

AUS DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG  
PRIV.-DOZ. DR. MED. ANDREAS KEHRER  
PLASTISCHE, HAND- UND WIEDERHERSTELLUNGSSCHIRURGIE

**ANATOMISCH – HISTOLOGISCHE STUDIE DES NERVUS FACIALIS  
ZUR OPTIMIERUNG DER SPENDERNERVENSELEKTION BEI  
FAZIALER REANIMATION MITTELS CROSS FACE NERVE GRAFTS**

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
**Marc Rüwe**

2021



AUS DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG  
PRIV.-DOZ. DR. MED. ANDREAS KEHRER  
PLASTISCHE, HAND- UND WIEDERHERSTELLUNGSSCHIRURGIE

**ANATOMISCH – HISTOLOGISCHE STUDIE DES NERVUS FACIALIS  
ZUR OPTIMIERUNG DER SPENDERNERVENSELEKTION BEI  
FAZIALER REANIMATION MITTELS CROSS FACE NERVE GRAFTS**

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von

**Marc Rüwe**

2021



Dekan:	Prof. Dr. med. Dirk Hellwig
1. Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. med. Andreas Kehrer
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Karl-Michael Schebesch
Tag der mündlichen Prüfung:	15.11.2021

**In Liebe und Dankbarkeit meiner Familie gewidmet.**

**Vorbemerkung**

Die im Text genannten Handelsnamen und Warenbezeichnungen sind teils patent- und urheberrechtlich geschützt. Aus dem Fehlen eines besonderen Hinweises <sup>TM</sup> bzw. des Zeichens ® darf nicht geschlossen werden, dass kein Schutz besteht.

## Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>5</b>
<b>1. EINLEITUNG</b> .....	<b>7</b>
1.1 ANATOMIE UND PHYSIOLOGIE DES NERVUS FACIALIS.....	7
1.2 PARESE DES FAZIALISNERVS.....	10
1.2.1 <i>Abgrenzung Zentrale vs. Periphere Fazialisparese</i> .....	10
1.2.2 <i>Inzidenz und Remissionsraten</i> .....	11
1.2.3 <i>Ätiologie und Pathogenese der Fazialisparese</i> .....	11
1.2.4 <i>Klinik und Diagnostik</i> .....	13
1.3 OPERATIVE REKONSTRUKTION.....	15
1.3.1 <i>Indikationsstellung und Grundlagen der operativen Verfahren</i> .....	15
1.3.2 <i>Möglichkeiten und Prinzipien der Rekonstruktion mittels CFNG</i> .....	15
1.3.3 <i>Operative Durchführung von CFNG und freiem Muskeltransplantaten zur Rekonstruktion der dynamischen Mundwinkelansteuerung</i> .....	16
1.4 KRITERIEN DER SPENDERNERVENWAHL FÜR CFNG.....	17
1.4.1 <i>Axonale Kapazität als zentraler Surrogatparameter</i> .....	17
1.5 PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG DER ARBEIT.....	19
<b>2. MATERIAL UND METHODIK</b> .....	<b>20</b>
2.1 DISSEKTION UND ENTNAHME DER BIOPSIEN.....	20
2.1.1 <i>Anzahl und Herkunft der Körperspender</i> .....	20
2.1.2 <i>Material und Vorbereitung</i> .....	20
2.1.3 <i>Präparation und Biopsieentnahme</i> .....	20
2.1.4 <i>Nomenklatur der Biopsien</i> .....	21
2.2 HISTOLOGISCHE PROZESSIERUNG.....	23
2.2.1 <i>Verwendete Materialien</i> .....	23
2.2.2 <i>Fixierung und Spülung der Biopsien</i> .....	24
2.2.3 <i>Entwässerung und Infiltration mit Epon H</i> .....	25
2.2.4 <i>Erstellung der Semidünnschnitte</i> .....	25
2.2.5 <i>Färbung der Präparate</i> .....	26
2.2.5.1 <i>Färbung nach Richardson</i> .....	26
2.2.5.2 <i>PPD-Färbung</i> .....	26
2.3 DIGITALISIERUNG UND VERMESSUNG DER PRÄPARATE.....	27
2.3.1 <i>Verwendete Geräte und Software</i> .....	27
2.3.2 <i>Digitalisierung der Präparate</i> .....	27
2.3.3 <i>Vermessung der Präparate</i> .....	28
2.3.3.1 <i>Eichung und Überprüfung der Skalierung</i> .....	28
2.3.3.2 <i>Qualitätskontrolle und Klassifizierung der Präparate</i> .....	29
2.3.3.3 <i>Vermessung und Digitalisierung der Präparate</i> .....	29
2.4 AXON- UND FASZIKELQUANTIFIZIERUNG.....	30
2.5 STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	30



<b>3. ERGEBNISSE</b> .....	<b>31</b>
3.1 FASZIKELANZAHL.....	31
3.2 AXONALE KAPAZITÄT .....	32
3.3 NERVENDURCHMESSERBESTIMMUNG .....	34
3.4 GESICHTSHÄLFTEN- UND GESCHLECHTERVERGLEICH.....	35
3.4.1 <i>Buccale Level-I Äste</i> .....	35
3.4.2 <i>Zygomatische Level-I Äste</i> .....	35
3.4.3 <i>Buccale Level-II Äste</i> .....	36
3.4.4 <i>Zygomatische Level-II Äste</i> .....	36
3.5 KORRELATION UND REGRESSIONSANALYSE .....	37
3.5.1 <i>Korrelation von Durchmesser und Kapazität mit dem Alter</i> .....	37
3.5.2 <i>Durchmesser und Faszikelanzahl</i> .....	37
3.5.3 <i>Axonale Kapazität und Durchmesser</i> .....	39
3.6 CUT-OFF-ANALYSE ZUR ERREICHUNG VON 900 AXONEN .....	41
<b>4. DISKUSSION</b> .....	<b>42</b>
4.1 DISKUSSION VON MATERIAL UND METHODIK .....	42
4.1.1 <i>Dissektion und Klassifizierung der Biopsien</i> .....	42
4.1.2 <i>Axonquantifizierung</i> .....	42
4.1.3 <i>Vermessung der Nervenquerschnitte</i> .....	43
4.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE .....	44
4.2.1 <i>Axonale Kapazität im Literaturvergleich</i> .....	44
4.2.2 <i>Nervendurchmesser und Kapazitätskorrelation im Literaturvergleich</i> .....	45
4.2.3 <i>Kapazität und Durchmesser in Bezug auf das Alter</i> .....	46
4.3 TRANSLATION IN DIE PRAXIS.....	47
4.3.1 <i>Anwendung der Ergebnisse</i> .....	47
4.3.2 <i>CFNG vs. Massetericus-Transfer</i> .....	48
4.3.3 <i>Verminderung des Kapazitätsverlusts</i> .....	49
4.3.3.1 <i>Reduktion des Verlusts an der Koaptationsstelle</i> .....	49
4.3.3.2 <i>Elektrostimulation und sensible End-zu-Seit Kurzschlüsse</i> .....	51
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>52</b>
<b>6. ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>53</b>
<b>7. TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>54</b>
<b>8. LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>55</b>
<b>DANKSAGUNG</b> .....	

---

**Abkürzungsverzeichnis**

A.	Arteria
A. bid.	Aqua bidest, zweifach destilliertes Wasser
Abb.	Abbildung
Abs.	absoluter
al.	alii, aliae, alia
BMI	Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CaCo	Kalziumkarbonat
CFNG	Cross-Face Nerve Graft
cm	Zentimeter
Dr.	Doktor
EM	Elektronenmikroskopie
EtOH	Ethanol
g	Gramm
Gl.	Glandula (Singular)
h	Stunde
HCl	Salzsäure
Hz	Hertz
K	Kelvin
M	molar, [mol]/[l]
M.	Muskulus (Singular)
Mm.	Muskuli (Plural)
mm.	Millimeter
µm	Mikrometer
min	Minute
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MRT	Magnetresonanztomographie
N.	Nervus (Singular, Nominativ)
n.	Nervi (Singular, Genitiv)
NaOH	Natriumhydroxid

Ncl.	Nucleus
OsO <sub>4</sub>	Osmium (VIII) -oxid
PFA	Paraformaldehyd
PPD	para-Phenylendiamin
Proc.	Processus
Prof.	Professor
r	Radius
R.	Ramus (Singular)
Rr.	Rami (Plural)
V.	Vena
z.B.	zum Beispiel

---

## 1. Einleitung

*„Was im Herzen brennt,  
man im Gesicht erkennt.“*

Diese deutsche Redewendung beschreibt den Stellenwert der Mimik besonders treffend. Die Mimik ist sinnbildlich der Spiegel der inneren Emotion. Sie ist das wichtigste nonverbale Kommunikationsinstrument, mit dem man, frei nach Paul Watzlawick „[...] nicht nicht kommunizieren“ kann. Ist dieses Mitteilungsinstrument auf Grund einer Fazialisparese gestört, ist die gesellschaftliche Interaktion maßgeblich limitiert [1–3]. Die Belastung für die Patient\*Innen sind sowohl funktionell [4–7] als auch psychologisch immens [8–12]. Die meisten akuten Fazialispareesen bilden sich spontan zurück. Bleibt eine Remission aus, besteht die Möglichkeit mittels mikrochirurgischer Rekonstruktion die komplexe Funktion und die Ästhetik des Gesichts bestmöglich wiederherzustellen.

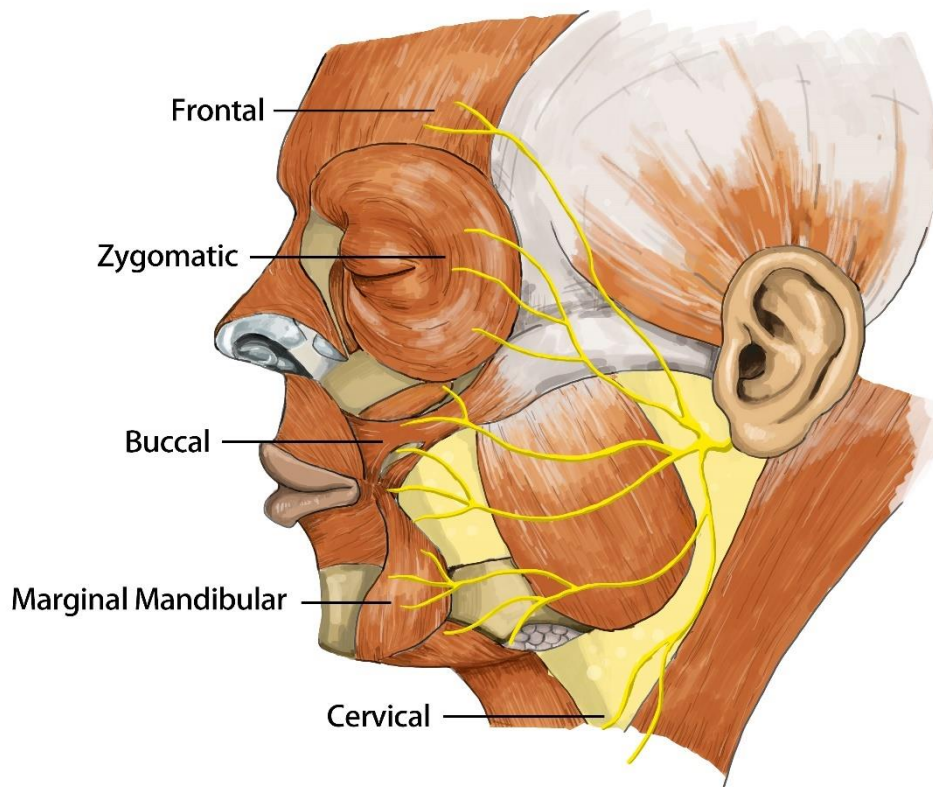
### 1.1 Anatomie und Physiologie des Nervus facialis

Der N. facialis (VII) ist der siebte von insgesamt zwölf paarig angelegten Hirnnerven, deren Kerne im Hirnstamm lokalisiert sind. Der siebte Hirnnerv setzt sich aus den Fasern des N. facialis sowie den Fasern des ihm angelagerten N. intermedius zusammen. Im N. facialis verlaufen speziell viszeroafferente Fasern aus dem Ncl. n. facialis (motorischer Kern zur Innervation der mimischen Muskulatur). Im N. intermedius verlaufen allgemein viszeroafferente Fasern (zur parasymphatischen Innervation verschiedener Drüsen) sowie speziell viszeroafferente Fasern (zur Geschmackswahrnehmung der vorderen zwei Drittel der Zunge). Beide Nerven werden häufig auch zum N. intermediofacialis zusammengefasst. Die Fasern des N. facialis schlingen sich in der Pons des Hirnstamms um den Abduzenskern und bilden so das „innere Fazialisknie“. Die Fasern des N. intermedius entstammen zum einem dem Nucleus salivatorius superior, zum anderen enthalten sie speziell viszeroafferente Fasern des Nucleus tractus solitarii. Der N. intermedius lagert sich erst distal des Inneren Fazialisknies an den N. facialis an. Diese ziehen nun zusammen nach frontolateral zum Porus acusticus internus und weiter durch den Meatus acusticus internus in den Canalis facialis.

---

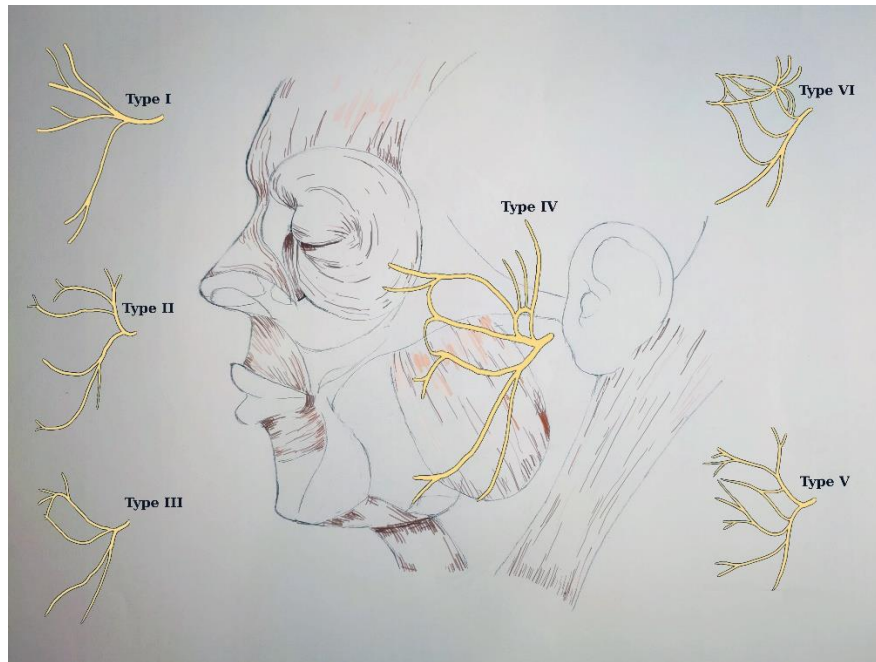
Im Pars petrosa des Felsenbeins beschreibt der Verlauf des Nervs eine Kurve, was als „äußeres Fazialisknie“ bezeichnet wird. Hier lagern sich die Fasern zum Ganglion geniculi, in welchem die Perikaryen der Chorda tympani und des N. auricularis posterior liegen, zusammen. Distal hiervon gibt der N. facialis den N. petrosus major ab, der durch das Foramen lacerum austritt und nach Verschaltung im Ganglion pterygopalatinum die Glandulae nasales, palatinae und lacrimalis parasymphatisch innerviert. Im weiteren Verlauf zweigt sich der N. stapedius ab, der in das Mittelohr zieht und dort den gleichnamigen Muskel innerviert. Zuletzt zweigt die Chorda tympani ab, welche die Geschmacksfasern von den vorderen zwei Dritteln der Zunge und parasymphatische Fasern (Verschaltung im Ganglion submandibulare) zu den Glandulae submandibularis, sublingualis und lingualis anterior führt.

Der Hauptstamm des N. facialis tritt nun durch das Foramen stylomastoideum aus dem knöchernen Schädel aus. Der R. auricularis posterior zweigt unmittelbar distal des Foramen nach posterior ab und unterteilt sich weiter in den R. auricularis sowie den R. occipitalis, welche die Muskeln des äußeren Ohres und den M. occipitalis innervieren. Der N. facialis zieht nun über die A. carotis interna und die V. retromandibularis zur Glandula parotis. Innerhalb der Parotis bildet er zwischen dem superfiziellen und profunden Parotislappen den Plexus intraparotideus, aus dem die Rr. Temporales (R. frontalis), Rr. zygomatici, Rr. buccales und R. marginalis mandibulae und R. cervicalis (R. colli) hervorgehen (Abbildung 1). Diese Äste innervieren im weiteren Verlauf die gesamte mimische Muskulatur. Außerdem zweigen innerhalb der Parotis der R. digastricus und der R. stylohyoideus zu den gleichnamigen Muskeln ab.



**Abbildung 1** Schematische Darstellung der Äste des N. facialis.

Davis et al. beschrieb 1956 in einer anatomischen Studie an 350 Gesichtshälften den extrakraniellen Verlauf des N. facialis und unterteilte diesen in fünf Verästelungsmuster (Abbildung 2) [13]. Weitere Autoren konnten zeigen, dass das Verzweigungsmuster deutlich komplexer ist und eine Unterteilung in starre Muster unzureichend [14, 15]. Kwak et al. demonstrierten, dass die anatomische Variabilität schon im Felsenbein beginnt, da in 26,7 % der Fälle ein kleiner und ein großer separater Hauptast aus dem Foramen stylomastoideum austraten [16]. Der Verlauf des Gesichtsnervs durch die verschiedenen Gewebeschichten wurde von Mendelson und Jacobson beschrieben [17] und von Kehrer et al. wurden verschiedene Anastomosen innerhalb des Astsystems illustriert [18]. Aufgrund des komplexen Verlaufs kann der N. facialis bei Operationen im Kopf-/Halsbereich leicht geschädigt werden. Präzise makro- und mikroanatomische Kenntnisse sind daher nicht nur für Fazialischirurg\*Innen unerlässlich.



**Abbildung 2** Klassifikation des Verzweigungsmusters nach Davis [13].

## 1.2 Parese des Fazialisnervs

Die vielfältige Symptomatik einer Lähmung des N. facialis wurde bereits im Jahr 1797 vom deutschen Prof. Nicolaus Anton Friedreich dokumentiert und eine erfolgreiche Behandlung von drei Patienten beschrieben [19]. Eine ausführliche Analyse erfolgte ein Vierteljahrhundert später von Sir Charles Bell [20]. Im angloamerikanischen Raum wird die Fazialisparese daher auch als *Bell's palsy* bezeichnet.

Terminologisch kann zwischen Paresen, ein motorischer Funktionsverlust mit unterschiedlicher Ausprägung, und Paralysen/Plegien, vollständiger motorischer Funktionsverlust, differenziert werden. Im deutschen Sprachgebrauch wird meist jedoch nur zusammenfassend der Begriff der Fazialisparese verwendet, weshalb in dieser Arbeit auch keine Differenzierung vorgenommen wird.

### 1.2.1 Abgrenzung Zentrale vs. Periphere Fazialisparese

Liegt akut das klinische Bild einer Fazialisparese vor muss zuerst eine Abgrenzung einer peripheren Parese, bei der sich die Läsion des Nervs distal nach Austritts aus dem Truncus cerebri befindet, von einer zentralen Parese, bei denen die Läsion cerebral oder im Hirnstamm lokalisiert ist, erfolgen [21]. Weiterführend sollte eine vollständige neurologische Untersuchung durchgeführt sowie Infektionskrankheiten und Tumore ausgeschlossen werden. Da funktionelle Rekonstruktionen mittels Cross-

---

*Face-Nerve-Graft* (CFNG) oder Nerventransfers in der überwiegenden Mehrzahl bei peripheren Fazialisparesen durchgeführt werden, bezieht sich diese Dissertationsarbeit ausschließlich auf die periphere Form.

### **1.2.2 Inzidenz und Remissionsraten**

In der Literatur findet sich eine große Heterogenität bezüglich der Inzidenz der Fazialisparese. Sie schwankt je nach Region zwischen 13,1 bis 52,8 Fälle pro 100 000 Einwohner [22–29]. Die Inzidenz nahm bei allen Studien über die Altersklassen zu, wobei sich damit auch die Prognose verschlechterte. Peitersen et al. beschrieb in seinem großen dänischen Studienkollektiv eine verstärkte Häufung zwischen dem 15. und 45. Lebensjahr [29], andere Autoren definierten jedoch keinen Altersgipfel. Als additive Risikofaktoren wurden Diabetes und Bluthochdruck identifiziert [25]. Die Verteilung zwischen den Geschlechtern scheint nach bisheriger Studienlage annähernd ausgewogen zu sein [23, 24, 28], wobei einige Studien eine leicht stärkere Häufung unter Frauen beobachteten [22, 25–27]. Schwangerschaften scheinen das Risiko für eine Fazialisparese zu erhöhen [29, 30], dies wird jedoch kontrovers diskutiert.

Bezüglich regionaler Unterschiede konnten Campbell et al. zeigen, dass in aride Regionen und in den Wintermonaten (November bis März) die Inzidenzrate in seinem Kollektiv erhöht war [26].

Die Remissionsraten werden in der Literatur hingegen recht homogen mit 71 bis 86 % angegeben, wobei ein höheres Alter und Komorbiditäten die Prognose verschlechtern [24, 25, 27, 29]. Peitersen et al. fanden, dass bei 85 % der Patient\*Innen eine Verbesserung innerhalb der ersten drei Wochen und bei 15 % zwischen dem 3 - 5 Monat auftrat. Eine normale Funktion erwarben 71 % der Patienten zurück, wobei dies nur innerhalb der ersten sechs Monate möglich war. Bei vollständigen Paresen (70 % der Fälle) zeigten sich weniger komplette Remissionen. Bei inkompletten Paresen (30 % der Fälle) erlangten 94 % eine normale Funktion zurück [29].

### **1.2.3 Ätiologie und Pathogenese der Fazialisparese**

In den meisten Fällen kann keine genau Ursache gefunden werden, weshalb der Anteil an idiopathischen Fazialisparesen mit bis zu 87,4 % angegeben wird [25]. Die Ätiologie der idiopathischen Fazialisparese wird in der Literatur vielfältig diskutiert. Es wird vielfach angenommen, dass bei den als idiopathisch eingestuften Fällen meist inflammatorische Prozesse zu Grunde liegen welche jedoch bisher nicht



laborchemisch oder immunbiologisch detektiert werden können [31]. McCormick stellte 1972 erstmals die Hypothese auf, dass der Herpes-Simplex-Virus (HSV-1) eine mögliche Ursache für viele Fazialispareesen sein könnte. Infektionsbedingt schwillt der Nerv an und wird durch die Kompression im knöchernen Verlauf nachhaltig geschädigt [32]. Erst ein Vierteljahrhundert später konnte diese Hypothese durch die Identifikation von DNA-Fragmenten in der endoneuralen Flüssigkeit sowie den mimischen Muskeln nachgewiesen werden [33]. Ein Jahr zuvor war es bereits im Rattenmodell gelungen, bei 56,7 % der mit HSV-1 infizierten Ratten eine Fazialisparese auszulösen [34]. Im Mausmodell konnte weiterführend gezeigt werden, dass Diabetes mellitus die Entstehung einer HSV-1 induzierten Fazialisparese fördert sowie deren Rückbildung verlangsamt [35, 36]. Als weitere virale Genese kommt eine Reaktivierung des Epstein-Barr-Virus (EBV), welche schon in den 70er Jahren beschrieben wurde, in Frage [37]. Vogelnik und Matos zeigten 2017, dass nach EBV induzierter akuter Otitis media Kleinkinder eine Fazialisparese entwickeln können [38]. Weiterhin wurde das Auftreten von Fazialispareesen mit Coxsackievirus A sowie Echoviren [39], HIV [40] und der Japanischen Enzephalitis assoziiert [41].

Als Ursache kommt auch die Lyme Borreliose in Frage. Der Anteil an Borreliose unter den Fazialisparesefällen wird in der Literatur mit 3 - 10 % angegeben, weshalb besonders bei Kindern eine suffiziente Antibiotikatherapie erfolgen sollte [42–46].

Bei Kindern ist die postpartale Fazialisparese, eine kongenitale Fazialisparese bzw. beim Geburtsvorgang erworbene Parese, von der zu einem späteren Zeitpunkt erworbenen Fazialisparese abzugrenzen. Als Schädigungsmechanismen, die Einfluss auf die fetale Entwicklung werden Minderperfusion [47], welche vielfältige Gründe haben kann, teratogene Substanzen [48] sowie genetische Aberrationen [49, 50] genannt. Zu den angeborenen Syndromen, die mit Fazialispareesen assoziiert sind, zählen das Möbius Syndrom [51, 52], die *hemifacial microsomia* (HFM) [53–55], *congenital cranial dysinnervation disorders* (CCDD) [56], das CHARGE-Syndrom [57] und das *Neonatal asymmetric crying faces* (ACF) [58, 59]. Des Weiteren kann es während des Geburtsvorgangs zu Schädigungen des Nervs kommen, welche sich reversibel, teil-reversibel oder irreversibel präsentieren. Als Risikofaktoren wurden hierbei ein Geburtsgewicht über 3500 g, eine prolongierte Austreibungsphase und eine Geburtsentwicklung mittels Zange ausgemacht [60–63].

Mittelgesichts- und Schädelbasisfrakturen können außerdem zu einer traumatischen Schädigung des N. facialis führen [64]. Eine Schädigung tritt häufig bei longitudinalen Felsenbeinfrakturen auf, wobei die Läsionsmuster, von Quetschungen bis zu Rupturen sehr heterogen verteilt sind [65, 66]. Des Weiteren kann der Schaden auch iatrogen im Rahmen der Rekonstruktion nach oberhalb genannten Frakturen entstehen [67]. Iatrogen wird der Fazialis gelegentlich bei der Parotistumorresektion geschädigt. Die Häufigkeit von permanenten Fazialispareesen hängt stark von der Lokalisation, der Tumorentität, der Ausbreitung und der damit gewählten Resektionsmethode ab und schwankt zwischen 1,7 - 5,6 % [68–70].

Tumorleiden bzw. die operative Entfernung dieser können sich auch in Fazialispareesen äußern. Als Tumor, der primär eine Parese bedingen kann, ist das Akustikusneurinom zu nennen, bei dem 11 % der Patienten schon präoperativ von Einschränkungen berichten [71]. Die iatrogene Schädigung bei der operativen Versorgung ist häufig und steigt mit der Tumorgröße an [72]. Die Persistenz funktioneller Einschränkungen wird in der Literatur auf Grund von unterschiedlichen Parametern variabel angegeben [72, 73]. Ryzeman et al. konnten durch einen Lebensqualitätsfragebogen zeigen, dass 17,4 % sich in ihrer Mimik stark eingeschränkt fühlten und 26,1 % starke Probleme mit dem Augenschluss berichteten [71].

Tumorpatienten mit Fazialisparese profitieren grundsätzlich von einer zügigeren Rekonstruktion, entweder direkt mittels Nerveninterponat oder mittels Reanimation der originären Muskulatur via Nerventransfer [74–76].

#### **1.2.4 Klinik und Diagnostik**

Ein irreversibler Ausfall des N. facialis stellt eine starke Beeinträchtigung für die Patient\*Innen dar. Der Verlust der Mimik ist das offensichtlichste Symptom. Klinisch sind schlaffe von spastischen und komplette von inkompletten Paresen zu unterscheiden. Die Ausprägungen von einer schlaffen oder kontrahierten [77, 78] Gesichtshälfte bis hin zu verzerrenden und entstellenden Synkinesien sind mannigfaltig [79, 80]. Weitere leicht erkennbare Symptome sind ein auf Grund des Tonusverlusts eingeschränktes Artikulationsvermögen [4] sowie eine Verminderung der oralen Kontinenz [5, 6]. Peitersen et al. fanden in ihrem Kollektiv, dass 83 % der Patienten einen reduzierten oder keinen Geschmacksinn hatten. Des Weiteren wiesen initial 72 % der Patienten einen eingeschränkten oder verschwundenen Stapedius-Reflex und damit eine verbundene Hörminderung der betroffenen Seite auf [29]. Die Augenpartie der Patienten sollte genau untersucht werden, da bei insuffizientem

---

Lidschluss die fehlende Benetzung der Hornhaut mit Tränenflüssigkeit bis zur Erblindung führen kann [81, 82].

Neben funktionellen Einschränkungen sind die psychische Belastung und die psychosoziale Folgen, die mit der Parese einhergehen, zu beachten [10, 11]. Die Patienten ziehen sich vermehrt sozial zurück und neigen zu Depressionen [12].

Zur Erfassung der Schwere der Parese wurden Bewertungsbögen und neuerdings auch elektronische Gesichtserkennungsprogramme etabliert. Die *House-Brackmann-Scale* ist weitläufig bekannt und ihre Einteilung in Klassen pragmatisch, jedoch wird sie den vielfältigen Paresemustern und funktionellen Einschränkungen nicht hinreichend gerecht [83]. Besonders Synkinesien bei Patienten mit inkompletter Parese werden schlecht abgebildet. Die *Sunnybrook Facial Grading Scale* bietet eine differenziertere Beurteilung, woraus schlussendlich ein *Severity-Score* berechnet wird [84].

Sargent et al. begannen 1998 die Evaluation der mimischen Funktion mittels computerbasierter Bildanalyse zu objektivieren [85]. Seitdem wurde von zahlreichen Arbeitsgruppen Fotodokumentations-Schemata entwickelt, um immer genauere Vermessungen vorzunehmen [86–89]. Um international Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu ermöglichen, wird von der *Charles-Bell-Society* seit Jahren Uniformität in der Dokumentation angestrebt [87, 90]. In Bezug auf vom Patienten selbst ausfüllbaren Fragebögen wird der *Facial Disability Index* (FDI) und der *FaCE* Fragebogen empfohlen [91–93] sowie zur computerbasierten Bildanalyse die Software *eFACE* [94, 95] oder das präzisere *Emotrics* [96]. Diese Instrumente sollen durch die Objektivierung für mehr Evidenz sorgen. Außerdem ist es für die Fazialchirurg\*Innen von besonderer Wichtigkeit, die verlorene Funktionalität genau einzugrenzen um dem Patienten das optimale Therapiekonzept anbieten zu können [97].

---

## 1.3 Operative Rekonstruktion

### 1.3.1 Indikationsstellung und Grundlagen der operativen Verfahren

Bei entsprechendem Leidensdruck und Funktionsverlust ist bei irreversibler Fazialisparese die chirurgische Rekonstruktion indiziert [98, 99].

Bei der Wahl des Rekonstruktionsverfahrens ist die Paresedauer maßgeblich entscheidend [100–102]. Bei frühen Paresen, bei denen weniger als bis zu 15 Monate vergangen sind und die mimische Muskulatur noch intakt ist, kann diese reinnerviert werden [103–105]. Bei lang bestehenden Paresen, bei denen die mimische Muskulatur bereits atrophiert ist, kann zum Ersatz der originären Muskulatur ein freies funktionelles Muskeltransplantat eingebracht und an Spendernerven angeschlossen werden [106–108]. In der Übergangsphase zwischen neun Monaten und anderthalb Jahren ist die Qualität der mimischen Muskulatur kritisch, so dass beispielsweise eine Elektromyographie weiteren Aufschluss geben kann [109].

Grundsätzlich kommen als Spendernerven in der ipsilateralen Gesichtshälfte der N. trigeminus mit seinen motorischen Unterästen N. massetericus [110–112] und N. temporalis (M. temporalis) [113] sowie der N. hypoglossus [114, 115] in Frage. Weiterhin kommen auch Äste des N. facialis der kontralateralen Gesichtshälfte als Spendernerv(en) in Frage, wobei dessen Impulse mittels CFNG in die paretische Gesichtsseite geleitet werden müssen [116–118]. Die individuelle, patientenbezogene Beurteilung der optimalen Versorgung ist für ein zufriedenstellendes Ergebnis maßgeblich [119].

### 1.3.2 Möglichkeiten und Prinzipien der Rekonstruktion mittels CFNG

Cross-Face-Nerve-Grafting wurde erstmals 1971 von Scaramella und Smith beschrieben [120, 121]. Die Methode wurde von Anderl im Jahre 1979 als zweizeitiges Verfahren durch eine freie Muskeltransplantation ergänzt [118]. Durch das zweizeitige Vorgehen hatten die Axone Zeit vom Spendernerv durch das CFNG in die gelähmte Gesichtshälfte zu wachsen. Freie funktionelle Muskeltransplantationen zur fazialen Rekonstruktion wurden erstmals 1975 von Freilinger et al. beschrieben [122]. Zur Rekonstruktion der Mundwinkelhebung hat sich mehrheitlich der M. gracilis [123, 124] gegen den M. pectoralis minor [125], den M. vastus lateralis [126], den M. serratus anterior [127] und M. latissimus dorsi [128] durchgesetzt. Zur Rekonstruktion des Lidschlusses kann ein freies Platysma Transplantat verwendet werden [129–132].

Grundsätzlich können CFNGs in der paretischen Gesichtshälfte an die originäre Muskulatur [133] oder an ein freies Muskeltransplantat im Rahmen eines zweizeitigen Vorgehens angeschlossen werden [134–137]. Diese Verfahren können auch mit einem Nerventransfer als sog. *Dual-Innervation* kombiniert werden [138, 139]. Dies ist besonders bei der Reanimation der originären Muskulatur sowie bei der einzeitigen Muskeltransplantation ratsam, da die Reinnervationszeit bei einem Axonwachstum von 1mm pro Tag [140] und einer durchschnittlichen CNFG Länge von 22 cm, ca. 220 Tagen beträgt, wobei noch die Zeit zur Überbrückung der Koaptationsstelle einkalkuliert werden muss. Der Fortschritt der Aussprossung kann hierbei durch das den Nervenverlauf des CFNG entsprechend wandernde Hoffmann-Tinel Zeichen evaluiert werden [141].

In Kontrast zu anderen Spendernerven kann mittels CFNG-Anschluss an den kontralateralen N. facialis eine emotionale, mimische und symmetrische Kopplung zu erreicht werden [135, 142–145]. Zudem vermitteln faziale Spendernervenäste im Gegensatz zu Ästen des N. trigeminus einen besseren Ruhetonus, welcher besonders für die Ruhesymmetrie von Bedeutung ist [137, 146].

### **1.3.3 Operative Durchführung von CFNG und freiem Muskeltransplantaten zur Rekonstruktion der dynamischen Mundwinkelansteuerung**

In der nicht paretischen Gesichtshälfte wird eine präaurikuläre Inzision (Hemiparotidektomie-Zugang) gesetzt, die bei Bedarf nach distal und kranial erweitert werden kann [147]. Der Hautlappen wird oberhalb des SMAS (Superfizielles muskuloaponeurotisches System) präpariert [148, 149]. Am medialen Rand der Gl. parotis wird durch das SMAS präpariert und mit Hilfe der gezielten Stimulation mit einem Nervenstimulator die Äste des N. facialis identifiziert [150–152]. Zielnerven sind die buccalen und zygomatischen Äste, welche durch die Stimulation hinsichtlich der gewünschten Funktion evaluiert werden. Kehrer et al. konnten zeigen, dass die Innervation des M. zygomaticus major sehr variabel sein kann [153].

Zeitgleich wird der N. suralis vom Unterschenkel von einem zweiten Operationsteam gehoben. Die Inzision erfolgt auf halber Strecke zwischen Calcaneus und Malleolus lateralis. Ist der Nerv identifiziert, wird dieser durchtrennt und mit dem Nervenstripper über weitere Zusatzinzisionen in einer Länge von ca. 25 cm entnommen [154, 155].

In der paretischen Gesichtshälfte wird eine kurzstreckige, präaurikuläre Inzision vorgenommen. Das Nerven­transplantat wird nun in umgekehrter Orientierung durch das Gesicht getunnelt, wofür im Vestibulum oris an der Oberlippe ein weiterer Hilfsschnitt gesetzt wird [144]. Nun wird der CFNG auf der nicht paretischen Gesichtshälfte mit dem Spendernerv unter dem Operationsmikroskop epineural koaptiert [156, 157]. Das distale Ende wird präaurikulär im subkutanen Fettgewebe platziert und für die spätere Auffindung markiert.

In der anschließenden Reinnervationsphase sollen die Axone in das Nerven­transplantat einsprossen und durch das Nerven­kabel wachsen [158]. Die freie Muskel­transplantation wird nach ca. neun Monaten durchgeführt [159].

In Rahmen der zweiten OP wird nun das freie Muskel­transplantat gehoben und zeitgleich die Präparation im Gesicht vorgenommen [160]. An der paretischen Gesichtshälfte wird das zuvor hier positionierte CFNG aufgesucht und der Hautlappen bis zur Nasolabial-Falte präpariert. Zur Rekonstruktion eines natürlichen Lächelns werden im Bereich der Nasolabial-Falte Fäden, unter ständiger Beurteilung des Zugvektors, platziert [159, 161, 162].

Das freie Muskel­transplantat wird in das Gesicht eingebracht und im richtigen Zugvektor eingenäht. Nun erfolgt die Koaptation von Muskelnerv und Nerven­transplantat [156, 157] und die Anastomosierung der muskelversorgenden Gefäße mit beispielsweise der A. facialis und V. facialis [163].

## **1.4 Kriterien der Spendernervenwahl für CFNG**

Bei der Auswahl des Spendernervs müssen folgende Kriterien berücksichtigt werden [159]. Funktionalität, der Nerv innerviert den/die Muskel(n) dessen/deren Funktion auf der paretischen Hälfte imitiert werden soll. Redundanz, der Muskel der gesunden Seite wird von einem zweiten Nervenast versorgt. Axonale Kapazität, welche derart suffizient sein muss, damit genug Axone den Zielmuskel erreichen können. Die ersten beiden Kriterien lassen sich intraoperativ mit einem Nervenstimulator evaluieren [164], die axonale Kapazität jedoch nicht.

### **1.4.1 Axonale Kapazität als zentraler Surrogatparameter**

Dass funktionell gute Ergebnisse maßgeblich durch die motorischer Axonkapazität des Spendernervens bedingt sind, gilt in der Fazialisnerven­chirurgie als erwiesen [162,

165–167]. Paul Cederna et al. konnten im Tiermodell das Kraftdefizit bei reduzierter Axonkapazität quantifizieren [168].

Da die Axone bei Verwendung von CFNGs zwei Koaptationsstellen sowie eine weite Strecke im Nerventransplantat überwinden müssen, ist mit einem beträchtlichen axonalen Verlust zu rechnen. Harrison et al. postulierten bereits 1985, dass nur 20 bis 50 % der Spendernervenaxone das distale Ende eines 20 cm langen Nerventransplantats erreichen [169]. Frey et al. konnten dies 1991 quantifizieren und fanden distal nur 25 % der ursprünglichen Spendernervenkapazität [165]. Allison Snyder-Warwick et al. untersuchten den Kapazitätsschwund an Jugendlichen, die eine deutlich kürzere CNFG-Länge von nur  $13,6 \pm 2,2$  cm aufwiesen und kamen mit 24 % der Spendernervenkapazität auf ein ähnliches Ergebnis [170].

Julia K. Terzis untersuchte die Auswirkungen der Axonkapazität des Zielnervs, des Nerventransplantats und des Spendernervenastes. Sie korrelierte funktionell gute bis sehr gute Ergebnisse mit einer Anzahl von mehr als 900 Axonen im Spendernerv [171]. Die Bestimmung der axonalen Kapazität ist jedoch nur durch eine Biopsierung, histologische Aufbereitung und Auszählung des Spendernervens möglich. Wang et al. veröffentlichten eine Methode, bei welcher Gefrierschnitte des N. facialis im Rattenmodell innerhalb 30 min ausgewertet werden konnten [172]. Jedoch wird aktuell eine derartige Evaluation potenzieller Spendernervenäste in der klinischen Praxis üblicherweise nicht angewendet, da zur probatorischen Prüfung mehrere Nerven durchtrennt werden müssten und dies bei entsprechender Anzahl Funktionsdefizite in der nicht gelähmten Gesichtshälfte zur Folge hätte.

Hembd et al. versuchte 2017 die optimale Koaptationsstelle zu definieren und korrelierten den Cut-Off-Wert von Terzis [171] mit einem Nervendurchmesser von 0,6 mm [173]. Diese Arbeit setzte als erste Arbeit die axonale Kapazität ins Verhältnis zu einem Parameter, der intraoperativ messbar ist. Jedoch wurde der Durchmesser nur bei einem kleinen Kollektiv von 14 Körperspendern an fixierten Präparaten eines einzelnen Astes bestimmt.

---

## 1.5 Problemstellung und Zielsetzung der Arbeit

Die intraoperative Beurteilung und Auswahl des optimalen Spendernervens (siehe 1.4) stellt für viele Fazialischirurg\*Innen weiterhin eine große Schwierigkeit dar. Insbesondere die axonale Kapazität, welche das funktionelle Ergebnis entscheidend bestimmt, lässt sich bis dato nur mittels Biopsie abschätzen (siehe 1.4.1). Die empirischen Daten können den Fazialischirurg\*Innen aufgrund der ausgeprägten Variabilität des N. facialis (siehe 1.1) bisher nur als Orientierung dienen.

Die Zielsetzung der Arbeit war es, den Fazialischirurg\*Innen die individuelle intraoperative Evaluation von Spendernervenästen zu erleichtern und eine Abschätzung der axonalen Kapazität über das Nervenkaliber zu ermöglichen. Diese sollte entsprechend der komplexen Anatomie spezifisch für das jeweilige Astsystem erfolgen können. Zudem sollten für diese Systeme klinisch anwendbare Cut-Off-Werte für das Erreichen einer suffizienten Kapazität definiert werden. Hierzu sollte eine substanzielle Anzahl humaner Körperspender\*Innen präpariert, die Biopsien relevanter Äste hinsichtlich Nervendurchmesser präzise vermessen und die axonale Kapazität bestimmt werden.



## 2. Material und Methodik

Im folgenden Teil werden die Präparation der Körperspender\*Innen, die Entnahme und histologische Aufarbeitung der Biopsien, die Axonquantifizierung sowie die digitale Vermessung beschrieben. Die Studie wurde der Ethikkommission der Universität Regensburg präsentiert und am 21.08.2014 genehmigt (Geschäftszeichen 14-101-0251).

### 2.1 Dissektion und Entnahme der Biopsien

#### 2.1.1 Anzahl und Herkunft der Körperspender

Die Präparation erfolgte ausschließlich an *fresh frozen* Köpfen, welche bei ca. -15 bis -22°C tiefgefroren waren. Ein zentrales Kriterium war die Unversehrtheit der präaurikulären Region. Es konnten 53 Körperspender\*Innen und somit 106 Gesichtshälften eingeschlossen werden (Tabelle 1).

Universitäres Anatomisches Institut	Anzahl an Köpfen (Gesichtshälften)
Regensburg	5 (10)
Halle (Saale)	7 (14)
Ütrecht (Niederlande)	24 (48)
Graz (Österreich)	17 (34)

**Tabelle 1** Anzahl der präparierten Köpfe pro Institut.

#### 2.1.2 Material und Vorbereitung

Zum Auftauen wurden die Köpfe am Vortag aus dem Kühlschrank genommen. Die Präparation erfolgte mittels mikro- und handchirurgischer Operationsinstrumente unter 2,8- bzw. 4,0-facher Lupenbrillenvergrößerung (Orascoptic bzw. Zeiss Lupenbrillen). Als zusätzliche Nachschlagewerke wurden der Lernatlas „Prometheus“ [174] und der fotografische Atlas von Rohen und Yokochi [175] verwendet.

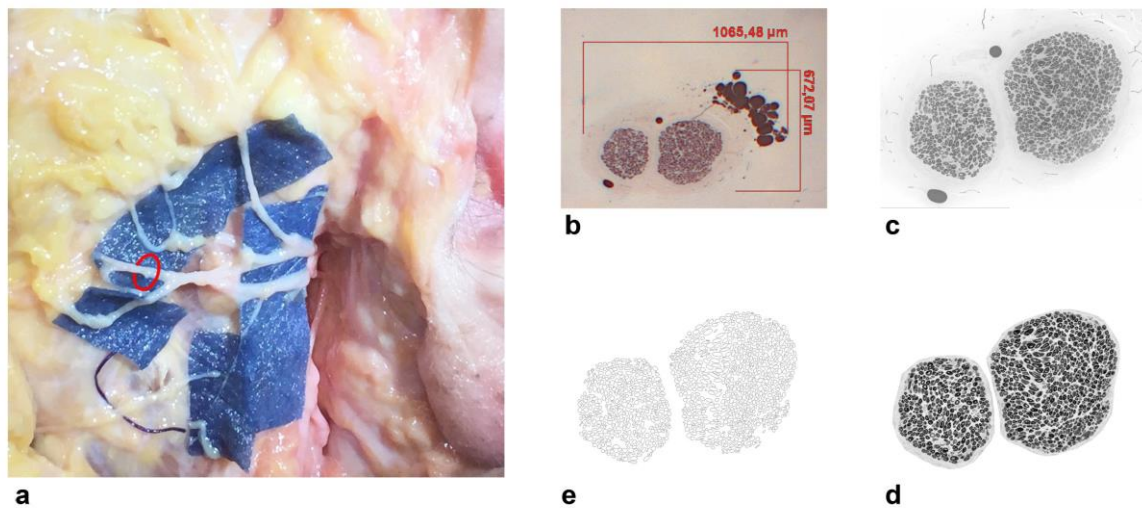
#### 2.1.3 Präparation und Biopsieentnahme

Die Präparation erfolgte antegrad vom Hauptstamm zur Peripherie hin. Analog zum Facelift-Zugang wurde eine präaurikuläre, nach temporal und cervical erweiterte Inzision gesetzt. Der Hauptstamm wurde in der Fossa retromandibularis identifiziert

und die abgehenden Äste bis zum M. zygomaticus major, M. orbicularis oculi und dem Unterrand des Angulus mandibulae dargestellt (Abbildung 3a).

Die Einteilung in temporale und zygomatiche Äste wurde nach Gosain et al. [176] vorgenommen. Die Astsysteme distal des primären fronto-temporalen Abgangs (mit R. frontalis) und kranial des primären zervikofazialen Abgangs (mit R. marginales mandibulae) wurden ausgewertet.

Die Entnahme erfolgte in mikrochirurgischer Technik an Lokalisationen, die zum Anschluss von CFNGs oder Nerventransfers klinisch relevant sind. Die Proben wurden direkt nach der Entnahme in dafür vorgesehenen *Eppendorf-Tubes* (Eppendorf, Hamburg) gelegt, die mit einer Fixierlösung (siehe 2.2.2) gefüllt und eindeutig identifizierbar beschriftet (siehe 2.1.4) wurden.



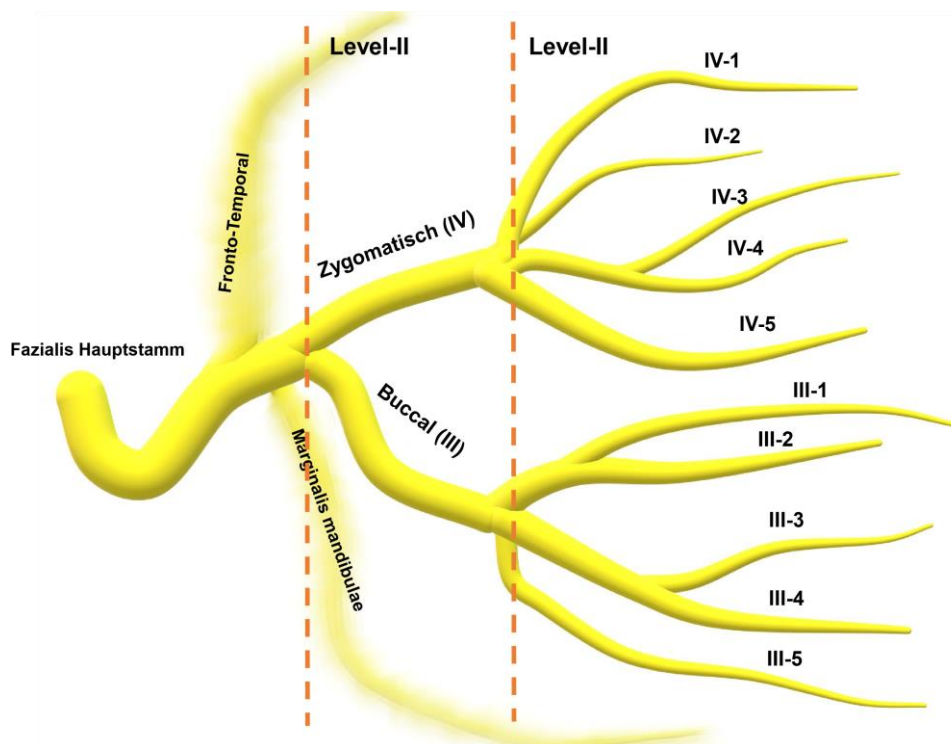
**Abbildung 3** Darstellung des methodischen Ablaufs. Dissektion und Biopsieentnahme (a). Mikroskopgestützte Vermessung (b). Digitatisierung und Vorbereitung für die Axonquantifizierung (c+d). Umrisszeichnung der automatisch gezählten Axone (e).

#### 2.1.4 Nomenklatur der Biopsien

Die Leichen wurden fortlaufend von „L1“ bis „L53“ durchnummeriert. Die Gesichtshälfte wurde mit „S“ für sinistra (links) sowie „D“ für dextra (rechts) kodiert. Entsprechend der Klassifikation unserer Arbeitsgruppe wurden Nervenäste, die über das Os zygomaticum verliefen oder es berührten, als Rr. zygomatici bezeichnet. Das Astsystem kaudal des zygomaticen Verlaufsmuster wurde als buccal definiert [153].

Die Astsysteme wurden weiterhin in Level-I und Level-II unterteilt. Level-I-Äste waren direkte Abkömmlinge der primären Divisionen. Level-II-Äste sind somit Unteräste des Level-I-Asts [18]. Äste der Stufe I und II können auch als sekundäre und tertiäre Äste des N. facialis nach dem Eintritt in die Ohrspeicheldrüse definiert werden.

Die Klassifikation der Level-I-Äste erfolgte weiterhin nach römischen Zahlen (III → buccal, IV → zygomatic). Für die Level-II-Äste wurde an die Römische Ziffer eine arabische Zahl angehängt. Nummerierung von kranial nach kaudal.



**Abbildung 4** Level-Einteilung und Bezeichnung der einzelnen Äste.

## 2.2 Histologische Prozessierung

Die histologische Aufbereitung aller Biopsien wurde am Lehrstuhl für Humananatomie und Embryologie der Universität Regensburg, unter der Leitung von Direktor Prof. Dr. Ernst Tamm, in enger Kooperation durchgeführt.

### 2.2.1 Verwendete Materialien

Lösungen und Chemikalien	Hersteller
Aceton	Merck, Darmstadt
Azur II	Merck, Darmstadt
Cacodylsäure-Natriumsalz	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Dodecenylnbernsteinsäureanhydrid (DDSA)	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
DMP-30	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
EPON H (Epoxidharz	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Ethanol Abs.	Roth, Karlsruhe
Glutaraldehyd	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Glycidether	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Kaliumhexacyanoferrat II	Merck, Darmstadt
Methylenblau	Merck, Darmstadt
MNA	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg
Natriumtetraborat	Merck, Darmstadt
OsO <sub>4</sub>	Science Services, München
PFA	Merck, Darmstadt
PPD	Roth, Karlsruhe

**Tabelle 2** Lösungen und Chemikalien.

Geräte/ Zubehör	Hersteller
Einbettautomat Leica EM TP	Leica, Wetzlar
Feinwaage Mettler AE 163	Mettler Toledo, Giessen
Fräse Leica EM Trim2	Leica, Wetzlar
Fräskopf Diamant	E. Friedl & Co. Gesellschaft für Industriediamanten, Mess- und Regeltechnik GmbH, Wien
Glasstreifen 8mm	Science Services, München
Histodiamantmesser	Diatome, Nidau (Schweiz)
Knifemaker 7800	LKB, Bromma (Schweden)
Mikroskop Axio Imager Z1	Zeiss, Oberkochen
Mikrotom – 2218 Historange	LKB, Bromma (Schweden)
pH-Elektrode Inlab	Mettler Toledo, Giessen

pH-Meter	Knick, Berlin
Präparatehalter	Leica, Wetzlar
Stereomikroskop KL 1500 LCD	Zeiss, Oberkochen
Vakuumpumpe	BOC Edwards, Crawley (Großbritannien)
Wärmeplatte	Medax Nagel GmbH, Kiel
Wärmeschrank	Memmert, Schwabach

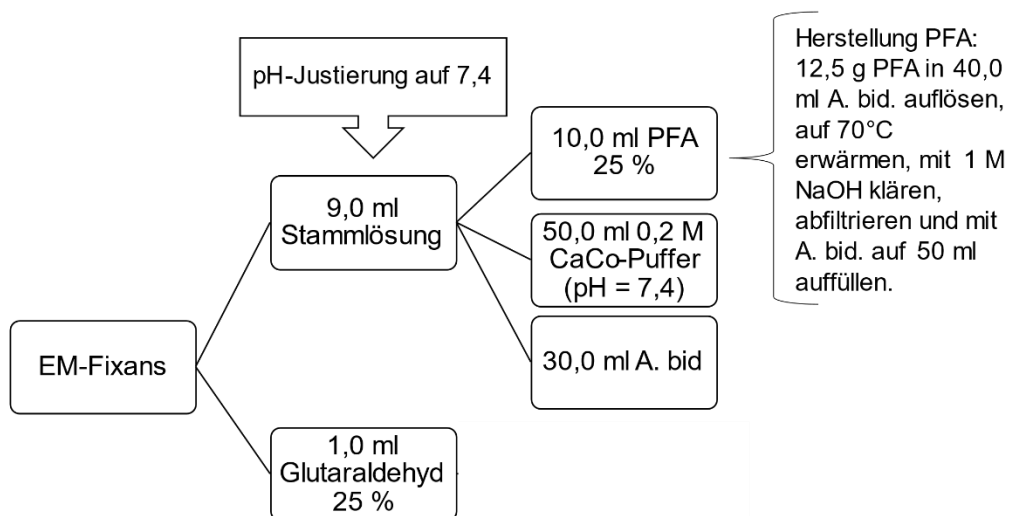
**Tabelle 3** Geräte und Zubehör zur histologischen Fixierung.

Verbrauchsmaterialien	Hersteller
Deckglas 24x60mm	Menzel-Gläser, Braunschweig
Glaswaren	Schott AG, Mainz Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe VWR, Darmstadt
Handschuhe Powderfree Sempercare	Sempermed, Wien
Objektträger SuperFrost	Menzel-Gläser, Braunschweig
Pasteurplastpipetten	VWR, Darmstadt
Rasierklingen Personna	American Safety Razor Company, Verona (USA)

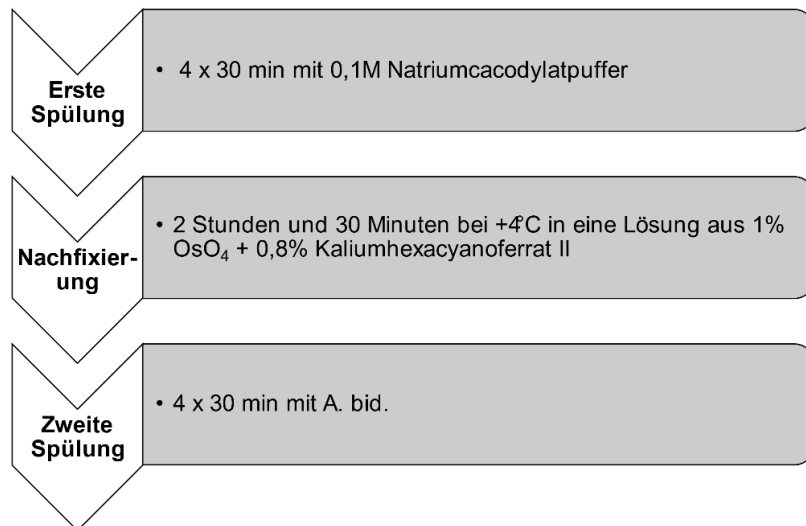
**Tabelle 4** Verbrauchsmaterialien.

### 2.2.2 Fixierung und Spülung der Biopsien

Die Biopsien wurden direkt nach der Entnahme fixiert (siehe 2.1.3). Bei der Lösung handelt es sich um eine sogenannte modifizierte EM-Fixans nach Ito und Karnovsky [177]. Diese Lösung setzt sich zusammen aus 2,5 % PFA und 2,5 % Glutaraldehyd (Abbildung 5). Das EM-Fixans wurde jeweils erst kurz vor Verwendung angemischt. Die Biopsien wurden ausgiebig gespült und osmiert (Abbildung 6).



**Abbildung 5** Herstellung EM-Fixans.



**Abbildung 6** Spülung und Osmierung der Präparate.

### 2.2.3 Entwässerung und Infiltration mit Epon H

Die folgenden Schritte erfolgten automatisch im Einbettautomaten. In einer aufsteigenden Alkoholreihe wurde schrittweise das Wasser entzogen und im letzten Schritt Epon H infiltriert (Tabelle 5). Die Polymerisation erfolgte für zwei Stunden bei 30°C zur Orientierungskontrolle und anschließend für zwei Tage bei 60°C im Brutschrank zur Infiltration in 100 % EPON H.

Lösung	Dauer	Temperatur
50 % EtOH	2x15min	4°C
70 % EtOH	2x15min	4°C
80 % EtOH	2x15min	4°C
90 % EtOH	2x15min	20°C
Abs. EtOH	2x15min	20°C
EtOH/ Aceton 1:1	15min	20°C
Aceton	2x15min	20°C
Mischung Aceton/ EPON H		
• 3:1	1h	20°C
• 2:1	1h	20°C
• 1:3	1h	20°C

**Tabelle 5** Ablauf der Entwässerungsreihe und EPON Infiltration.

### 2.2.4 Erstellung der Semidünnschnitte

Mit der Fräse erfolge die stufenweise Kürzung der Eponharzblöcke bis zum Erscheinen des Nervenquerschnittes. In einem weiteren Schritt wurde unter dem Mikroskop der Block mit einer Rasierklinge konisch zugeschnitten, um die Anschnittebene für den Feinschnitt zu optimieren.

Nach Justierung des Präparats im Blockhalter und Einspannung in das Mikrotom erfolgte der Orientierungsschnitt mit einem Glasmesser (Schichtdicke 2 µm). Die Erzeugten Querschnitte wurden mittels Richardson Schnellfärbung (siehe 2.2.5.1) hinsichtlich Qualität und Vollständigkeit des Anschnittes überprüft. Inadäquate Präparate wurden verworfen und die beschriebene Prozedur wiederholt, bis ein zufriedenstellender Querschnitt erzeugt werden konnte.

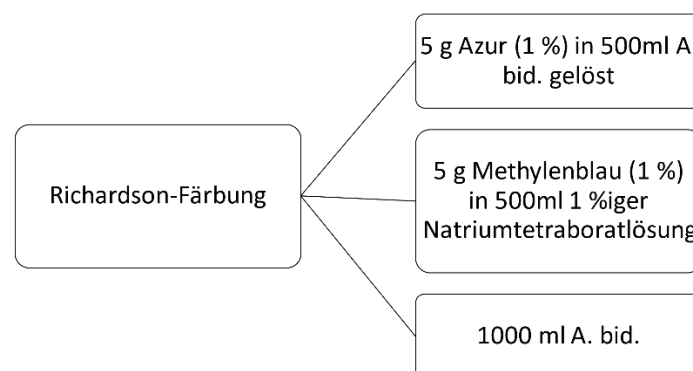
Bei optimaler Abbildung des Nervs in der Schnellfärbung erfolgte der Feinschnitt mit dem Diamantmesser. Hiermit wurden sechzehn 1 µm dicke Schnitte angefertigt und diese auf zwei Objektträgern verteilt für mindestens zwei Stunden auf einer Heizplatte (90°C) getrocknet.

Danach wurden die Objektträger für 30min vollständig in PPD-Färbelösung (siehe 2.2.5.2) eingetaucht. Nach ausgiebiger Spülung (EtOH) und anschließender Trocknung erfolgte die Versiegelung der Objektträger mit EPON H und einem Deckglas. Zur Aushärtung wurden die Objektträger für 24 Stunden in den Wärmeschrank (60°C) gelegt.

## 2.2.5 Färbung der Präparate

### 2.2.5.1 Färbung nach Richardson

Die Lösungen wurden vor dem Mischen filtriert (Abbildung 7). Die Lagerung erfolgte in einer lichtundurchlässigen Flasche.



**Abbildung 7** Färbung nach Richardson.

### 2.2.5.2 PPD-Färbung

Zur Herstellung wurden 500 mg PPD in 50,0 ml vergällten 98 %igen ETOH gelöst. Nach drei Tagen Reifung bei Licht erfolgte die Filtrierung und Lagerung im Dunkeln bei 4°C.

## 2.3 Digitalisierung und Vermessung der Präparate

### 2.3.1 Verwendete Geräte und Software

Bezeichnung	Firma
Modell Imager Z1	Zeiss, Jena
Objektive	
Zeiss EC Plan-Neofluar 5x/ 0,15; ∞/ 0,17	Zeiss, Jena
Zeiss Plan-APOCHROM AT 20x/ 0,8; ∞/ 0,17	Zeiss, Jena
Zeiss Axio cam MR	Zeiss, Jena
Axio Vision 4.8 (6-2009)	Zeiss, Jena
Fujitsu-Siemens-PC	Siemens, München
Betriebssystem Windows 7	Microsoft Cooperations, Redmond, USA
Zeiss Axioskop 40	Zeiss, Jena
Zeiss Axio cam MRc	Zeiss, Jena
Dell Precision T1600 Personal Computer	Dell, Round Rock, USA
Betriebssystem Windows 7	Microsoft Cooperations, Redmond, USA
Axio Vision 4.8 (6-2009)	Zeiss, Jena
Bildschirm 19 Zoll	Dell, Round Rock, USA

**Tabelle 6** Geräte und Software zur Digitalisierung und Vermessung der Präparate.

### 2.3.2 Digitalisierung der Präparate

Zur Digitalisierung wurden die Objektträger in das Mikroskop *Axio Imager Z1* eingespannt und unter der Übersichtsvergrößerung mit dem *EC Plan-Neofluar 5x/ 0,15; ∞/ 0,17* Objektiv zentriert. Nun wurde zu genauerer Betrachtung auf das *Plan-APOCHROM AT 20x/ 0,8; ∞/ 0,17* Objektiv gewechselt. Überstieg die Präparatgröße den Bildausschnitt in dieser Vergrößerung wurden die *Mosaik-Funktion* verwendet. Maximal können somit 5 x 5 angrenzende Bilder aufgenommen und nach dem unten aufgeführten *Stitching-Schema* zusammengesetzt werden (Tabelle 7).

Mit der am Mikroskop angeschlossenen *Axio cam MR* wurden die Schnitte bei einem Belichtungsoptimum von 3200K fotografiert und unter Benutzung des Programms *Axio Vision* auf einen Fujitsu-Siemens-PC übertragen. Die Speicherung erfolgte zunächst als *Carl Zeiss Vision Bild (\*.zvi)* und später via Stapelverarbeitung *Tagged Image Files (\*.tif)* (Tabelle 7).



<b>Stitching</b>		<b>Kachelbilder konvertieren</b>	
<b>Suchtiefe</b>	15	<b>Zoom</b>	1
<b>Min. Überlappung</b>	3	<b>Helligkeitsausgleich</b>	Ja
<b>Sobelgröße</b>	Niedrig	<b>Kachelinformation kopieren</b>	Nein
<b>Stitching-Modus</b>	Stitching-Positionen	<b>EnableInputImageROI</b>	No
<b>Referenzkanal</b>	1		
<b>Referenz Z-Position</b>	1		
<b>Referenzzeitpunkt</b>	1		
<b>Referenzzeitpunkt verwenden</b>	Ja		

**Tabelle 7** Stitching- und Konvertierungsparameter.

### 2.3.3 Vermessung der Präparate

Die Vermessung der Nervenquerschnitte erfolgte an einem *Axioskop 40* mit angeschlossener *Axio cam MRc*. Das Live-Bild der Kamera wurde auf einen *Dell PC* mit dem Betriebssystem *Windows 7* übertragen und auf einem 19 Zoll Bildschirm ausgegeben. Die Vermessung erfolgte mit der Software *Axio Vision 4.8*. Die Messungen wurden standardisiert mit einem 2,5fach vergrößernden Objektiv, bei einem Belichtungsoptimum von 3200K durchgeführt. Da die angeschlossene *Axio cam MRc* das Bild zusätzlich vergrößert und dieses auf einem 19 Zoll Bildschirm mit der Möglichkeit, digital weiter zu vergrößern ausgegeben wird, ist von einer 80-fachen Gesamtvergrößerung im Rahmen der Beurteilung auszugehen.

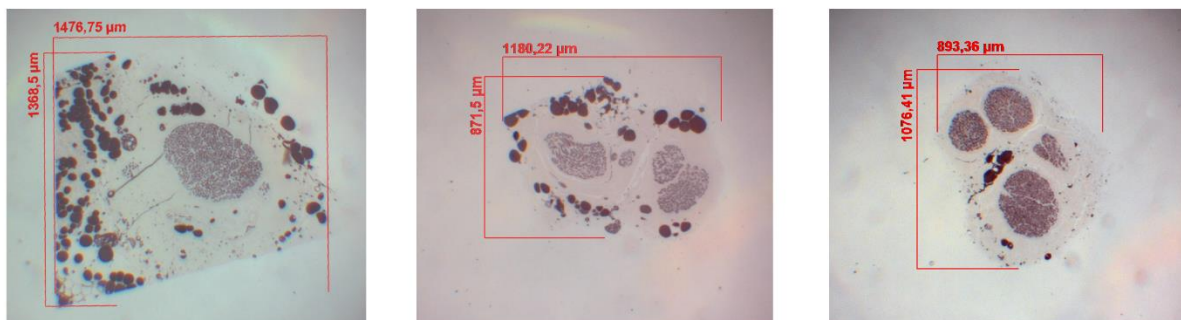
#### 2.3.3.1 Eichung und Überprüfung der Skalierung

Ein geeichter Messobjektträger (Zeiss, Jena) wurde unter der verwendeten Vergrößerung auf dem Objektisch eingespannt und das digitale Abbild durch Justierung der Höhe des Tisches scharf gestellt. Die eingezogene Skalierung wurde zentral dargestellt und ein digitales Bild erstellt. Digital wurde die ein Millimeter messende Skalierung vergrößert und diese Strecke nun mittels der „Mess-Funktion“ zehnmal abgemessen und die Ergebnisse auf vier Nachkommastellen in eine Excel-Tabelle (Microsoft Corporations Version 2013, Redmond USA) eingetragen. Aus den Werten wurde der Mittelwert gebildet. Dieser Wert in Pixel, der einem Millimeter entspricht, wurde als Skalierung in das Programm eingegeben und als für das Objektiv spezifisch abgespeichert. Bei Ausgewählten Objektiv wurde die Skalierung

automatisch mit dem digitalen Bild verknüpft. Die Skalierung wurde bei jedem Neustart der Software mit dem Messobjektträger einmalig überprüft.

### 2.3.3.2 Qualitätskontrolle und Klassifizierung der Präparate

Vor der Vermessung erfolgte die Klassifizierung der Präparate. Diese wurden anhand verschiedener Kriterien bewertet und in folgende Klassen unterteilt: 1 = sehr gut, 2 = gut, 3 = unzureichend (Abbildung 8). Für die Kategorie 1 musste der Nervenanschnitt von bester Qualität bezüglich Anschnittwinkel, Färbung, Beurteilbarkeit der Hüllgewebegrenzen und Integrität des Präparats sein. Bei leichten Abstrichen wurde das Präparat in die Klasse 2 eingeteilt. Qualitativ mangelhafte Präparate mit Zerreißen, Aufquellungen, Verzerrungen und Queranschnitten wurden in Klasse 3 eingestuft und somit ausgeschlossen. Für die Auswertung des Durchmessers kamen nur Präparate der Klassen 1 und 2 in Frage, da die Messergebnisse der Präparate der Kategorie 3 als unpräzise und von geringer Aussagekraft zu bewerten sind. Die Durchmesser der Kategorie 3 wurden zur Vollständigkeit der Erhebung bestimmt.



**Abbildung 8** Bewertung der Qualität zur Durchmesserbestimmung. Einstufung von links nach rechts in Qualitätsklasse 3, 2 und 1.

### 2.3.3.3 Vermessung und Digitalisierung der Präparate

Die gefärbten und eingedeckelten Objektträger wurden auf dem Objektisch eingespannt und der für den Digitalisierungsprozess markierte Nervenanschnitt aufgesucht. Die Scharfstellung des Live-Bilds erfolgte manuell und digital. Es wurde eine Aufnahme erstellt und mit dem Werkzeug „Länge messen“ der Querschnitt in seiner vollen Ausbreitung mit zwei orthogonalen Vektoren vermessen (Abbildung 3b, Abbildung 8). Zu diesem Zweck wurde das Bild digital vergrößert, um möglichst genaue Endpunkte zu setzen. Das Hüllgewebe, Epineurium, Bindegewebe und Vasa nervorum wurden in die Messung inkludiert, da der Nerv in seiner vollständigen

Ausdehnung, wie er in situ analog während eines chirurgischen Eingriffes vorliegen würde, vermessen werden sollte (Abbildung 8). Die beiden Messwerte wurden in eine Excel-Tabelle eingetragen und der Mittelwert gebildet. Da Nerven in situ als rund angenommen werden, entspricht der Mittelwert dem Durchmesser der jeweiligen Nervenbiopsie. Das digitale Bild des vermessenen Nervenquerschnitts wurde als „tif“-Datei mit der zugehörigen Nomenklatur und dem Zusatz „-vermessen“ gespeichert. Die Messbalken sowie die Messwerte wurden in das Bild eingebrannt.

## 2.4 Axon- und Faszikelquantifizierung

Für die Analyse der axonalen Kapazität wurde die Freeware *Fiji* (Fiji, Image J) verwendet [178]. Die axonale Quantifizierung wurde mittels eines von unserer Forschungsgruppe neu entwickelten, semi-automatisierten *Macros* durchgeführt [179]. Diese Methodik zeichnet sich durch ihre simple Handhabung, Schnelligkeit in der Bearbeitung sowie hohe Sensitivität und Spezifität aus (Abbildung 3d+e). Präparate mit insuffizienter Färbung oder Destruktionen der Faszikel mussten bei der Qualitätskontrolle ausgeschlossen werden.

Die Faszikelzählung erfolgte an den digitalisierten Querschnitten (Abbildung 3c). Hierzu wurden die Dateien der digitalisierten Präparate einzeln geöffnet und die Faszikel manuell gezählt. Es wurden nur Faszikel gezählt die klar durch das Perineurium abgrenzbar waren und myelinisierte Axone enthielten.

## 2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte in SPSS 25 (IBM SPSS Statistics Version 25 Armonk, USA). Die Variablen wurden mittels Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung überprüft. Bei den nicht normalverteilten Variablen wurde der Mann-Whitney U Test verwendet. Dies traf auf die Variable *Faszikelanzahl* zu, die übrigen Variablen stellten sich auch in den Subgruppen überwiegend normalverteilt dar. Bei metrisch verteilten Variablen wurden t-Tests und die Pearson-Korrelation verwendet. Mehrfachvergleiche wurden Bonferroni-korrigiert durchgeführt. Im Rahmen der ROC-Analyse wurde der Youden-Index zur Ermittlung des Cut-Offs mit der höchsten Sensitivität und Spezifität verwendet [180]. Effektstärken wurden nach Cohen berechnet [181]. Es wurde ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  angenommen. In den Tabellen sind signifikante p-Werte fett gedruckt. In Diagrammen sind signifikante Unterschiede mit Balken und Asterisk gekennzeichnet.

### 3. Ergebnisse

Gegenstand der Auswertung sind nur Präparate, die dem zygomatischen oder buccalen Nervenastsystem entnommen wurden. Aufgrund der strengen Qualitätskontrolle konnten nicht alle Biopsien der 106 Gesichtshälften histologisch aufbereitet werden. Insgesamt konnten 788 Biopsien für die weitere Auswertung eingeschlossen werden. Die Verteilung zwischen linker und rechter Kopfhälfte war mit 397 (397/788, 50,4 %) zu 391 Biopsien (391/788, 49,6 %) ausgewogen. Das Geschlecht war bei 37 Leichen (37/53, 70 %) bekannt. Somit wurden 367 Biopsien (367/547, 67,1 %) männlichen Körperspendern und 180 Biopsien (180/547, 32,9 %) weiblichen Körperspenderinnen entnommen. Den Kriterien zur semi-automatischen Axonquantifizierung entsprachen 692 Biopsien (692/788, 87,8 %). Die Kriterien zur Durchmesserbestimmung wurden von 564 Biopsien (564/788, 71,6 %) erfüllt.

Astsystem	Level I	Level II
Zygomatic	n= 93	n= 271
Buccal	n= 92	n= 332

**Tabelle 8** Verteilung der eingeschlossenen Biopsien.

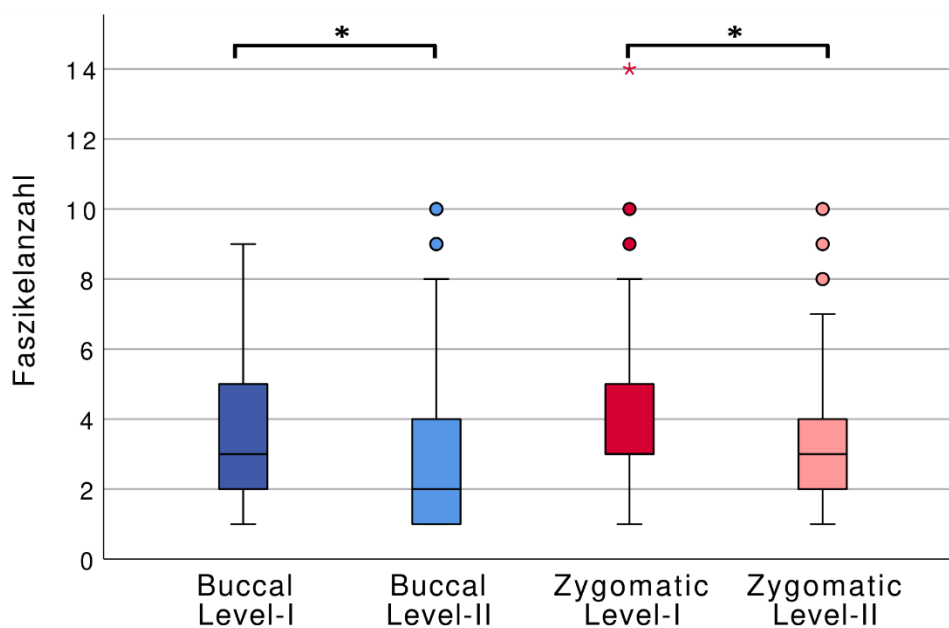
#### 3.1 Faszikelanzahl

Innerhalb der Levels fand sich zwischen den Astsystemen kein signifikanter Unterschied bei der Faszikelzahl (Level-I:  $p= 1,000$ ; Level-II:  $p= 0,167$ ). Die buccalen Level-II-Äste demonstrierten mit einer mittleren Differenz von 0,815 eine signifikant niedrigere ( $p= 0,004$ ) Faszikelanzahl als die Level-I Äste. Analog verhielten sich das zygomatische System, wobei die mittlere Differenz mit 0,7 geringer ausfiel ( $p= 0,025$ ).

	Zygomatic Level I	Buccal Level I	Zygomatic Level II	Buccal Level II
n	93	92	271	332
Mittelwert $\pm$ SD	3,96 $\pm$ 2,19	3,71 $\pm$ 2,12	3,26 $\pm$ 1,89	2,89 $\pm$ 2,04
Median	3	3	3	2
Minimum - Maximum	1 – 14	1 – 9	1 – 10	1 – 10

**Tabelle 9** Ergebnisse der Faszikelanzahl.

Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der Faszikelanzahl stellten sich nicht dar. Bezogen auf die Gesichtshälfte zeigte sich bei den buccalen Level-II-Ästen rechts mit 3,13 (n= 168) zu links mit 2,64 (n= 163) eine signifikant ( $p= 0,03$ ) größere Anzahl an Faszikeln. Im zygomatischen Level-II-Ast sowie den Level-II-Ästen konnte hingegen kein signifikanter Unterschied gefunden werden (siehe 3.4).



**Abbildung 9** Faszikelanzahl der einzelnen Astsysteme.

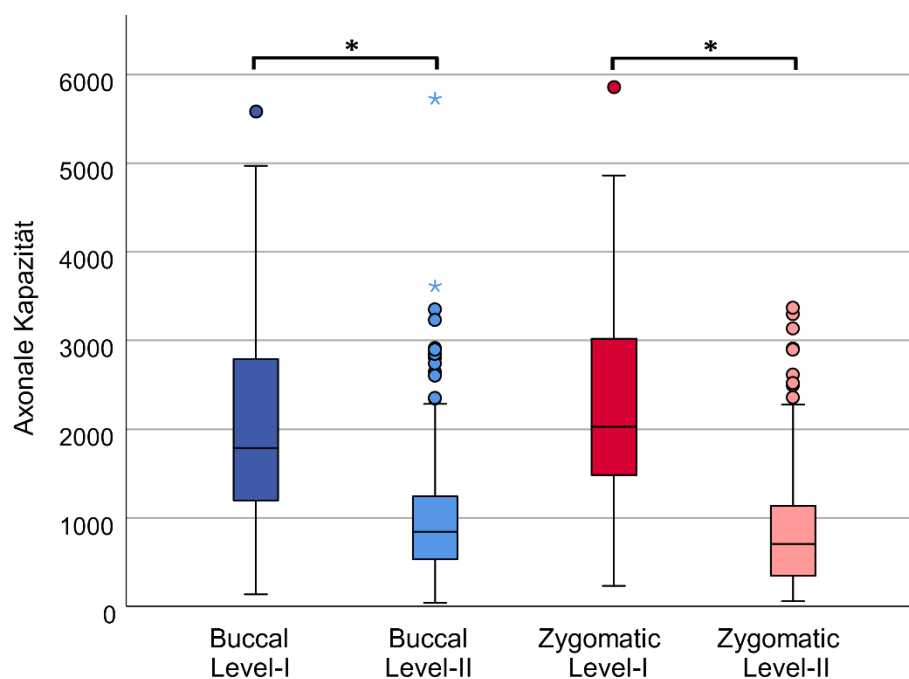
### 3.2 Axonale Kapazität

Die zygomatischen Level-I-Äste wiesen im Vergleich zu den buccalen Level-I-Ästen, mit einer mittleren Differenz von 216,2 eine höhere axonale Kapazität auf, welche jedoch nicht signifikant war ( $p= 0,584$ ). Bei den Level-II-Ästen demonstrierte der buccale Ast die höhere Kapazität, wobei die Differenz erneut nicht signifikant war (mittlere Differenz: 149,5;  $p= 0,216$ ). Der Unterschied zwischen Level-I und Level-II war in beiden Astsystemen signifikant (buccal: mittlere Differenz: 1045,7;  $p < 0,001$ ; zygomatisch: mittlere Differenz: 1411,4;  $p < 0,001$ ).

	Zygomatisch Level I	Buccal Level I	Zygomatisch Level II	Buccal Level II
<b>n</b>	79	79	240	294
<b>Mittelwert ± SD</b>	2257 ± 1125	2041 ± 1249	846 ± 631	995 ± 705
<b>Median</b>	2026	1790	707	845
<b>Minimum - Maximum</b>	232 - 5857	139 – 5582	58 – 3370	42 – 5726

**Tabelle 10** Ergebnisse der Axonquantifizierung.

Geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der axonalen Kapazität stellten sich nicht dar (siehe 3.4). Die zygomatischen Level-I-Ästen demonstrierten im Kopfhälftenvergleich links mit 2526 (n= 42) zu rechts mit 1951 (n= 37) eine signifikant ( $p= 0,021$ ) größere axonale Kapazität (Tabelle 15). Bei den übrigen Ästen stellte sich kein signifikanter Unterschied im Seitenvergleich dar (siehe 3.4).



**Abbildung 10** Axonale Kapazität der einzelnen Astsysteme.

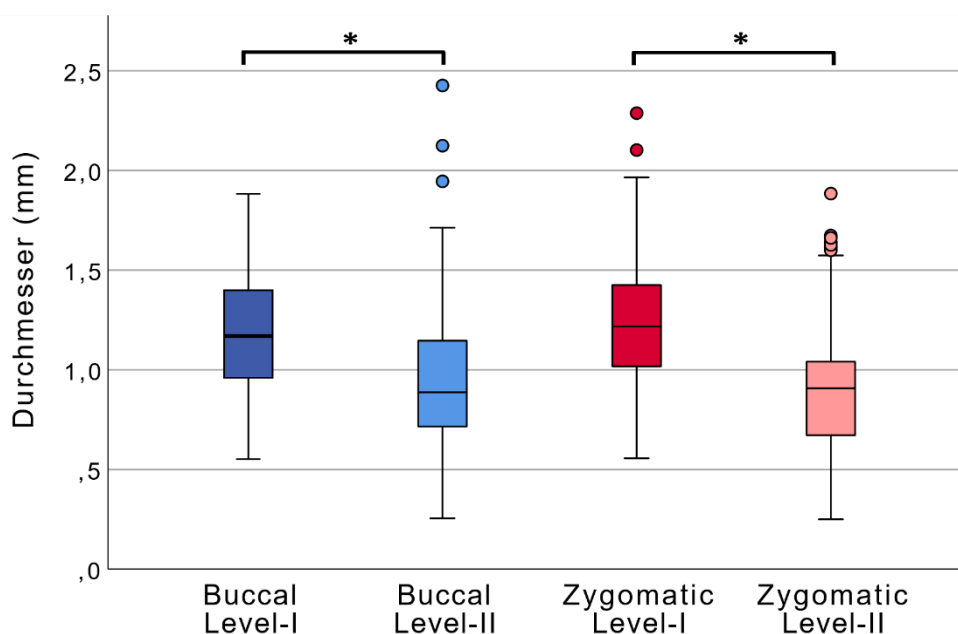
### 3.3 Nervendurchmesserbestimmung

Innerhalb der Levels ließen sich keine signifikanten Unterschiede finden (Level-I: mittlere Differenz: 0,032 mm;  $p= 1,000$ ; Level-II: mittlere Differenz: 0,049 mm;  $p= 0,859$ ). Der Unterschied zwischen den Levels betrug in der mittleren Differenz buccal 0,248 mm ( $p < 0,001$ ) und zygomatic 0,329 mm ( $p < 0,001$ ).

	Zygomatisch Level I	Buccal Level I	Zygomatisch Level II	Buccal Level II
<b>n</b>	79	69	180	236
<b>Mittelwert <math>\pm</math> SD (mm)</b>	1,23 $\pm$ 0,36	1,19 $\pm$ 0,32	0,90 $\pm$ 0,31	0,95 $\pm$ 0,35
<b>Median (mm)</b>	1,22	1,17	0,91	0,89
<b>Minimum - Maximum</b>	0,56 – 2,29	0,55 – 1,88	0,25 – 1,88	0,26 – 2,43

**Tabelle 11** Durchmesser der Nervenquerschnitte.

Im Geschlechtervergleich demonstrierten die Präparate von männlichen Körperspendern in allen Astsystemen signifikant größere Durchmesser (siehe 3.4). Im Seitenvergleich zeigte sich nur bei den zygomatischen Level-II-Ästen bei linken Kopfhälften ein signifikant größerer Querschnittsdurchmesser (Tabelle 19).



**Abbildung 11** Durchmesser der Nervenquerschnitte der einzelnen Astsysteme.

### 3.4 Gesichtshälften- und Geschlechtervergleich

#### 3.4.1 Buccale Level-I Äste

	Geschlecht	n	Mittelwert ± SD	Median	p
<b>Faszikel</b>	Männlich	40	3,6 ± 2	3	0,93
	Weiblich	20	3,7 ± 2,3	4	
<b>Axonale Kapazität</b>	Männlich	40	1923 ± 1247	1586	0,215
	Weiblich	20	1521 ± 998	1262	
<b>Durchmesser (mm)</b>	Männlich	30	1,31 ± 0,31	1,32	<0,001
	Weiblich	15	0,92 ± 0,21	0,95	

Tabelle 12 Geschlechtervergleich Buccale Level-I-Äste.

	Gesichtshälfte	n	Mittelwert ± SD	Median	p
<b>Faszikel</b>	Rechts	42	3,6 ± 2,3	3	0,391
	Links	50	3,8 ± 2,1	3	
<b>Axonale Kapazität</b>	Rechts	35	2100 ± 1222	1908	0,709
	Links	44	1994 ± 1282	1621	
<b>Durchmesser (mm)</b>	Rechts	33	1,17 ± 0,34	1,17	0,482
	Links	36	1,22 ± 0,32	1,19	

Tabelle 13 Gesichtshälftenvergleich buccale Level-I-Äste.

#### 3.4.2 Zygomatische Level-I Äste

	Geschlecht	n	Mittelwert ± SD	Median	p
<b>Faszikel</b>	Männlich	43	3,9 ± 2,6	3	0,379
	Weiblich	23	4,2 ± 2,2	3	
<b>Axonale Kapazität</b>	Männlich	43	2259 ± 1062	2065	0,545
	Weiblich	22	2089 ± 1071	1847	
<b>Durchmesser (mm)</b>	Männlich	34	1,35 ± 0,36	1,36	0,01
	Weiblich	20	1,08 ± 0,35	1,05	

Tabelle 14 Geschlechtervergleich zygomatische Level-I-Äste.

	Gesichtshälfte	n	Mittelwert ± SD	Median	p
<b>Faszikel</b>	Rechts	45	3,8 ± 1,9	3	0,221
	Links	48	4,1 ± 2,5	4	
<b>Axonale Kapazität</b>	Rechts	37	1951 ± 946	1847	0,022
	Links	42	2526 ± 1210	2273	
<b>Durchmesser (mm)</b>	Rechts	40	1,2 ± 0,34	1,15	0,532
	Links	39	1,25 ± 0,38	1,26	

Tabelle 15 Gesichtshälftenvergleich zygomatische Level-I-Äste.



### 3.4.3 Buccale Level-II Äste

	Geschlecht	n	Mittelwert ± SD	Median	p
<b>Faszikel</b>	Männlich	147	2,8 ± 1,9	2	0,711
	Weiblich	78	3 ± 2,2	2	
<b>Axonale Kapazität</b>	Männlich	147	897 ± 577	774	0,236
	Weiblich	73	799 ± 557	692	
<b>Durchmesser (mm)</b>	Männlich	92	1,01 ± 0,36	0,96	<b>0,006</b>
	Weiblich	55	0,84 ± 0,35	0,8	

**Tabelle 16** Geschlechtervergleich buccale Level-II-Äste.

	Gesichtshälfte	n	Mittelwert ± SD	Median	p
<b>Faszikel</b>	Rechts	168	3,1 ± 2,1	2	<b>0,018</b>
	Links	163	2,7 ± 2	2	
<b>Axonale Kapazität</b>	Rechts	147	1023 ± 746	923	0,496
	Links	147	967 ± 663	814	
<b>Durchmesser (mm)</b>	Rechts	123	0,96 ± 0,36	0,87	0,701
	Links	113	0,94 ± 0,33	0,91	

**Tabelle 17** Gesichtshälftenvergleich buccale Level-II-Äste.

### 3.4.4 Zygomatische Level-II Äste

	Geschlecht	n	Mittelwert ± SD	Median	p
<b>Faszikel</b>	Männlich	137	3,2 ± 1,8	3	0,644
	Weiblich	59	3,5 ± 2,3	3	
<b>Axonale Kapazität</b>	Männlich	132	876 ± 686	736	0,198
	Weiblich	58	745 ± 530	645	
<b>Durchmesser (mm)</b>	Männlich	80	0,99 ± 0,24	0,95	<b>0,031</b>
	Weiblich	42	0,85 ± 0,29	0,91	

**Tabelle 18** Geschlechtervergleich zygomatische Level-II-Äste.

	Gesichtshälfte	n	Mittelwert ± SD	Median	p
<b>Faszikel</b>	Rechts	132	3,2 ± 1,9	3	0,62
	Links	136	3,3 ± 1,9	3	
<b>Axonale Kapazität</b>	Rechts	118	799 ± 630	655	0,256
	Links	122	891 ± 630	808	
<b>Durchmesser (mm)</b>	Rechts	92	0,85 ± 0,32	0,83	<b>0,022</b>
	Links	88	0,95 ± 0,3	0,95	

**Tabelle 19** Gesichtshälftenvergleich zygomatische Level-II-Äste.

## 3.5 Korrelation und Regressionsanalyse

### 3.5.1 Korrelation von Durchmesser und Kapazität mit dem Alter

Das Alter war bei 17 von 53 Körperspender\*Innen (32 %) bekannt und betrug median 81 Jahre (61 - 90 Jahre). Das Alter korrelierte weder mit der axonalen Kapazität noch mit dem Durchmesser der Nervenquerschnitte (Tabelle 20).

	Axonale Kapazität			Durchmesser		
	n	r	p	n	r	p
<b>Buccal Level-I</b>	30	0,174	0,357	21	0,113	0,627
<b>Zygomatic Level-I</b>	34	-0,046	0,795	27	-0,246	0,216
<b>Buccal Level-II</b>	113	0,056	0,556	64	-0,016	0,900
<b>Zygomatic Level-II</b>	94	0,119	0,257	56	0,086	0,526

**Tabelle 20** Korrelation von Durchmesser und axonaler Kapazität mit dem Alter der Körperspender\*Innen.

### 3.5.2 Durchmesser und Faszikelanzahl

Der Querschnittsdurchmesser korrelierte positiv mit der Faszikelanzahl. Der Korrelationsindex bestätigt hier einen positiven, mittelstarken linearen Zusammenhang für das buccale System. Der Anstieg des Durchmessers pro Faszikel betrug hier 0,08 mm in Level-I und 0,09 mm in Level-II. Durch dieses Modell konnten 27 % (Level-I) und 31 % (Level-II) der Varianz beschrieben werden, was einem starken Effekt entspricht.

Im zygomatischen Astsystem deutet der Korrelationsindex nur auf einen schwachen positiv linearen Zusammenhang hin.

Im Regressionsmodell war der Durchmesseranstieg pro Faszikel mit ca. 0,06 mm in beiden Levels und auch die Modelgüte sowie die Effektstärke deutlich geringer ausgeprägt als im buccalen Astsystem.

	Zygomatisch Level I	Buccal Level I	Zygomatisch Level II	Buccal Level II
<b>n</b>	79	69	179	235
<b>Korrelationsindex</b>	0,37	0,53	0,41	0,56
<b>Signifikanz</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>

**Tabelle 21** Korrelation Faszikelanzahl und Durchmesser.

	Zygomatisch Level I	Buccal Level I	Zygomatisch Level II	Buccal Level II
Konstante (in mm)	0,994	0,886	0,677	0,678
Regressions- koeffizient	0,058	0,082	0,064	0,092
Korrigiertes R <sup>2</sup>	0,13	0,27	0,17	0,31
Effektstärke	0,4	0,61	0,45	0,67

Tabelle 22 Regressionsmodell Faszikelanzahl und Durchmesser.

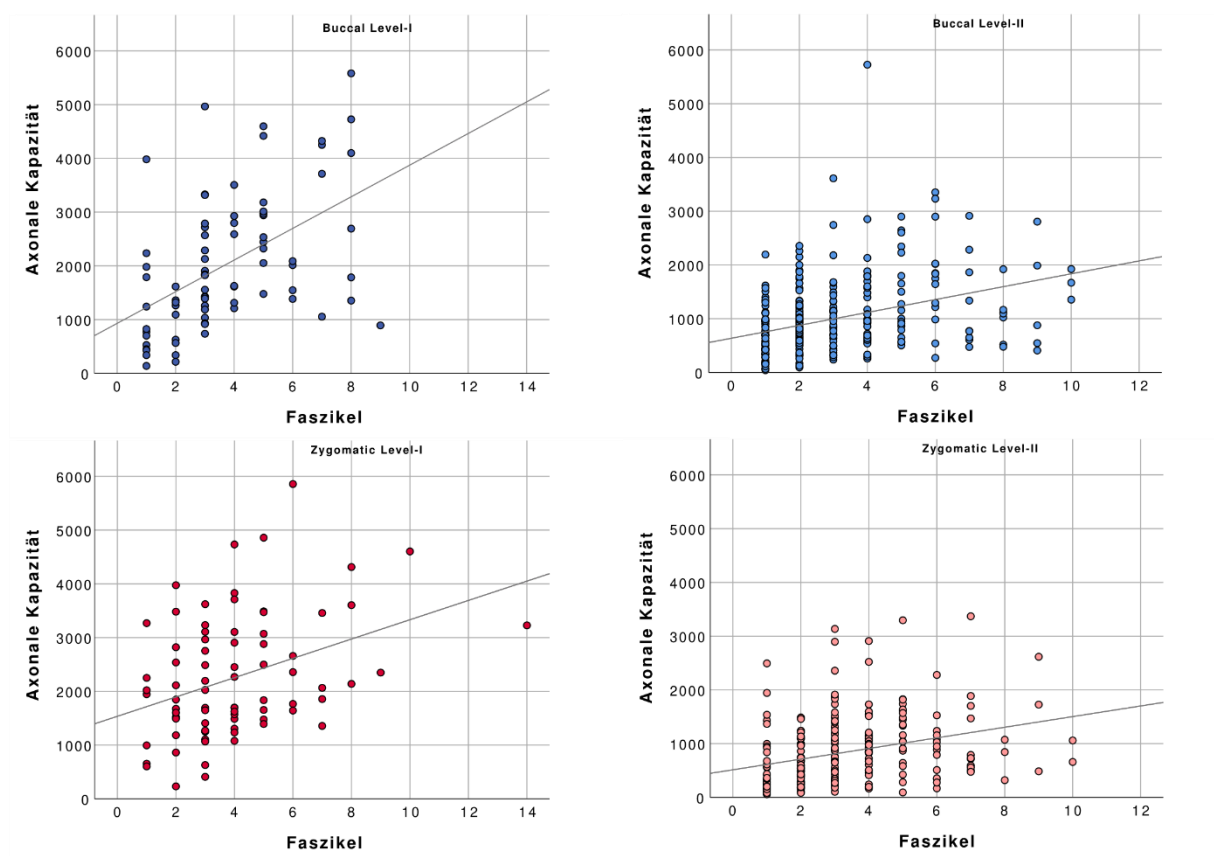


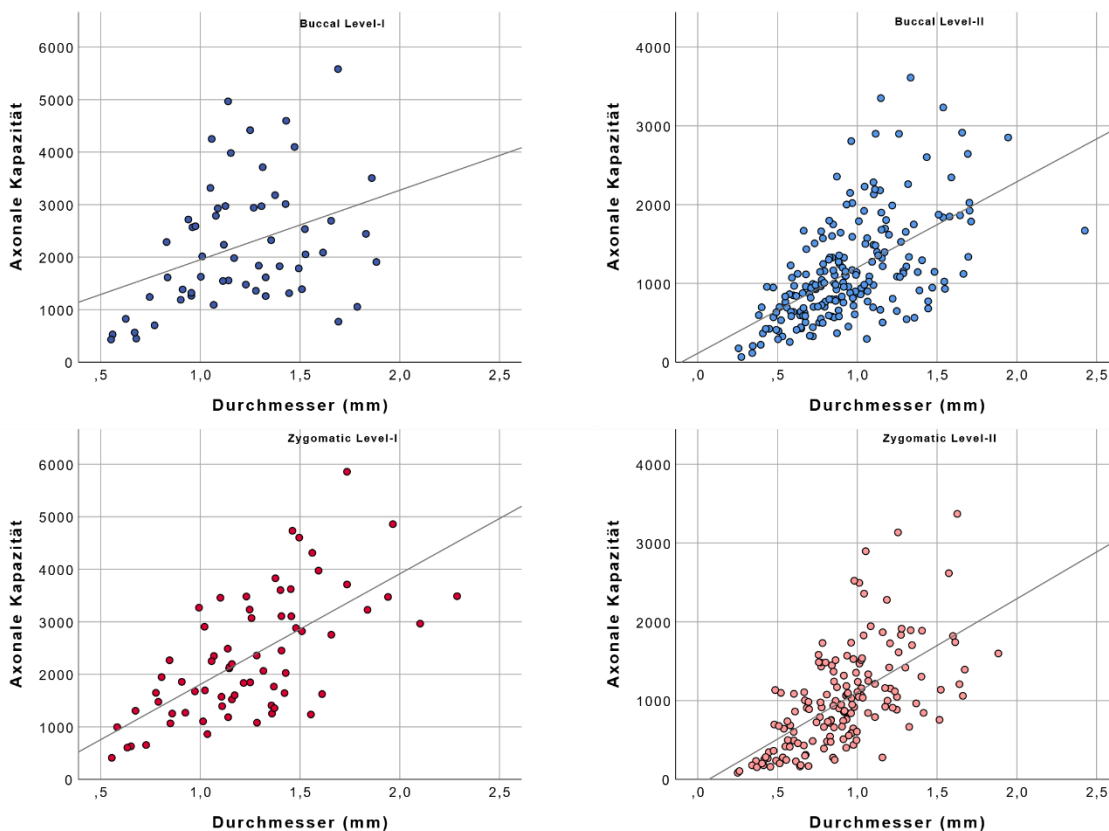
Abbildung 12 Korrelation zwischen axonaler Kapazität und Faszikelanzahl aufgeteilt nach Astsystemen.

### 3.5.3 Axonale Kapazität und Durchmesser

Zwischen axonaler Kapazität und Querschnittsdurchmesser zeigte sich für das zygomatische Astsystem und die buccalen Level-II-Äste ein mittelstarker, linearer, positiver Zusammenhang. Das buccale Level-I-System demonstrierte einen deutlich niedrigeren Korrelationsindex (Tabelle 23, Abbildung 13).

	Zygomatisch Level I	Buccal Level I	Zygomatisch Level II	Buccal Level II
<b>n</b>	68	58	161	208
<b>Korrelationsindex</b>	0,66	0,37	0,61	0,58
<b>Signifikanz</b>	< 0,001	0,004	< 0,001	< 0,001

**Tabelle 23** Korrelation von axonaler Kapazität und Durchmesser.



**Abbildung 13** Korrelation von axonaler Kapazität und Durchmesser aufgeteilt nach Astsystem.

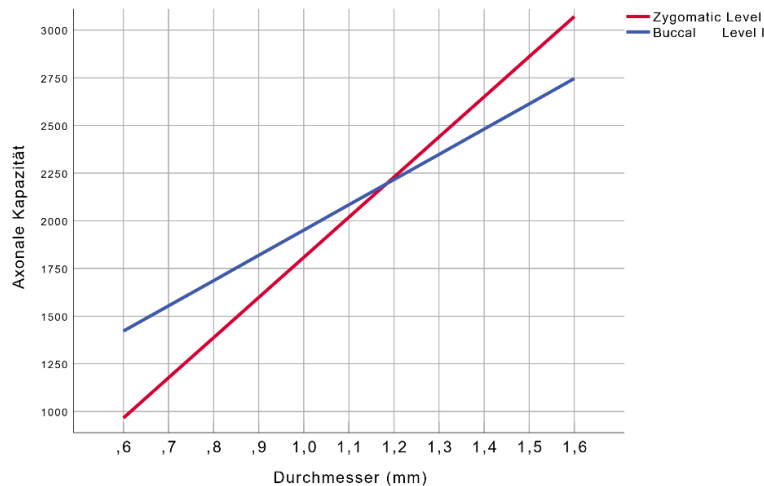
Die Regressionsmodelle ergaben für das zygomatische System und die buccalen Level-II-Äste eine gute Modellgüte und eine starke Effektstärke. Die Modellanpassung der buccalen Level-I-Äste war deutlich schwächer und die Effektstärke mittelmäßig stark (Tabelle 24).

	Zygomatisch Level I	Buccal Level I	Zygomatisch Level II	Buccal Level II
<b>Konstante (Axone)</b>	-297	627	-82	113
<b>Regressions- koeffizient</b>	2105	1324	1187	1088
<b>Korrigiertes R<sup>2</sup></b>	0,42	0,12	0,37	0,33
<b>Effektstärke</b>	0,85	0,37	0,77	0,70

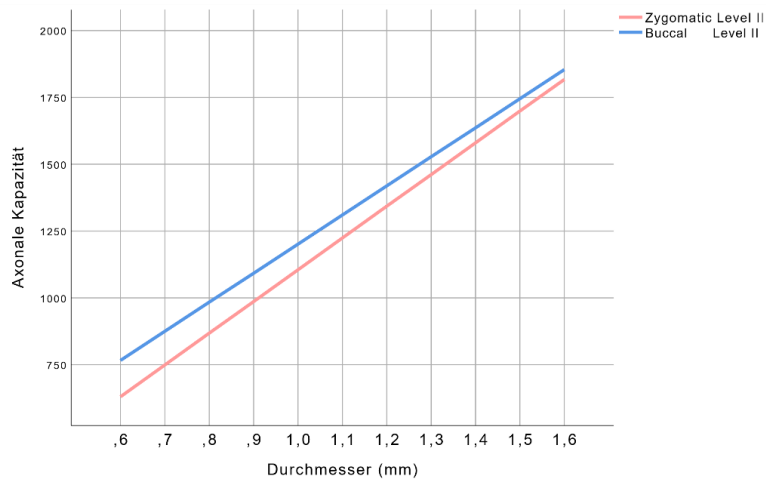
**Tabelle 24** Regressionsmodell für die einzelnen Astsysteme.

Astsystem	Nervendurchmesser (mm)			
	0,8	1	1,2	1,4
<b>Buccal Level-I</b>	1686	1951	2216	2481
<b>Zygomatisch Level-I</b>	1387	1808	2229	2650
<b>Buccal Level-II</b>	983	1201	1419	1636
<b>Zygomatisch Level-II</b>	868	1105	1342	1580

**Tabelle 25** Wertetabelle für die Regressionsgleichungen der einzelnen Astsysteme.



**Abbildung 14** Lineares Regressionsmodell für die Level-I-Äste.



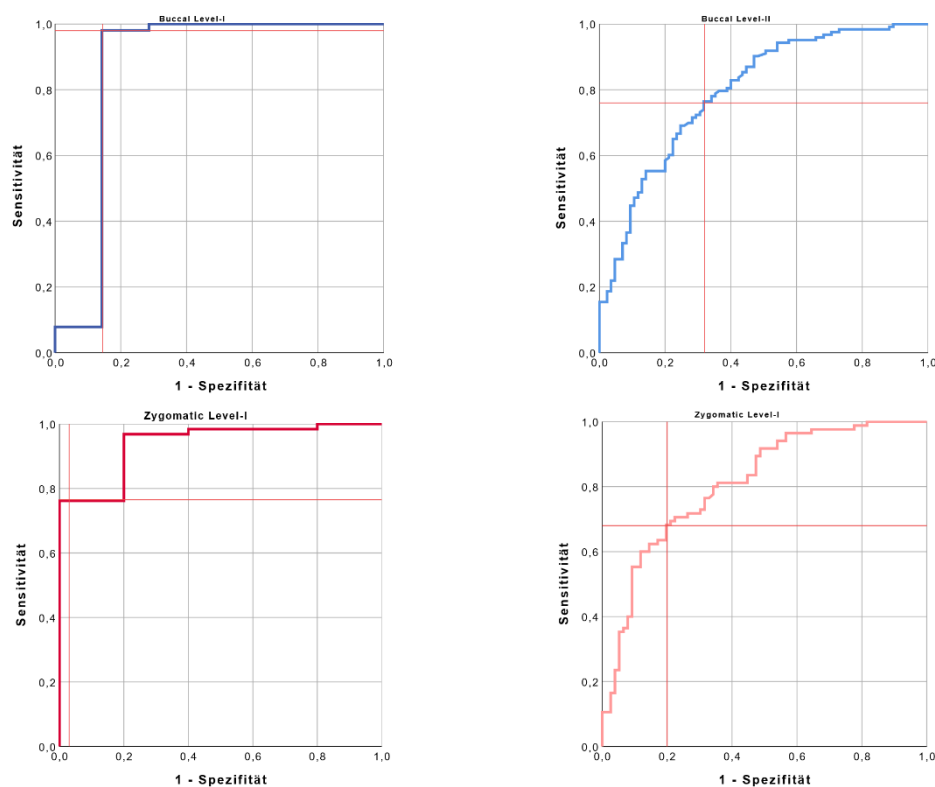
**Abbildung 15** Lineares Regressionsmodell für die Level-II-Äste.

### 3.6 Cut-Off-Analyse zur Erreichung von 900 Axonen

In der ROC-Analyse lag die *ROC-Area under curve* (ROC-AUC) bei allen Ästen über 0,8, was einer hohen Modellgüte entspricht. In der ROC-Analyse stellte sich der Nervendurchmesser als starker Prädiktor zur Unterscheidung zwischen Kapazitäten größer oder kleiner 900 Axone dar (Tabelle 26).

	Zygomatisch Level I	Buccal Level I	Zygomatisch Level II	Buccal Level II
<b>n</b>	68	58	161	208
<b>Cut-Off (in mm)</b>	0,75	0,80	0,94	0,84
<b>Sens/Specz</b>	97 %/77 %	98 %/85 %	68 %/80 %	76 %/68 %
<b>ROC-AUC</b>	0,94	0,87	0,81	0,80

**Tabelle 26** Analyse zum Cut-Off für den Durchmesser, um eine Kapazität von 900 Axonen mit größtmöglicher Sensitivität und Spezifität zu erreichen.



**Abbildung 16** ROC-Kurven zur Festlegung des Cut-Offs nach dem Youden Index (Kreuzung der roten Linien).

---

## 4. Diskussion

### 4.1 Diskussion von Material und Methodik

#### 4.1.1 Dissektion und Klassifizierung der Biopsien

Die Literatur bezüglich der axonalen Kapazität des N. facialis ist sehr heterogen. Die Biopsieentnahme ist auf Grund des variantenreichen Verlaufs schwer zu standardisieren [13–16, 148, 149, 182–184]. Weiterführend existieren verschiedene Konzepte zur Gruppierung der fazialen Äste. Vielfach wird nur der Ast zum M. zygomaticus major als R. zygomaticus angesprochen [165, 170]. Jedoch wird dieser Muskel meist von mehreren Ästen, die auch kommunizierende Äste austauschen, innerviert [153]. In der vorliegenden Arbeit wird die Einteilung entsprechend der Klassifikation unserer Arbeitsgruppe vorgenommen [153] und analog der Studie von Terzis et al. [171] buccale und zygomatiche Äste analysiert. Die Unterteilung bzw. die Berücksichtigung beider Astsysteme ist besonders in der klinischen Praxis von Bedeutung [153]. Die makroanatomischen Besonderheiten wurden unter anderem von Kehrer et al. beschrieben, welche die klinisch relevante Unterteilung der Äste in Levels beschrieb [18]. Diese Einteilung konnte durch die in dieser Arbeit vorgestellten mikroanatomischen Ergebnisse weiter bekräftigt werden. Die Kapazität der Level-I-Äste war deutlich höher als die Level-II-Äste, da diese noch keine Muskeläste abgegeben haben. Als potenzielle Spendernerven für CFNGs dienen nach der Level-Klassifizierung unserer Arbeitsgruppe nur die Äste des Level-II-Systems. Ein Anschluss an Level-I-Äste könnte zu einem umfangreichen ipsilateralen Funktionsverlust führen. Die Level-I-Äste sind somit die Rezipienten für Nerventransfers des N. massetericus [185, 186], des N. temporalis [113], oder des N. hypoglossus im Rahmen einer sog. *babysitter procedure* [115, 187]. Die Level-Einteilung zur Lokalisationsbeschreibung wurde aus der klinischen Praxis entwickelt und soll eine bestmögliche Übertragbarkeit der Resultate ermöglichen.

#### 4.1.2 Axonquantifizierung

Die von unserer Arbeitsgruppe entwickelte Methodik zur Axonquantifizierung stellt sich robust, schnell durchführbar und präzise dar [179]. Insgesamt entsprachen ca. 88 % der entnommenen Biopsien den Qualitätskriterien zur semi-automatisierten Auswertung. Die verwendeten Verfahren zur Fixierung und Färbung der Biopsien könnte hierbei einen Vorteil darstellen. Des Weiteren waren die Qualität der

---

Konservierung und die Unversehrtheit der anatomischen Spenderpräparate die Grundlage für eine fundierte histologische Aufbereitung.

#### **4.1.3 Vermessung der Nervenquerschnitte**

Berger et al. konnten zeigen, dass der Einfluss des verwendeten Konservierungsverfahrens (*fresh-frozen*) und das Auftauen der Leichen einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Morphometrie hat [188].

Die Vermessung der histologischen Präparate erfolgte computerunterstützt unter 5-facher mikroskopischer Vergrößerung. Die Kalibrierung der Vermessungsfunktion wurde unter Anleitung von Mitarbeitern des anatomischen Forschungslabors an der Universität Regensburg nach gängigem Standard mit einem geeichten Messobjektträger durchgeführt. Die Genauigkeit des Eichobjektträgers ist mit 10 µm angegeben. Der geschätzte kumulative Fehler sollte somit nicht mehr als 20 µm betragen. Aufgrund des vorangegangenen Fixierungsprozesses war die präzise Vermessung bei 28 % der Präparate nicht möglich. Bei den als „nicht verwertbar“ eingestuften Präparaten waren meist Teile des Nervenüllgewebe (Epineurium, Fettzellen und Bindegewebe) scharf abgeschnitten (Abbildung 8). In Fällen von Rissen oder Aufschwemmungen innerhalb des Nervenquerschnittes war die Vermessung ebenfalls nicht möglich.

Will man die Erkenntnisse der Durchmesserbestimmung in der klinischen Praxis anwenden, so muss die Schrumpfung der Präparate im Rahmen der histologischen Aufbereitung berücksichtigt werden. Die fixationsbedingte Schrumpfung kann auf Basis vorläufiger Daten einer Folgestudie unserer Arbeitsgruppe mit ca. 20 % angenommen werden [189]. Derzeit ist die exakte Bestimmung des Schrumpfungsfaktors und somit die Sicherung der Übertragbarkeit der Erkenntnisse in die Praxis Gegenstand einer Folgestudie unserer wissenschaftlichen Arbeitsgruppe.



---

## 4.2 Diskussion der Ergebnisse

### 4.2.1 Axonale Kapazität im Literaturvergleich

Es hat sich in der Literatur etabliert, nur myelinisierte Axone zu zählen. Im Rahmen dessen hat sich diesbezüglich ein Cut-Off von mehr als 1  $\mu\text{m}$  Durchmesser entwickelt, da für unmyelinisierte Axone eine zweigipflige Verteilung von 0,6 bis 0,8  $\mu\text{m}$  und 1,4 bis 1,6  $\mu\text{m}$  beschrieben wurde [190]. Die Auszählung der Axone, ob manuell oder digital, ist hauptsächlich von der Qualität der Präparate abhängig. Zur axonalen Quantifizierung bedienen sich die Autoren aus Tabelle 27 verschiedener Fixierungsmethoden und Auswertungsmodelle. Die unterschiedliche Methodik einzelner Forschungsgruppen führt darüber hinaus zu einer erschwerten Vergleichbarkeit zwischen den wissenschaftlichen Arbeiten. Die vorliegenden Ergebnisse sind methodisch am ehesten mit der Studie von Terzis et al. [171] sowie Hembd et al. [173] vergleichbar. Die Kapazitäten von Terzis et al. sind mit den Werten für die Level-II-Äste zu vergleichen, die ermittelte Kapazität von Hembd et al. mit dem buccalen Level-II-Ast. Interessanterweise stellte sich die Kapazitätsverteilung mit buccal  $995 \pm 705$  und zygomaticisch  $846 \pm 631$  Axonen nahezu invers zu den Erkenntnissen von Terzis dar (Tabelle 27). In diesem Kontext sollte jedoch auch berücksichtigt werden, dass es sich bei Terzis' Präparaten um intraoperativ entnommene Biopsien handelt.

Vergleicht man die Kapazität von Hembd et al. mit dem buccalen Level-I Ast ( $2041 \pm 1249$  Axone), zeigt sich eine ca. 20 % niedrigere Kapazität. Vergleicht man die axonale Kapazität für den Hauptstamm des N. facialis zwischen unserer [191] und der Arbeitsgruppe um Rozen und Hembd [173] kommt man auf das gleiche Verhältnis, weshalb der Unterschied in der methodischen Prozessierung vermutet wird. Insgesamt jedoch decken sich die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit den spezifischen Erkenntnissen aus der internationalen Literatur.

Beim Vergleich von Biopsien von linker und rechter Kopfhälfte stellte sich nur bei den zygomaticischen Level-I-Ästen eine signifikant höhere Kapazität der linken Seite dar (siehe 3.4.2.). Dies steht im Kontrast zu den weiteren Untersuchungen und zu den Erkenntnissen von Hembd et al. [192], welcher beim zygomaticischen Ast keinen Unterschied zwischen den Kopfhälften feststellen konnte. Analog zu Hembd et al. fand sich in der vorliegenden Arbeit kein signifikanter Kapazitätsunterschied zwischen den Geschlechtern.

Autor	Patient*Innen/ Kadaver	Methodik	Axonale Kapazität	
			R. buccalis	R. zygomaticus
<b>Terzis</b> [171]	Patient*Innen (n=69)	Digital u. Manuell	683±506 (n=25)	998±705 (n=59)
<b>Harrison</b> [167]	Patient*Innen (n=30)	Manuell	1736 (n=11)	
<b>Frey</b> [165]	Patient*Innen (n=7)	Manuell		843±285 (n=7)
<b>Snyder-Warwick</b> [170]	Kadaver (n=91)	Digital		6757/mm <sup>2</sup> (n=68)
<b>Hembd</b> [173]	Kadaver (n=63)	Digital, ImageScope	1670±973 (n=114)	

**Tabelle 27** Literaturvergleich Axonkapazität.

#### 4.2.2 Nervendurchmesser und Kapazitätskorrelation im Literaturvergleich

Die Literatur zur Nervenvermessung des N. facialis stellt sich als sehr begrenzt dar. Die wenigen Beschreibungen beschränken sich meist auf den Hauptstamm des N. facialis. Hier wird das Kaliber im extratemporalen Verlauf mit 0,6 bis 2,66 mm angegeben [193–197]. Eine Ultraschallstudie fand einen signifikanten Durchmesserunterschied zwischen gesunden ( $1,4 \pm 0,02$  mm) und Patient\*Innen mit Fazialisparese ( $1,7 \pm 0,2$  mm) und definierte den Durchmesser als ein Prädiktor für das Outcome [198]. Die breite Streuung der Messergebnisse ist hier durch unterschiedliche Methodik, von MRT über Sonographie zu Körperspenderstudien, bedingt. Zu den peripheren Fazialisnervenästen des zygomaticobuccalen Systems ist anhand einer aktuellen intensiven Literaturrecherche nur die Arbeit von Austin Hembd bekannt, der 2017 einen Cut-Off von 0,6 mm zum Erreichen von 900 Spenderaxonen beschrieb [173]. Die Biopsien wurden in seiner Arbeit in 2 cm-Intervallen dem Ast zum M. zygomaticus major entnommen. Die Messmethodik und die Berechnung des Cut-Off-Werts werden jedoch nicht dediziert beschrieben, was den Vergleich erschwert. Eine Differenzierung in Levels wurde von Hembd et al. ebenfalls nicht vorgenommen. Die vorliegende Dissertationsarbeit konnte jedoch zeigen, dass sich der Durchmesser und die axonale Kapazität sowie deren Korrelation zwischen den Levels signifikant unterscheiden und somit die Lokalisation von entscheidender Bedeutung ist.

Interessanterweise präsentierten männliche Leichen in den untersuchten Astsystemen signifikant größere Nervendurchmesser (siehe 3.4). Dies muss jedoch im Licht der

---

ungleichen Verteilung zwischen männlichen und weiblichen Leichen und der Tatsache, dass das Geschlecht nicht in allen Fällen ermittelt werden konnte, kritisch betrachtet werden. Aufgrund dieser Limitationen wurde auf eine Separierung nach Geschlecht bei den Regressionsmodellen verzichtet. In der Literatur finden sich hierzu keine Erkenntnisse, sollte sich dieser Unterschied jedoch bei Folgestudien bewahrheiten sollte dies in der rekonstruktiv-chirurgischen Praxis künftig entsprechend berücksichtigt werden.

#### **4.2.3 Kapazität und Durchmesser in Bezug auf das Alter**

In unserem Kollektiv konnte keine negative Korrelation der axonalen Kapazität mit dem Alter der Körperspender gefunden werden. Jacobs et al. [167] konnten diesen Zusammenhang ebenfalls nicht darstellen. Hembd et al. [192] und Kondo et al. [199] konnten jedoch zeigen, dass die axonale Kapazität mit steigendem Alter abnimmt. Als Limitation der vorliegenden Arbeit ist anzumerken, dass das Alter nur bei 17 Körperspender\*Innen ermittelbar und die Altersspanne mit 61 Jahre bis 90 Jahre relativ begrenzt war. Bei den Studien von Kondo und Hembd variierte das Alter mit 43 - 89 bzw. 22 - 94 deutlich stärker, was klarere Rückschlüsse zulässt. Die Veränderung der axonalen Kapazität mit dem Alter stellt einen wichtigen Aspekt dar, beachtet man das deutlich jüngere Patienten Klientel (normalerweise < 50 Jahre), welches rekonstruktiv operiert wird. Nach Hembd und Kondo sollte die Kapazität in jüngeren Jahren höher liegen, was im Sinne der Fazialischirurg\*Innen wäre.

Bezüglich des Nervendurchmessers konnte in unserem Kollektiv keine signifikante Korrelation mit dem Alter festgestellt werden. In anderen Arbeiten wurde der Durchmesser hingegen mittels Bildgebung untersucht. Eine MRT-Studie stellte eine negative Korrelation des intrakraniellen Fazialis mit dem Alter fest [193]. Eine weitere MRT-Studie an weiteren peripheren Nerven fand jedoch keine Korrelation mit dem Alter sondern mit dem BMI der Probanden [200].

### 4.3 Translation in die Praxis

Bei CFNG-Eingriffen stellt die Selektion des optimalen Spendernervens einen kritischen Aspekt der Reanimation von Fazialisparesepatient\*Innen im frühsekundären Stadium dar. Es gilt als hinreichend belegt, dass funktionell adäquate Ergebnisse durch suffiziente axonale Kapazität erzielt werden [161, 162, 168, 171], welche jedoch intraoperativ nur mit einigem Aufwand bestimmbar ist [172]. Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass axonale Kapazität und der Nervendurchmesser positiv korrelieren. Das Nervenkaliber ließe sich jedoch leicht mit angemessener Präzision unter dem Operationsmikroskop bestimmen. Bisweilen geschieht dies meist mittels spezieller Mikro-Lineale, wobei in das Operationsmikroskop integrierte digitale Verfahren denkbar sind. Da die Nervendurchmesser im histologisch fixierten Zustand bestimmt wurden ist eine ca. 20 % Schrumpfung mit einzukalkulieren [189].

#### 4.3.1 Anwendung der Ergebnisse

Da die Entnahme der Biopsien und die Klassifikation der Äste nach Kehrer et al. [18, 153] nach klinischen Gesichtspunkten erfolgte, lässt dies auf eine gute Übertragbarkeit in die mikrochirurgische Praxis schließen. Danach stellen die Level-I-Äste die Rezipienten für Nerventransfers dar. Da auch bei diesen Verfahren die Spendernervkapazität das funktionelle Ergebnis bedingt, wurde die Mikroanatomie, insbesondere des häufig verwendeten N. massetericus (*V-to-VII-Transfer*) untersucht [201–204]. Goh et al. konnten hierbei den deszendierenden Ast des N. massetericus-Hauptstammes mit einer Kapazität von  $1025 \pm 423$  und einem Durchmesser von 0,52 bis 0,66 mm als den idealen Spendernerven für *V-to-VII-Transfers* identifizieren [202]. Vergleicht man dies mit den Ergebnissen der zygomatischen und buccalen Level-I-Äste, stellt sich ein 1:2 Verhältnis bezüglich axonaler Kapazität und Durchmesser dar. Diese Diskrepanz soll ein mögliches *overpowering* der reanimierten mimischen Muskulatur verhindern. Ein *overpowering* kann sich durch eine ausgeprägte, prominente Muskelkontur sowie, im Vergleich zur Gegenseite, übermäßig bzw. entstellend starke Muskelkontraktion äußern. Dies könnte dadurch erklärt werden, dass der N. massetericus im Gegensatz zu Ästen des Fazialis keine Tonus vermittelnden Nervenfasern enthält [146]. Das vorgestellte Regressionsmodell für die Level-I-Äste (Abbildung 14) könnte den Fazialischirurg\*Innen intraoperativ helfen, die

axonale Kapazität des rezipierenden Fazialisnervenastes abzuschätzen und so ein mögliches *over-* oder *underpowerings* zu evaluieren.

Wird ein CFNG verwendet, eignen sich die zygomatischen und buccalen Level-II Äste als Spendernerven. Hier kann das Regressionsmodell für die Level-II-Äste (Abbildung 15) eine wertvolle Orientierung für die Fazialischirurg\*Innen liefern. Nach diesem Modell liefert ein 0,8 mm messender buccaler Level-I-Ast eine Kapazität von 983 Axonen und ein zygomatischer Spendernerv 868 Axonen. Mit eingerechneter Schrumpfung beträgt das Nervenkaliber in situ zum Erreichen dieser Kapazität etwa 1 mm. Weiterführend bieten die Cut-Off Werte für das Erreichen von 900 Spendernerven eine gewisse Sicherheit (Tabelle 26) [189].

Mit Blick in die Zukunft könnte das Nervenkaliber einen intraoperativ einfach bestimmbaren Parameter darstellen, mit Hilfe dessen Äste eines Levels verglichen werden können. Zusätzlich könnte die Dokumentation der exakten Lokalisation und des Kalibers einen Vergleich zwischen Patient\*Innen, ohne die aufwändige histologische Aufbereitung und Auswertung, ermöglichen. Weiterführend könnte der Durchmesser bzw. die daraus geschätzte Kapazität im Rahmen von *Outcome Studies* ein wertvoller Surrogat Parameter werden. Zukünftige Studien könnten hier die nötige Evidenz liefern, mit der sich die klinische Versorgung weiter optimieren ließe.

#### **4.3.2 CFNG vs. Massetericus-Transfer**

In der Literatur wird oft nach dem überlegenen Konzept gesucht. *Cross-Face-Nerve-Grafting* bedarf im Kontrast zu Nerventransfers üblicherweise zweier separater Operationen, wobei Inzisionen an beiden Gesichtshälften erfolgen. Nerventransfers liefern zudem größere axonale Kapazitäten [203, 204] bei geringerem operativen Aufwand. Beim Vergleich zwischen N. massetericus Transfer (NTM) und CFNG sind sich die Mehrheit der Autoren in der internationalen Literatur einig, dass der NTM mehr Exkursion, eine kürzere Rekonvaleszenzzeit, aber weniger Spontaneität und die Notwendigkeit eines intensiveren Lächeltrainings bietet, während der CFNG spontane Emotionen, Ruhetonus, aber weniger Exkursion liefert und mehr Erholungszeit erfordert [119, 137, 205–207]. Einige Studien deuten darauf hin, dass ein gewisser Grad an Spontaneität auch durch nicht-faziale Spendernerven erreicht werden kann [107, 108, 208]. Es stellt sich die Frage, ob CFNGs ein überholtes Konzept darstellen, jedoch liegt der klare Vorteil der fazialer Spendernervenäste in der Bereitstellung von Muskeltonus zur Ruhesymmetrie und die spontane Emotionalität [146]. Die Kombination beider Verfahren könnte die Vorteile beider Konzepte optimal vereinen

---

und wird mittlerweile weit verbreitet angewandt [138, 139]. Anhand der in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse kann die axonale Kapazität für die fazialen Spendernerven abgeschätzt und so die Innervationskraft der verwendeten Spendernervenäste dosiert werden.

### **4.3.3 Verminderung des Kapazitätsverlusts**

Grundsätzlich ist es das oberste Ziel der rekonstruktiven Nerven Chirurg\*Innen, den Kapazitätsverlust bei allen Operationen möglichst gering zu halten. In der Literatur finden sich dazu zahlreiche Konzepte und Verfahren.

Einerseits wurden vaskularisierte Nerventransplantate mit nicht vaskularisierten verglichen, wobei die Ergebnisse aus den Modellen kontrovers zu diskutieren sind [209–211]. Auf Grund der schwachen Evidenz in Kontrast zu dem operativen Mehraufwand wird weitestgehend auf einen Gefäßanschluss verzichtet.

Andererseits wurde in Tiermodellen häufig versucht die autologen Nerventransplantate durch künstliche Nervenleitungen zu ersetzen. Modelle mit Stammzell-Beschichtung zeigten sich im Tiermodell vielversprechend, jedoch waren die Defektstrecken meist kurz und der Einsatz am Menschen bisher unbekannt [212–216].

Um den Kapazitätsverlust an den Koaptationsstellen sowie im Verlauf den CFNG zu vermindern, wird in der Literatur der Verzicht auf ein CFNG und die Hebung eines langen Muskelnervenstiels mit direkter Koaptation an den kontralateralen Spendernerven diskutiert [217, 218]. Diese anatomischen Durchführbarkeitsstudien konnten zeigen, dass sich der M. gracilis mit einer ausreichenden Stiellänge zur direkten Koaptation heben lässt. Jedoch müssen bei der Präparation abgehende Äste des N. obturatorius durchtrennt werden, was zu einer ausgeprägten Hebemorbidität führen könnte. Dennoch könnte ein langer Muskelnervenstiel mit einem kurzen Interponat vielversprechend sein.

#### **4.3.3.1 Reduktion des Verlusts an der Koaptationsstelle**

Ein wichtiger Punkt der peripheren Nerven Chirurgie ist es, den Kapazitätsverlust an den Koaptationsstellen möglichst gering zu halten, ein zügiges Einsprossen der Axone zu ermöglichen und der Entstehung von Neuomen vorzubeugen.

Die konventionelle epineurale Neurorrhaphie mittels Fäden der Stärke 8-0 bis 10-0 USP ist bisweilen der Standard. Eine aussichtsreiche Alternative stellt die Koaptation mit proteinbasiertem Gewebekleber dar. Myles beschrieb bereits in den 90er Jahren eine mit Fadenstärke zunehmende Fibrosierung von Nerven im Bereich der Neurorrhaphie

[219]. Weitere Autoren bestätigten später die Induktion einer granulomatösen Inflammation durch das eingebrachte Nahtmaterial [220–222]. Basierend auf bisherigen Daten aus dem Tiermodell konnte durch die Nervenrekonstruktion mit Fibrinkleber eine signifikante Reduktion dieser Fremdkörper-induzierten Entzündungsreaktion erreicht werden [220, 221, 223].

Inalöz et al. verglichen die Nervenregeneration zwischen epineuraler Naht und Koaptation mittels Fibrinkleber im Rattenmodell [220]. Im direkten Vergleich zur konventionellen Nervennaht konnte eine überlegene axonale Regeneration in der histopathologischen Untersuchung sowie eine optimierte Nervenleitgeschwindigkeit in der funktionellen, elektrophysiologischen Untersuchung festgestellt werden [220, 224, 225]. Eine weitere Studie berichtete von einer Optimierung der axonalen Orientierung bei der Nervenregeneration nach Koaptation mit Fibrinkleber [221]. Die Autoren vermuteten eine Begünstigung des *Microenvironments* für die Schwanzzell-Axon-Interaktion aufgrund einer Barrierefunktion durch die Ummantelung des Nervens mit den in Gewebekleber enthaltenen Proteinen Fibrin, Thrombin und Aprotinin, die in weiterer Folge zu einer Reduktion der Narbenbildung und homogenen Ausrichtung der aussprossenden axonalen Fasern führen könnte [226]. Einen zusätzlichen Hinweis für die neuroprotektive Wirkung einer rein mechanischen Isolierung der Neurorrhaphie lieferte Zhu et al. im Rahmen einer prospektiven klinischen Studie. An 101 Studienteilnehmern wurde dabei die epineurale Koaptation mit einer Kombination aus epineuraler Koaptation und zusätzlicher Umhüllung der Koaptationsstelle mittels *Collagen Conduit* untersucht. Durch die *Conduit*-Versiegelung resultierte ein günstigeres Komplikationsprofil im Langzeit *Follow-Up* mit einer statistisch signifikanten Reduktion der neuromatösen Nervenheilung und Schmerzsymptomatik [227].

Eine Kadaverstudie berichtete vom Einsatz von Fibrinkleber bei der Rekonstruktion von Digitalnerv-Defekten an unfixierten Nervenpräparaten. Hierbei wurden Nervenkonduite entweder mit Fibrinkleber oder mittels konventioneller Nahttechnik fixiert. Unter Einsatz von Fibrinkleber konnte eine signifikant höhere Reißfestigkeit erreicht werden [228].

Da die Axone bei CFNGs zwei Koaptationsstellen überwinden müssen, sollten die vielversprechenden Erkenntnisse zur Verwendung von Fibrinkleber hier besonders stark berücksichtigt werden. Strukturierte Studien zu diesem Thema im Bereich der Fazialisnerven Chirurgie sind dem Autor nicht bekannt.

---

#### **4.3.3.2 Elektrostimulation und sensible End-zu-Seit Kurzschlüsse**

Al-Majed et al. konnte im Jahr 2000 im Rattenmodell zeigen, dass nach Neurotomy eine intraoperative Elektrostimulation der proximalen Nervenabschnitts einen positiven Effekt auf die Nervenregeneration hat [229]. Im Rattenmodell konnte die Reinnervationszeit durch eine Stimulation mit 20 Hz über eine Stunde im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich reduziert werden [229–232]. In der Fazialchirurgie wendet Gregory Borschel diese Methode seit mehreren Jahren erfolgreich an [233]. Außerdem empfiehlt die Arbeitsgruppe aus Toronto End-zu-Seit Kurzschlüsse mit sensorischen Ästen [234, 235], um die Regeneration zu fördern und dem Kapazitätsverlust entgegen zu wirken.

Oberstes Prinzip ist jedoch bereits an der Koaptationsstelle der Nerventransplantate eine suffiziente Spendernervenkapazität zu erzielen, welches durch die vorliegende Arbeit anhand neuer wesentlicher mikroanatomischer Aspekte erleichtert wird.



## 5. Zusammenfassung

Die operative Rekonstruktion nach peripherer Fazialisparese bedarf einer hohen Expertise der Mikro- und Makroanatomie des N. facialis. Diese histologisch-anatomische Studie des N. facialis an Körperspender\*Innen konnte wertvolle Erkenntnisse für die klinische Praxis liefern.

Die von unserer Arbeitsgruppe vorgeschlagene klinisch-orientierte, makroanatomische Einteilung der fazialen Äste in Level-I und Level-II konnte durch den signifikanten Unterschied der axonalen Kapazitäten und des Nervendurchmessers von Level-I zu Level-II statistisch bestätigt werden.

Es konnte gezeigt werden, dass Nervendurchmesser und axonalen Kapazität positiv korrelieren und sich mittels der linearen Regressionsanalyse eine Gleichung erstellen lässt, mit der die axonale Kapazität aus dem Durchmesser hinreichend genau eingeschätzt werden kann. Des Weiteren wurden Cut-Off-Werte für das Nervenkaliber (Diameter) berechnet, ab denen eine Kapazität von mehr als 900 Axonen erwartet werden kann. Diese Ergebnisse erleichtern in der Fazialisnervenchirurgie die intraoperative Spendernervenselektion. Auf Grundlage dieser Arbeit könnte das intraoperativ im Verhältnis zur axonalen Kapazität leichter bestimmbare Nervenkaliber durch *outcome studies* als Surrogat Parameter definiert werden. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass der Transfer der Ergebnisse in Praxis weiterer Studien bedarf.

---

## 6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Schematische Darstellung der Äste des N. facialis.....	9
Abbildung 2 Klassifikation des Verästlungsmusters nach Davis [13]. .....	10
Abbildung 3 Darstellung des methodischen Ablaufs. Dissektion und Biospieentnahme (a). Mikroskopgestützte Vermessung (b). Digitatisierung und Vorbereitung für die Axonquantifizierung (c+d). Umrisszeichnung der automatisch gezählten Axone (e). .....	21
Abbildung 4 Level-Einteilung und Bezeichnung der einzelnen Äste. ....	22
Abbildung 5 Herstellung EM-Fixans. ....	24
Abbildung 6 Spülung und Osmierung der Präparate. ....	25
Abbildung 7 Färbung nach Richardson. ....	26
Abbildung 8 Bewertung der Qualität zur Durchmesserbestimmung. Einstufung von links nach rechts in Qualitätsklasse 3, 2 und 1. ....	29
Abbildung 9 Faszikelanzahl der einzelnen Astsysteme. ....	32
Abbildung 10 Axonale Kapazität der einzelnen Astsysteme. ....	33
Abbildung 11 Durchmesser der Nervenquerschnitte der einzelnen Astsysteme. ....	34
Abbildung 12 Korrelation zwischen axonaler Kapazität und Faszikelanzahl aufgeteilt nach Astsystemen. ....	38
Abbildung 13 Korrelation von axonaler Kapazität und Durchmesser aufgeteilt nach Astsystem. ....	39
Abbildung 14 Lineares Regressionsmodell für die Level-I-Äste. ....	40
Abbildung 15 Lineares Regressionsmodell für die Level-II-Äste. ....	40
Abbildung 16 ROC-Kurven zur Festlegung des Cut-Offs nach dem Youden Index (Kreuzung der roten Linien). ....	41

---

## 7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Anzahl der präparierten Köpfe pro Institut. ....	20
Tabelle 2 Lösungen und Chemikalien. ....	23
Tabelle 3 Geräte und Zubehör zur histologischen Fixierung. ....	24
Tabelle 4 Verbrauchsmaterialien. ....	24
Tabelle 5 Ablauf der Entwässerungsreihe und EPON Infiltration.....	25
Tabelle 6 Geräte und Software zur Digitalisierung und Vermessung der Präparate..	27
Tabelle 7 Stitching- und Konvertierungsparameter.....	28
Tabelle 8 Verteilung der eingeschlossenen Biopsien. ....	31
Tabelle 9 Ergebnisse der Faszikelanzahlzählung. ....	31
Tabelle 10 Ergebnisse der Axonquantifizierung. ....	33
Tabelle 11 Durchmesser der Nervenquerschnitte. ....	34
Tabelle 12 Geschlechtervergleich Buccale Level-I-Äste.....	35
Tabelle 13 Gesichtshälftenvergleich buccale Level-I-Äste.....	35
Tabelle 14 Geschlechtervergleich zygomatiche Level-I-Äste.....	35
Tabelle 15 Gesichtshälftenvergleich zygomatiche Level-I-Äste.....	35
Tabelle 16 Geschlechtervergleich buccale Level-II-Äste. ....	36
Tabelle 17 Gesichtshälftenvergleich buccale Level-II-Äste.....	36
Tabelle 18 Geschlechtervergleich zygomatiche Level-II-Äste.....	36
Tabelle 19 Gesichtshälftenvergleich zygomatiche Level-II-Äste.....	36
Tabelle 20 Korrelation von Durchmesser und axonaler Kapazität mit dem Alter der Körperspender*Innen. ....	37
Tabelle 21 Korrelation Faszikelanzahl und Durchmesser.....	37
Tabelle 22 Regressionsmodell Faszikelanzahl und Durchmesser.....	38
Tabelle 23 Korrelation von axonaler Kapazität und Durchmesser. ....	39
Tabelle 24 Regressionsmodell für die einzelnen Astsysteme.....	40
Tabelle 25 Wertetabelle für die Regressionsgleichungen der einzelnen Astsysteme.....	40
Tabelle 26 Analyse zum Cut-Off für den Durchmesser, um eine Kapazität von 900 Axonen mit größtmöglicher Sensitivität und Spezifität zu erreichen. ....	41
Tabelle 27 Literaturvergleich Axonkapazität. ....	45

---

## 8. Literaturverzeichnis

1. Korb S, With S, Niedenthal P, Kaiser S, Grandjean D. The perception and mimicry of facial movements predict judgments of smile authenticity. *PLoS ONE*. 2014;9:e99194. doi:10.1371/journal.pone.0099194.
2. Li MKK, Niles N, Gore S, Ebrahimi A, McGuinness J, Clark JR. Social perception of morbidity in facial nerve paralysis. *Head Neck*. 2016;38:1158–63. doi:10.1002/hed.24299.
3. Ishii L, Godoy A, Encarnacion CO, Byrne PJ, Boahene KDO, Ishii M. Not just another face in the crowd: society's perceptions of facial paralysis. *Laryngoscope*. 2012;122:533–8. doi:10.1002/lary.22481.
4. Movérare T, Lohmander A, Hultcrantz M, Sjögreen L. Peripheral facial palsy: Speech, communication and oral motor function. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2017;134:27–31. doi:10.1016/j.anorl.2015.12.002.
5. Secil Y. Peripheral facial palsy and dysfunction of the oropharynx. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2002;72:391–3. doi:10.1136/jnnp.72.3.391.
6. Swart BJM de, Verheij JCGE, Beurskens CHG. Problems with eating and drinking in patients with unilateral peripheral facial paralysis. *Dysphagia*. 2003;18:267–73. doi:10.1007/s00455-003-0011-0.
7. Kim JH, Fisher LM, Reder L, Hapner ER, Pepper J-P. Speech and Communicative Participation in Patients With Facial Paralysis. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2018;144:686–93. doi:10.1001/jamaoto.2018.0649.
8. Ishii LE, Nellis JC, Boahene KD, Byrne P, Ishii M. The Importance and Psychology of Facial Expression. *Otolaryngol Clin North Am*. 2018;51:1011–7. doi:10.1016/j.otc.2018.07.001.
9. van Veen MM, Tavares-Brito J, van Veen BM, Dusseldorp JR, Werker PMN, Dijkstra PU, Hadlock TA. Association of Regional Facial Dysfunction With Facial Palsy-Related Quality of Life. *JAMA Facial Plast Surg*. 2019;21:32–7. doi:10.1001/jamafacial.2018.0804.
10. Dobel C, Miltner WHR, Witte OW, Volk GF, Guntinas-Lichius O. Emotionale Auswirkungen einer Fazialisparese. [Emotional impact of facial palsy]. *Laryngorhinootologie*. 2013;92:9–23. doi:10.1055/s-0032-1327624.
11. Fu L, Bundy C, Sadiq SA. Psychological distress in people with disfigurement from facial palsy. *Eye (Lond)*. 2011;25:1322–6. doi:10.1038/eye.2011.158.
12. VanSwearingen JM, Cohn JF, Bajaj-Luthra A. Specific Impairment of Smiling Increases the Severity of Depressive Symptoms in Patients with Facial Neuromuscular Disorders. *Aesth. Plast. Surg*. 1999;23:416–23. doi:10.1007/s002669900312.
13. Davis RA, Anson BJ, Budinger JM, Kurth LR. Surgical anatomy of the facial nerve and parotid gland based upon a study of 350 cervicofacial halves. *Surg Gynecol Obstet*. 1956;102:385–412.
14. Gataa IS, Faris BJM. Patterns and surgical significance of facial nerve branching within the parotid gland in 43 cases. *Oral Maxillofac Surg*. 2016;20:161–5.
15. Myint K, Azian AL, Khairul FA. The clinical significance of the branching pattern of the facial nerve in Malaysian subjects. *Med J Malaysia*. 1992;47:114–21.

16. Kwak HH, Park HD, Youn KH, Hu KS, Koh KS, Han SH, Kim HJ. Branching patterns of the facial nerve and its communication with the auriculotemporal nerve. *Surg Radiol Anat.* 2004;26:494–500.
17. Mendelson BC, Jacobson SR. Surgical anatomy of the midcheek: facial layers, spaces, and the midcheek segments. *Clin Plast Surg.* 2008;35:395-404; discussion 393. doi:10.1016/j.cps.2008.02.003.
18. Kehrer A, Engelmann S, Ruewe M, Geis S, Taeger C, Kehrer M, et al. Anatomical study of the zygomatic and buccal branches of the facial nerve: Application to facial reanimation procedures. *Clin Anat.* 2019.
19. Bird TD, Nicolaus A. Friedreich's description of peripheral facial nerve paralysis in 1798. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* 1979;42:56–8.
20. Bell C. On the Nerves; Giving an Account of Some Experiments on Their Structure and Functions, Which Lead to a New Arrangement of the System. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London.* 1821;111:398–424. doi:10.1098/rstl.1821.0029.
21. Ho M-L, Juliano A, Eisenberg RL, Moonis G. Anatomy and pathology of the facial nerve. *AJR Am J Roentgenol.* 2015;204:W612-9. doi:10.2214/AJR.14.13444.
22. Diego JI de, Prim MP, Madero R, Gavilán J. Seasonal patterns of idiopathic facial paralysis: a 16-year study. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1999;120:269–71. doi:10.1016/S0194-5998(99)70418-3.
23. Rowlands S, Hooper R, Hughes R, Burney P. The epidemiology and treatment of Bell's palsy in the UK. *Eur J Neurol.* 2002;9:63–7. doi:10.1046/j.1468-1331.2002.00343.x.
24. Savettieri G, Salemi G, Rocca WA, Meneghini F, Santangelo R, Morgante L, et al. Incidence and lifetime prevalence of Bell's palsy in two Sicilian municipalities. Sicilian Neuro-Epidemiologic Study (SNES) Group. *Acta Neurol Scand.* 1996;94:71–5.
25. Brandenburg NA, Annegers JF. Incidence and risk factors for Bell's palsy in Laredo, Texas: 1974-1982. *Neuroepidemiology.* 1993;12:313–25. doi:10.1159/000110333.
26. Campbell KE, Brundage JF. Effects of climate, latitude, and season on the incidence of Bell's palsy in the US Armed Forces, October 1997 to September 1999. *Am J Epidemiol.* 2002;156:32–9.
27. Katusic SK, Beard CM, Wiederholt WC, Bergstralh EJ, Kurland LT. Incidence, clinical features, and prognosis in Bell's palsy, Rochester, Minnesota, 1968-1982. *Ann Neurol.* 1986;20:622–7. doi:10.1002/ana.410200511.
28. Morris AM, Deeks SL, Hill MD, Midroni G, Goldstein WC, Mazzulli T, et al. Annualized incidence and spectrum of illness from an outbreak investigation of Bell's palsy. *Neuroepidemiology.* 2002;21:255–61. doi:10.1159/000065645.
29. Peitersen E. Bell's Palsy: The Spontaneous Course of 2,500 Peripheral Facial Nerve Palsies of Different Etiologies. *Acta Oto-Laryngologica.* 2002;122:4–30. doi:10.1080/000164802760370736.
30. Kunze M, Arndt S, Zimmer A, Földi M, Hanjalic-Beck A, Echternach M, et al. Periphere Fazialisparese in der Schwangerschaft. [Idiopathic facial palsy during pregnancy]. *HNO.* 2012;60:98–101. doi:10.1007/s00106-011-2394-9.
31. Fu X, Tang L, Wang C, Li M, Wu H, Li J, et al. A Network Meta-Analysis to Compare the Efficacy of Steroid and Antiviral Medications for Facial Paralysis from Bell's Palsy. *Pain Physician.* 2018;21:559–69.
32. McCormick DP. Herpes-simplex virus as a cause of Bell's palsy. *Lancet.* 1972;1:937–9.

33. Murakami S, Mizobuchi M, Nakashiro Y, Doi T, Hato N, Yanagihara N. Bell palsy and herpes simplex virus: identification of viral DNA in endoneurial fluid and muscle. *Ann Intern Med.* 1996;124:27–30.
34. Sugita T, Murakami S, Yanagihara N, Fujiwara Y, Hirata Y, Kurata T. Facial nerve paralysis induced by herpes simplex virus in mice: an animal model of acute and transient facial paralysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1995;104:574–81. doi:10.1177/000348949510400713.
35. Esaki S, Yamano K, Katsumi S, Minakata T, Murakami S. Facial nerve palsy after reactivation of herpes simplex virus type 1 in diabetic mice. *Laryngoscope.* 2015;125:E143-8. doi:10.1002/lary.24994.
36. Esaki S, Yamano K, Kiguchi J, Katsumi S, Keceli S, Okamoto H, et al. Diabetic mice show an aggravated course of herpes-simplex virus-induced facial nerve paralysis. *Otol Neurotol.* 2012;33:1452–7. doi:10.1097/MAO.0b013e318268d54d.
37. Grose C, Feorino PM, Dye LA, Rand J. Bell's palsy and infectious mononucleosis. *Lancet.* 1973;2:231–2.
38. Vogelnik K, Matos A. Facial nerve palsy secondary to Epstein-Barr virus infection of the middle ear in pediatric population may be more common than we think. *Wien Klin Wochenschr.* 2017;129:844–7. doi:10.1007/s00508-017-1259-y.
39. Persu A, Băicuș A, Stavri S, Combiescu M. Non-polio enteroviruses associated with acute flaccid paralysis (AFP) and facial paralysis (FP) cases in Romania, 2001-2008. *Roum Arch Microbiol Immunol.* 2009;68:20–6.
40. Balogou AK, Kpemissi E, Nack-Nack M, Anani T, Agboli K, Prince DM, Grunitzky EK. Peripheral facial paralysis (PFP) and HIV infection in Togo. *Acta Neurol Scand.* 1998;98:200–3.
41. Verma R, Praharaaj HN. Bilateral facial palsy as a manifestation of Japanese encephalitis. *BMJ Case Rep* 2012. doi:10.1136/bcr-2012-006555.
42. Angerer M, Pfadenhauer K, Stöhr M. Prognosis of facial palsy in *Borrelia burgdorferi* meningopolyradiculoneuritis. *J Neurol.* 1993;240:319–21.
43. Brunner J, Moschovakis G, Prelog M, Walder G, Wuerzner R, Zimmerhackl LB. Lyme neuroborreliosis: aetiology and diagnosis of facial palsy in children from Tyrol. *Klin Padiatr.* 2010;222:302–7. doi:10.1055/s-0030-1249091.
44. Cooper L, Branagan-Harris M, Tuson R, Nduka C. Lyme disease and Bell's palsy: an epidemiological study of diagnosis and risk in England. *Br J Gen Pract.* 2017;67:e329-e335. doi:10.3399/bjgp17X690497.
45. Kindler W, Wolf H, Thier K, Oberndorfer S. Periphere Facialisparese als Initialsymptom der Lyme Neuroborreliose in einem österreichischen Endemiegebiet. [Peripheral facial palsy as an initial symptom of Lyme neuroborreliosis in an Austrian endemic area]. *Wien Klin Wochenschr.* 2016;128:837–40. doi:10.1007/s00508-014-0685-3.
46. Nigrovic LE, Thompson AD, Fine AM, Kimia A. Clinical predictors of Lyme disease among children with a peripheral facial palsy at an emergency department in a Lyme disease-endemic area. *Pediatrics.* 2008;122:e1080-5. doi:10.1542/peds.2008-1273.
47. Poswillo D. The pathogenesis of the first and second branchial arch syndrome. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology.* 1973;35:302–28. doi:10.1016/0030-4220(73)90070-4.

48. Sulik KK, Cook CS, Webster WS. Teratogens and craniofacial malformations: relationships to cell death. *Development*. 1988;103 Suppl:213–31.
49. Verzijl HTFM, van der Zwaag B, Lammens M, Donkelaar HJ ten, Padberg GW. The neuropathology of hereditary congenital facial palsy vs Möbius syndrome. *Neurology*. 2005;64:649–53. doi:10.1212/01.WNL.0000151848.65094.55.
50. Kremer H, Kuyt LP, van den Helm B, van Reen M, Leunissen JA, Hamel BC, et al. Localization of a gene for Möbius syndrome to chromosome 3q by linkage analysis in a Dutch family. *Hum Mol Genet*. 1996;5:1367–71.
51. Möbius PJ. About congenital bilateral abducens and facialis palsy (1888). *Strabismus*. 2008;16:39–44. doi:10.1080/09273970801946737.
52. Picciolini O, Porro M, Cattaneo E, Castelletti S, Masera G, Mosca F, Bedeschi MF. Moebius syndrome: clinical features, diagnosis, management and early intervention. *Ital J Pediatr*. 2016;42:56. doi:10.1186/s13052-016-0256-5.
53. Rollnick BR, Kaye CI, Nagatoshi K, Hauck W, Martin AO. Oculoauriculovertebral dysplasia and variants: phenotypic characteristics of 294 patients. *Am J Med Genet*. 1987;26:361–75. doi:10.1002/ajmg.1320260215.
54. Carvalho GJ, Song CS, Vargervik K, Lalwani AK. Auditory and facial nerve dysfunction in patients with hemifacial microsomia. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1999;125:209–12.
55. Li Q, Zhou X, Wang Y, Qian J, Zhang Q. Facial Paralysis in Patients With Hemifacial Microsomia: Frequency, Distribution, and Association With Other OMENS Abnormalities. *J Craniofac Surg*. 2018;29:1633–7. doi:10.1097/SCS.0000000000004618.
56. Gutowski NJ, Bosley TM, Engle EC. 110th ENMC International Workshop: the congenital cranial dysinnervation disorders (CCDDs). Naarden, The Netherlands, 25-27 October, 2002. *Neuromuscul Disord*. 2003;13:573–8.
57. Lacombe D. Facial palsy and cranial nerve abnormalities in CHARGE association. *Am J Med Genet*. 1994;49:351–3. doi:10.1002/ajmg.1320490324.
58. Pape KE, Pickering D. Asymmetric crying facies: an index of other congenital anomalies. *J Pediatr*. 1972;81:21–30.
59. Sapin SO, Miller AA, Bass HN. Neonatal asymmetric crying facies: a new look at an old problem. *Clin Pediatr (Phila)*. 2005;44:109–19. doi:10.1177/000992280504400202.
60. Falco NA, Eriksson E. Facial nerve palsy in the newborn: incidence and outcome. *Plast Reconstr Surg*. 1990;85:1–4.
61. Hepner WR. Some observations on facial paresis in the newborn infant: etiology and incidence. *Pediatrics*. 1951;8:494–7.
62. Rubin A. Birth Injuries: Incidence, Mechanisms, and End Results. *Obstet Gynecol*. 1964;23:218–21.
63. Levine MG, Holroyde J, Woods JR, Siddiqi TA, Scott M, Miodovnik M. Birth trauma: incidence and predisposing factors. *Obstet Gynecol*. 1984;63:792–5.
64. Odebode TO, Ologe FE. Facial nerve palsy after head injury: Case incidence, causes, clinical profile and outcome. *J Trauma*. 2006;61:388–91. doi:10.1097/01.ta.0000224140.26660.5c.

65. Ulug T, Arif Ulubil S. Management of facial paralysis in temporal bone fractures: a prospective study analyzing 11 operated fractures. *Am J Otolaryngol*. 2005;26:230–8.
66. Yetiser S, Hidir Y, Gonul E. Facial nerve problems and hearing loss in patients with temporal bone fractures: demographic data. *J Trauma*. 2008;65:1314–20. doi:10.1097/TA.0b013e3180eead57.
67. Yoon J, Kim H, Yoon E-S, Park S-H, Lee B-I. The Influence of Dissection Range of the Facial Nerve on Transient Postoperative Facial Palsy in Mandibular Condyle Fractures. *J Oral Maxillofac Surg*. 2019;77:330–7. doi:10.1016/j.joms.2018.09.021.
68. Bron LP, O'Brien CJ. Facial nerve function after parotidectomy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1997;123:1091–6.
69. Musani MA, Zafar A, Suhail Z, Malik S, Mirza D. Facial nerve morbidity following surgery for benign parotid tumours. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2014;24:569–72.
70. Yuan X, Gao Z, Jiang H, Yang H, Lv W, Wang Z, et al. Predictors of facial palsy after surgery for benign parotid disease: multivariate analysis of 626 operations. *Head Neck*. 2009;31:1588–92. doi:10.1002/hed.21134.
71. Ryzenman JM, Pensak ML, Tew JM. Facial paralysis and surgical rehabilitation: a quality of life analysis in a cohort of 1,595 patients after acoustic neuroma surgery. *Otol Neurotol*. 2005;26:516–21; discussion 521.
72. Marouf R, Noudel R, Roche P-H. Facial nerve outcome after microsurgical resection of vestibular schwannoma. *Prog Neurol Surg*. 2008;21:103–7. doi:10.1159/000156714.
73. Sampath P, Holliday MJ, Brem H, Niparko JK, Long DM. Facial nerve injury in acoustic neuroma (vestibular schwannoma) surgery: etiology and prevention. *J Neurosurg*. 1997;87:60–6. doi:10.3171/jns.1997.87.1.0060.
74. Terzis JK, Konofaos P. Experience with 60 adult patients with facial paralysis secondary to tumor extirpation. *Plast Reconstr Surg*. 2012;130:51e-66e. doi:10.1097/PRS.0b013e318254b149.
75. Divi V, Deschler DG. Re-animation and rehabilitation of the paralyzed face in head and neck cancer patients. *Clin Anat*. 2012;25:99–107. doi:10.1002/ca.21286.
76. Fritz M, Rolfes BN. Management of Facial Paralysis due to Extracranial Tumors. *Facial Plast Surg*. 2015;31:110–6. doi:10.1055/s-0035-1549045.
77. Wang A, Jankovic J. Hemifacial spasm: Clinical findings and treatment. *Muscle Nerve*. 1998;21:1740–7. doi:10.1002/(SICI)1097-4598(199812)21:12<1740::AID-MUS17>3.0.CO;2-V.
78. Rubin LR, editor. *The paralyzed face*. St. Louis: Mosby-Year Book; 1991.
79. Placheta E, Tzou C-HJ, Hold A, Pona I, Frey M. Facial synkinesia before and after surgical reanimation of the paralyzed face. *Plast Reconstr Surg*. 2014;133:842e-851e. doi:10.1097/PRS.0000000000000218.
80. Bylund N, Jansson D, Enghag S, Berg T, Marsk E, Hultcrantz M, et al. Synkinesis in Bell's palsy in a randomised controlled trial. *Clin Otolaryngol*. 2017;42:673–80. doi:10.1111/coa.12799.
81. Rahman I, Sadiq SA. Ophthalmic management of facial nerve palsy: a review. *Surv Ophthalmol*. 2007;52:121–44. doi:10.1016/j.survophthal.2006.12.009.
82. Sohrab M, Abugo U, Grant M, Merbs S. Management of the eye in facial paralysis. *Facial Plast Surg*. 2015;31:140–4. doi:10.1055/s-0035-1549292.



83. House JW, Brackmann DE. Facial nerve grading system. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1985;93:146–7. doi:10.1177/019459988509300202.
84. Ross BG, Fradet G, Nedzelski JM. Development of a sensitive clinical facial grading system. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1996;114:380–6. doi:10.1016/S0194-59989670206-1.
85. Sargent EW, Fadhli OA, Cohen RS. Measurement of Facial Movement With Computer Software. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998;124:313. doi:10.1001/archotol.124.3.313.
86. Hontanilla B, Marre D, Cabello A. Cross-face nerve grafting for reanimation of incomplete facial paralysis: quantitative outcomes using the FACIAL CLIMA system and patient satisfaction. *J Reconstr Microsurg.* 2014;30:25–30. doi:10.1055/s-0033-1349347.
87. Santosa KB, Fattah A, Gavilán J, Hadlock TA, Snyder-Warwick AK. Photographic Standards for Patients With Facial Palsy and Recommendations by Members of the Sir Charles Bell Society. *JAMA Facial Plast Surg.* 2017;19:275–81. doi:10.1001/jamafacial.2016.1883.
88. Tzou C-HJ, Chuang DC-C, Chen H-H. Facial paralysis grading system: a new and simple smile excursion score for evaluating facial reanimation surgery. *Ann Plast Surg.* 2015;74:210–3. doi:10.1097/SAP.0b013e318295dec2.
89. Vrabec JT, Backous DD, Djalilian HR, Gidley PW, Leonetti JP, Marzo SJ, et al. Facial Nerve Grading System 2.0. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009;140:445–50. doi:10.1016/j.otohns.2008.12.031.
90. Fattah AY, Gavilan J, Hadlock TA, Marcus JR, Marres H, Nduka C, et al. Survey of methods of facial palsy documentation in use by members of the Sir Charles Bell Society. *Laryngoscope.* 2014;124:2247–51. doi:10.1002/lary.24636.
91. Kahn JB, Gliklich RE, Boyev KP, Stewart MG, Metson RB, McKenna MJ. Validation of a patient-graded instrument for facial nerve paralysis: the FaCE scale. *Laryngoscope.* 2001;111:387–98. doi:10.1097/00005537-200103000-00005.
92. VanSwearingen JM, Brach JS. The Facial Disability Index: reliability and validity of a disability assessment instrument for disorders of the facial neuromuscular system. *Phys Ther.* 1996;76:1288-98; discussion 1298-300.
93. Volk GF, Steigerwald F, Vitek P, Finkensieper M, Kreysa H, Guntinas-Lichius O. Facial Disability Index und Facial Clinimetric Evaluation Skala: Validierung der Deutschen Versionen. [Facial Disability Index and Facial Clinimetric Evaluation Scale: validation of the German versions]. *Laryngorhinootologie.* 2015;94:163–8. doi:10.1055/s-0034-1381999.
94. Banks CA, Bhama PK, Park J, Hadlock CR, Hadlock TA. Clinician-Graded Electronic Facial Paralysis Assessment: The eFACE. *Plast Reconstr Surg.* 2015;136:223e-230e. doi:10.1097/PRS.0000000000001447.
95. Banks CA, Jowett N, Azizzadeh B, Beurskens C, Bhama P, Borschel G, et al. Worldwide Testing of the eFACE Facial Nerve Clinician-Graded Scale. *Plast Reconstr Surg.* 2017;139:491e-498e. doi:10.1097/PRS.0000000000002954.
96. Dusseldorp JR, van Veen MM, Mohan S, Hadlock TA. Outcome Tracking in Facial Palsy. *Otolaryngol Clin North Am.* 2018;51:1033–50. doi:10.1016/j.otc.2018.07.003.

97. McCaul JA, Cascarini L, Godden D, Coombes D, Brennan PA, Kerawala CJ. Evidence based management of Bell's palsy. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2014;52:387–91. doi:10.1016/j.bjoms.2014.03.001.
98. Terzis JK, Olivares FS. Long-term outcomes of free-muscle transfer for smile restoration in adults. *Plast Reconstr Surg.* 2009;123:877–88. doi:10.1097/PRS.0b013e31819ba316.
99. Cha CI, Hong CK, Park MS, Yeo SG. Comparison of facial nerve paralysis in adults and children. *Yonsei Med J.* 2008;49:725–34. doi:10.3349/ymj.2008.49.5.725.
100. Myckatyn TM, Mackinnon SE. The surgical management of facial nerve injury. *Clin Plast Surg.* 2003;30:307–18.
101. Gordin E, Lee TS, Ducic Y, Arnaoutakis D. Facial nerve trauma: evaluation and considerations in management. *Craniomaxillofac Trauma Reconstr.* 2015;8:1–13. doi:10.1055/s-0034-1372522.
102. Fattah A, Borschel GH, Manktelow RT, Bezuhy M, Zuker RM. Facial palsy and reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2012;129:340e-352e.
103. Klebuc MJA. Facial reanimation using the masseter-to-facial nerve transfer. *Plast Reconstr Surg.* 2011;127:1909–15. doi:10.1097/PRS.0b013e31820e9138.
104. Biglioli F, Frigerio A, Colombo V, Colletti G, Rabbiosi D, Mortini P, et al. Masseteric-facial nerve anastomosis for early facial reanimation. *J Craniomaxillofac Surg.* 2012;40:149–55.
105. Zhang S, Hembd A, Ching CW, Tolley P, Rozen SM. Early Masseter to Facial Nerve Transfer May Improve Smile Excursion in Facial Paralysis. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2018;6:e2023. doi:10.1097/GOX.0000000000002023.
106. Zuker RM. Facial paralysis and the role of free muscle transplantation. *Ann Chir Plast Esthet.* 2015;60:420–9.
107. Thiele J, Bannasch H, Stark GB, Eisenhardt SU. Single-stage dynamic reanimation of the smile in irreversible facial paralysis by free functional muscle transfer. *J Vis Exp* 2015. doi:10.3791/52386.
108. Manktelow RT, Tomat LR, Zuker RM, Chang M. Smile reconstruction in adults with free muscle transfer innervated by the masseter motor nerve: effectiveness and cerebral adaptation. *Plast Reconstr Surg.* 2006;118:885–99. doi:10.1097/01.prs.0000232195.20293.bd.
109. Sittel C, Stennert E. Prognostic value of electromyography in acute peripheral facial nerve palsy. *Otol Neurotol.* 2001;22:100–4.
110. Murphey AW, Clinkscales WB, Oyer SL. Masseteric Nerve Transfer for Facial Nerve Paralysis: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Facial Plast Surg.* 2018;20:104–10. doi:10.1001/jamafacial.2017.1780.
111. Spira M. Anastomosis of masseteric nerve to lower division of facial nerve for correction of lower facial paralysis. Preliminary report. *Plast Reconstr Surg.* 1978;61:330–4. doi:10.1097/00006534-197803000-00004.
112. Klebuc M. The evolving role of the masseter-to-facial (V-VII) nerve transfer for rehabilitation of the paralyzed face. *Ann Chir Plast Esthet.* 2015;60:436–41. doi:10.1016/j.anplas.2015.08.003.
113. Dauwe PB, Hembd A, La Concha-Blankenagel E de, Saba S, White C, Cardenas-Mejia A, Rozen SM. The Deep Temporal Nerve Transfer: An Anatomical Feasibility Study and Implications for Upper Facial Reanimation. *Plast Reconstr Surg.* 2016;138:498e-505e.

- 
114. Placheta E, Tinhofer I, Schmid M, Reissig LF, Pona I, Weninger W, et al. The Spinal Accessory Nerve for Functional Muscle Innervation in Facial Reanimation Surgery: An Anatomical and Histomorphometric Study. *Ann Plast Surg.* 2016;77:640–4. doi:10.1097/SAP.0000000000000891.
115. Terzis JK, Tzafetta K. The "babysitter" procedure: minihypoglossal to facial nerve transfer and cross-facial nerve grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2009;123:865–76. doi:10.1097/PRS.0b013e31819ba4bb.
116. Rayment R, Poole MD, Rushworth G. Cross-facial nerve transplants: why are spontaneous smiles not restored? *British Journal of Plastic Surgery.* 1987;40:592–7. doi:10.1016/0007-1226(87)90153-6.
117. Faria JCM, Scopel GP, Busnardo FF, Ferreira MC. Nerve sources for facial reanimation with muscle transplant in patients with unilateral facial palsy: clinical analysis of 3 techniques. *Ann Plast Surg.* 2007;59:87–91. doi:10.1097/01.sap.0000252042.58200.c3.
118. Anderl H. Cross-face nerve transplantation in facial palsy. *Proc R Soc Med.* 1976;69:781–3.
119. Klebuc M, Shenaq SM. Donor nerve selection in facial reanimation surgery. *Semin Plast Surg.* 2004;18:53–60. doi:10.1055/s-2004-823124.
120. Scaramella LF. Anastomosis between the two facial nerves. *Laryngoscope.* 1975;85:1359–66. doi:10.1288/00005537-197508000-00012.
121. Scaramella LF. Cross-face facial nerve anastomosis: historical notes. *Ear Nose Throat J.* 1996;75:343, 347-52, 354.
122. Freilinger G. A new technique to correct facial paralysis. *Plast Reconstr Surg.* 1975;56:44–8.
123. Roy M, Corkum JP, Shah PS, Borschel GH, Ho ES, Zuker RM, Davidge KM. Effectiveness and safety of the use of gracilis muscle for dynamic smile restoration in facial paralysis: A systematic review and meta-analysis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2019;72:1254–64. doi:10.1016/j.bjps.2019.05.027.
124. Lin C-H, Wallace C, Liao C-T. Functioning free gracilis myocutaneous flap transfer provides a reliable single-stage facial reconstruction and reanimation following tumor ablation. *Plast Reconstr Surg.* 2011;128:687–96. doi:10.1097/PRS.0b013e318221db14.
125. Harrison DH, Grobbelaar AO. Pectoralis minor muscle transfer for unilateral facial palsy reanimation: an experience of 35 years and 637 cases. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2012;65:845–50. doi:10.1016/j.bjps.2012.01.024.
126. Chong LSH, Eviston TJ, Ashford B, Ebrahimi A, Clark JR. Single innervated segmented vastus lateralis for midfacial reanimation during radical parotidectomy. *Head Neck.* 2017;39:602–4. doi:10.1002/hed.24668.
127. Lifchez SD, Sanger JR, Godat DM, Recinos RF, LoGiudice JA, Yan J-G. The serratus anterior subslip: anatomy and implications for facial and hand reanimation. *Plast Reconstr Surg.* 2004;114:1068–76. doi:10.1097/01.prs.0000135327.92121.c5.
128. Biglioli F, Frigerio A, Rabbiosi D, Brusati R. Single-stage facial reanimation in the surgical treatment of unilateral established facial paralysis. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124:124–33. doi:10.1097/PRS.0b013e3181aa0e2b.

- 
129. Biglioli F, Zago M, Allevi F, Ciprandi D, Dell'Aversana Orabona G, Pucciarelli V, et al. Reanimation of the paralyzed lids by cross-face nerve graft and platysma transfer. *J Craniomaxillofac Surg*. 2018;46:521–6. doi:10.1016/j.jcms.2017.12.022.
130. Guelinckx PJ. Blink Restoration in Long-standing Facial Paralysis: Use of Free Neurovascular Platysma Transfer. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2018;6:e1939. doi:10.1097/GOX.0000000000001939.
131. Hontanilla B, Marre D, Cabello Á. Cross-face neurotized platysmal muscular graft for upper eyelid reanimation: an anatomic feasibility study. *J Craniofac Surg*. 2014;25:623–5. doi:10.1097/SCS.0000000000000503.
132. Nassif T, Yung Chia C. Neurotized Platysma Graft. *Plast Reconstr Surg*. 2019;144:1061e-1070e.
133. Rozen SM. Facial Reanimation: Basic Surgical Tools and Creation of an Effective Toolbox for Treating Patients with Facial Paralysis: Part B. Nerve Transfer Combined with Cross-Facial Nerve Grafting in the Acute Facial Palsy Patient. *Plast Reconstr Surg*. 2017;139:725–7. doi:10.1097/PRS.00000000000003128.
134. Ozmen OA, Falcioni M, Lauda L, Sanna M. Outcomes of facial nerve grafting in 155 cases: predictive value of history and preoperative function. *Otol Neurotol*. 2011;32:1341–6. doi:10.1097/MAO.0b013e31822e952d.
135. Biglioli F, Colombo V, Tarabbia F, Autelitano L, Rabbiosi D, Colletti G, et al. Recovery of emotional smiling function in free-flap facial reanimation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012;70:2413–8. doi:10.1016/j.joms.2011.11.031.
136. Ghali S, MacQuillan A, Grobbelaar AO. Reanimation of the middle and lower face in facial paralysis: review of the literature and personal approach. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011;64:423–31.
137. Chuang DC-C, Lu JC-Y, Chang TN-J, Laurence VG. Comparison of Functional Results After Cross-Face Nerve Graft-, Spinal Accessory Nerve-, and Masseter Nerve-Innervated Gracilis for Facial Paralysis Reconstruction: The Chang Gung Experience. *Ann Plast Surg* 2018. doi:10.1097/SAP.0000000000001327.
138. Dusseldorp JR, van Veen MM, Guarin DL, Quatela O, Jowett N, Hadlock TA. Spontaneity Assessment in Dually Innervated Gracilis Smile Reanimation Surgery. *JAMA Facial Plast Surg*. 2019;21:551–7. doi:10.1001/jamafacial.2019.1090.
139. Matsumine H, Kamei W, Fujii K, Shimizu M, Osada A, Sakurai H. One-stage reconstruction by dual-innervated double muscle flap transplantation with the neural interconnection between the ipsilateral masseter and contralateral facial nerve for reanimating established facial paralysis: A report of 2 cases. *Microsurgery* 2018. doi:10.1002/micr.30397.
140. Buchthal F, Kuhl V. Nerve conduction, tactile sensibility, and the electromyogram after suture or compression of peripheral nerve: a longitudinal study in man. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1979;42:436–51. doi:10.1136/jnnp.42.5.436.
141. Sansone JM, Gatzke AM, Aslinia F, Rolak LA, Yale SH. Jules Tinel (1879-1952) and Paul Hoffman (1884-1962). *Clin Med Res*. 2006;4:85–9.
142. Ray WZ, Chang J, Hawasli A, Wilson TJ, Yang L. Motor Nerve Transfers: A Comprehensive Review. *Neurosurgery*. 2016;78:1–26. doi:10.1227/NEU.0000000000001029.

- 
143. Terzis JK, Olivares FS. Long-term outcomes of free muscle transfer for smile restoration in children. *Plast Reconstr Surg*. 2009;123:543–55. doi:10.1097/PRS.0b013e318196b9d9.
144. Catapano J, Demsey DRB, Ho ES, Zuker RM, Borschel GH. Cross-Face Nerve Grafting with Infraorbital Nerve Pathway Protection: Anatomic and Histomorphometric Feasibility Study. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2016;4:e1037. doi:10.1097/GOX.0000000000001037.
145. Gousheh J, Arasteh E. Treatment of facial paralysis: dynamic reanimation of spontaneous facial expression—apropos of 655 patients. *Plast Reconstr Surg*. 2011;128:693e-703e. doi:10.1097/PRS.0b013e318230c58f.
146. Chen G, Wang W, Wang W, Ding W, Yang X. Symmetry Restoration at Rest after Masseter-to-Facial Nerve Transfer: Is It as Efficient as Smile Reanimation? *Plast Reconstr Surg*. 2017;140:793–801. doi:10.1097/PRS.0000000000003698.
147. Mowlavi A, Wilhelmi BJ. The Extended SMAS Facelift. *Ann Plast Surg*. 2004;52:353–7. doi:10.1097/01.sap.0000099712.80882.6b.
148. Dorafshar AH, Borsuk DE, Bojovic B, Brown EN, Manktelow RT, Zuker RM, et al. Surface anatomy of the middle division of the facial nerve: Zuker's point. *Plast Reconstr Surg*. 2013;131:253–7. doi:10.1097/PRS.0b013e3182778753.
149. Harris WD. Topography of the Facial Nerve. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 1968;88:264–7. doi:10.1001/archotol.1968.00770010266010.
150. Joseph ST, Sharankumar S, Sandya CJ, Sivakumar V, Sherry P, Krishnakumar T, Subramania I. Easy and Safe Method for Facial Nerve Identification in Parotid Surgery. *J Neurol Surg B Skull Base*. 2015;76:426–31. doi:10.1055/s-0035-1549001.
151. Kochhar A, Larian B, Azizzadeh B. Facial Nerve and Parotid Gland Anatomy. *Otolaryngol Clin North Am*. 2016;49:273–84. doi:10.1016/j.otc.2015.10.002.
152. Alghoul M, Bitik O, McBride J, Zins JE. Relationship of the zygomatic facial nerve to the retaining ligaments of the face: the Sub-SMAS danger zone. *Plast Reconstr Surg*. 2013;131:245e-252e. doi:10.1097/PRS.0b013e3182789c5c.
153. Kehrer A, Engelmann S, Bauer R, Taeger C, Grechenig S, Kehrer M, et al. The nerve supply of zygomaticus major: Variability and distinguishing zygomatic from buccal facial nerve branches. *Clin Anat*. 2018;31:560–5. doi:10.1002/ca.23044.
154. Strauch B, Goldberg N, Herman CK. Sural nerve harvest: anatomy and technique. *J Reconstr Microsurg*. 2005;21:133–6. doi:10.1055/s-2005-864847.
155. Millesi H. Techniques for nerve grafting. *Hand Clin*. 2000;16:73-91, viii.
156. Millesi H. Nerve suture and grafting to restore the extratemporal facial nerve. *Clin Plast Surg*. 1979;6:333–41.
157. Millesi H. Peripheral nerve repair: terminology, questions, and facts. *J Reconstr Microsurg*. 1985;2:21–31. doi:10.1055/s-2007-1007042.
158. Lundborg G. Nerve regeneration and repair: A review. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1987;58:145–69. doi:10.3109/17453678709146461.
159. Rozen SM. Facial Reanimation: Basic Surgical Tools and Creation of an Effective Toolbox for Treating Patients with Facial Paralysis. Part A: Functional Muscle Transfers in the Long-Term Facial Palsy Patient. *Plast Reconstr Surg*. 2017;139:469–71. doi:10.1097/PRS.0000000000003025.

- 
160. Chuang DC-C. Free tissue transfer for the treatment of facial paralysis. *Facial Plast Surg.* 2008;24:194–203. doi:10.1055/s-2008-1075834.
161. MacQuillan AHF, Grobbelaar AO. Functional muscle transfer and the variance of reinnervating axonal load: part II. Peripheral nerves. *Plast Reconstr Surg.* 2008;121:1708–15.
162. MacQuillan AHF, Grobbelaar AO. Functional muscle transfer and the variance of reinnervating axonal load: part I. The facial nerve. *Plast Reconstr Surg.* 2008;121:1570–7.
163. Nakajima H, Imanishi N, Aiso S. Facial artery in the upper lip and nose: anatomy and a clinical application. *Plast Reconstr Surg.* 2002;109:855-61; discussion 862-3.
164. Johnstone BR, Coombs CJ, Dowling GJ. Intraoperative nerve stimulation: a simple, effective, and inexpensive alternative to standard devices. *J Hand Surg Am.* 2007;32:1296–8. doi:10.1016/j.jhssa.2007.07.022.
165. Frey M, Happak W, Girsch W, Bittner RE, Gruber H. Histomorphometric studies in patients with facial palsy treated by functional muscle transplantation: new aspects for the surgical concept. *Ann Plast Surg.* 1991;26:370–9.
166. Thanos PK, Terzis JK. A histomorphometric analysis of the cross-facial nerve graft in the treatment of facial paralysis. *J Reconstr Microsurg.* 1996;12:375–82.
167. Jacobs JM, Laing JHE, Harrison DH. Regeneration through a long nerve graft used in the correction of facial palsy. *Brain.* 1996;119:271–9. doi:10.1093/brain/119.1.271.
168. Cederna PS, Youssef MK, Asato H, Urbanchek MG, Kuzon WM. Skeletal muscle reinnervation by reduced axonal numbers results in whole muscle force deficits. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105:2003-9; discussion 2010-1.
169. Harrison DH. The pectoralis minor vascularized muscle graft for the treatment of unilateral facial palsy. *Plast Reconstr Surg.* 1985;75:206–16.
170. Snyder-Warwick AK, Fattah AY, Zive L, Halliday W, Borschel GH, Zuker RM. The degree of facial movement following microvascular muscle transfer in pediatric facial reanimation depends on donor motor nerve axonal density. *Plast Reconstr Surg.* 2015;135:370e-81e. doi:10.1097/PRS.0000000000000860.
171. Terzis JK, Wang W, Zhao Y. Effect of axonal load on the functional and aesthetic outcomes of the cross-facial nerve graft procedure for facial reanimation. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124:1499–512. doi:10.1097/PRS.0b013e3181babb93.
172. Wang W, Kang S, Coto Hernández I, Jowett N. A Rapid Protocol for Intraoperative Assessment of Peripheral Nerve Myelinated Axon Count and its Application to Cross-Facial Nerve Grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2018.
173. Hembd A, Nagarkar PA, Saba S, Wan D, Kutz JW, Isaacson B, et al. Facial Nerve Axonal Analysis and Anatomical Localization in Donor Nerve: Optimizing Axonal Load for Cross-Facial Nerve Grafting in Facial Reanimation. *Plast Reconstr Surg.* 2017;139:177–83.
174. Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K. Prometheus - LernAtlas der Anatomie: Kopf, Hals und Neuroanatomie. 2nd ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2009.
175. Rohen JW, Yokochi C, Lütjen-Drecoll E. Anatomie: Der fotografische Atlas der systematischen und topografischen Anatomie des Menschen. 7th ed. Stuttgart: Schattauer; 2011.

- 
176. Gosain AK, Sewall SR, Yousif NJ. The temporal branch of the facial nerve: how reliably can we predict its path? *Plast Reconstr Surg.* 1997;99:1224-33; discussion 1234-6. doi:10.1097/00006534-199704001-00003.
177. Ito S, Karnovsky M. J. Formaldehyde-glutaraldehyde fixatives containing trinitro compounds. *Journal of Cell Biology.* 1968:168a (abstract).
178. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods.* 2012;9:676–82. doi:10.1038/nmeth.2019.
179. Engelmann S, Ruewe M, Geis S, Taeger CD, Kehrer M, Tamm ER, et al. Rapid and Precise Semi-Automatic Axon Quantification in Human Peripheral Nerves. *Sci Rep.* 2020;10:1935. doi:10.1038/s41598-020-58917-4.
180. Youden WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer.* 1950;3:32–5. doi:10.1002/1097-0142(1950)3:1<32::aid-cnrc2820030106>3.0.co;2-3.
181. Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences.* 2nd ed. Hoboken: Taylor and Francis; 1988.
182. Tzafetta K, Terzis JK. Essays on the facial nerve: Part I. Microanatomy. *Plast Reconstr Surg.* 2010;125:879–89. doi:10.1097/PRS.0b013e3181ccdc78.
183. Diamond M, Wartmann CT, Tubbs RS, Shoja MM, Cohen-Gadol AA, Loukas M. Peripheral facial nerve communications and their clinical implications. *Clin Anat.* 2011;24:10–8. doi:10.1002/ca.21072.
184. R. Shane Tubbs, Mohammadali M. Shoja and Marios Loukas. *Bergman's Comprehensive Encyclopedia of Human Anatomic Variation.*
185. Banks CA, Jowett N, Iacolucci C, Heiser A, Hadlock TA. Five-Year Experience with Fifth-to-Seventh Nerve Transfer for Smile. *Plast Reconstr Surg.* 2019;143:1060e-1071e.
186. Brenner E, Schoeller T. Masseteric nerve: A possible donor for facial nerve anastomosis? *Clin. Anat.* 1998;11:396–400. doi:10.1002/(SICI)1098-2353(1998)11:6<396::AID-CA5>3.0.CO;2-8.
187. Terzis JK, Berardi L, editors. *Clinics in Plastic Surgery: Peripheral Nerve Microsurgery:* W. B. Saunders Company; 1984.
188. Beger O, Karagül Mİ, Koç T, Kayan G, Cengiz A, Yılmaz ŞN, Olgunus ZK. Effects of different cadaver preservation methods on muscles and tendons: a morphometric, biomechanical and histological study. *Anat Sci Int.* 2020;95:174–89. doi:10.1007/s12565-019-00508-z.
189. Kehrer A, Ruewe M, Engelmann S, Anker A, Taeger C, Geis S, Prantl L. From Bench-to-Bedside: Implications for Facial Reanimation Surgery gained from Axonal Load Quantification and Nerve Morphometry of a Cadaver Study in 106 Facial Halves. *Annual Meeting of the American Society for Reconstructive Microsurgery in Fort Lauderdale;* 12.01.2020.
190. Dyck PJ, Thomas PK. *Peripheral neuropathy.* 4th ed. Philadelphia: Saunders; 2005.
191. Kehrer A, Engelmann S, Ruewe M, Geis S, Taeger C, Kehrer M, et al. Perfusion maintains functional potential in denervated mimic muscles in early persistent facial paralysis which requires early microsurgical treatment - the histoanatomic basis of the extratemporal facial nerve trunk assessing axonal load in the context of possible nerve transfers. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;70:1–13. doi:10.3233/CH-189905.

- 
- 192.Hembd A, Nagarkar P, Perez J, Gassman A, Tolley P, Reisch J, et al. Correlation between Facial Nerve Axonal Load and Age and Its Relevance to Facial Reanimation. *Plast Reconstr Surg.* 2017;139:1459–64.
- 193.Kang WS, Hyun SM, Lim HK, Shim BS, Cho JH, Lee K-S. Normative diameters and effects of aging on the cochlear and facial nerves in normal-hearing Korean ears using 3.0-tesla magnetic resonance imaging. *Laryngoscope.* 2012;122:1109–14.
- 194.Li S, Guo R-J, Liang X-N, Wu Y, Cao W, Zhang Z-P, et al. High-frequency ultrasound as an adjunct to neural electrophysiology: Evaluation and prognosis of Bell's palsy. *Exp Ther Med.* 2016;11:77–82. doi:10.3892/etm.2015.2878.
- 195.Güerrissi JO, Gil Miranda MF. Intraneural topography of the extratemporal facial nerve: microsurgical nerve reconstruction. *J Craniofac Surg.* 2007;18:578–85.
- 196.Salame K, Ouaknine GER, Arensburg B, Rochkind S. Microsurgical anatomy of the facial nerve trunk. *Clin Anat.* 2002;15:93–9.
- 197.Tawfik EA. Sonographic characteristics of the facial nerve in healthy volunteers. *Muscle Nerve.* 2015;52:767–71. doi:10.1002/mus.24627.
- 198.Lo YL, Fook-Chong S, Leoh TH, Dan YF, Lee MP, Gan HY, Chan LL. High-resolution ultrasound in the evaluation and prognosis of Bell's palsy. *Eur J Neurol.* 2010;17:885–9. doi:10.1111/j.1468-1331.2010.02950.x.
- 199.Kondo Y, Moriyama H, Hirai S, Qu N, Itoh M. The relationship between Bell's palsy and morphometric aspects of the facial nerve. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2012;269:1691–5. doi:10.1007/s00405-011-1835-0.
- 200.Kronlage M, Schwehr V, Schwarz D, Godel T, Heiland S, Bendszus M, Bäumer P. Magnetic Resonance Neurography : Normal Values and Demographic Determinants of Nerve Caliber and T2 Relaxometry in 60 healthy individuals. *Clin Neuroradiol* 2017. doi:10.1007/s00062-017-0633-5.
- 201.Lasso JM, Marañillo E, Martínez-Pascual P, Goñi E, Vazquez T, Sanudo J, Pascual-Font A. Anatomical study of the masseteric and obturator nerves: Application to face transplant and reanimation procedures. *Clin. Anat.* 2019;32:612–7. doi:10.1002/ca.23357.
- 202.Goh T, Ang CH, Hwee J, Tan B-K. Defining the Optimal Segment for Neurotization-Axonal Mapping of Masseter Nerve for Facial Reanimation. *Ann Plast Surg.* 2016;77:450–5. doi:10.1097/SAP.0000000000000743.
- 203.Coombs CJ, Ek EW, Wu T, Cleland H, Leung MK. Masseteric-facial nerve coaptation--an alternative technique for facial nerve reinnervation. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009;62:1580–8. doi:10.1016/j.bjps.2008.05.046.
- 204.Borschel GH, Kawamura DH, Kasukurthi R, Hunter DA, Zuker RM, Woo AS. The motor nerve to the masseter muscle: an anatomic and histomorphometric study to facilitate its use in facial reanimation. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2012;65:363–6. doi:10.1016/j.bjps.2011.09.026.
- 205.Hontanilla B, Olivas J, Cabello Á, Marré D. Cross-Face Nerve Grafting versus Masseteric-to-Facial Nerve Transposition for Reanimation of Incomplete Facial Paralysis: A Comparative Study Using the FACIAL CLIMA Evaluating System. *Plast Reconstr Surg.* 2018;142:179e-191e. doi:10.1097/PRS.0000000000004612.



- 
206. Eisenhardt SU, Thiele JR, Stark GB, Bannasch H. Comparison of cross face nerve graft with masseteric nerve as donor nerves for free functional muscle transfers in facial reanimation surgery. [Comparison of cross face nerve graft with masseteric nerve as donor nerves for free functional muscle transfers in facial reanimation surgery]. *Handchir Mikrochir Plast Chir.* 2013;45:223–8. doi:10.1055/s-0033-1351327.
207. Bae Y-C, Zuker RM, Manktelow RT, Wade S. A comparison of commissure excursion following gracilis muscle transplantation for facial paralysis using a cross-face nerve graft versus the motor nerve to the masseter nerve. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117:2407–13. doi:10.1097/01.prs.0000218798.95027.21.
208. Hontanilla B, Cabello A. Spontaneity of smile after facial paralysis rehabilitation when using a non-facial donor nerve. *J Craniomaxillofac Surg.* 2016;44:1305–9. doi:10.1016/j.jcms.2016.06.031.
209. Mani GV, Shurey C, Green CJ. Is early vascularization of nerve grafts necessary? *J Hand Surg Br.* 1992;17:536–43.
210. Zhu Y, Liu S, Zhou S, Yu Z, Tian Z, Zhang C, Yang W. Vascularized versus nonvascularized facial nerve grafts using a new rabbit model. *Plast Reconstr Surg.* 2015;135:331e–9e. doi:10.1097/PRS.0000000000000992.
211. Kanaya F, Firrell J, Tsai TM, Breidenbach WC. Functional results of vascularized versus nonvascularized nerve grafting. *Plast Reconstr Surg.* 1992;89:924–30.
212. Kamei W, Matsumine H, Osaki H, Ueta Y, Tsunoda S, Shimizu M, et al. Axonal supercharged interpositional jump-graft with a hybrid artificial nerve conduit containing adipose-derived stem cells in facial nerve paresis rat model. *Microsurgery.* 2018;38:889–98. doi:10.1002/micr.30389.
213. Pereira LV, Bento RF, Cruz DB, Marchi C, Salomone R, Oiticicca J, et al. Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth (SHED) Differentiate in vivo and Promote Facial Nerve Regeneration. *Cell Transplant.* 2018;963689718809090. doi:10.1177/0963689718809090.
214. Moore AM, Wood MD, Chenard K, Hunter DA, Mackinnon SE, Sakiyama-Elbert SE, Borschel GH. Controlled delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor enhances motor nerve regeneration. *J Hand Surg Am.* 2010;35:2008–17. doi:10.1016/j.jhsa.2010.08.016.
215. Klein S, Vykoukal J, Felthaus O, Dienstknecht T, Prantl L. Collagen Type I Conduits for the Regeneration of Nerve Defects. *Materials (Basel)* 2016. doi:10.3390/ma9040219.
216. Klein S, Prantl L, Vykoukal J, Loibl M, Felthaus O. Differential Effects of Coating Materials on Viability and Migration of Schwann Cells. *Materials (Basel)* 2016. doi:10.3390/ma9030150.
217. Rozen S, Rodriguez-Lorenzo A, Audolfsson T, Wong C, Cheng A. Obturator nerve anatomy and relevance to one-stage facial reanimation: limitations of a retroperitoneal approach. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131:1057–64. doi:10.1097/PRS.0b013e3182865d47.
218. Rodríguez Lorenzo A, Morley S, Payne AP, Tollan CJ, Soutar DS. Anatomy of the motor nerve to the gracilis muscle and its implications in a one-stage microneurovascular gracilis transfer for facial reanimation. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63:54–8. doi:10.1016/j.bjps.2008.08.010.
219. Myles LM, Gilmour JA, Glasby MA. Effects of different methods of peripheral nerve repair on the number and distribution of muscle afferent neurons in rat dorsal root ganglion. *J Neurosurg.* 1992;77:457–62. doi:10.3171/jns.1992.77.3.0457.

- 
220. Inalöz SS, Ak HE, Vayla V, Akin M, Aslan A, Sari I, et al. Comparison of microsuturing to the use of tissue adhesives in anastomosing sciatic nerve cuts in rats. *Neurosurg Rev.* 1997;20:250–8. doi:10.1007/BF01105896.
221. Suri A, Mehta VS, Sarkar C. Microneural anastomosis with fibrin glue: an experimental study. *Neurol India.* 2002;50:23–6.
222. Menovsky T, Beek JF. Laser, fibrin glue, or suture repair of peripheral nerves: a comparative functional, histological, and morphometric study in the rat sciatic nerve. *J Neurosurg.* 2001;95:694–9. doi:10.3171/jns.2001.95.4.0694.
223. Povlsen B. A New Fibrin Seal in Primary Repair of Peripheral Nerves. *J Hand Surg Br.* 1994;19:43–7. doi:10.1016/0266-7681(94)90048-5.
224. Martins RS, Siqueira MG, Da Silva CF, Plese JPP. Overall assessment of regeneration in peripheral nerve lesion repair using fibrin glue, suture, or a combination of the 2 techniques in a rat model. Which is the ideal choice? *Surg Neurol.* 2005;64 Suppl 1:S1:10-6; discussion S1:16. doi:10.1016/j.surneu.2005.04.022.
225. Ornelas L, Padilla L, Di Silvio M, Schalch P, Esperante S, Infante RL, et al. Fibrin glue: an alternative technique for nerve coaptation--Part II. Nerve regeneration and histomorphometric assessment. *J Reconstr Microsurg.* 2006;22:123–8. doi:10.1055/s-2006-932507.
226. Sameem M, Wood TJ, Bain JR. A systematic review on the use of fibrin glue for peripheral nerve repair. *Plast Reconstr Surg.* 2011;127:2381–90. doi:10.1097/PRS.0b013e3182131cf5.
227. Zhu X, Wei H, Zhu H. Nerve wrap after end-to-end and tension-free neurorrhaphy attenuates neuropathic pain: A prospective study based on cohorts of digit replantation. *Sci Rep.* 2018;8:620. doi:10.1038/s41598-017-19134-8.
228. Childe JR, Regal S, Schimoler P, Kharlamov A, Miller MC, Tang P. Fibrin Glue Increases the Tensile Strength of Conduit-Assisted Primary Digital Nerve Repair. *Hand (N Y).* 2018;13:45–9. doi:10.1177/1558944717691131.
229. Al-Majed AA, Neumann CM, Brushart TM, Gordon T. Brief electrical stimulation promotes the speed and accuracy of motor axonal regeneration. *J Neurosci.* 2000;20:2602–8.
230. Brushart TM, Hoffman PN, Royall RM, Murinson BB, Witzel C, Gordon T. Electrical stimulation promotes motoneuron regeneration without increasing its speed or conditioning the neuron. *J Neurosci.* 2002;22:6631–8.
231. Gordon T. Electrical Stimulation to Enhance Axon Regeneration After Peripheral Nerve Injuries in Animal Models and Humans. *Neurotherapeutics.* 2016;13:295–310. doi:10.1007/s13311-015-0415-1.
232. Gordon T, English AW. Strategies to promote peripheral nerve regeneration: electrical stimulation and/or exercise. *Eur J Neurosci.* 2016;43:336–50. doi:10.1111/ejn.13005.
233. Gordon T, Eva P, Borschel GH. Delayed peripheral nerve repair: methods, including surgical 'cross-bridging' to promote nerve regeneration. *Neural Regen Res.* 2015;10:1540–4. doi:10.4103/1673-5374.167747.
234. Hendry JM, Alvarez-Veronesi MC, Snyder-Warwick A, Gordon T, Borschel GH. Side-To-Side Nerve Bridges Support Donor Axon Regeneration Into Chronically Denervated Nerves and Are Associated

---

With Characteristic Changes in Schwann Cell Phenotype. *Neurosurgery*. 2015;77:803–13. doi:10.1227/NEU.0000000000000898.

235. Placheta E, Wood MD, Lafontaine C, Liu EH, Hendry JM, Angelov DN, et al. Enhancement of facial nerve motoneuron regeneration through cross-face nerve grafts by adding end-to-side sensory axons. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135:460–71. doi:10.1097/PRS.0000000000000893.

## Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Priv.- Doz. Dr. Andreas Kehrer für das großartige Thema und die herausragende Betreuung bedanken. Sein permanenter Antrieb die Fazialisnervenforschung weiterzuentwickeln, hat mich dazu inspiriert auch selbst tief in die wissenschaftliche Forschung einzusteigen. Ohne ihn wären die vielen Publikationen, an denen ich mitarbeiten durfte und die Vorträge, die ich auf nationalen und internationalen Kongressen halten konnte, nicht möglich gewesen. Darüber hinaus vermittelte er mir in der Fazialisnervensprechstunde und bei den Operationen wertvolle klinische Fertigkeiten, von denen ich mein Leben lang profitieren werde. Ich bin unglaublich dankbar über diesen fundierten Grundstein meiner wissenschaftlichen und medizinischen Laufbahn.

Weiterhin danke ich Dr. Simon Engelmann für die freundschaftliche und erfolgreiche Zusammenarbeit. Mein Dank gilt außerdem dem Lehrstuhl für Humananatomie und Embryologie der Universität Regensburg für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und die Unterstützung durch Margit Schimmel, Angelika Pach und Silvia Babl.

Ich danke unserem Abteilungsleiter Herrn Prof. Dr. Dr. Lukas Prantl für die wissenschaftliche Unterstützung sowie Prof. Dr. Silvan Klein und Priv.- Doz. Dr. Alexandra Anker für zusätzlichen wissenschaftlichen Input, den ich als studentische Hilfskraft sammeln konnte. Florian Zeman vom Zentrum für Klinische Studien der Universitätsklinik Regensburg danke ich für seine immerwährende Hilfe bei statistischen Fragestellungen. Ich danke auch Birthe Thude für die geduldige Rechtschreibkorrektur dieser Arbeit. Mein Dank gilt außerdem Herrn Prof. Dr. Karl-Michael Schebesch für die Übernahme des Zweit-Gutachtens.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie, meinen Freunden und besonders meiner Freundin danken. Vor allem auch meinen Eltern Monika und Josef die mich immer unterstützt und mein Medizinstudium sowie die daraus resultierende Promotion überhaupt ermöglicht haben. Ohne sie alle wäre ich nicht da, wo ich bin.

Danke!