexus at the circular muscle - submucosal interface. *J Auton Nerv Syst* 21: 223-231
- 8) Cooke HJ (1987) Neural and humoral regulation of small intestinal electrolyte transport. In: Johnson LR (ed) *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. New York: Raven Press, pp 1-40
- 9) Costa M, Furness JB, Llewellyn-Smith IJ (1987) Histochemistry of the enteric nervous system. In: Johnson LR (ed) *Physiology of the gastrointestinal tract*. Raven Press, New York, pp 1-40

- 10) Dogiel AS (1899) Über den Bau der Ganglien in den Geflechten des Darmes und der Gallenblase des Menschen und der Säugetiere. Arch Anat Physiol Leip Anat Abt: 130-158
- 11) Fleischhauer K, Hostein AF, Stelzner F (1966) Über das Fehlen von Ganglienzellen im Bereich des Musculus sphincter ani internus des Menschen. Zeitschrift für Zellforschung 70: 515-518
- 12) Furness JB, Costa M (1980) Types of nerves in the enteric nervous system. Neuroscience 5: 1-20
- 13) Furness JB, Costa M (1987) The enteric nervous system. Churchill Livingstone, New York
- 14) Furness JB, Bornstein JC (1995) The enteric nervous system and its extrinsic connections. In: Yamada T (ed.) Textbook of gastroenterology. 2. ed., Vol 1. Philadelphia: JB Lippincott, pp 2-24
- 15) Gabella G (1976) Structure of the autonomic nervous system. Chapman and Hall, London
- 16) Gershon MD (1981) The enteric nervous system. Ann Rev Neurosci 4: 227-272
- 17) Gershon MD, Kirchgessner AL, Wade PR (1994) Functional anatomy of the enteric nervous system. In: Johnson LR (ed) Physiology of the gastrointestinal tract. 3. ed. New York: Raven Press, pp 381-422
- 18) Gunn M (1968) Histological and histochemical observations on the myenteric and submucous plexus of mammals. J Anat 102: 223-239
- 19) Henle J (1879) Handbuch der Nervenlehre des Menschen. Vieweg und Sohn, Braunschweig
- 20) Hoffmann HH, Schnitzlein NN (1969) The number of vagus nerves in man. Anat Rec 139: 429-435
- 21) Holschneider AM, Meier-Ruge W, Ure BM (1994) Hirschsprung's disease and allied disorders - a review. Eur J Pediatr Surg 4: 260-266

- 22) Howard ER, Garret JR, Kidd A (1984) Constipation and congenital disorders of the myenteric plexus. *J Royal Soc Med* 77 (Suppl 3): 13-19
- 23) Karaosmanoglu T, Aygun B, Wade PR, Gershon MD (1996) Regional differences in the number of neurons in the myenteric plexus of the guinea-pig small intestine and colon: An evaluation of markers used to count neurons. *Anat Rec* 244: 470-480
- 24) Koletzko S, Jesch I, Faus-Keßler T, Briner J, Meier-Ruge W, Müntefering H, Coerdts W, Wessel L, Keller KM, Nützensadel W, Schmittbecher P, Holschneider AM, Sacher P (1999) Rectal biopsy for diagnosis of intestinal neuronal dysplasia in children: a prospective multicentre study on interobserver variation and clinical outcome. *Gut* 44: 853-861
- 25) Krammer HJ (1993a) Topographie der ganglionären und aganglionären Plexus des enterischen Nervensystems. *Kontinenz* 2: 109-113
- 26) Krammer HJ, Karahan TK, Rumpel E, Klinger M, Kühnel W (1993b) Immunohistochemical visualization of the enteric nervous system using antibodies against protein gene product (PGP) 9.5. *Ann Anat* 175: 321-325
- 27) Krammer HJ, Hübner U, Karahan ST, Sigge W (1994) Immunhistochemischer Nachweis heterotoper Ganglien des Plexus myentericus bei einem Säugling mit Meconiumileus. *Zentralbl Kinderchir* 3: 126-132
- 28) Kumar D, Phillips SF (1989) Human myenteric plexus: Confirmation of unfamiliar structures in adults and neonates. *Gastroenterology* 96: 1021-1028
- 29) Langley JN (1900) The sympathetic and other related systems of nerves. In: Schaffer EA (ed) *Textbook of Physiology*. Pentland: Edinburgh, pp 616-696

- 30) Meier-Ruge W, Morger R, Rehbein F (1970) The hypoganglionated megacolon as accompanying disease of Hirschsprung's disease. *Z Kinderchir* 8: 254-264
- 31) Meier-Ruge W, Longo-Bauer CH (1997) Morphometric determination of the methodological criteria for the diagnosis of intestinal neuronal dysplasia (IND B). *Pathol Res Pract* 193: 465-469
- 32) Meissner G (1857) Über die Nerven der Darmwand. *Z Ration Med N F* 8: 364-366
- 33) Munakata K, Okabe I, Morita K (1992) Hypoganglionosis. *Pediatr Surg Int* 7: 8-11
- 34) Ohkubo K (1936) Studies on the intrinsic nervous system of the digestive tract. I. The submucous plexus of guinea pig. *Jpn J Med Sci Anat* 6: 1-20
- 35) Park HJ, Kamm MA, Abbrasi AM, Talbot IC (1995) Immunohistochemical study of the colonic muscle and innervation in idiopathic chronic constipation. *Dis Colon Rectum* 38: 509-513
- 36) Parr EJ, Sharkey KA (1994a) c-Fos and JunB-immunoreactivity in the enteric nervous system of the guinea-pig ileum. *Neuroreport* 5: 1657-1661
- 37) Romanska HM, Bishop AE, Brereton RJ, Spitz L, Polak JM (1993) Immunocytochemistry for neuronal markers shows deficiencies in conventional histology in the treatment of Hirschsprung's disease. *J Pediatr Surg* 28: 1059-1062
- 38) Sams VR, Bobrow LG, Happerfield L, Keeling J (1992) Evaluation of PGP 9.5 in the diagnosis of Hirschsprung's disease. *J Pathol* 168: 55-58
- 39) Schabadasch A (1930) Intramurale Nervengeflechte des Darmrohrs. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 10: 320-385

- 40) Scheuermann DE, Stach W (1984) Fluorescence microscopic study of the architecture and structure of an adrenergic network in the plexus myentericus (Auerbach), plexus submucosus externus (Schabadasch) and plexus submucosus internus (Meissner) of the porcine small intestine. *Acta Anat* 119: 49-59
- 41) Schoefield GC (1968) Anatomy of muscular and neural tissues in the alimentary canal. In: Code CF (ed) *Handbook of Physiology, Section 6, Vol 4*, Washington DC, American Physiological Society, pp 1579-1627
- 42) Schuffler MD, Bird TD, Sumi SM, Cook A (1978) A familial neuronal disease presenting as intestinal pseudo-obstruction. *Gastroenterology* 75: 889-898
- 43) Schuffler MD, Jonak Z (1982) Chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction caused by a degenerative disorder of the myenteric plexus: The use of Smith's method to define the neuropathology. *Gastroenterology* 82: 476-486
- 44) Stach W (1977) Der Plexus submucosus externus (Schabadasch) im Dünndarm des Schweines. I. Form, Struktur und Verbindungen der Ganglien und der Nervenzellen. *Z Mikrosk Anat Forsch* 91: 735-755
- 45) Stach W (1989) A revised morphological classification of neurons in the enteric nervous system. In: Singer MV, Goebell H (eds) *Nerves and the gastrointestinal tract*. Lancaster: Kluwer Academic Publishers, pp 29-45
- 46) Stach W, Brehmer A, Krammer HJ (1993) Übersicht über das Nervensystem. In: Waldeyer A, Mayet A (eds) *Anatomie des Menschen 1*. Berlin: Walter de Gruyter
- 47) Stöhr P (1952) Zusammenfassende Ergebnisse über die mikroskopische Innervation des Magen-Darmkanales. *Ergebn Anat Entwickl* 34: 250-401

- 48) Stoss F, Meier-Ruge W (1994) Experience with neuronal intestinal dysplasia (IND) in adults. *Eur J Pediatr Surg* 4: 289-302
- 49) Surprenant A (1994) Control of the gastrointestinal tract by enteric neurons. *Ann Rev Physiol* 56: 117-140
- 50) Timmermans JP, Scheuermann DW, Stach W, Adriaensen D, De Groot-Lasseel MHA (1992) Functional morphology of the enteric nervous system with special reference to large mammals. *Eur J Morphol* 30: 113-122
- 51) Timmermans JP, Adriaensen D, Cornelissen W, Scheuermann DW (1997) Structural organization and neuropeptide distribution in the mammalian enteric nervous system, with special attention to those components involved in mucosal reflexes. *Comp Biochem Physiol* 118: 331-340
- 52) Wedel T, Gleiß J, Schiedeck T, Herold A, Krammer HJ, Bruch HP (1998 a) Das neurogene Megakolon: Liegt immer ein Morbus Hirschsprung zugrunde? *Coloproctology* 20: 45-57
- 53) Wedel T, Krammer HJ, Kühnel W, Sigge W (1998 b) Alterations of the enteric nervous system in neonatal necrotizing enterocolitis revealed by whole-mount immunohistochemistry. *Ped Pathol* 18: 57-70
- 54) Wedel T, Roblick U, Gleiß J, Schiedeck T, Bruch HP, Kühnel W, Krammer HJ (1999) Organization of the enteric nervous system in the human colon demonstrated by wholmount immunohistochemistry with special reference to the submucous plexus. *Ann Anat* 181: 327-337
- 55) Wedel T, Roblick UJ, Ott V, Eggers R, Schiedeck THK, Krammer HJ, Bruch HP (2002a) Oligoneuronal hypoganglionosis in patients with idiopathic slow transit constipation. *Dis Colon Rectum* 45: 54-62

- 56) Wedel T, Spiegler J, Söllner S, Roblick UJ, Schiedeck THK, Bruch HP, Krammer HJ (2002b) Interstitial cells of Cajal and the enteric nervous system are concomitantly altered in patients with slow-transit constipation and megacolon. *Gastroenterology* 123: 1459-1467
- 57) Weinberg AG (1970) The anorectal myenteric plexus: Its relation to hypoganglionosis of the colon. *Amer. J. Clin. Path.* 54: 637-642
- 58) Wester T, O'Brian S, Puri P (1998) Morphometric aspects of the submucous plexus in whole-mount preparations of normal human distal colon. *J Pediatr Surg* 33: 619-622
- 59) Wilkinson KD, Deshpande S, Larsen CN (1992) Comparisons of neuronal (PGP 9.5) and non-neuronal ubiquitin C-terminal hydrolases. *Biochem Soc Trans* 20: 631-642
- 60) Wood JD (1987) Physiology of the enteric nervous system. In: Johnson LR (ed) *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. Raven, New York, pp 67-109
- 61) Young HM, Furness JB, Sewell P, Burcher EF, Kandiah CJ (1993) Total numbers of neurons in myenteric ganglia of the guinea-pig small intestine. *Cell Tissue Res* 272: 197-200

8 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ENS	Enterisches Nervensystem
GIT	Gastrointestinaltrakt
IND	Intestinale neuronale Dysplasie
PGP 9.5	Protein Gene Product 9.5
AEC	Aminoethylcarbazol
NANC	non-adrenerg, non-cholinerg

9 DANKSAGUNG

Mein Dank gilt dem Direktor des Instituts für Anatomie der Universität zu Lübeck, Herrn Prof. Dr. med. Jürgen Westermann, sowie dem ehemaligen Direktor, Herrn Prof. Dr. med. h.c. mult. Wolfgang Kühnel, für die Bereitstellung des Dissertationsthemas und die wertvollen Hinweise und Ratschläge zur Konzeption der Arbeit.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Herrn PD Dr. med. Thilo Wedel, Institut für Anatomie der Universität zu Lübeck, für die stets engagierte und umfassende fachliche Betreuung meiner Arbeit.

Für die Unterstützung bei allen computerbezogenen Fragen gebührt mein Dank Herrn Dr. med. Stefan Söllner, Klinik für Plastische Chirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck.

Für ihre Unterstützung in der praktischen Durchführung dieser Arbeit danke ich den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern aus dem Institut für Anatomie der Universität zu Lübeck, insbesondere Frau Kathy Budler (MTA) und Herrn Dr. med. Kianusch Tafazzoli, jetzt ärztlicher Mitarbeiter in der Klinik für Kinderchirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck.

Für die freundliche Zusammenarbeit bei der Bereitstellung der Präparate danke ich den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Pathologie (Direktor: Prof. Dr. med. Alfred Feller) der Universität zu Lübeck, insbesondere Herrn Prof. Dr. med. Erich Reusch sowie den Herren Bernd Schröder, Bodo Schröder und Jürgen Ellendt (Präparatoren).

10 LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE DATEN

Name:	Kathrin Soost
Geburtsdatum:	24.03.1978
Geburtsort:	Georgsmarienhütte

SCHULAU SBILDUNG

1984-1988	Grundschule Oesede
1988-1990	Orientierungsschule Oesede
1990-1997	Gymnasium Oesede

HOCHSCHULAU SBILDUNG

1997-1999	Vorklinisches Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität zu Lübeck
1995-2004	Klinisches Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität zu Lübeck
13.09.1999	Physikum
29.08.2000	1. Staatsexamen
19.08.2002	2. Staatsexamen
05.05.2004	3. Staatsexamen

Gesamtnote der Ärztlichen Prüfung: 2

PROMOTION

Seit 01/2002	“Morphometrische Untersuchungen des enterischen Nervensystems im menschlichen Rektum” Institut für Anatomie Direktor: Prof. Dr. med. Jürgen Westermann Universität zu Lübeck
--------------	--

FAMULATUREN / PRAKTIKA / AUSLANDSAUFENTHALT

13.03.2000-09.04.2000	Chirurgie, Diakoniekrankenhaus Georgsmarienhütte
26.02.2001-06.04.2001	Pädiatrie, Kinderhospital Osnabrück

06.08.2001-16.09.2001	Allgemeinmedizin, Facharztpraxis Braunschweig
11.03.2002-24.03.2002	Innere Medizin, Krankenhaus Süd
12/2002-03/2003	PJ Chirurgie; Westmead Hospital, University of Sydney, Australia
04/2003-05/2003	PJ Kinderchirurgie, UKL Schleswig Holstein, Campus Lübeck
06/2003-09/2003	PJ Pädiatrie, UKL Schleswig Holstein, Campus Lübeck
10/2003-02/2004	PJ Innere Medizin, Sana Kliniken Lübeck

BERUFSAUSBILDUNG

07/2004	Ärztin im Praktikum, Klinik für Pädiatrie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
---------	---

WISSENSCHAFTLICHE VERÖFFENTLICHUNGEN

1. Tafazzoli K, Soost K, Roblick U, Krammer HJ, Wedel T: Morphometrie des enterischen Nervensystems im Anorektum – Konsequenzen für Biopsieentnahme und histopathologische Diagnostik. Vortrag, Deutscher Chirurgenkongress, Berlin, 30.04.2004
2. Tafazzoli K, Soost K, Wessel L, Wedel T (2004) Topographic peculiarities of the submucous plexus in the human anorectum – consequences for histopathologic evaluation of rectal biopsies. Eur J Pediatric Surg (im Druck)
3. Wedel T, Soost K, Wessel L, Söllner S, Krammer HJ, Tafazzoli K (2005) Morphology and morphometry of the enteric nervous system in the human anorectum. (Manuskript in Vorbereitung)
4. Soost K, Tafazzoli K, Wessel L, Krammer HJ, Wedel T (2005) Besonderheiten des enterischen Nervensystems im menschlichen Rektum – morphologische und morphometrische Befunde. 34. International Symposium of Pediatric Surgery, Obergurgl, 20.-23.03.2005 (Vortrag angenommen)