

Aus dem Zentrum für Augenheilkunde der Universität zu Köln

Klinik und Poliklinik für Allgemeine Augenheilkunde

Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. C. Cursiefen

CD-Marker Klassifikation humaner Kopfganglien

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der ärztlichen Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Dr. med. univ. Samuel Franz Heindl
aus Bad Reichenhall

promoviert am 27. April 2026

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln

2026

- Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink
1. Gutachter: Privatdozent Dr. med. Dr. phil. L. Heindl
2. Gutachterin: Universitätsprofessorin Dr. med. I. Dudanova

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Herr Prof. Dr. Dr. Ludwig M. Heindl

Herr Prof. Dr. Falk Schrödl; MSc

Herr Christian Platzl

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die humanen Spenderpräparate wurden im Zeitraum von 2021 – 2024 von mir, mit Unterstützung von oben genanntem Herrn Prof. Dr. Falk Schrödl; MSc an der medizinischen Privatuniversität Salzburg, Österreich im Rahmen des dort etablierten Körperspenderprogramms des Universitätszentrums für Anatomie und Zellbiologie entnommen.

Die weitere Aufarbeitung, sowie Mikroskopie der verwendeten Präparate erfolgte eigenständig durch mich selbst im gleichen Zeitraum während meiner Forschungstätigkeit an oben genannter Institution.

Die Analyse der so gewonnenen Daten erfolgte eigenständig durch mich selbst im Zeitraum des Jahres 2025 während meines Promotionsstudienganges an der Graduiertenschule für Human- und Zahnmedizin der Universität Köln am Zentrum für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Köln unter Betreuung von Prof. Dr. Dr. Ludwig M. Heindl.

Die Verschriftlichung der hier präsentierten Arbeit erfolgte ausschließlich durch mich alleine. Zur Kontrolle meiner Arbeit wurden Herr Prof. Dr. Dr. Ludwig M. Heindl, Herr Prof. Dr. Falk Schrödl; MSc sowie Herr Christian Platzl herangezogen.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 29.06.2025

Unterschrift:

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mich sowohl fachlich als auch persönlich bei dieser Diplomarbeit unterstützt haben.

Als erstes möchte ich hier Herrn Prof. Dr. Dr. Ludwig M. Heindl erwähnen, welcher für mich die Stellung als Betreuer und Mentor übernahm.

Des Weiteren danke ich Herrn Univ. Prof. Dr. Falk Schrödl; MSc vom Universitätszentrums für Anatomie und Zellbiologie der Paracelsus Medizinischen Universität Salzburg, meinen ersten Mentor und Unterstützer auf meiner bisherigen akademischen Laufbahn.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Christian Platzl, wissenschaftlicher Mitarbeiter der Forschungsgruppe um Herrn Prof. Dr. Falk Schrödl; MSc. bedanken, welcher mich bei der Korrektur meiner Dissertation unterstützte.

Zuletzt möchte ich mich für eine außerordentliche persönliche Unterstützung bei meinen Eltern, Herrn. Dipl.-Bw. Erwin Meier-Heindl und Frau Silvia Heindl, sowie meiner Partnerin Frau Mag. vet. med. Nicole Lautner bedanken.

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	7
1. ZUSAMMENFASSUNG	8
2. EINLEITUNG	9
2.1. Ganglion ciliare	10
2.2. Ganglion pterygopalatinum	11
2.3. Ganglion cervicale superius	12
2.4. Ganglion trigeminale	13
2.5. Bedeutung von CD - Markern	16
2.6. Forschungsfrage	17
3. MATERIAL UND METHODEN	18
3.1. Humanspender	18
3.2. Immunhistochemie	19
3.3. Dokumentation	21
4. ERGEBNISSE	22
4.1. Ganglion ciliare (CIL)	22
4.2. Ganglion pterygopalatinum (PPG)	26
4.3. Ganglion cervicale superius (SCG)	28
4.4. Ganglion trigeminale (TRI)	31
5. DISKUSSION	35
5.1. Konklusion	39

6.	LITERATURVERZEICHNIS	41
7.	ANHANG	44
7.1.	Abbildungsverzeichnis	44
7.2.	Tabellenverzeichnis	44
7.3.	Figurenverzeichnis	45
7.4.	Kontrollbilder	46

Abkürzungsverzeichnis

CD – Cluster of Differentiation

CIL – Ganglion ciliare

PPG – Ganglion pterygopalatinum

SCG – Ganglion cervicale superius

TRI – Ganglion trigeminale

N. – Nervus

M. – Musculus

NEW – Nucleus Edinger Westphal

CGRP - calcitonin gene-related peptide

SP – Substance P

IL – Interleukin

NYP – Neuropeptid Y

DBH - Dopamin-beta-hydroxylase

TH - Tyrosin-Hydroxylase

VIP - Vasoactive intestinal polypeptid

TBS - Tris buffered saline (Tris gepufferte Kochsalzlösung)

DAPI - 4',6-Diamidin-2-phenylindol

L1CAM - neural cell adhesion molecule L1

1. Zusammenfassung

Die Funktion vor allem der autonomen humanen Kopf- und Halsganglien hat sich im Lauf der letzten Jahre von reinen Umschaltstation dahingehend weiterentwickelt, dass Ganglien vielmehr als Integrationszentren für neuronale Reize aus verschiedenen Komponenten des Nervensystems angesehen werden. Die genaue Funktionsweise welche solch komplexe Vorgänge ermöglicht bleibt allerdings bis heute weitgehend unverstanden.

Neben den gängigen funktionellen Untersuchungen von Neuronen, wie zum Beispiel von Neurotransmitterexpressionsmuster, liegt auch in der Untersuchung von membrangebundenen Proteinen ein Zugang zum weiteren Verständnis der Funktion verschiedener Neurone. Zu diesen membrangebundenen Antigenen zählen auch CD-Marker Für humane Kopf- und Halsganglien ist aktuell eine Analyse der CD - Oberflächenmarker nicht vorhanden. Daher ist es Ziel dieser Arbeit ein immunhistochemische Analyse der CD – Marker Expression eben dieser Ganglien durchzuführen.

Für diesen Zweck wurden in dieser Arbeit vier unterschiedliche Ganglien (die autonomen Ganglion ciliare, Ganglion pterygopalatinum, Ganglion cervicale superius, sowie das Ganglion trigeminale) auf das Vorkommen von zehn CD – Markern (CD24, CD29, CD56, CD59, CD81, CD90, CD147, CD147, CD171, CD271) in drei unterschiedlichen neuronalen Strukturen (Neurone, Mantelzellen, Nervenfasern) untersucht. Hierfür wurde jeweils ein Präparat aller vier Ganglien einer Färbung für einen CD – Marker und einer Kernfärbung unterzogen. Diese Präparate wurden anschließend fluoreszenzmikroskopisch untersucht und dokumentiert.

Es konnte für alle vier Ganglien ermittelt werden, welche Struktur welchen CD – Marker exprimiert. Zudem konnten für jedes Ganglion dezidierte CD – Marker etabliert werden, welche sich besonders gut eignen um eine der drei untersuchten Strukturen darzustellen.

Als Konklusion dieser Arbeit lässt sich festhalten, dass mit der hier verwendeten Methodik CD - Marker auf Neuronen der untersuchten Ganglien nachgewiesen werden konnten und dies im Sinne eines proof of principle geeignet war, dezidierte neuronale Strukturen in Ganglien auf ihre immunologischen Expressionsmuster zu untersuchen.

2. Einleitung

Ganglien als Überbegriff beschreiben Anhäufungen von Nervenzellkörpern (Neuronen) im Verlauf bestimmter Nerven, die dadurch in einer Verdickung des Nervenstranges resultieren. Ganglien lassen sich sowohl im peripheren, als auch zentralen Nervensystem finden, wobei im zentralen Nervensystem eher der Begriff Nuclei gebräuchlich ist. Eine gängige Unterteilung von Ganglien erfolgt in zwei Gruppen, die Spinalganglien, sowie die autonomen Ganglien. Spinalganglien befinden sich jeweils als deutliche Auftreibung aus Nervenzellkörpern, beidseits, an jeder dorsalen Wurzel (Radix posterior) eines jeden Spinalnerven in den jeweiligen Foramina intervertebralia zwischen zwei übereinanderliegenden Wirbelkörper. Gebildet werden sie aus den somatischen Nervenfasern des peripheren Nervensystems und leiten somit afferent sensible Reize aus der Peripherie ans Rückenmark über. Autonome Ganglien hingegen bilden sich aus Nervenzellkörpern des autonomen Nervensystems und werden wiederum einerseits in sympathische und parasympathische Ganglien unterteilt. Fasern, welche zum autonomen Ganglion hinführen bezeichnet man allgemein als präganglionäre Fasern, Fasern welche aus dem autonomen Ganglion zur Effektorstruktur ziehen werden üblicherweise als postganglionäre Fasern bezeichnet. Für diese Arbeit sind insbesondere die autonomen Ganglien der Kopf- und Halsregion von Bedeutung (Ganglion ciliare, Ganglion pterygopalatinum, Ganglion cervicale superius). Eine Ausnahme bildet dabei das untersuchte Ganglion trigeminale, welches die sensiblen (primär afferenten) Anteile des Nervus trigeminus (Hirnnerv V) leitet. Die für diese Untersuchung ausgewählten Ganglien zeigen des Weiteren einen direkten Bezug zur Regulation und Steuerung des Schädels und damit verbunden auch des okulären Systems. Innerhalb dieses Systems fallen Funktionen wie zum Beispiel die Steuerung des Ciliarmuskels durch postganglionäre Fasern aus dem Ganglion ciliare zur Akkommodation, die Innervation des Trabekelwerks des okulären Ausflusstrakts zur Kontrolle des Augeninnendrucks über das selbe Ganglion oder die vasodilatatorische Beeinflussung der Uvea durch Nervenfasern aus dem Ganglion pterygopalatinum ¹. Die Wichtigkeit dieser ganglionären Systeme lässt sich insbesondere durch den Ausfall eines oder mehrerer eben jener verstehen. So kann eine Schädigung zum Beispiel des Ganglion ciliare einen einseitigen vollständigen Verlust des Lidschlussreflexes bedingen, oder durch den Ausfall des M. ciliaris eine Akkomodationsschwäche hervorrufen. Eine Läsion des Ganglion trigeminale kann mit Sensibilitätsverlusten im Gesichtsbereich einhergehen. Bei Schäden im Bereich des Ganglion cervicale superius hingegen treten Ausfallserscheinungen wie das Horner Syndrom mit einer Trias aus Miosis, Ptosis und Enophthalmus auf. Detaillierte Aufführungen zu den Funktionen der einzelnen Ganglien können sie im folgenden Text dieser Arbeit entnehmen.

2.1. Ganglion ciliare

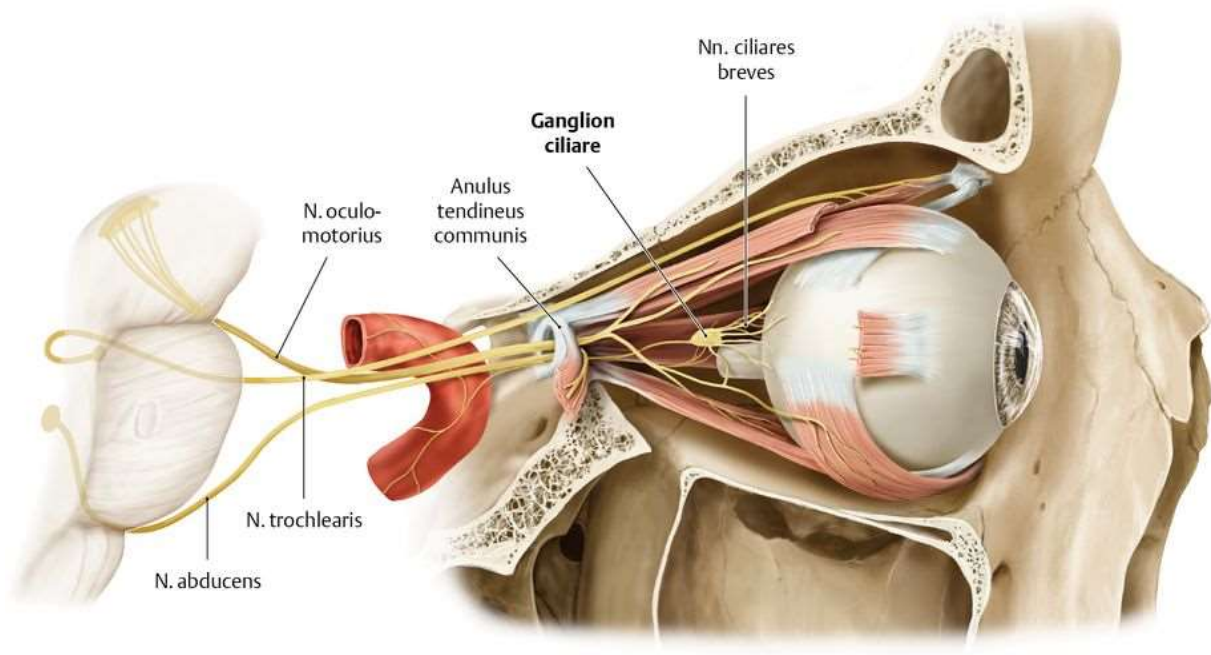


Abbildung 1: Schematische Darstellung der anatomischen Lage des CIL.

Quelle: Schünke, Schulte, Schumacher. Prometheus Kopf, Hals und Neuroanatomie. Illustrationen: Voll, Wesker. Thieme, 2018. Zugriff über: <https://viamedici.thieme.de/> (Zuletzt abgerufen am 19.06.2025)

Das Ganglion ciliare (CIL) befindet sich beim Menschen und anderen Wirbeltieren topografisch innerhalb der Orbita, hinter dem Bulbus oculi, zwischen Musculus rectus lateralis und Nervus opticus. Auch bei Spezies welche kein CIL vergleichbar zum humanen Pendant besitzen (z.B. Cyclostomi) lassen sich einzelne Neurone verteilt über den Verlauf des N. oculomotorius nachweisen, welche das entsprechende Gegenstück zum humanen CIL bilden ¹. Im Ganglion selbst werden parasympathische Fasern verschaltet, während sensible und sympathische Fasern das Ganglion lediglich passieren (Bhardwaj, 2025). Die in das Ganglion hineinziehenden (präganglionären) parasympathischen Fasern haben ihren Ursprung im und um den Nucleus Edinger Westphal (NEW). Allerdings bestehen Hinweise darauf, dass das CIL weitere neuronale Inputs zur Modulation dieser Signale bekommt. Hier wird vor allem der Einfluss von trigeminalen Fasern auf die Signalmodulation diskutiert ^{2,3}. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Makaken zeigten sowohl Heterogenität in Zell- und Synapsenstruktur, als auch im Inhalt postsynaptischer Vesikel ². Für humanes Gewebe beispielhaft aufgeführt werden können hier postganglionäre Neurone, welche Input von calcitonin gene-related peptide (CGRP) und Substance P (SP) positiven, trigeminalen Nervenfasern erhalten ⁴. In Zusammenschau bisheriger Forschungsarbeiten lässt sich hieraus

schließen, dass das CIL weniger eine reine Umschaltstation für Nervenfasern des NEW ist (prä- auf postganglionär), als vielmehr eine komplexe Struktur zur Integration und Modulation verschiedener neuronaler Signale ⁵. Funktionell werden aus postganglionären Fasern des CIL beim Menschen allen voran der M. sphincter pupillae, der M. ciliaris und der M. dilatator pupillae innerviert. Beim Vogel kommt zusätzlich noch die Innervation von choroidale Blutgefäße durch postganglionäre Fasern des CIL hinzu ^{6,7}.

2.2. Ganglion pterygopalatinum

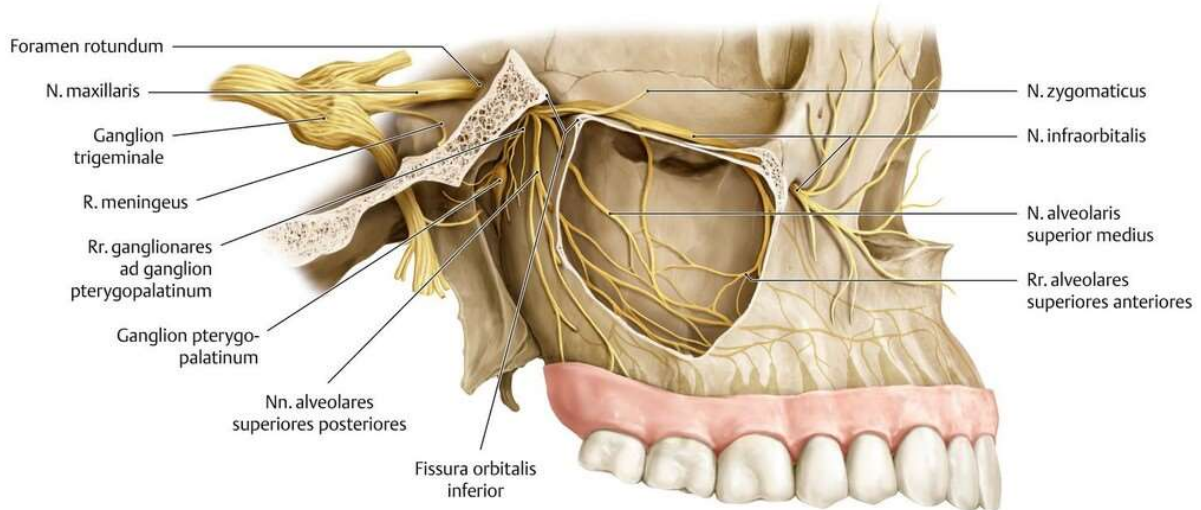


Abbildung 2: Schematische Darstellung der anatomischen Lage des PPG.

Quelle: Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K. 4.15 Nervus trigeminus (V): Verlauf der drei Hauptäste. In: Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K, Hrsg. Prometheus LernAtlas - Kopf, Hals und Neuroanatomie. 4. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2015. doi:10.1055/b-004-129728. Zugriff über: <https://viamedici.thieme.de/> (Zuletzt abgerufen am 19.06.2025)

Das Ganglion pterygopalatinum (PPG) bildet beim Menschen in 2/3 der Fälle ein singuläres Ganglion in der sogenannten Fossa pterygopalatina, einer Grube zwischen dem Processus palatinus als Fortsatz der Maxilla und dem Processus pterygoideus, einem Fortsatz des Os sphenoidale. In 1/3 der Fälle kann das PPG als zweigeteiltes Ganglion auftreten ⁸. Ebenso wie im CIL durchlaufen sensible, sympathische und parasymphatische Nervenfasern das PPG, wobei nur letztere dort verschalten werden. Die präganglionären parasymphatischen Nervenfasern haben ihren Ursprung im Nucleus salivatorius superior, welcher als

viszeromotorischer Hirnnervenkern im Tegmentum pontis im hinteren Teil des Pons liegt. Innerhalb der letzten Jahre zeigten Forschungsarbeiten zum PPG an Ratten, dass dieses Ganglion neuronale Cluster bildet, deren Nervenzellkörper IL-6 positiv sind ⁹. Außerdem konnten Subpopulationen von Neuronen im PPG identifiziert werden, welche entweder das Neuropeptid Y (NYP) exprimieren und immunoreaktiv für die Acetylcholinesterase sind oder Immunreaktivität für Tyrosinhydroxylase & Katecholamine zeigen ¹⁰. Diese Subpopulations- und Clusterbildung in den Neuronen des PPG unterstreicht die Rolle als komplexes Integrationszentrum für die Vermittlung verschiedener neuronaler Effekte, da einerseits verschiedene Integrationsbereiche bestehen (i.e. IL-6 positive Bereiche), andererseits Neurone mit unterschiedlicher Ausstattung von Neurotransmittern (i.e. NYP) im gleichen Ganglion existieren. Die Komplexität dieses Ganglions lässt sich auch anhand seiner Innervationsbereich erahnen. Einerseits ziehen postganglionäre Fasern vom PPG zu okulären Strukturen wie dem ciliären Epithelium und Trabekelwerk, andererseits werden zerebrale Blutgefäße oder allen voran Tränendrüsen und Drüsen des Gaumens und der Nase innerviert.

2.3 Ganglion cervicale superius

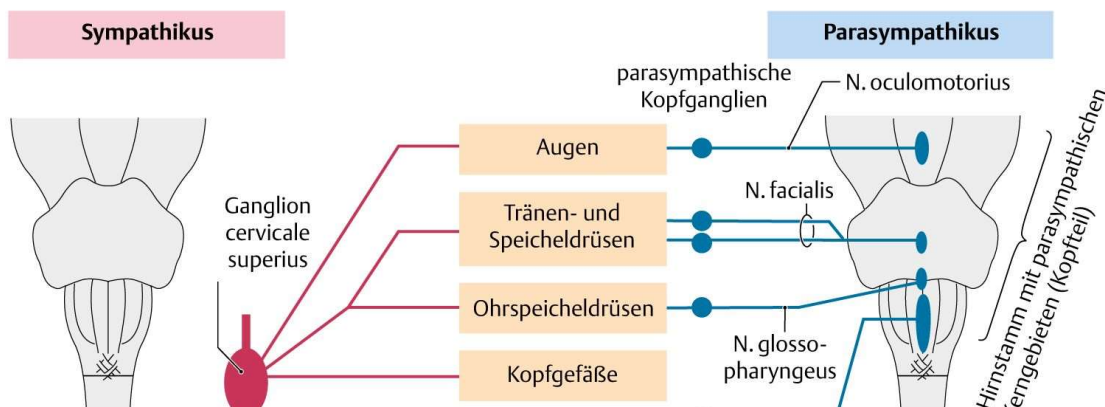


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Effektorregionen des SCG mit deren korrelierenden parasymphatischen Innervationen.

Quelle: Schünke, Schulte, Schumacher. Prometheus Innere Organe. Illustrationen: Voll, Wesker. Thieme. Zugriff über: <https://viamedici.thieme.de/> (Zuletzt abgerufen am 19.06.2025)

Das Ganglion cervicale superius (SCG) bildet das größte Halsganglion und liegt auf Höhe des zweiten bis dritten Halswirbels zwischen Arteria carotis interna und Musculus longus capitis ¹¹. Das SCG zählt zu den sympathischen Ganglien und bildet als Schnittstelle zwischen prä- und

postganglionären Axonen bzw. Neuronen nikotinische, cholinerge Synapsen aus ⁵. Eine Untersuchung der postganglionären Neurone des SCG ergab vor einigen Jahren, dass sich diese Neurone in ihrer Expression von Dopamin-beta-hydroxylase (DBH), Tyrosin-Hydroxylase (TH), Neuropeptid Y (NPY) und Vasoactive intestinal polypeptid (VIP) unterscheiden ^{12,13}. In der Studie von Tajti et al. wurde zudem die Expression des VPAC1 Rezeptors in Neuronen des SCG gezeigt. Hieraus kann sich eine Interaktion des SCG mit entweder parasymphathischen Nerven oder dem zerebralen Endteil des sympathischen Traktes hergeleitet werden. Welche genauen funktionellen Unterschiede diese Merkmale haben könnten bleibt aktuell weitestgehend ungeklärt ¹³. Es bestehen allerdings Indizien welche funktionellen Unterschiede hinter den unterschiedlichen Expressionen von Neurotransmittern stehen könnten. So stellten Stübinger et al. im Jahr 2010 die Hypothese auf, dass zwar TH positive Neurone des SCG in die Choroidea projizieren, allerdings jene Neurone die sowohl TH als auch Galanin exprimierten eben nicht choroidale Strukturen innervieren ¹⁴. Hieran zeigt sich auch beim SCG wieder, dass die Definition als reine Umschaltstation von prä- zu postganglionären Fasern zu kurz gegriffen ist.

2.4. Ganglion trigeminale

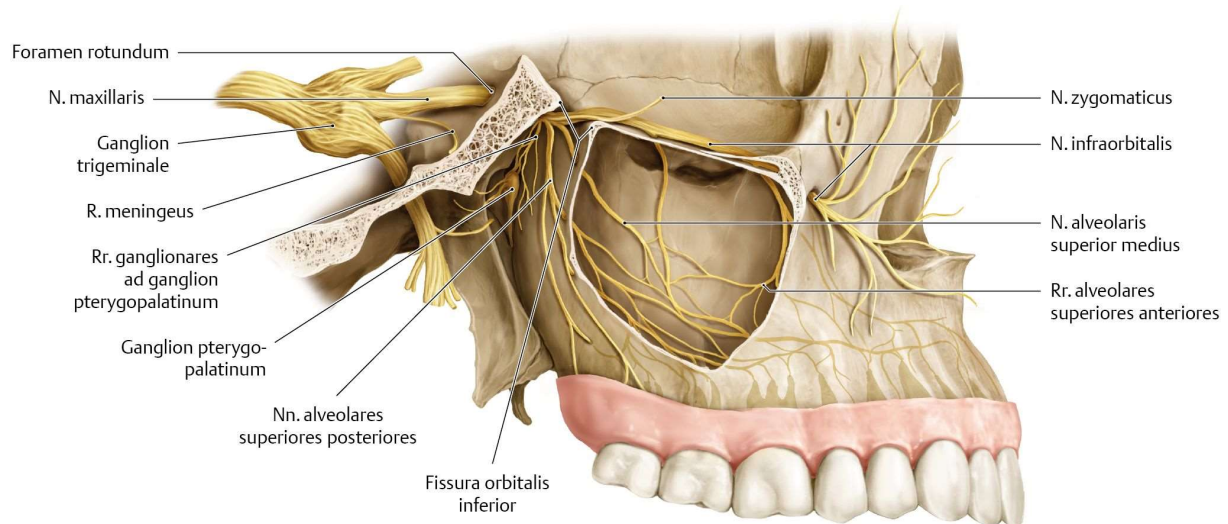


Abbildung 4: Schematische Darstellung der anatomischen Lage des TRI und seiner postganglionären Fortsätze.

Quelle: Schünke, Schulte, Schumacher. Prometheus Kopf, Hals und Neuroanatomie. Illustrationen: Voll, Wesker. Thieme, 2018. Zugriff über: <https://viamedici.thieme.de/> (Zuletzt abgerufen am 19.06.2025)

Das Ganglion trigeminale (TRI) (auch Ganglion Gasseri oder Ganglion semilunare genannt) liegt topografisch innerhalb der mittleren Schädelgrube, genauer in der Cavitas trigeminalis, welche sich vor der Pars petrosa des Os temporale befindet ¹⁵. Mit einer durchschnittlichen Größe von 2 cm bildet es beim Menschen das größte Ganglion. Aus histologischer Sicht besteht das TRI aus primär afferenten, pseudounipolaren Neuronen, welche peripher die 3 Hauptäste des TRI bilden (N. ophthalmicus, maxillaris, mandibularis) ¹⁶. Pseudounipolar bedeutet hier, dass keine eigentliche Verschaltung von Signalen im klassischen Sinne stattfindet, da Aktionspotentiale vom peripheren Anteil des pseudounipolaren Neurons direkt auf den zentralen Anteil laufen. Das eigentliche Perikaryon des Neurons wird lediglich mit erregt. Eine Besonderheit bilden einerseits die sensiblen Fasern des Nucleus mesencephalicus n. trigemini, welche das TRI lediglich unverschalten durchlaufen, andererseits die motorischen Fasern des Nucleus motorius n. trigemini, welche die motorischen Anteile des N. mandibularis zur Innervation der Kaumuskulatur bilden. Die Neurone des TRI produzieren eine große Anzahl verschiedener Neuropeptide ¹⁷, welche ebenfalls als Neurotransmitter fungieren können ¹⁸. Anhand der Expression sich unterscheidender Neurotransmitter können auch im TRI unterschiedliche Neuronenpopulationen beschrieben werden (siehe für eine detaillierte Aufstellung Abbildung 5). Betrachtet man zusätzlich die Kollateralen des TRI zum CIL und PPG ¹ lässt sich das TRI als lokales Effektorsystem interpretieren ⁵. Diese Rolle als lokales Effektorsystem wird deutlich, wenn man die im klassischen Sinne bekannte Funktion der Afferenzen des TRI (sensible Innervation des Gesichts und Rachenbereiches) mit rezenten immunhistochemischen Studien und Untersuchungen der Neurotransmitterexpression des TRI vergleicht. So können Axone des TRI zum Beispiel über den N. ophthalmicus, neben ihrer sensorischen Komponente, ebenfalls Einfluss auf glatte Muskelzellen aller okulären Schichten (exklusive der Retina) ausüben.

Neuroactive substance	Trigeminal ganglion		Mesencephalic trigeminal nucleus	
	Normal	Axotomy effects	Normal	Axotomy effects
Neurotransmitters and their known receptors				
Glu	+		+	
Ionotropic AMPA, KA and NMDA receptors	Only KA subunits		All AMPA, KA and NMDA	
Metabotropic receptors	mGluR5		mGluR4 and mGluR7	
Asp	+		+	
GABA	+		+	(Interneurons)
GABA _A receptor	γ1, γ2 subunits		α2, β2, γ2 subunits	
GABA _B receptor	GABA _{B2} subunit		GABA _{B1} subunit	
Gly	-		-	
DA	-		-	
D ₁ DA receptor	-		+	
D ₂ DA receptor	+		+	(Only pontine part)
SER	-		-	
5-HT _{1B} receptor	+		-	
5-HT _{1D} receptor	+		+	
5-HT _{1F} receptor	+		-	
5-HT ₂ receptor	-		+	
5-HT ₃ receptor	-		+	
5-HT ₇ receptor	+		-	
Histamine	-		-	
H ₁ receptor	+		+	
H ₂ receptor	-		-	
H ₃ receptor	-		+	
Ach	-		-	
Nicotinic ACh receptors	+		-	
Muscarinic Ach receptors	-		-	
Adenosine	-		-	
A ₁ receptor	+		-	
A _{2A} receptor	-		+	
A _{2B} receptor	-		-	
A ₃ receptor	-		-	
ATP	-		-	
P _{2X} receptor	+		+	
P _{2Y} receptor	-		-	
NO	+		+	
Neuropeptides and their known receptors				
SP	+	↓	-	
CGRP	+	↓	-	+
SOM	+		-	
SOM sst2(b) receptor	-		+	
CCK	+		-	
Opioid peptides	+		-	
μ-Opioid receptor	+		-	
δ-Opioid receptor	+		-	
κ-Opioid receptor	+		-	
GAL	+	↑	-	+
VIP	+	↑	-	
PACAP	±	↑	-	+
NPY	+	↑	-	+
NPY Y ₁ receptor subtype	+		-	
NPY Y ₂ receptor subtype	+		-	
NPY Y ₅ receptor subtype	-		+	
PEP 19	+		+	
Calcium-binding proteins				
PV	+	↓	+	↓
CB	+	↓	+	↓
CR	+		-	
S-100	+		-	
NC	+		-	
OC	+		+	
OPN	+		+	

Abbildung 5 ¹⁷: Tabellarische Auflistung der von Lazarov gefundenen Neurotransmitter in normalen primär afferenten Neuronen des TRI.

2.5. Bedeutung von CD – Markern

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Expression von CD – Oberflächenproteinen auf neuronalen Strukturen verschiedener Ganglien. Bisher werden Neurone vor allem anhand ihrer Neurotransmitter und –peptidexpression, ihrer Morphologie, ihrem elektrophysiologischen Verhalten oder ihres spezifischen Rezeptorbesatzes klassifiziert. Eine Klassifizierung anhand der sogenannten Cluster of Differentiation ist insbesondere für humane Ganglien neu. Bei diesen CD handelt es sich überwiegend um membrangebundene Glykoproteine, welche zellspezifisch oder ubiquitär auf verschiedenen Zellen exprimiert werden. Hierbei werden von den CD verschiedenste Funktionen übernommen, wie zum Beispiel Rezeptor- oder Signalfunktionen, enzymatische Aktivitäten oder auch interzelluläre Kommunikation. CD - Marker sind am genauesten in humanen hämatologischen und immunologischen Zellen beschrieben. Vorkurzem konnte gezeigt werden dass diese aber auch eine bedeutende Rolle in neuronalen Zellen ^{19,20} spielen. Im Rahmen der genannten Bedeutung von CD - Markern für neuronale Strukturen wurde kürzlich ein umfassender Katalog von CD - Markern an neuronalen Zelllinie erstellt ²¹. Dieser Katalog erlaubt es nun, neuronale Strukturen anhand ihres individuellen Expressionsmusters von CD - Markern spezifischen Subgruppen zuzuordnen. Diese so erhaltenen Untergruppen können einerseits Neurone verschiedener Funktion darstellen, was im Rückschluss tiefere Einblicke in das Zusammenspiel neuronaler Netzwerke ermöglicht, andererseits bietet die Expression unterschiedlicher Oberflächenmarker aber auch Angriffspunkte für speziell gegen diese Marker gerichtete Therapien.

2.6. Forschungsfrage

Für alle vier der soeben beschriebenen Ganglien stehen aktuell nur in einem Fall suffiziente Daten über das Expressionsmuster eines CD – Antigens in den zum Ganglion gehörenden Strukturen beim Menschen zur Verfügung: Am humanen TRI wurde CD146 untersucht, wobei sich unter anderem neuronale Zellmembranen und CD146 positive Stamm- & Progenitorzellen an den Nervenfasern nachweisen ließen²². Da diese Antigene aber, ähnlich wie zum Beispiel Informationen über die Neurotransmitterexpression, wichtige Hinweise zu Funktionen und Zusammenspiel innerhalb der Ganglien liefern können, untersucht diese Arbeit die Expression von neun verschiedenen CD - Markern (CD24, CD29, CD56, CD59, CD81, CD90, CD146, CD147, CD171, CD271) in Neuronen, Mantelzellen und Nervenfasern von vier verschiedenen humanen Kopf- und Halsganglien (CIL, PPG, SCG, TRI). Hierbei wurde fluoreszenzmikroskopisch untersucht, ob die oben genannten Strukturen immunreaktiv für den jeweiligen CD - Marker waren. Darüberhinaus wurde in einem semiquantitativen Ansatz verfolgt welche CD – Marker sich auf den jeweiligen Strukturen in ihrem Expressionsmuster darstellen.

Hieraus lassen sich die folgende Forschungsfragen ableiten:

1. Expressieren die genannten Strukturen (Neurone, Mantelzellen, Nervenfasern) im jeweiligen Ganglion einen oder mehrere CD - Marker?
2. Welcher CD – Marker stellt sich auf welcher Struktur im jeweiligen Ganglion als besonders deutlich dar und eignet sich damit im Vergleich besser als die anderen CD – Marker zur Darstellung dieser Struktur?

3. Material und Methoden

3.1. Humanspender

Ganglien wurden von sechs verschiedenen humanen Körperspender entnommen. Die Körperspender entstammten dem Körperspendeprogramm des Universitätszentrums für Anatomie und Zellbiologie der Paracelsus Medizinischen Universität Salzburg, Österreich. Die gesamte Gewebeentnahme erfolgte unter Einhaltung der Deklaration von Helsinki. Die Erlaubnis des Ethikrates des Landes Salzburg, Österreich liegt vor (EK1012/2019). Die genauen Details zu den jeweiligen Spendern (Geschlecht, Alter, post-mortem Zeit) sind der Tabelle 1 zu entnehmen. Die Spenderherkunft war bei allen Spendern kaukasisch. Die entnommenen Ganglien wurden jeweils in Tris gepufferter Kochsalzlösung (TBS) mit 4% Paraformaldehyd für eine Stunde fixiert, folgend mit TBS gewaschen und in TBS mit 15% Saccharose über Nacht bei 4 Grad Celsius gelagert. Die Gewebeproben wurden abschließend mit durch Flüssigstickstoff gekühltem Isopentan (Sigma-Aldrich, Wien Österreich) auf -60 bis -70 Grad Celsius gefroren und bei -20 Grad Celsius bis zur weiteren Verwendung gelagert.

Tabelle 1: Detailinformationen zu den verwendeten Spendern. P.m. = Post mortem; h = Stunden

Spender	Ganglion	Geschlecht	Alter	P.m. Zeit (h)
1	TRI	M	80	10
2	SCG	M	80	10
3	PPG	M	79	8
4	PPG	M	75	22
5	CIL	M	65	24
6	CIL	M	65	24

3.2. Immunhistochemie

Die gefrorenen Spenderganglien wurden in Tris-gepufferter Kochsalzlösung (TRIS-buffered saline, TBS; Sigma-Aldrich) aufgetaut, und nachfolgend auf einen Schneideblock mit Kryoeinbettungsmedium (Tissue-Tek; Fisher-Scientific, Wien, Österreich) übertragen. Die Präparate wurden auf diesem gefroren (Superfreeze Funktion des verwendeten Kryotoms) und 14 µm dicke Flachschnitte der jeweiligen Ganglien erstellt (HM 550, Microm, Walldorf, Deutschland). Erhaltene Schnitte wurden auf Objektträger platziert (Superfrost Plus; Thermo Scientific, Wien, Österreich) und eine Stunde bei Raumtemperatur getrocknet. Für jeden Spender erfolgte die Färbung eines Kontrollschnittes. Die Gewebeschnitte wurden auf dem Objektträger mit einem PAP-Stift (Sigma-Aldrich) umkreist und drei Mal für jeweils 5 Minuten in TBS gewaschen (3-Schritt Waschen). Danach erfolgte die Blockierung / Permeabilisierung der Schnitte mithilfe einer TBS Lösung mit 5% Esel-Normalserum, 1% bovinem Serumalbumin und 0,5% Triton X-100 (alle Thermo Scientific). Es wurde ein weiteres 3-Schritt Waschen vorgenommen und die Schnitte mit dem jeweiligen primären Antikörper (verdünnt in TBS, 1% bovinem Serumalbumin und 0,5% Triton X-100) gegen die Epitope von Interesse über Nacht bei 4 Grad Celsius inkubiert. Die benutzten anti CD Antikörper waren primär für die Durchflusszytometrie hergestellt, weshalb sie schon mit Fluoreszenzfarbstoff vorkonjugiert waren. Diese Konjugate wiesen allerdings eine zu kurze Fotostabilität auf, um eine längere fluoreszenzmikroskopische Untersuchung zu erlauben. Deshalb wurde in dieser Arbeit zusätzlich ein sekundärer Antikörper mit konjugiertem Fluoreszenzfarbstoff mit längerer Fotostabilität auf die Gewebeschnitte aufgebracht. Hierfür erfolgte ein weiteres 3-Schritt Waschen aller Schnitte und das Inkubieren mit dem sekundären Antikörper für einen Zeitraum von einer Stunde bei 4 Grad Celsius. Benutzt wurden anti-Mouse, Alexa Fluor™ 555 Antiseren. Die Verdünnung erfolgte auf 150 µL in TBS, allerdings mit Zusatz von 1% bovinem Serumalbumin und 0,5% Triton X-100. Nach Abschluss dieser beiden Färbevorgänge erhielt jeder Schnitt noch eine Kernfärbung mit 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI; 1:4000; Konzentration 1 mg/ml; Sigma-Aldrich). Die Inkubation mit DAPI erfolgte für 20 Minuten bei Raumtemperatur. Abschließend wurden alle Schnitte mit Zusatz von TBS-Glycerol (1:1 bei pH 8,6) eingedeckelt. Die Erstellung der Negativ-Kontrollen erfolgte nach den exakt gleichen Schritten, allerdings unter Weglassung des primären Antikörpers. Eine detaillierte Beschreibung aller verwendeter Färbestoffe findet sich in Tabelle 2.

Tabelle 2: Detailinformationen zu den verwendeten Färbestoffen

Antikörper	Ziel	Nomenklatur (uniprot)	Clone Nr.	Konjugation	Hersteller	Host	Verdünnung
Primär	CD24	Signal Transducer CD24	SN3 A5-2H10	PE	eBioscience Frankfurt a. M., Deutschland	Maus	1:20
Primär	CD29	Integrin beta-1	TS2/16	PE	eBioscience Frankfurt a. M., Deutschland	Maus	1:500
Primär	CD56	Neural cell adhesion molecule 1	CMSSB	PE	eBioscience Frankfurt a. M., Deutschland	Maus	1:50
Primär	CD59	CD59 Glykoprotein	OV9A2	PE	eBioscience Frankfurt a. M., Deutschland	Maus	1:50
Primär	CD81	CD81 Antigen	1D6	APC	eBioscience Frankfurt a. M., Deutschland	Maus	1:50
Primär	CD90	Thy-1 membrane glycoprotein	5E10	APC	eBioscience Frankfurt a. M., Deutschland	Maus	1:50
Primär	CD146	Cell surface glycoprotein MUC18	P1H12	PE	eBioscience Frankfurt a. M., Deutschland	Maus	1:50
Primär	CD147	Basigin	8D12	PE	eBioscience Frankfurt a. M., Deutschland	Maus	1:50
Primär	CD171	Neural cell adhesion molecule L1	5G3	PE	eBioscience Frankfurt a. M., Deutschland	Maus	1:50
Primär	CD271	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 16	C401457	Alexa 647	eBioscience Frankfurt a. M., Deutschland	Maus	1:50
Sekundär	Anti-mouse	Donkey anti-Mouse IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alex Flour 555	A31570	Alexa 555	Molecular Probes Eugene, USA	Esel	1:500
DAPI	Zellkern	-	-	-	VWR Wien, Österreich	-	1:4000

3.3. Dokumentation

Alle Gewebeschnitte, inklusive der Kontrollen, wurden fluoreszenzmikroskopisch untersucht (Axio Imager M2, ausgestattet mit einer AxioCam HRc und ApoTome 2 Unit; Zeiss, Göttingen, Deutschland). Hierfür wurden drei verschiedene Filtereinstellungen angewandt:

Kanal 1: 568 nm Anregungswellenlänge für Alexa555 in Rot (entspricht CD - Marker)

Kanal 2: 488 nm Anregungswellenlänge Hintergrundfluoreszenz in Grün

Kanal 3: 345 nm Anregungswellenlänge für DAPI in Blau (entspricht Zellkernen)

Zuerst wurde das Präparat im Kanal 1 gescannt um CD-markierte neuronale Strukturen auffindig zu machen. Bei Auffinden einer solchen Struktur wurden Bilder in allen drei Kanälen einzeln und eine Aufnahme mit allen Kanälen gleichzeitig angefertigt (Computerapplikation Zen 2 blue edition, Zeiss). Dies erfolgte unter 20-facher Vergrößerung. Es wurde bei jedem Schnitt als Positivkontrolle mindestens eine Aufnahme von jeder Zielstruktur von Interesse gemacht (Neuron, Nervenfaser, Satellitenzelle). Als Vergleich zur Bewertung von Signalpositivität beziehungsweise Negativität wurden von allen Ganglien Negativkontrollen angefertigt und unter denselben Mikroskopeinstellungen wie bei den Positivkontrollen durchgeführt. Diese können bildexemplarisch unter „7.4 Kontrollbilder“ eingesehen werden.

Die Ausprägung des Fluoreszenzsignals wurde mittels eines semiquantitativen Zugangs in drei Kategorien klassifiziert: - (negativ), + (positiv), ++ (stark positiv). Die Einteilung erfolgte im Vier-Augen Prinzip unabhängig durch zwei Beobachter. Bei zunächst unklaren Ergebnissen wurde ein dritter Beobachter hinzugezogen. Einen Sonderfall in der Graduierung bildeten CD-Marker welche auf derselben Struktur im gleichen Ganglion sowohl negative als auch positive Signale lieferten. In diesem Fall wurde die Graduierung +/- (sowohl positive als auch negative Strukturen) getroffen und durch drei Beobachter validiert

4. Ergebnisse

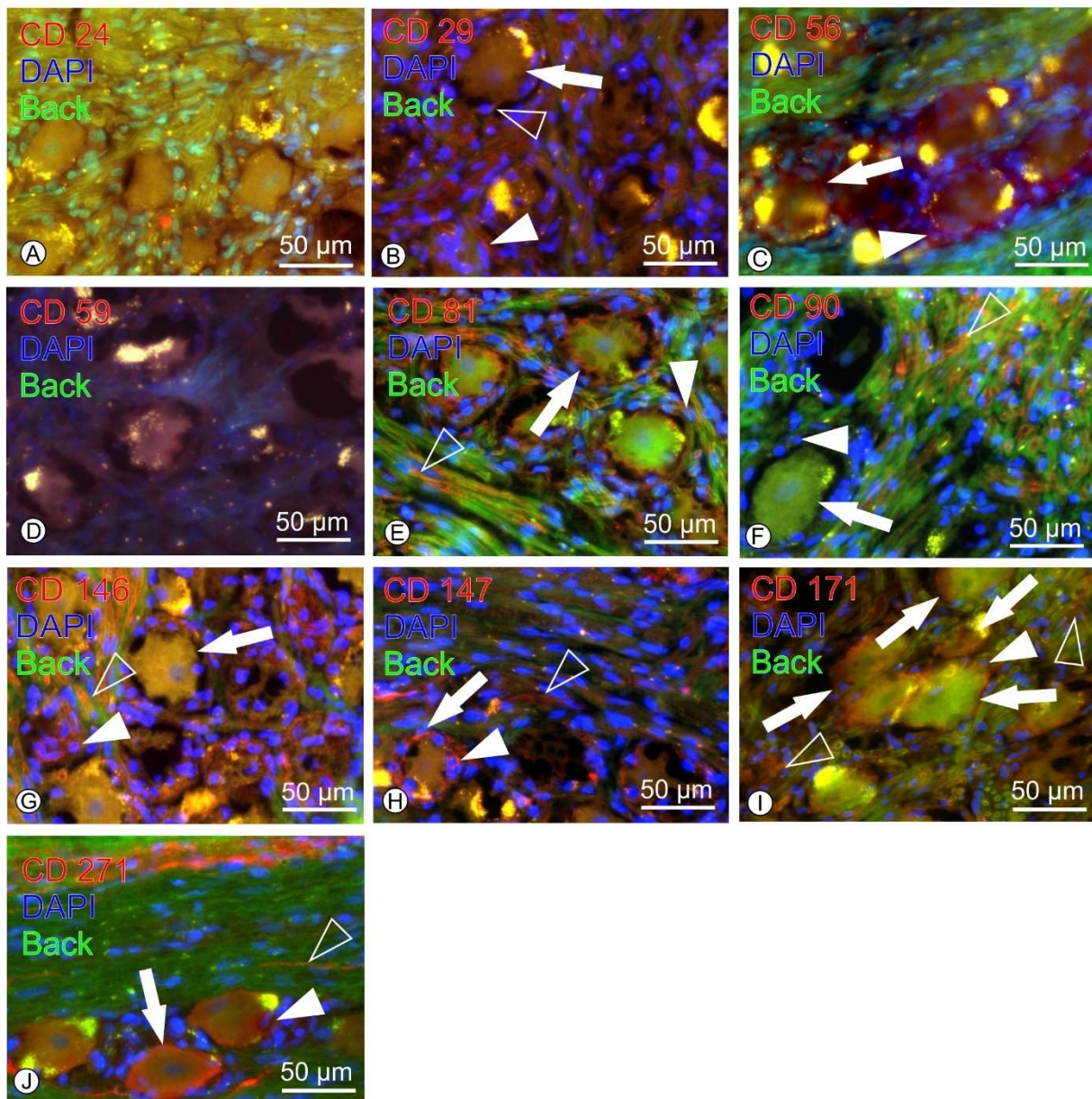
Die Auswahl der hier untersuchten CD – Marker richtete sich nach dem in 1.5 erwähnten CD – Marker Katalog ²¹. Hierbei wurden eben jene CD – Marker für diese Arbeit ausgewählt, welche sich bei Menon *et al.* als positiv für neuronale Strukturen darstellten. Im Folgenden werden nur CD – Marker beschrieben, welche sich in einer oder mehr Strukturen als positiv darstellten. Ein vorab technisch wichtiger Punkt zur Interpretation der im Folgenden gezeigten immunhistochemischen Bilder ist das Vorhandensein von sogenannten Lipofuszin-Granula innerhalb neuronalen Zellkörper. Hierbei handelt es sich um Akkumulationen von Abbauprodukten in alternden Neuronen ²³. Diese Granula imponieren unter Standard-Fluoreszenzmikroskopischen Techniken als autofluoreszente Ablagerungen im neuronalen Soma, welche bei Überlagerung von Kanal 1 und 2 als hell leuchtende Körnung im Soma sichtbar werden. Um das Fluoreszenzsignal des CD-Markers eindeutig vom Signal der Lipofuszingranula unterscheiden zu können, wurden daher Negativkontrollen durchgeführt und die Autofluoreszenz der Lipofuszingranula mit dem entsprechenden Markersignal verglichen. Das Auftreten solcher Ablagerungen in der Fluoreszenzmikroskopie wurde zum Beispiel schon von Wolfmeier *et. al.* ²⁴ für intrinsische choroidale Neurone beschrieben.

4.1. Ganglion ciliare (CIL)

Es konnte gezeigt werden, dass Neurone im CIL immunoreaktiv für die CD – Marker CD29, CD56, CD81, CD146, CD147, CD171, CD271 waren. Im Gegensatz dazu war für CD24, CD59 und CD90 keine Immunoreaktivität nachweisbar. Mantelzellen im CIL zeigten die gleichen Immunoreaktivitätsmuster wie die Neurone. Nervenfasern des CIL exprimierten hingegen CD29, CD81, CD90, CD146, CD147, CD171, CD271. Diese Ergebnisse wurden in Tabelle 3 als Überblick dargestellt. Figur 1 zeigt die fluoreszenzmikroskopische Darstellungen aller untersuchten Strukturen und deren CD – Marker Immunoreaktivität. Beim Vergleich der Signalintensität des Somas fand sich für CD56 eine dezentere Immunreaktivität der neuronalen Membran. CD271 imponiert hier im Vergleich zu den anderen, streng membranständigen CD – Markern mit einer weiter zum Zellzentrum reichenden Immunreaktion, und war dabei ebenfalls deutlich intensiver. Die CD147 Immunreaktivität erscheint bei den Mantelzellen im CIL exzeptionell intensiv, das gleiche gilt für Nervenfasern des CIL bei der CD146 Immunreaktion.

Tabelle 3: Positivitätsbewertung aller untersuchten CD – Marker im CIL für Neurone, Mantelzellen und Nervenfasern (++ entspricht stark positiv, + entspricht positiv, - entspricht negativ)

CIL	Neurone	Mantelzellen	Nervenfasern
CD24	-	-	-
CD29	+	-	+
CD56	+	+	-
CD59	-	-	-
CD81	+	+	+
CD90	-	-	+
CD146	+	+	++
CD147	+	++	+
CD171	+	+	+
CD271	++	++	+



Figur 1: Ganglion ciliare (CIL), Immunhistochemie aller CD – Marker.

Alle Abbildungen sind dargestellt als elektronische Kombination der drei in „3.3 Dokumentation“ erwähnten Kanäle (rot = CD – Marker; grün = Hintergrundfluoreszenz (= Background, Back); blau = Zellkernmarker DAPI). Zur exemplarischen Hervorhebung der jeweiligen CD – Marker positiven Strukturen werden dabei die folgenden Markierungen verwendet: Pfeil = Neuron; Pfeilkopf = Mantelzelle; offener Pfeilkopf = Nervenfasern. Maßstabsbalken entspricht jeweils 50 µm.

A: negative Immunreaktivität für den verwendeten Antikörper gegen CD24 (gelbes Signal entspricht Autofluoreszenz von Lipofuszingranula).

B: CD29 positive Nervenfasern (offener Pfeilkopf) in direkter Nähe zu positiven Neuronen (Pfeilkopf).

C: Neurone, deren Membran immunpositiv für CD56 ist (Pfeil), gleiches gilt für die begleitenden Mantelzellen (weißer Pfeilkopf).

D: negative Immunreaktivität für den verwendeten Antikörper gegen CD59. (gelbes Signal entspricht Autofluoreszenz von Lipofuszingranula).

E: Benachbarte Neurone, welche positiv für CD81 sind (Pfeil). Die Mantelzellen (Pfeilkopf) und umgebenden Nervenfasern (offener Pfeilkopf) zeigen die selbe Immunreaktivität.

F: Neurone (Pfeil) als auch Mantelzellen (Pfeilkopf) welche immunnegativ für den verwendeten Antikörper gegen CD90 sind, die Nervenfasern (offener Pfeilkopf) der direkten Umgebung zeigen sich allerdings CD90-positiv.

G: Für CD146 zeigten sowohl Neurone (Pfeil) als auch Mantelzellen (Pfeilkopf) und besonders Nervenfasern (offener Pfeilkopf) positive Immunreaktivität.

H: Einerseits ein CD147 positives Neuron (Pfeil) und deutlich positive Mantelzellen (Pfeilkopf), andererseits ein Bündel vorbeiziehender Nervenfasern welche ebenfalls eine schwache Positivität für CD147 aufweisen (offener Pfeilkopf).

I: Fünf CD171-positive Neurone (weiße Pfeile). Die entsprechenden Mantelzellen sind ebenfalls positiv (weißer Pfeilkopf). Die umgebenden Nervenfasern waren ebenfalls schwach positiv (offener Pfeilkopf).

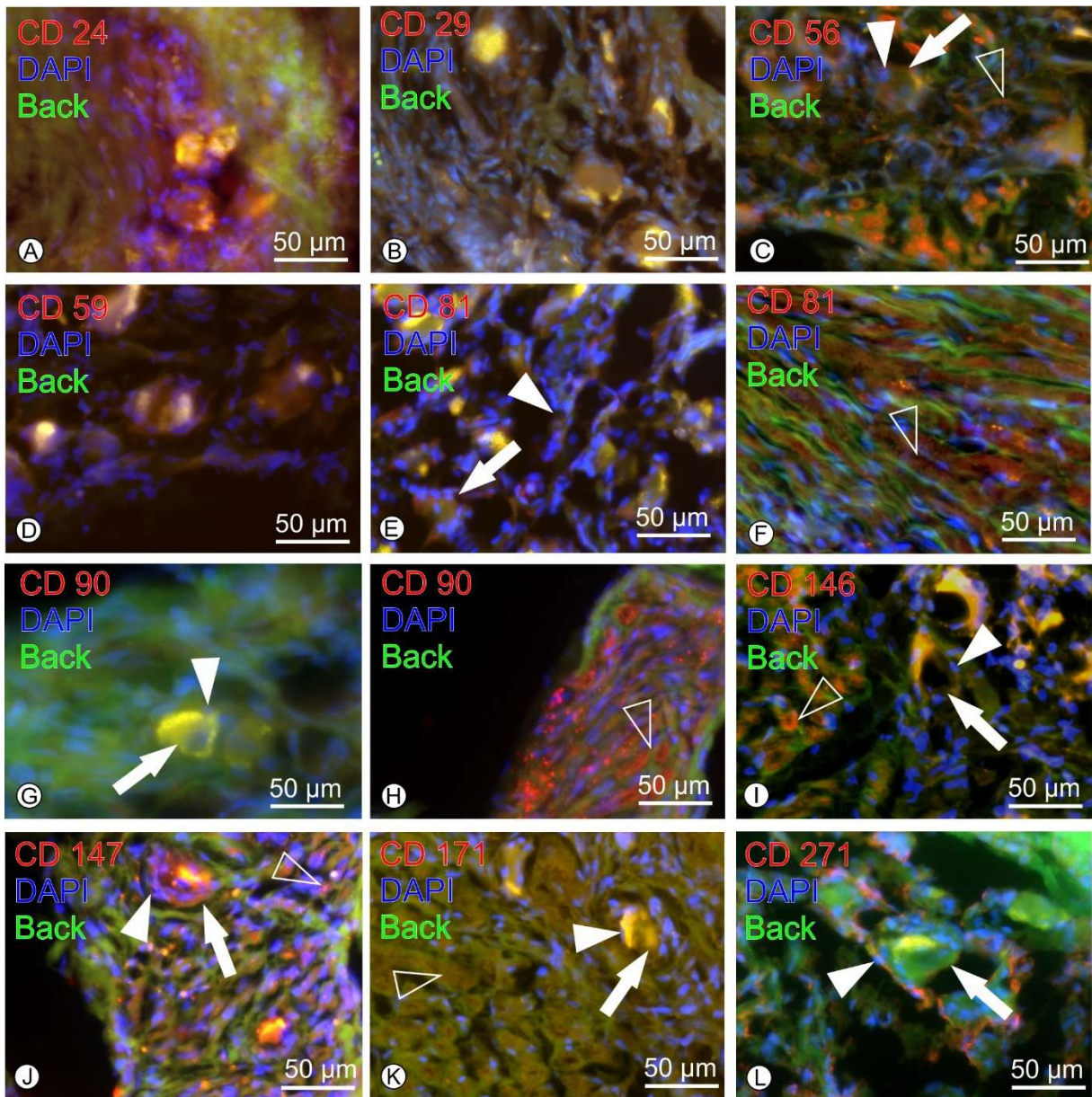
J: Für CD271 waren sowohl Neurone (weißer Pfeil) als auch Mantelzellen (Pfeilkopf) stark immunpositiv. Der angrenzende Strang aus Nervenfasern hingegen war schwach immunpositiv für CD271 (weißes offenes Dreieck).

4.2. Ganglion pterygopalatinum (PPG)

Neurone des PPG stellten sich positiv für folgende CD – Marker dar: CD56, CD81, CD147, CD271. Dieselben CD – Marker erwiesen sich auch positiv in den Mantelzellen des PPG. Hierbei stellt sich CD271 in Bezug auf das Immunreaktivitätssignal von Neuronen sowie Mantelzellen wesentlich markanter dar, als die restlichen positiven CD – Marker. Dasselbe gilt für CD90 sowie CD146 in Bezug auf die immunhistochemische Darstellung von Nervenfasern. Die Nervenfasern des PPG exprimierten die CD – Marker CD56, CD81, CD90, CD146, CD147, CD171, wobei CD171 allerdings eine nur geringe Immunreaktivität zeigte (eine Zusammenfassung der Ergebnisse aller verwendeter CD-Marker findet sich in Tabelle 5). Einen Überblick über die immunhistochemischen Ergebnisse findet sich in Figure 2 welche wiederum exemplarisch alle untersuchten Strukturen und CD – Marker dokumentiert.

Tabelle 4: Positivitätsbewertung aller untersuchten CD – Marker im PPG für Neurone, Mantelzellen und Nervenfasern (++ entspricht stark positiv, + entspricht positiv, - entspricht negativ)

PPG			
	Neurone	Mantelzellen	Nervenfasern
CD24	-	-	-
CD29	-	-	-
CD56	+	+	++
CD59	-	-	-
CD81	+	+	+
CD90	-	-	++
CD146	-	-	+
CD147	+	+	+
CD171	-	-	+
CD271	+	++	-



Figur 2: Ganglion pterygopalatinum (PPG), Immunhistochemie aller CD – Marker.

Alle Abbildungen sind dargestellt als elektronische Kombination der drei in „3.3 Dokumentation“ erwähnten Kanäle (rot = CD – Marker; grün = Hintergrundfluoreszenz (= Background, Back); blau = Zellkernmarker DAPI). Zur exemplarischen Hervorhebung der jeweiligen CD – Marker positiven Strukturen werden dabei die folgenden Markierungen verwendet: Pfeil = Neuron; Pfeilkopf = Mantelzelle; offener Pfeilkopf = Nervenfasern. Maßstabsbalken entspricht jeweils 50 µm.

A: Negative Immunreaktivität für den verwendeten Antikörper gegen CD24 (gelbes Signal entspricht Autofluoreszenz von Lipofuszingranula).

B: Negative Immunreaktivität für den verwendeten Antikörper gegen CD29 (gelbes Signal entspricht Autofluoreszenz von Lipofuszingranula).

C: Neurone (Pfeil) und Mantelzellen (Pfeilkopf) zeigten schwache Immunreaktivität für CD56, stärkere Immunreaktivität fand sich an Nervenfasern (offener Pfeilkopf), hier im Längs- als auch Querschnitt.

D: Negative Immunreaktivität für den verwendeten Antikörper gegen CD59; gelblich-weißes Signal entspricht Autofluoreszenz von Lipofuszingranula.

E, F: CD81 positive Neurone (Pfeil) und Mantelzellen (Pfeilkopf); CD81-positive Nervenfasern waren ebenfalls auffindbar (Pfeilkopf).

G, H: Für CD90 war in Nervenzellen und Mantelzellen keine Immunreaktivität zu beobachten (G), Nervenfasern hingegen waren immunpositiv für CD90 (Pfeilkopf in H)

I: Für CD146 war in Nervenzellen (Pfeil) und Mantelzellen (Pfeilkopf) keine Immunreaktivität zu beobachten, Nervenfasern hingegen waren immunpositiv für CD146 (offener Pfeilkopf)

J: Für CD147 zeigte sich Immunreaktivität in Neuronen (Pfeil) und Mantelzellen (Pfeilkopf) ebenso auch in Nervenfasern (offener Pfeilkopf).

K: CD171-negative Nervenzellen (Pfeil) und Mantelzellen (Pfeilkopf) stehen den schwach positiven Nervenfasern gegenüber (offener Pfeilkopf).

L: Schwach CD271 positive Neurone (Pfeil) und Mantelzellen (Pfeilkopf); Nervenfasern hingegen waren immunnegativ für CD271

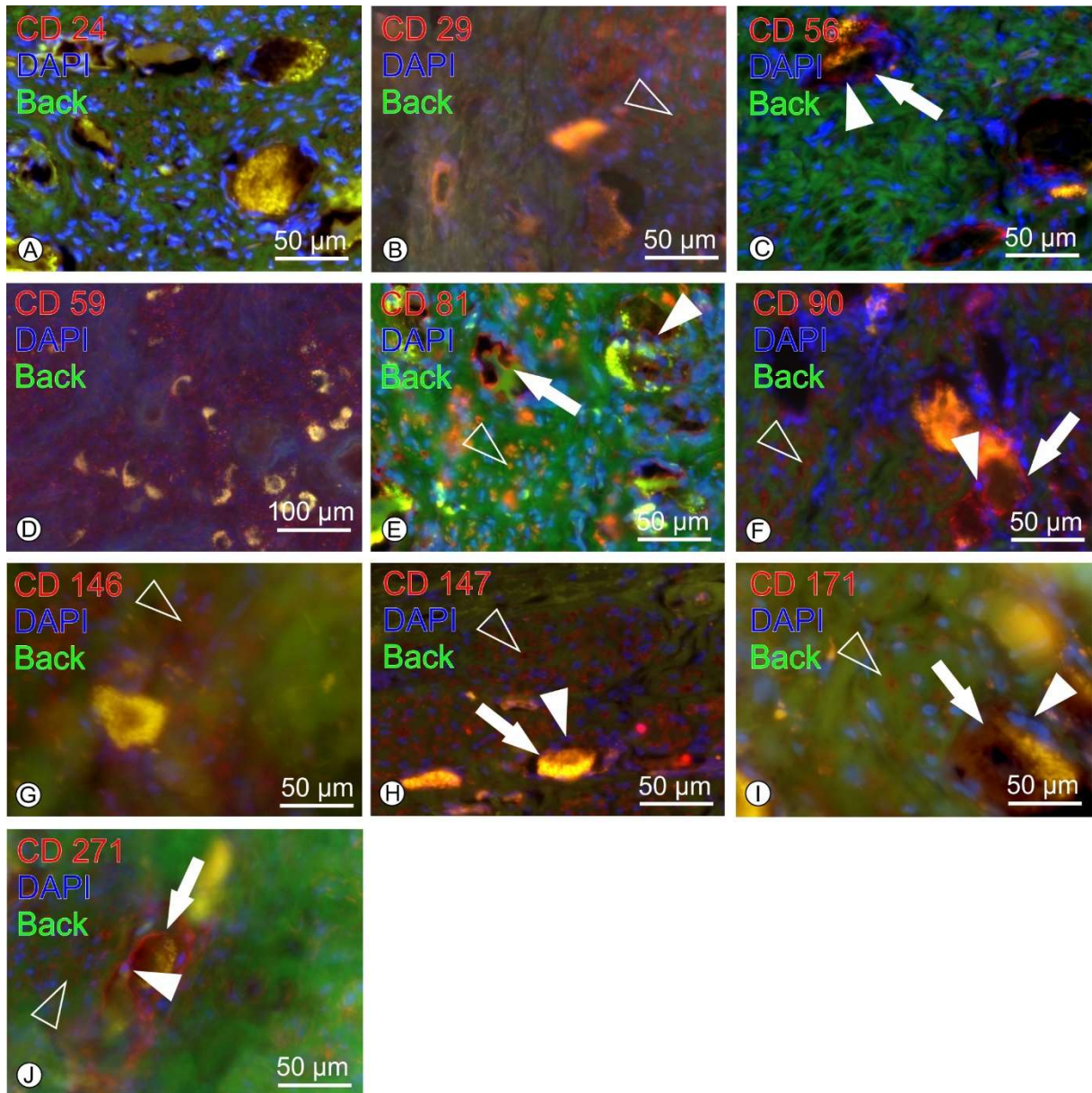
4.3. Ganglion cervicale superius (SCG)

Im SCG waren CD – Marker positive Neurone und Mantelzellen jeweils nur in geringerer Vielfalt als in den vorausgehenden zu finden: Immunreaktivität konnte hierbei nur für CD – Marker CD56, CD81, CD90 und CD271 gefunden werden. Die Immunreaktivität für Nervenfasern des SCG war dabei vielfältiger und zeigte sich positiv für die CD – Marker CD29, CD81, CD90, CD146, CD147, CD171, CD271. Besonders deutlich ließen sich Neurone im SCG mit den CD – Markern CD81, CD90 sowie CD271 darstellen. Im Gegensatz dazu waren Nervenfasern im SCG besonders deutlich mit der Immunreaktivität des CD81 zu erkennen. Mantelzellen stellten sich zwar im Vergleich zu Immunreaktivität in den anderen Ganglien bei allen positiven CD – Markern des SCG für Mantelzellen als generell schwächer positiv dar, am eindeutigsten konnten diese Zellen im SCG aber ebenfalls mit CD81 dargestellt werden. Ins Auge fällt bei Bild D in Figur 8 zu CD59 das Auftreten von kleinen granulären positiven Signalen über das gesamte Ganglion verteilt. Dies ist nicht als wirklich positives Signal zu interpretieren, sondern eine zufällige Akkumulation des Antikörperserums an diesen Stellen. Zu dieser Interpretation führt, dass keinerlei Zusammenhang zu dargestellten Strukturen besteht, die Granulierungen über das gesamte Bild verteilt waren und diese Konformation ohne jegliches erkennbares morphologisches Korrelat war. Tabelle 6 fasst oben genannte

Ergebnisse zusammen. In Grafik 8 werden wiederum beispielhafte Bilder für alle untersuchten Strukturen und CD – Marker präsentiert.

Tabelle 5: Positivitätsbewertung aller untersuchten CD – Marker im PPG für Neurone, Mantelzellen und Nervenfasern (++ entspricht stark positiv, + entspricht positiv, - entspricht negativ)

SCG			
	Neurone	Mantelzellen	Nervenfasern
CD24	-	-	-
CD29	-	-	+
CD56	+	+	-
CD59	-	-	-
CD81	++	++	++
CD90	++	++	++
CD146	-	-	+
CD147	-	-	+
CD171	-	-	+
CD271	+	+	+



Figur 3: Ganglion cervicale superius (SCG), Immunhistochemie aller CD – Marker.

Alle Abbildungen sind dargestellt als elektronische Kombination der drei in „3.3 Dokumentation“ erwähnten Kanäle (rot = CD – Marker; grün = Hintergrundfluoreszenz (= Background, Back); blau = Zellkernmarker DAPI). Zur exemplarischen Hervorhebung der jeweiligen CD – Marker positiven Strukturen werden dabei die folgenden Markierungen verwendet: Pfeil = Neuron; Pfeilkopf = Mantelzelle; offener Pfeilkopf = Nervenfasern. Maßstabsbalken entspricht jeweils 50 µm und 100 µm in D)

A: Negative Immunreaktivität für den verwendeten Antikörper gegen CD24 (gelbes Signal entspricht Autofluoreszenz von Lipofuszingranula).

B: Verwendung von CD29 ergab positive Immunreaktivität in Nervenfasern (hier im Querschnitt, offener Pfeilkopf) aber keine Immunreaktivität in Neuronen und Mantelzellen.

C: CD56 positive Neurone (Pfeil) und Mantelzellen (Pfeilkopf) jedoch waren Nervenfasern nicht immunreaktiv für CD56.

D: Für den hier verwendeten Antikörper gegen CD59 ließ sich keine Immunreaktivität in den untersuchten Strukturen nachweisen

E: Nervenfasern mit ausgiebig positiver Immunreaktivität ließen sich für CD81 auffinden (offener Pfeilkopf) neben ähnlich stark positiven Neuronen und Nervenfasern (weißer Pfeil, Pfeilkopf).

F: Nervenfasern (offener Pfeilkopf) mit ausgiebig positiver Immunreaktivität ließen sich für CD90 auffinden neben ähnlich stark positiven Neuronen (Pfeil) und Mantelzellen (Pfeilkopf).

G: Für CD146 fand sich ein negatives Immunsignal in Neuronen und Mantelzellen, hingegen waren CD146 positive Nervenfasern auffindbar (offener Pfeilkopf).

H: CD147-Immunreaktivität war detektierbar in Nervenfasern (offener Pfeilkopf), hingegen nicht in Neuronen (Pfeil) und Mantelzellen (Pfeilkopf)

I: CD171 positive Nervenfasern (offener Pfeilkopf) waren detektierbar, Neuronen (Pfeil) inklusive Mantelzellen (Pfeilkopf) zeigten keine Immunreaktivität für CD171

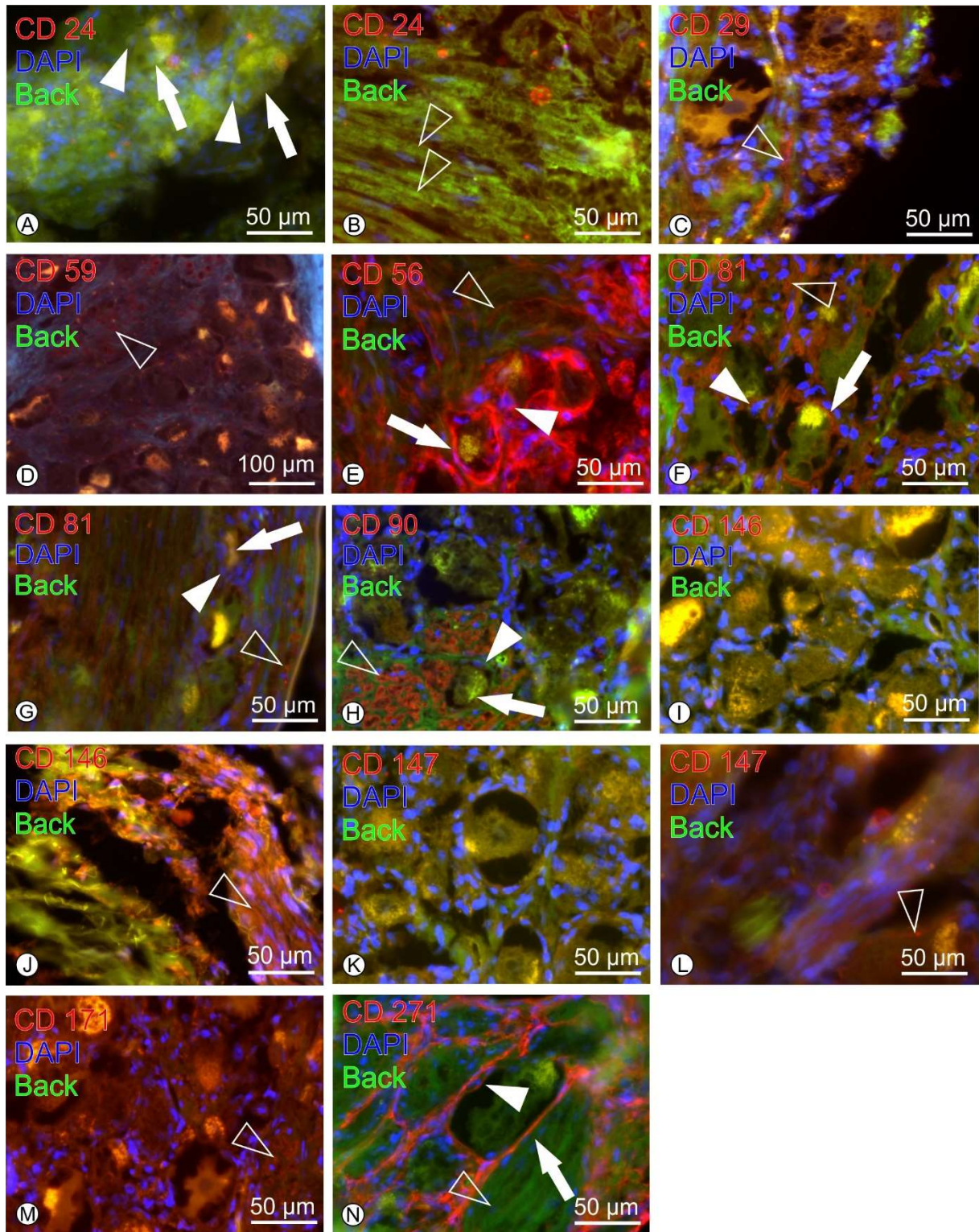
J: Für CD271 zeigte sich ein positives Signal in Neuronen (weißer Pfeil). Ähnliche Positivität weisen hier Mantelzellen (Pfeilkopf) und Nervenfasern (offener Pfeilkopf) auf.

4.4. Ganglion trigeminale (TRI)

Neurone im TRI stellten sich eindeutig positiv für die CD – Marker CD56 und CD271 dar, als auch weiterhin für den Marker CD81. Allerdings konnten genauso Neurone gezeigt werden, welche nicht immunoreaktiv für letzteren CD – Marker waren. Mantelzellen im TRI waren ebenfalls CD56 und CD271 positiv. Für CD81 wurde das gleiche Phänomen von sowohl CD - Marker positiven als auch negativen Mantelzellen wie bei den Neuronen beobachtet. Die untersuchten Nervenfasern des TRI exprimierten CD29, CD56, CD59, CD81, CD90, CD146 und CD171. Für CD147 wurden wiederum sowohl CD – Marker positive als auch negative Nervenfasern gefunden. Im Gegensatz zu den Reaktivitäten in den übrigen Ganglien, welche überwiegend eher schwache Ausprägungen bei der immunhistochemischen Darstellung von Mantelzellen und Neuronen aufwiesen, konnten im TRI mit den CD – Markern CD56 und CD271 außerordentlich deutliche Signale bei Mantelzellen gezeigt werden. Auch die Darstellung von Nervenfasern gelang mit dem CD - Markern CD56 und CD90 besonders gut. In Figur 10 werden exemplarische Bilder für alle untersuchten Strukturen und CD – Marker präsentiert.

Tabelle 6: Positivitätsbewertung aller untersuchten CD – Marker im PPG für Neurone, Mantelzellen und Nervenfasern (++) entspricht stark positiv, + entspricht positiv, - entspricht negativ, +/- entspricht sowohl positiven als auch negativen gefundenen Strukturen)

TRI			
	Neurone	Mantelzellen	Nervenfasern
CD24	-	-	-
CD29	-	-	+
CD56	++	++	++
CD59	-	-	+
CD81	+/-	+/-	+
CD90	-	-	++
CD146	-	-	+
CD147	-	-	+/-
CD171	-	-	+
CD271	++	++	-



Figur 4: Ganglion trigeminale (TRI), Immunhistochemie aller CD – Marker.

Alle Abbildungen sind dargestellt als elektronische Kombination der drei in „3.3 Dokumentation“ erwähnten Kanäle (rot = CD – Marker; grün = Hintergrundfluoreszenz (= Background, Back); blau = Zellkernmarker DAPI). Zur exemplarischen Hervorhebung der jeweiligen CD – Marker positiven Strukturen werden dabei die folgenden Markierungen verwendet: Pfeil = Neuron; Pfeilkopf = Mantelzelle; offener Pfeilkopf = Nervenfasern. Maßstabsbalken entspricht jeweils 50 µm, und 100 µm in D.

A, B: CD24-Immunreaktivität ließ sich nicht in Neuronen (Pfeile) und Mantelzellen (Pfeilköpfe) nachweisen (A), und ebensowenig in und Nervenfasern (B, offene Pfeilköpfe).

C: CD29-Negativität ergab sich für Neurone und Mantelzellen, jedoch wurden CD29 positive begleitende Nervenfasern detektiert (offener Pfeilkopf).

D: Immunpositivität für CD59 war nur in Nervenfasern detektierbar (offener Pfeilkopf), nicht in Neuronen und Mantelzellen.

E: Starke Immunpositivität zeigte sich in Neuronen (Pfeil), Mantelzellen (Pfeilkopf) und Nervenfasern (offener Pfeilkopf) für CD56.

F und G müssen in Zusammenschau gesehen werden. Es fanden sich sowohl CD81 positiven Neuronen und Mantelzellen (Pfeil und Pfeilkopf in F) als auch CD81 negative Neurone und Mantelzellen (Pfeil und Pfeilkopf in G). Die Nervenfasern waren in beiden Befunden jedoch positiv für CD81 (offener Pfeilkopf in F und G).

H: Immunpositivität für CD90 zeigte sich ausgeprägt in Nervenfasern (hier im Querschnitt, offener Pfeilkopf), nicht jedoch in Neuronen und Mantelzellen.

I, J: Negative Immunreaktivität für den verwendeten Antikörper gegen CD146 zeigte sich in Neuronen und Mantelzellen (I), Nervenfasern waren jedoch immunopositiv für CD146 (offener Pfeilkopf in J).

K, L: CD147 negative Neurone, Mantelzellen und Nervenfasern (K) zeigen sich neben CD147-positiven Nervenfasern (offener Pfeilkopf in L)

M: CD171 ergab Immunpositivität in Nervenfasern (offener Pfeilkopf) konnte aber nicht in Neuronen/ Mantelzellen angetroffen werden

N: Neurone und Mantelzellen waren deutlich immunpositiv für CD271 (Pfeil, Pfeilkopf), das begleitende Nervenfaserbündel (offener Pfeilkopf) hingegen zeigte keine Positivität für CD271.

5. Diskussion

Die hier präsentierte Arbeit hat zum Ziel, ganglionäre neuronale Strukturen anhand ihres CD – Marker Profils erstmalig zu klassifizieren. Unter dieser Prämisse kann die vorliegende Arbeit im Sinne eines proof of principle zeigen, dass sich die hier verwendete Methodik eignet um neuronale Strukturen in Ganglien auf die Expression von verschiedenen CD – Markern zu untersuchen.

In dieser Untersuchung konnten in allen vier untersuchten Ganglien keine CD24 positiven Strukturen gefunden werden. CD24 spielt, neben vielen anderen Prozessen, eine Rolle beim axonalen Wachstum^{25,26} und wird unter anderem von Neuronen im Entwicklungsstadium exprimiert²⁷. Da es sich bei den hier untersuchten Neuronen allerdings um fertig entwickelte und ortsständige Neurone handelt und das axonale Wachstum im fertig entwickelten und gesunden Ganglion ebenfalls abgeschlossen ist, verwundert es nicht, dass die hier untersuchten Strukturen kein CD24 exprimierten.

CD29 konnte in drei Ganglien (CIL, SCG, TRI) in Nervenfasern nachgewiesen werden, im Gegensatz dazu waren Nervenfasern im PPG negativ für CD29. Neurone und Mantelzellen waren, mit einer Ausnahme bei den Neuronen des CIL, in allen vier untersuchten Ganglien negativ für CD29. CD29 stellt ein Integrin der beta Subklasse dar. Hierbei bildet CD29 heterodimere Strukturen mit 11 verschiedenen Integrin alpha Proteinen aus. Diese Heterodimere fungieren dann als Rezeptoren für Kollagen, Laminin, Fibronectin oder Fibrinogen. Die Rolle dieser Rezeptoren wird vor allem in der Zell – Extrazellulärmatrix Interaktion gesehen^{28,29}. In Anbetracht der hier beschriebenen basalen Rolle von CD29 und dem Auftreten von CD29 in den Nervenfasern von drei von vier Ganglien stellt sich das PPG hier aktuell als explizite Ausnahme von der hier postulierten Norm dar, wobei die Ursache dieser Absenz gegenwärtig ungeklärt ist. Die positiven Neurone des CIL für CD29 bieten hier eine besondere Gelegenheit in weiteren Untersuchungen, da sich die Möglichkeit ergibt mithilfe des CD29 einen Unterscheidungsmarker von CIL Neuronen im Vergleich zu anderen Strukturen anderer Ganglien zu verwenden.

Sowohl CD56 als auch CD171 repräsentierten in dieser Untersuchung zwei etablierte neuronale Marker. Die Positivität von allen vier Ganglien für CD56 in Neuronen und Mantelzellen erscheint dahingehend logisch, dass CD56 nicht nur einen weit verbreiteten Marker in verschiedenen Immunzellen darstellt³⁰, sondern ebenfalls eine grundlegende Rolle in neuronalen Zellen spielt, wie zum Beispiel bei der Regulation der Neurogenese oder dem Axonwachstum^{31,32}. Betrachtet man hingegen die Nervenfasern der vier untersuchten Ganglien in Bezug auf die Expression von CD56, fand sich, dass ausschließlich die

Nervenfasern des TRI sowie PPG positiv für CD56 waren. In Anbetracht der eben beschriebenen Rolle von CD56 in neuronalen Strukturen stellt sich die Frage, wieso CD56 in Neuronen und Mantelzellen aller untersuchten Ganglien exprimiert wird, aber nur in zwei von vier Ganglien in Nervenfasern erscheint. Zur Beantwortung dieser Fragen wäre eine dezidierte Untersuchung dieses Markers in anderen ganglionären Strukturen hilfreich. CD171 stellt in diesem Kontext ebenfalls einen weiterhin zu untersuchenden Marker dar, da in dieser Untersuchung im TRI, SCG und PPG nur Nervenfasern positiv für CD171 waren, wohingegen im CIL alle drei untersuchten Strukturen CD171 exprimierten. Da CD171, auch neural cell adhesion molecule L1 (L1CAM) genannt, eigentlich einen gängigen neuronalen Marker darstellt, welcher unter anderem eine Rolle in der neuronalen Entwicklung im Rahmen der neuralen Migration, des Axonwachstums und der Synaptogenese spielt, sowie als Generator von transmembranösen Signalen am Tyrosinkinase-Rezeptor fungiert³¹, wirft die vorliegende Untersuchung die Frage auf, wieso CD171 in den vier untersuchten Ganglien fast ausschließlich auf Nervenfasern vorkommt. Ein Erklärungsansatz wäre hier, dass die CD171 positiven Nervenfasern aus präganglionären Bereichen stammen und die intrinsisch aus den Ganglien entstammenden Strukturen CD171 negativ sind.

CD59 stellt ein globuläres, Glycophosphatidyl inositol verankertes Glykoprotein dar. Vor allem bekannt ist dieses Protein für seine Rolle als regulatorisches Protein im Komplementsystem. Hier ist CD59 an der Inhibierung des Membrane Attack Complex beteiligt³³. CD59 findet sich im peripheren Nervensystem unter anderem auf Schwann Zellen und Neuronen exprimiert. Im zentralen Nervensystem zeigt sich CD59 vor allem auf Endothelzellen, aber ebenso auch auf Microglia, Oligodendrozyten, Astrozyten und Neurone³⁴. In Bezug auf Neurone des zentralen Nervensystems herrscht in der Studienlage allerdings Uneinigkeit. So zeigte Meri et al. in einer Studie vor Vedeler et al. keine Positivität für CD59 in Neuronen des zentralen Nervensystems³⁵. In Betracht gezogen werden muss hier, dass die Expression CD59 im zentralen Nervensystem in der Myelinisierungsphase hochreguliert, danach aber stark herunterreguliert wird. Zudem zeigen Patienten mit Erkrankungen des zentralen Nervensystems (Alzheimer, Multiple Sklerose) eine noch ausgeprägtere Herunterregulation von CD59 im zentralen Nervensystem^{35,36}. In unseren Proben wurde CD59 lediglich im TRI auf Nervenfasern entdeckt. In unserem Spenderkollektiv konnten Erkrankungen des zentralen Nervensystems der Spender im Sinne einer CD59 herunterregulierenden Erkrankung nicht ausgeschlossen werden, da im erhaltenen Spenderprotokoll lediglich die Todesursache des Spenders, nicht aber Begleiterkrankungen oder ähnliches mitgeteilt werden. Bei einem doch deutlich älteren Patientenkollektiv kann hier die Ursache für unsere negativen Ergebnisse bezüglich CD59 vermutet werden, andererseits sind auch nicht-dokumentierte unbekannte Erkrankungen auf der Spenderseite in Erwägung zu ziehen. Die Positivität der TRI Nervenfasern für CD59 steht in Einklang mit Voruntersuchungen über das generelle Vorkommen von CD59 auf Strukturen

im zentralen Nervensystem (Mikroglia, Oligodendrozyten, Astrozyten, Neuronen) ³⁴ und kann somit hier bestätigt werden.

CD81 stellt ein transmembranöses Protein der Tetraspaninfamilie dar und wurde in der bekannten Literatur sowohl als Regulator der neuronal induzierten, astrozytären Differenzierung beschrieben ³⁷, darüber hinaus ist es aber ebenfalls an der Axonausbildung beteiligt ³⁸. Vor diesem Hintergrund ist es daher nicht überraschend, dass in dieser Untersuchung in allen vier Ganglien alle untersuchten Strukturen positiv für CD81 waren. Allerdings ließen sich im TRI sowohl CD81 positive als auch negative Neurone und Mantelzellen nachweisen, was auf das Vorliegen von zellulären Subgruppen in diesen Strukturen schließen lässt.

CD90 stellt ein Glycosylphosphatidylinositol verankertes, membrangebundenes Protein der Immunglobulin Superfamilie dar, welches einerseits unter anderem auf humanen Neuronen exprimiert wird ³⁹, andererseits aber, neben mehreren anderen Funktionen, auch eine wichtige Rolle in inflammatorischen Prozessen spielt ⁴⁰. In einer Studie von Wolfmeier *et. al.* (2023) konnten unter anderem gezeigt werden, dass sowohl humane Neurone, als auch ihnen zugeordnete neuronale Fortsätze CD90 exprimieren. Im Gegensatz hierzu waren in der vorliegenden Untersuchung Neurone und Mantelzellen im TRI, PPG und CIL negativ für CD90 und nur im SCG waren die beiden vorgenannten Strukturen eindeutig positiv für CD90. Nervenfasern wurden hingegen in allen vier Ganglien als CD90 positiv klassifiziert. Hieraus ergibt sich die Frage, worin sich der Unterschied in der Positivität für CD90 in der uns vorliegenden Ganglienpopulation und einer Vergleichspopulation wie bei Wolfmeier *et. al.* begründet. Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass Wolfmeier *et. al.* deutlich peripherer gelegene Neurone außerhalb einer ganglionären Einbindung untersucht haben und diese periphere Lokalisation die vorliegende Absenz begründet.

CD146 repräsentiert ein Zelladhäsionsmolekül, welches in einer Vielzahl physiologischer Prozesse involviert ist. Hierzu zählen unter anderem Zell – Zell und Zell - Matrix Interaktionen, Zell Migration, sowie Morphogenese in sich entwickelnden Zellen und regenerativen Prozessen ⁴¹. Am Hühnermodell konnte die Rolle von CD146 im Nervensystem vor allem bei verschiedenen neuronalen Entwicklungsschritten dargestellt werden. Beispiele hierfür sind das Axonwachstum und –migration in embryonalen Neuronen, sowie eine Beteiligung an der Entwicklung des Zerebellums und des peripheren Nervensystems ⁴¹. Dezierte Untersuchungen zur Expression von CD146 im zentralen Nervensystem zeigten allerdings, dass hier CD146 vor allem auf Gefäßen exprimiert wird und Neurone sowie deren Gliazellen weitgehend negativ für CD146 sind ⁴². Im Kontrast hierzu imponieren in der unter „2. Forschungsfrage“ zitierten Studie von Rusu *et al.* sowohl die Zellmembran der Neurone als auch Teile der Nervenfasern des TRI mit CD146 positive Signale. In der hier vorliegenden

Untersuchung stellten sich die Nervenfasern aller Ganglien als CD146 positiv dar. Einzig im CIL waren sowohl Neurone als auch Mantelzellen positiv für den genannten CD - Marker. Fraglich bleibt hier, wieso sich im CIL Neurone und Mantelzellen gegensätzlich zum Rest der Ganglien darstellen. Des Weiteren fällt der Unterschied zwischen Rusu et al. und den hier präsentierten Ergebnissen bezüglich der CD146 Positivität von Neuronen des TRI ins Auge ²². Eine mögliche Erklärung für diesen Unterschied besteht in der unterschiedlichen Methodik der Arbeiten. So führten Rusu et al. ein Epitope Retrieval vor der eigentlichen CD-Markerfärbung durch welche von uns nicht durchgeführt wurde. Allerdings war ja auch ohne diese Methode eine Immunreaktivität in unserer vorliegenden Studie nachweisbar (in Nervenfasern) so dass diese Diskrepanz in zukünftigen Studien (eventuell mit molekularbiologischen Methoden) untersucht und bestätigt werden muss.

CD147, ein Protein dessen Rolle im neuronalen Kontext vor allem bei der Entwicklung und Lernprozessen gesehen wird ⁴³, war in unserer vorliegenden Untersuchung im TRI auf Neuronen und Mantelzellen nicht nachweisbar. Allerdings zeigten die untersuchten Nervenfasern sowohl Immunpositivität für CD147 als auch Immunonegativität. Das gleichzeitige Vorhandensein von Immunpositivität und Immunonegativität in identischen Strukturen lässt sich am ehesten wiederum mit dem Vorhandensein von Subpopulationen dieser untersuchten Strukturen erklären. Vor diesem Hintergrund sind weitere Untersuchungen anzustreben welche funktionellen oder morphologischen Unterschiede mögliche Subpopulationen zeigen um diese besser zu klassifizieren. Da im PPG und CIL auf allen drei untersuchten Strukturen CD147 nachgewiesen werden konnte, im SCG hingegen nur in Nervenfasern von uns gefunden wurde stellt sich weiterhin die Frage nach diesem Unterschied. Eine naheliegende Erklärung für diesen Unterschied wäre, dass das SCG das einzige sympathische Ganglion in unserer Untersuchung darstellt und daher einer möglichen sympathischen Kodierung zuzurechnen ist.

CD271 stellt ein Protein dar, welches in neuronalen Geweben eine Rolle in der Differenzierung, allen voran aber in der Vermittlung von Signalen zum Zelltod / -überleben spielt ⁴⁴⁻⁴⁶. Aufgrund dieser grundlegenden Rolle von CD271 in Neuronen erscheint es wenig überraschend, dass in allen vier Ganglien sowohl Neurone als auch Mantelzellen positiv für CD271 waren. Nichtsdestotrotz konnte hier ein Unterschied bei den Nervenfasern dargestellt werden: TRI und PPG stellten sich auf den Nervenfasern negativ für CD271 dar, wohingegen SCG und CIL CD271 positive Nervenfasern besaßen. Hier wäre eine Vergleichsuntersuchung, dezidiert auf die Nervenfasern bezogen, als weitere Forschung hilfreich.

Als Limitationen dieser Arbeit muss hier das kleine Spenderkollektiv von lediglich sechs Spender angeführt werden. Dies begründet sich in der schweren Zugänglichkeit zu humanen Körperspender, da die Anzahl derjenigen Personen, welche ihren Körper nach dem Ableben

zu Forschungszwecken bereitstellen gering ausfällt. Die hierdurch entstehenden langen Sammelzeiten für passende Präparate darf ebenfalls nicht außer Acht gelassen werden, da gerade die exorbitanten Zeiten für die Sammlung einer höheren Anzahl von Präparaten in der Realität oft aus Praktikabilitätsgründen schwer umzusetzen ist. In der Natur der Körperspende liegt ebenfalls, dass das hier vorliegende Spenderkollektiv allesamt Personen im höheren Lebensalter umfasst. Mit beachtet werden muss zudem, dass im Körperpendewesen lediglich Informationen über die Todesursache des Spendenden geteilt werden, allerdings keine ausführlichen Krankengeschichten oder Vorerkrankungen. Um diesem Umstand entgegenzuwirken, wurde unsererseits bei jedem Körperspender eine gründliche Untersuchung der Regionen von Interesse durchgeführt, um grobe pathologische Veränderungen ausschließen zu können. Seitens der Methodik muss hier erwähnt werden, dass im Bereich immunhistologischer Untersuchungen oft auf ein Antigen Retrieval zurückgegriffen wird. Dies bezeichnet einen Zwischenschritt im Vorbereitungsprozess zum eigentlichen Färbevorgang der Präparate, um Bindungsstellen für die primären Antikörper besser freizulegen. Auch im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Antigen Retrieval versucht, scheiterte allerdings, da das ganglionäre Gewebe dieser Aufarbeitung nicht standhielt.

5.1. Konklusion

In der Zusammenschau der hier präsentierten Ergebnisse lässt sich festhalten, dass die beschriebene Methode der immunhistochemischen Aufarbeitung und fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung von Ganglien geeignet ist, um Untersuchungen von Proteinexpressionsmustern in Ganglienstrukturen (Neuron, Mantelzelle, Nervenfasern) anzustellen. Welche CD – Marker in welcher Struktur und welchem Ganglion positiv bzw. negativ waren lässt sich aus den Tabellen 3, 4, 5 und 6 ablesen. Tabelle 7 fasst zusammen, welche CD – Marker sich anhand der Ergebnisse dieser Arbeit besonders gut zur Darstellung welcher bestimmten Struktur in jedem der untersuchten Ganglien eignen. Hierfür wurden jeweils bei jedem Ganglion die CD – Marker ausgewählt, welche sich im Vergleich zu den restlichen Markern als besonders deutlich in ihrer Immunreaktivität darstellten. Eine Besonderheit bleibt bezüglich CD59 zu erwähnen. Dieser CD-Marker kam in unserer Untersuchung ausschließlich in Nervenfasern des TRI vor. Hiermit bietet sich anhand des CD59 eine Möglichkeit Nervenfasern des TRI eindeutig von denen der anderen Ganglien zu unterscheiden. Diese Möglichkeit erscheint besonders attraktiv, wenn man an die Suche von eventuellen Kollateralen des TRI zu einem der anderen untersuchten Ganglien denkt.

Tabelle 7: Zusammenfassung der jeweils besonders gut geeigneten CD – Marker zur Darstellung der einzelnen Strukturen in jedem der untersuchten Ganglien

	Neuron	Mantelzelle	Nervenfaser
CIL	CD271	CD147, CD271	CD146
PPG	CD271	CD271	CD90, CD56
SCG	CD81, CD90	CD81, CD90	CD81, CD90
TRI	CD56, CD271	CD56, CD271	CD56, CD90

6. Literaturverzeichnis

1. Neuhuber W, Schrödl F. Autonomic control of the eye and the iris. *Auton Neurosci* 2011; **165**(1): 67-79.
2. May PJ, Warren S. Ultrastructure of the macaque ciliary ganglion. *J Neurocytol* 1993; **22**(12): 1073-95.
3. Wu F, Zhao Y, Zhang H. Ocular Autonomic Nervous System: An Update from Anatomy to Physiological Functions %M doi:10.3390/vision6010006 %U <https://www.mdpi.com/2411-5150/6/1/6>. *Vision* %@ 2411-5150 2022; **6**(1): 6.
4. Kirch W, Neuhuber W, Tamm ER. Immunohistochemical localization of neuropeptides in the human ciliary ganglion. *Brain Research* 1995; **681**(1): 229-34.
5. Gamlin PDR, Burnstock G, Sillito AM. *Nervous Control of the Eye*. 2000.
6. McDougal DH, Gamlin PD. Autonomic control of the eye. *Compr Physiol* 2015; **5**(1): 439-73.
7. Kozicz T, Bittencourt JC, May PJ, et al. The Edinger-Westphal nucleus: a historical, structural, and functional perspective on a dichotomous terminology. *J Comp Neurol* 2011; **519**(8): 1413-34.
8. Rusu MC, Pop F, Curcă GC, Podoleanu L, Voinea LM. The pterygopalatine ganglion in humans: A morphological study. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* 2009; **191**(2): 196-202.
9. Charyeva IG, Nikitin LV, Knyazeva LA, Pylaev AS. Interleukin-6 in neurons of the pterygopalatine ganglion of the rat. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 2005; **35**(5): 465-7.
10. Kuwayama Y, Emson PC, Stone RA. Pterygopalatine ganglion cells contain neuropeptide Y. *Brain Research* 1988; **446**(2): 219-24.
11. Fazliogullari Z, Kilic C, Karabulut AK, Yazar F. A morphometric analysis of the superior cervical ganglion and its surrounding structures. *Surg Radiol Anat* 2016; **38**(3): 299-302.
12. Baffi J, Gořcs T, Slowik F, et al. Neuropeptides in the human superior cervical ganglion. *Brain Research* 1992; **570**(1): 272-8.
13. Tajti J, Möller S, Uddman R, Bodi I, Edvinsson L. The human superior cervical ganglion: neuropeptides and peptide receptors. *Neuroscience Letters* 1999; **263**(2): 121-4.
14. Stübinger K, Brehmer A, Neuhuber WL, Reitsamer H, Nickla D, Schrödl F. Intrinsic choroidal neurons in the chicken eye: chemical coding and synaptic input. *Histochem Cell Biol* 2010; **134**(2): 145-57.
15. Arslan M, Deda H, Avci E, et al. Anatomy of Meckel's cave and the trigeminal ganglion: anatomical landmarks for a safer approach to them. *Turk Neurosurg* 2012; **22**(3): 317-23.

16. Messlinger K, Russo AF. Current understanding of trigeminal ganglion structure and function in headache. *Cephalalgia* 2019; **39**(13): 1661-74.
17. Lazarov NE. Comparative analysis of the chemical neuroanatomy of the mammalian trigeminal ganglion and mesencephalic trigeminal nucleus. *Prog Neurobiol* 2002; **66**(1): 19-59.
18. Holzer P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience* 1988; **24**(3): 739-68.
19. Pruszk J. Neural surface antigens: from basic biology towards biomedical applications: Academic Press; 2015.
20. Thomas R, Menon V, Mani R, Pruszk J. Glycan Epitope and Integrin Expression Dynamics Characterize Neural Crest Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) in Human Pluripotent Stem Cell Differentiation. *Stem Cell Reviews and Reports* 2022; **18**(8): 2952-65.
21. Menon V, Thomas R, Elgueta C, et al. Comprehensive Cell Surface Antigen Analysis Identifies Transferrin Receptor Protein-1 (CD71) as a Negative Selection Marker for Human Neuronal Cells. *Stem Cells* 2019; **37**(10): 1293-306.
22. Rusu MC, Mănoiu VS, Crețoiu D, Crețoiu SM, Vrapciu AD. Stromal cells/telocytes and endothelial progenitors in the perivascular niches of the trigeminal ganglion. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* 2018; **218**: 141-55.
23. Jung T, Bader N, Grune T. Lipofuscin: formation, distribution, and metabolic consequences. *Ann N Y Acad Sci* 2007; **1119**: 97-111.
24. Wolfmeier H, Heindl S, Platzl C, et al. Targeted surface marker screening on neuronal structures in the human choroid. *Exp Eye Res* 2023; **227**: 109368.
25. Kleene R, Yang H, Kutsche M, Schachner M. The neural recognition molecule L1 is a sialic acid-binding lectin for CD24, which induces promotion and inhibition of neurite outgrowth. *Journal of Biological Chemistry* 2001; **276**(24): 21656-63.
26. Shewan D, Calaora V, Nielsen P, Cohen J, Rougon G, Moreau H. mCD24, a glycoprotein transiently expressed by neurons, is an inhibitor of neurite outgrowth. *Journal of Neuroscience* 1996; **16**(8): 2624-34.
27. Calaora V, Chazal G, Nielsen PJ, Rougon G. mCD24 expression in the developing mouse brain and in zones of secondary neurogenesis in the adult. *Neuroscience* 1996; **73**(2): 581-94.
28. Hynes RO. Integrins: Versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992; **69**(1): 11-25.
29. Mezu-Ndubuisi OJ, Maheshwari A. The role of integrins in inflammation and angiogenesis. *Pediatric Research* 2021; **89**(7): 1619-26.
30. Van Acker HH, Capsomidis A, Smits EL, Van Tendeloo VF. CD56 in the Immune System: More Than a Marker for Cytotoxicity? *Front Immunol* 2017; **8**: 892.

31. Maness PF, Schachner M. Neural recognition molecules of the immunoglobulin superfamily: signaling transducers of axon guidance and neuronal migration. *Nat Neurosci* 2007; **10**(1): 19-26.
32. Huang R, Yuan D-J, Li S, et al. NCAM regulates temporal specification of neural progenitor cells via profilin2 during corticogenesis. *Journal of Cell Biology* 2019; **219**(1): e201902164.
33. Kimberley FC, Sivasankar B, Paul Morgan B. Alternative roles for CD59. *Molecular Immunology* 2007; **44**(1): 73-81.
34. Vedeler C, Ulvestad E, Bjørge L, et al. The expression of CD59 in normal human nervous tissue. *Immunology* 1994; **82**(4): 542-7.
35. Meri S, Waldmann H, Lachmann PJ. Distribution of protectin (CD59), a complement membrane attack inhibitor, in normal human tissues. *Lab Invest* 1991; **65**(5): 532-7.
36. Golec E, Olsson R, Tuysuz EC, et al. Neuronal CD59 isoforms IRIS-1 and IRIS-2 as regulators of neurotransmitter release with implications for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy* 2025; **17**(1): 11.
37. Kelić S, Levy S, Suarez C, Weinstein DE. CD81 Regulates Neuron-Induced Astrocyte Cell-Cycle Exit. *Molecular and Cellular Neuroscience* 2001; **17**(3): 551-60.
38. Stipp CS, Hemler ME. Transmembrane-4-superfamily proteins CD151 and CD81 associate with alpha 3 beta 1 integrin, and selectively contribute to alpha 3 beta 1-dependent neurite outgrowth. *Journal of Cell Science* 2000; **113**(11): 1871-82.
39. Sauzay C, Voutetakis K, Chatziioannou A, Chevet E, Avril T. CD90/Thy-1, a Cancer-Associated Cell Surface Signaling Molecule. *Front Cell Dev Biol* 2019; **7**: 66.
40. Kisselbach L, Merges M, Bossie A, Boyd A. CD90 Expression on human primary cells and elimination of contaminating fibroblasts from cell cultures. *Cytotechnology* 2009; **59**(1): 31-44.
41. Wang Z, Yan X. CD146, a multi-functional molecule beyond adhesion. *Cancer Letters* 2013; **330**(2): 150-62.
42. Schwarz MJ, Müller N, Körschenhausen D, et al. Melanoma-Associated Adhesion Molecule MUC18/MCAM (CD146) and Transcriptional Regulator Mader in Normal Human CNS. *Neuroimmunomodulation* 1998; **5**(5): 270-6.
43. Iacono KT, Brown AL, Greene MI, Saouaf SJ. CD147 immunoglobulin superfamily receptor function and role in pathology. *Exp Mol Pathol* 2007; **83**(3): 283-95.
44. Bibel M, Barde YA. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes Dev* 2000; **14**(23): 2919-37.
45. Li S, Yue D, Chen X, et al. Epigenetic regulation of CD271, a potential cancer stem cell marker associated with chemoresistance and metastatic capacity. *Oncol Rep* 2015; **33**(1): 425-32.

46. Rabizadeh S, Oh J, Zhong LT, et al. Induction of apoptosis by the low-affinity NGF receptor. *Science* 1993; **261**(5119): 345-8.

7. Anhang

7.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der anatomischen Lage des CIL.10

Abbildung 2: Schematische Darstellung der anatomischen Lage des PPG.11

Abbildung 3: Schematische Darstellung der Effektorregionen des SCG mit deren korrelierenden parasymphathischen Innervationen.12

Abbildung 4: Schematische Darstellung der anatomischen Lage des TRI und seiner postganglionären Fortsätze.13

Abbildung 5 ¹⁷: Tabellarische Auflistung der von Lazarov gefundenen Neurotransmitter in normalen primär afferenten Neuronen des TRI.....15

7.2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Detailinformationen zu den verwendeten Spendern. P.m. = Post mortem; h = Stunden.....18

Tabelle 2: Detailinformationen zu den verwendeten Färbestoffen.....20

Tabelle 3: Positivitätsbewertung aller untersuchten CD – Marker im CIL für Neurone, Mantelzellen und Nervenfasern (++ entspricht stark positiv, + entspricht positiv, - entspricht negativ)23

Tabelle 4: Positivitätsbewertung aller untersuchten CD – Marker im PPG für Neurone, Mantelzellen und Nervenfasern (++ entspricht stark positiv, + entspricht positiv, - entspricht negativ)26

Tabelle 5: Positivitätsbewertung aller untersuchten CD – Marker im SCG für Neurone, Mantelzellen und Nervenfasern (++ entspricht stark positiv, + entspricht positiv, - entspricht negativ)29

Tabelle 6: Positivitätsbewertung aller untersuchten CD – Marker im TRI für Neurone, Mantelzellen und Nervenfasern (++ entspricht stark positiv, + entspricht positiv, - entspricht negativ, +/- entspricht sowohl positiven als auch negativen gefundenen Strukturen).....32

Tabelle 7: Zusammenfassung der jeweils besonders gut geeigneten CD – Marker zur Darstellung der einzelnen Strukturen in jedem der untersuchten Ganglien.....40

7.3. Figurenverzeichnis

Figur 1: Ganglion ciliare (CIL), Immunhistochemie aller CD – Marker..... 24

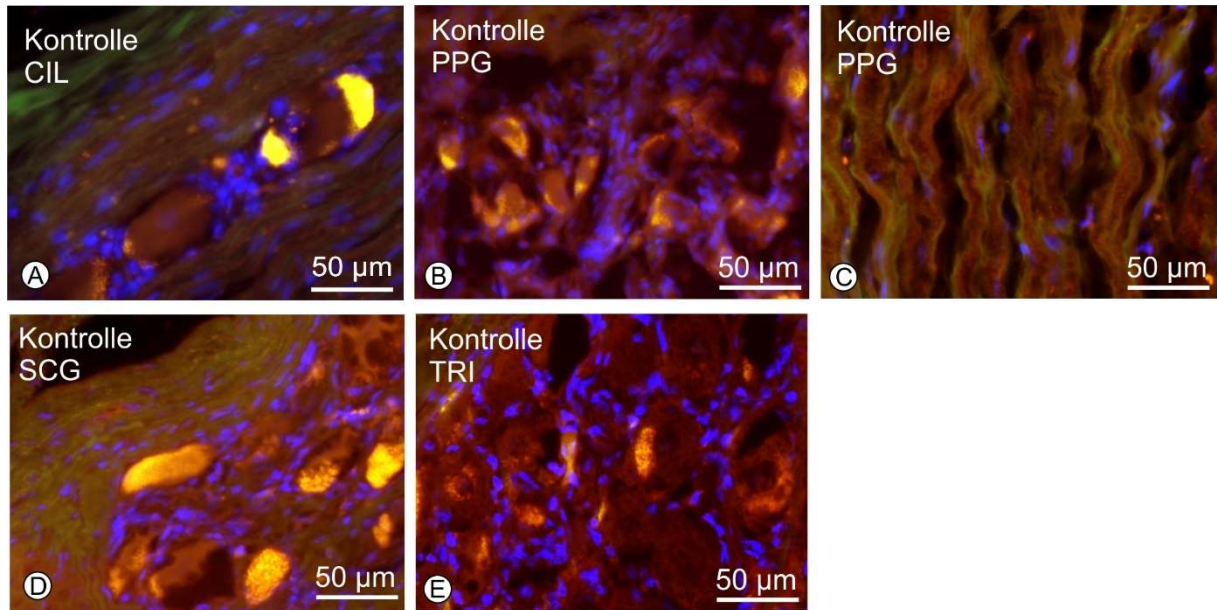
Figur 2: Ganglion pterygopalatinum (PPG), Immunhistochemie aller CD – Marker. 27

Figur 3: Ganglion cervicale superius (SCG), Immunhistochemie aller CD – Marker..... 30

Figur 4: Ganglion trigeminale (TRI), Immunhistochemie aller CD – Marker. 33

Figur 5: Negativ Kontrollen aller untersuchten Ganglien..... 46

7.4. Kontrollbilder



Figur 5: Negativ Kontrollen aller untersuchten Ganglien. Alle Aufnahmen als Überlagerung aller 3 in „3.3 Dokumentation“ erwähnten Kanäle (rot = CD – Marker; blau = DAPI Zellkern; grün = Hintergrund). Maßstababaken entspricht jeweils 50 µm. Es zeigen sich sämtliche Strukturen bis auf das gängige Hintergrundsignal sowie Lipofuscin Granula als negativ.