

**Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
der Universität Würzburg**

**Labor für morphologische Hirnforschung**

**Leiter: Prof. Dr. med. H. Heinsen**

**Direktor: Prof. Dr. med. J. Deckert**

**Computergestützte 3D-Rekonstruktionen**

**und stereologische Untersuchungen am Mandelkernkomplex**

**von normalen und pathologisch veränderten Gehirnen des Menschen**

**Inaugural – Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg**

**vorgelegt von**

**Stefan Josef Kircher**

**aus Molzbach**

**Würzburg, Juni 2006**

**Referent: Prof. Dr. med. Helmut Heinsen**

**Korreferentin: Prof. Dr. med. Esther Asan**

**Dekan: Prof. Dr. med. Georg Ertl**

**Tag der mündlichen Prüfung: 05.12.2006**

**Der Promovend ist Arzt**

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

<b>A) Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>B) Material und Methode.....</b>	<b>6</b>
1. Histologie.....	6
2. Computergestützte 3D-Rekonstruktion.....	8
2.1. Digitalisierung von Serienschnitten.....	8
2.2. Datenbearbeitung mit einem Bildbearbeitungsprogramm.....	10
2.3. Bearbeitung mit Amira.....	11
2.3.a. Kurzbeschreibung der Amirabearbeitung.....	11
2.3.b. Dreidimensionale Rekonstruktion der Schnittserie mit Amira.....	11
2.3.c. Kontrolle der Alignierung.....	16
2.3.d. Volumenberechnung.....	17
3. Stereologie der untersuchten Strukturen.....	19
3.1. Punktzählverfahren nach Chalkley.....	19
3.2. Zelldichtebestimmung.....	21
4. Nomenklatur.....	23
<b>C) Ergebnisse.....</b>	<b>24</b>
1. Topographie und Definition der Amygdalakerne.....	24
1.1. Lage der Amygdala in der linken Hemisphäre.....	24
1.2. Definition der Amygdalakerne nach dreidimensionaler Rekonstruktion.....	25
2. Ergebnisse der Kontrollfälle.....	26
2.1. Linker Mandelkern, weiblich, 65 Jahre (S.-Nr. 158397liro).....	26
2.2. Rechter Mandelkern, männlich, 28 Jahre (S.-Nr. 9183599rero).....	30
2.3. Linker Mandelkern, weiblich, 76 Jahre (S.-Nr. 15119699liro).....	33
3. Ergebnisse der pathologischen Fälle.....	36
3.1. Megalenzephalie, linker Mandelkern, männlich, 48 Jahre (S.-Nr. 711598liro).....	36
3.2. M. Little, linker Mandelkern, männlich, 65 Jahre (S.-Nr. 260102liro).....	38

3.3. Chorea Huntington, linker Mandelkern, männlich, 49 Jahre (S.-Nr. 264798liro).....	40
3.4. Chorea Huntington, rechter Mandelkern, männlich, 49 Jahre (S.-Nr. 264798rero).....	41
3.5. M. Alzheimer, linker Mandelkern, weiblich, 85 Jahre (S.-Nr. 265490liro)....	43
4. Zusammenfassender Ergebnisvergleich in Tabellen und Diagrammen.....	45
4.1. Die Kernvolumina nach Berechnung durch Amira und Schätzung mit dem Punktzählverfahren.....	45
4.2. Vergleich des Mandelkernvolumens mit Kortex- und Endhirnhirnvolumen..	45
<b>D) Diskussion.....</b>	<b>54</b>
1. Terminologie.....	54
2. Exogene Volumen und Zelldichte beeinflussende Faktoren.....	59
3. Biologische Faktoren mit Einfluss auf Volumen und Nervenzelldichte.....	60
4. Form und Volumen des Mandelkomplexes.....	61
4.1. Kontrollfälle.....	62
4.2. Megalenzephalie.....	67
4.3. M. Alzheimer.....	68
4.4. Chorea Huntington.....	72
4.5. M. Little.....	73
<b>E) Zusammenfassung.....</b>	<b>76</b>
<b>F) Literaturverzeichnis.....</b>	<b>79</b>

**Danksagung**

**Lebenslauf**

### **A) Einleitung**

Die Amygdala (syn. Corpus amygdaloideum) wurde aufgrund ihrer Form benannt nach dem griechischen Wort für Mandelkern. Die wissenschaftliche Erforschung der Amygdala begann im frühen 19. Jahrhundert, als Burdach im menschlichen Temporallappen eine mandelförmige graue Substanz entdeckte, der er den Namen Amygdala gab (Burdach, 1819).

Als fünfzig Jahre später mit der Entwicklung geeigneter Mikroskope auch die histologische Erforschung der Amygdala möglich wurde, erkannte man, dass die Amygdala ein heterogener Komplex aus unterschiedlichen Strukturen war, deren Einteilung, Anzahl, Klassifikation und Begrenzung bis heute kontrovers diskutiert bleiben.

Johnston (1923) führte die erste grobe bis heute allgemein gebräuchlichste grundsätzliche Beschreibung der Amygdala ein. Er unterschied eine primitive Gruppe von Kernen, die mit dem olfaktorischen System assoziiert ist (Nucleus centralis, Nucleus medialis und Nucleus corticalis) von einer phylogenetisch jüngeren Gruppe von Kernen (Nucleus lateralis und Nucleus basalis).

Mehler (1980), Price (1981) und Amaral (1982) konnten nachweisen, dass die phylogenetisch ältere corticomediale Kerngruppe mit phylogenetisch älteren Regionen des ZNS wie Hirnstamm, Bulbus olfactorius und Hypothalamus in Verbindung steht. Die phylogenetisch jüngere basolaterale Kerngruppe hingegen weist Verbindungen zum Frontal-, Temporal- und Inselcortex auf (Amaral, 1986) sowie zum dorsomedialen Thalamus und Striatum (Russchen, 1986), außerdem zum entorhinalen Kortex, Subiculum und zum Hippokampus (Saunders, 1988).

Von dieser Grundgliederung und Terminologie unterscheidet sich die sehr detaillierte Beschreibung der Anatomie der Amygdala in einer Studie von Brockhaus (1938). Dieser trennte nach rein morphologischen Gesichtspunkten den Mandelkernkomplex auf der Basis von zytoarchitektonischen und myeloarchitektonischen Untersuchungen in einen Hauptkomplex, das so genannte Griseum amygdaleum proprium, und in einen dorsomedialen Nebenkomples, den er als Griseum supraamygdaleum bezeichnete. Das

Griseum amygdaleum proprium teilte er wiederum auf in ein in enger Beziehung zum Kortex stehendes Amygdaleum superficiale und in ein ventrikelwärts davon in der Tiefe gelegenes Amygdaleum profundum, das weiter untergliedert wird in ein Amygdaleum profundum laterale, intermediale, mediale und ventrale, die zusammen mit dem Amygdaleum superficiale in über zwanzig weitere so genannte Subgrisea aufgeteilt werden.

Aufgrund dieser unterschiedlichen Einteilungen und Nomenklaturen versuchte Stephan (1975) mit Hilfe von vergleichend-anatomischen Untersuchungen, eine einheitliche Gliederung, Terminologie und Homologisierung der Ergebnisse aus morphologischen, phylogenetischen und ontogenetischen Untersuchungen an menschlichen und tierischen Amygdalae zu erarbeiten. Basierend auf einer Fülle von Studien unterteilte er die Amygdala in einen centromedialen Komplex, die *Formatio amygdaloidea centromedialis*, und in einen corticobasolateralen, die *Formatio amygdaloidea corticobasolateralis*. Jeder dieser Komplexe wird in einen subkortikalen und einen kortikalen Anteil aufgespalten. Als Grundlage der Terminologie für die kortikalen Anteile dienen die von Johnston (1923) eingeführten Bezeichnungen (s. o.), während die subkortikalen Anteile der *Formatio amygdaloidea centromedialis* in eine *Area anterior*, *Nuclei tractus olfactorii* und *medialis* und die Anteile der *Formatio amygdaloidea corticobasolateralis* in eine *Area semiannularis*, *principalis* und *parahippocampalis* unterteilt werden.

Braak und Braak (1983) wählten eine weitere Art der Klassifizierung. Sie stellten mit speziellen Färbemethoden die Zellen dar und legten die Kerngrenzen aufgrund der ungleichen Zytoarchitektur und Verteilung des Pigmentgehaltes in den Zellen fest. Auf diese Weise unterschieden sie die Kernbereiche *Nucleus lateralis*, *Nucleus basalis*, *Nucleus basalis accessorius*, *Nucleus corticalis*, *Nucleus corticalis accessorius*, *Nucleus medialis*, *Nucleus centralis* und *Nucleus granularis* voneinander.

Aufbauend auf diesen und anderen Erkenntnissen der unterschiedlichen morphologischen Strukturen der Amygdala, wurden Untersuchungen initiiert, um der

Amygdala in toto und ihren einzelnen Kerngebieten spezifische biologische Funktionen zuzuordnen.

So wird der Amygdala eine wichtige Rolle in der Regulation von Gefühlen, sozialem Verhalten, Affekten, Gedächtnis sowie von endokrinen und autonomen Funktionen zugeschrieben (Price et al., 1987; Alheid et al., 1990; de Olmos, 1990; Hyman et al., 1990; Amaral et al.; 1992; Babinski et al., 1993). Aufgrund dieser zentralen Funktionen wird die Amygdala getrennt von den Basalganglien betrachtet und dem limbischen System zugeordnet.

Untersuchungen von Läsionen an der Amygdala haben ihre Bedeutung für die Entwicklung von Affekten demonstriert. Tierversuche wie die von Klüver und Bucy 1937 an Affen zeigten, dass nach Läsion der Amygdala das Tier nicht mehr in der Lage war, sensorische Stimuli emotional einzuordnen. Das galt vorzüglich für aversive Stimuli, auf die die Affen nicht mit der adäquaten Furcht- und Fluchtreaktion reagierten. Stattdessen entwickelte sich ein bizarres Verhaltenssyndrom mit zwanghafter oraler Untersuchung von essbaren und nicht essbaren Gegenständen, Hypersexualität, optischer Agnosie und Verlust von Scheu, woraus sich der Begriff der „psychischen Blindheit“ entwickelte (Klüver und Bucy, 1937; Aggleton, 1992). Eine mögliche Erklärung für die funktionelle Bedeutung der Amygdala lässt sich aus den intrinsischen und extrinsischen Verbindungen (Hodologie) des Kernkomplexes herleiten.

So wurden in neueren Untersuchungen (Pitkänen et al., 2000; Dong et al., 2000; Sarter und Markowitsch, 1985; Amaral et al., 1992; McDonald et al., 1992 sowie Aggleton und Saunders, 2000), mit anterograden und retrograden Tracern intranukleare, intraamygdaloide, interamygdaloide und extraamygdaloide Verbindungen aufgedeckt. Swanson und Petrovich (1998) kombinierten Hodologie und Chemoarchitektonik und unterschieden vier funktionelle Kerngruppen. Dem zentralen Kerngebiet wurde eine Assoziation zu autonomen Funktionen, dem medialen Kerngebiet zum akzessorischen olfaktorischen System, dem kortikalen und basomedialen Kerngebiet zum olfaktorischen System und dem lateralen und basolateralen Kerngebiet zur Hirnrinde des Frontal- und Temporallappens nachgewiesen.



Aus der Fülle an komplexen Afferenzen und Efferenzen, die zum Teil weit entfernte Hirnstrukturen mit der Amygdala verbinden, was die Integration neuer Informationen in kontextuelle Gedächtnisinhalte mit daraus resultierenden Reaktionen ermöglicht, lassen sich eine Reihe von Rückschlüssen auf den Einfluss auf funktionale Systeme ziehen, so zum Beispiel auf das deklarative Gedächtnis (Aggleton und Saunders, 2000; Davis und Whalen, 2001; Nieuwenhuys et al., 1991), auf Konditionierungsprozesse (Davis und Whalen, 2001; Everitt et al., 1991), auf die Involvierung in soziale Verhaltensvorgänge (Emery und Amaral, 2000), auf die sensorische Reizverarbeitung (LeDoux et al., 1998; Nieuwenhuys et al., 1991; Sarter und Markowitsch, 1985) und auf vegetative Reaktionen in Abhängigkeit von der emotionalen Relevanz von Stimuli (Davis und Whalen, 2001; LeDoux et al., 1998; Squire und Kandel, 1999), die die Vigilanz, Kreislauf- und Atemfunktionen, Mimik, Verteidigungs- und Fluchtreaktionen beeinflussen.

Unterstützt wurden diese Erkenntnisse durch funktionelle MRT-Experimente, die die wichtige Rolle der Amygdala für das Erkennen emotionaler Stimuli unterstrichen. Sie zeigten, dass die Amygdala während der Präsentation von visuellen (Breiter et al., 1996; Morris et al., 1996, 1998, 1999) auditiven (Morris et al., 1999; Phillips et al., 1998) und olfaktorischen Stimuli (Zald und Pardo, 1997) eine erhöhte Aktivität aufwies. Als besonders aktivitätserhöhend erwiesen sich dabei aversive, bedrohliche und unangenehme Stimuli (Adolphs et al., 1999; Breiter et al., 1996).

Die meisten der oben genannten Methoden sind aus ethischen Gründen beim Menschen nicht anzuwenden. Vielmehr wurde hier der Versuch unternommen, neuropsychiatrische Krankheiten und Symptome (Schizophrenie, Alzheimer, Autismus, Epilepsie, bipolare Störungen) sowie geschlechtsspezifische Unterschiede und altersbedingte Veränderungen mit histologischen (Heckers et al., 1990; Herzog et al., 1980; Bogerts et al., 1985 und Scott et al., 1991) oder kernspintomographisch fassbaren Volumenveränderungen (Naidich et al., 1987; Bogerts et al., 1990, 1993; Watson et al., 1992; Cendes et al., 1993; Honeycutt et al., 1998; Aylward et al., 1999; Chance et al., 2002) zu korrelieren.

Allerdings unterscheiden sich die MRT-basierten Daten erheblich voneinander und reichen bezüglich des Amygdalavolumens von 1050 Kubikmillimeter (Achten et al., 1998) bis 3880 Kubikmillimeter (Killiany et al., 1993).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist eine reproduzierbare zytoarchitektonische Abgrenzung umschriebener Kerngebiete im Nisslpräparat und eine räumliche computergestützte Rekonstruktion des Mandelkernkomplexes von Kontrollfällen und von Personen mit neuropsychiatrischen Erkrankungen. Verwendet wurden ungewöhnlich dicke (zwischen 400 – 450  $\mu\text{m}$ ) mit Gallocyanin nach der Methode von Heinsen et al. (2000) gefärbte Serienschnitte. Die quantitativen Ergebnisse der computergestützten Rekonstruktion sollen mit bewährten stereologischen Methoden verglichen werden, während die dreidimensionalen Rekonstruktionen den Ergebnissen von Untersuchungen mit bildgebenden Verfahren gegenübergestellt werden sollen.

## **B) Material und Methode**

### **1. Histologie**

Die computergestützten 3D-Rekonstruktionen des menschlichen Mandelkernkomplexes basieren auf einer modifizierten konventionellen histologischen Aufarbeitung des Zentralnervensystems (Heinsen et al., 2000).

Das Gehirn wird dazu in 4% Formalin [1 Teil 37%iges Formalin verdünnt mit 9 Teilen Leitungswassers; (Romeis, 1948)] für mindestens 4 Wochen fixiert. Dabei wird das Formalin in den ersten drei Wochen in wöchentlichem Abstand ausgetauscht. Nach Härtung des Gehirns durch die Formalinfixierung werden Hirnstamm und Kleinhirn durch einen Schnitt in Höhe des vorderen Brückenrandes von den rostralen Hirnteilen abgetrennt. Anschließend werden die rostralen Hirnabschnitte durch einen Mediosagittalschnitt geteilt und das Septum pellucidum eröffnet. Durch die Perforation des Septum pellucidum können sowohl Alkohol als auch Celloidin im Verlaufe der Einbettung besser in die Seitenventrikel eindringen. Bei älteren Individuen werden zusätzlich die Plexus choroidei entfernt. Altersabhängige Kalkeinlagerungen führen leicht zu Schneideartefakten beim Schneiden der in Celloidin eingebetteten Gehirne.

Die beiden Hemisphären werden nach der Fixierung in Leitungswasser für einen halben Tag gründlich gewässert und danach in 70, 80 und 96%igem Ethanol für jeweils eine Woche in der entsprechenden Alkoholstufe dehydriert. Nach Abschluss der Alkoholdehydrierung werden Hirnhäute und oberflächliche Gefäße entfernt. Nach Entfernung von Hirnhäuten und Gefäßen kann das Einbettungsmedium Celloidin bis in den Grund breiterer Sulci eindringen.

Zur Einbettung werden getrocknete Flocken von kommerziellem Celloidin in einem Gemisch aus gleichen Teilen 100%igem Alkohol und Diethyläther zu einer 8%igem Lösung angesetzt. Nach Abschluss der Alkoholdehydrierung werden die einzelnen Hemisphären in eine ausreichend große transparente mit einem Überschuss an 8%igem Celloidin gefüllte Plastikbox eingelegt. Die Box wird in einen Exikator gestellt und dieser für 48 Stunden an eine Vakuumpumpe angeschlossen. Durch das Vakuum werden die Äther-Alkohol-Dämpfe bei einem Unterdruck von 600 mB rasch und

gleichmäßig abgesaugt und das Celloidin von 8 auf 16% konzentriert. Dieser Vorgang der Eindickung des Celloidins auf die Hälfte des Ausgangsvolumens lässt sich durch die transparente Plastikbox leicht verfolgen. Die rasche Vakuumentzug von Ethanol und Diethyläther verhindert gleichzeitig das Auftreten von Gasblasen im Einbettungsmedium. Bei einer idealen Einbettung dringt das Celloidin gleichmäßig in alle Ventrikelabschnitte und auf den Grund der tiefen Sulci vor ohne aber das Hirngewebe selbst zu durchtränken.

Im folgenden Schritt wird die Plastikbox zusammen mit einer mit Chloroform gefüllten Petrischale in ein Aquarium gestellt. Das Aquarium wird oben durch eine Glasscheibe verschlossen. Durch die Chloroformdämpfe härtet das Celloidin weiter, wobei das Einbettungsmedium zunehmend undurchsichtiger wird. Nach 14 bis 16 Tagen löst sich das Celloidin von der Plastikbox. Der Härtevorgang in Chloroform ist beendet, wenn das Celloidin die Konsistenz eines Radiergummis hat.

Der letzte Härtungsprozess erfolgt mittels 70%iger Ethanollösung für zwei Tage. Nach dieser Prozedur kann die Hemisphäre geschnitten werden. Hierfür wird der Celloidinblock mit 8% Celloidin auf den Objekthalter eines Mikrotoms geklebt. Der Objekthalter wird zusammen mit dem Hemisphärenblock vor dem Schneiden für drei bis vier Stunden in 70%igem Ethanol eingetaucht. Das ursprünglich zähflüssige Celloidin härtet im Alkoholbad und verbindet dabei den Block mit dem Objekthalter. Während des Schneidens werden der gesamte Block und das Mikrotommesser mit 70%iger Ethanollösung feucht gehalten.

Die Hemisphären werden bei einer Schnittdicke von 440 µm in Serie geschnitten, die einzelnen Serienschritte werden aufgenommen und der Reihe nach sortiert in 70%iger Ethanollösung aufbewahrt.

Zum Färben werden die Schnitte über Nacht in einer speziellen Lösung (1 Teil 100% Ameisensäure, 3 Teile 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 6 Teile Aqua dest.) oxidiert. Diese Vorbehandlung erhöht die selektive Färbbarkeit von Gallocyanin (Merker, 1983).

Nach gründlichem Spülen in Leitungswasser werden die Schnitte in Gallocyanin-Chromalum eingelegt und drei Stunden lang unter kontinuierlichem Schütteln gefärbt.

Die Farblösung setzt sich aus 1,5 g Gallocyanin in 1000 ml einer 5% KaliumchromIII-Sulfat-Dodecahydrat-Lösung zusammen und wird durch Zugabe von 0,1 N HCl auf einen pH-Wert von 1,8 eingestellt.

Nach erneutem Spülen in Leitungswasser wird jeder einzelne Schnitt zwischen zwei Filterpapieren glatt ausgebreitet, zwischen zwei Keramikscheiben gelegt und in eine Petrischale in folgenden Alkoholstufen dehydriert und in Xylol überführt.

1.	80% Ethanol	1 Stunde
2	100% vorher benutztes Ethanol	1 Stunde
3.	100% frisches Ethanol	über Nacht
4.	100% Propanol : Xylol im Verhältnis 1:1	2 Stunden
5.	vorher benutztes Xylol	2 Stunden
6.	frisches Xylol	über Nacht

Die Schnitte werden aus Xylol auf 10x15 cm großen Objektträgern mit Permount eingedeckt.

## **2. Computergestützte 3D-Rekonstruktion**

Die gallocyanin-gefärbten Serienschnitte bilden die Grundlage für eine computergestützte dreidimensionale Rekonstruktion von subkortikalen Kerngebieten des menschlichen ZNS. Zu diesem Zweck müssen die Serienschnitte digitalisiert werden.

### **2.1. Digitalisierung von Serienschnitten**

Für die Digitalisierung und weitere Bearbeitung bzw. Auswertung von Serienschnitten ist es unbedingt erforderlich, dass alle Schnitte unter denselben Bedingungen digitalisiert werden, das heißt, die Schnitte müssen mit demselben Kameraobjektiv und einem konstanten Arbeitsabstand aufgenommen bzw. gescannt werden.

In unserem Falle benutzten wir die Digitalkamera ProgRes 3012 der Firma Jenoptik im Rechenzentrum der Universität Würzburg.

Der optimale Arbeitsabstand wurde an Serienschnitten mit der größten Ausdehnung der zu untersuchenden Strukturen ermittelt, nach unserer Erfahrung auf der Schnitthöhe durch das Chiasma opticum.

Die einzelnen Schnitte wurden bei höchster Kameraauflösung gescannt, im Originalformat hatte eine Aufnahme eine Größe von 48 MB im Tif-Format (siehe Abbildung 1).

Der Abbildungsmaßstab der gescannten Aufnahmen wurde mit Hilfe einer gleichzeitig gescannten Millimeterskala kalibriert. So wird sichergestellt, dass sich auf jedem Schnitt zusätzlich zum Bildmaterial ein Maßstab befindet. Mit Hilfe dieses Maßstabes kann jederzeit unter Berücksichtigung eines Vergrößerungsfaktors (siehe Kapitel 2.3.b.) die reale Größe einer ausgewählten Struktur bestimmt werden.

Die einzelnen Schnitte wurden im Durchlicht mit einer Digitalkamera aufgenommen. Die Kamerafunktionen wurden durch einen PC gesteuert. Über ein Standardbildbearbeitungsprogramm, in unserem Fall Adobe Photoshop 6.0, wurden die genauen Einstellungen der Kamera vorgenommen (siehe auch Kapitel 2.2.).

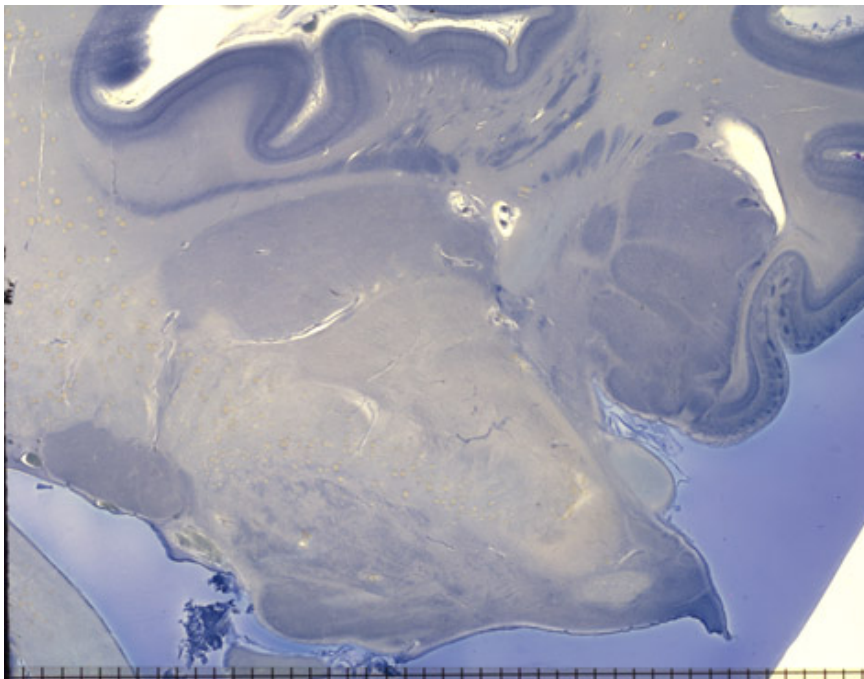


Abb. 1: eingescannte Aufnahme mit 1 mm-Raster als Maßstab

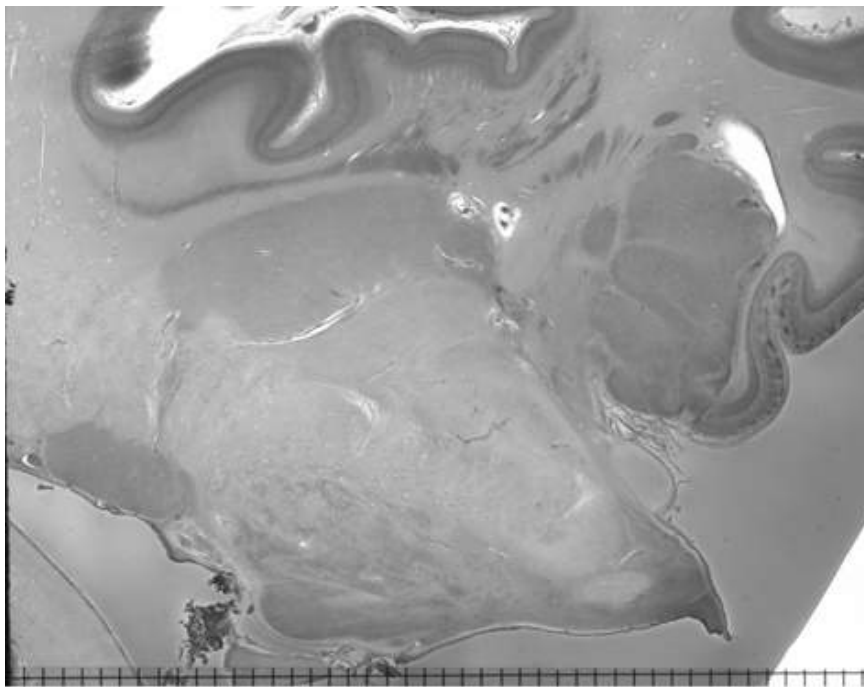
## 2.2. Nachbearbeitung mit einem Bildbearbeitungsprogramm

Nach dem Transfer der Daten auf den Computer müssen noch einige Veränderungen vorgenommen werden. Diese dienen dazu, den Speicherplatz so gering wie möglich zu halten und so die Daten für das 3D-Programm Amira zugänglich zu machen.

Es wird mit Hilfe eines geeigneten Bildbearbeitungsprogramms eine Pixelauflösung (z.B. 450 Pixel/Inch) gewählt, die ein optimales Verhältnis von benötigtem Speicherplatz und Bildschärfeverlust bietet. Aus praktischen Gründen wird während dieses Schrittes zusätzlich die Bildgröße auf 5,99 cm Breite und 5 cm Höhe festgelegt. Über die jeweils gewählte Auflösung erhält man eine bestimmte Pixelanzahl für die Flächenkoordinaten oder -ausdehnung  $x$  und  $y$  des Bildes, die für die spätere Bearbeitung von Bedeutung sind (siehe Kapitel 2.3.b.).

Die Farbinformationen des Bildes werden verworfen und eine Beschriftung zur leichteren Wiedererkennung eingefügt (siehe Abbildung 2).

Dieser Vorgang wird an allen Serienschnitten gleichermaßen durchgeführt. Am Ende der Prozedur erhält man Serienschnitte, die zur weiteren Bearbeitung mit Amira geeignet sind.



A 9 1835 99 rero1 31

Abb. 2: Hochaufgelöste amirakompatible Aufnahme im Tif-Format

### **2.3. Bearbeitung mit Amira**

Amira ist ein kommerzielles Computerprogramm für die dreidimensionale Rekonstruktion zweidimensionaler Ausgangsdaten (digitalisierte und bearbeitete Serienschritte). Dazu bietet dieses Programm eine Reihe von Möglichkeiten, von denen die folgende für die Auswertung der Serienschritte gewählt wurde.

#### **2.3.a. Kurzbeschreibung der Amirabearbeitung**

Um ein dreidimensionales Gebilde generieren zu können, ist es notwendig, eine Schnittserie zu öffnen und mit einem geeigneten Werkzeug, z.B. dem „Pinsel“, die relevanten Strukturen, d.h. die verschiedenen Amygdalakerne, verschiedenfarbig zu kennzeichnen bzw. in der Terminologie von Amira zu segmentieren. Aus der Bildinformation der unterschiedlichen Auswahlbereiche errechnet Amira ein dreidimensionales Modell bestehend aus den einzelnen Amygdalakernen.

Diese Rechenleistung erfordert einen ausreichend großen Arbeitsspeicher des Computers.

Mit dem so erzeugten dreidimensionalen Modell kann man nun die verschiedenen Aspekte der Amygdala wie Größe, Oberflächenstruktur und Volumina beurteilen. Außerdem lässt die Einblendung der einzelnen Schnitte Aussagen zur topographischen Lage der Amygdala im Gehirn sowie zur topographischen Beziehung zu anderen Gehirnstrukturen zu. Des Weiteren ist es möglich über mehrere eingeblendete „Viewer“ die unterschiedlichen Amygdalamodelle nebeneinander zu beurteilen.

#### **2.3.b. Dreidimensionale Rekonstruktion der Schnittserie mit Amira**

Zu Beginn öffnet man mit Amira diejenigen Schnitte, die zu einer Serie gehören. Amira generiert daraus eine bestimmte Datei, die als Quelldatei für alle weiteren Vorgänge dient.

Um später Aussagen über die räumliche Ausdehnung der rekonstruierten Strukturen machen zu können, ist es nötig, Amira die Ausdehnungen in den drei Raumachsen x, y, und z im richtigen Verhältnis vorzugeben. In diesen Überlegungen müssen auch die



Vergrößerungsfaktoren berücksichtigt werden, die bei der Digitalisierung der Schnittserien anfallen. Alle Bildangaben in Millimetern müssen für die weitere Bearbeitung in Amira in Pixel umgerechnet werden.

Die Ausdehnungsgrößen findet man in dem Modul „bounding box“ der Quelldatei. Dort sieht man, dass Amira die mit Photoshop festgelegten Pixelwerte für die x- und y-Achse übernommen und zunächst einen virtuellen z-Wert festgelegt hat.

Der im passenden Verhältnis zur x- und y-Ausdehnung stehende z-Wert ermittelt sich aus folgenden Überlegungen:

Zunächst muss ermittelt werden, wie viele Pixel ein Millimeter bei der jeweils gewählten Auflösung umfasst. Als reeller Bezugspunkt dient hierbei das miteingescannte Millimeterraster. In Amira misst man zum Beispiel zwanzig Millimeterkästchen des Rasters und liest den ermittelten Pixelwert ab. Diesen Wert dividiert man durch die Anzahl der Kästchen und erhält so die Ausdehnung eines Millimeters in Pixel. Durch das Ausmessen einer möglichst großen Anzahl von Rasterkästchen wird dabei der systematische Fehler klein gehalten.

Anschließend multipliziert man diesen Pixelwert mit der tatsächlichen Ausdehnung in z-Richtung, die sich aus dem Produkt aus Schnittanzahl  $k$  ( $k=1$ , wenn jeder Schnitt gefärbt wurde,  $k=2$ , wenn jeder zweite Schnitt gefärbt wurde) und Schnittdicke errechnet. Das Ergebnis aus diesem Produkt stellt den gesuchten Pixelwert für die z-Achse in der „bounding-box“ von Amira dar.

Als vorläufiger Wert für die Schnittdicke kann der am Mikrotom eingestellte Wert von  $440\ \mu\text{m}$  übernommen werden. Die Bestimmung der tatsächlichen Schnittdicken erfolgt später am Mikroskop (siehe Kapitel 2.3.d.).

Im nächsten Schritt werden nacheinander alle Serienschritte mit Hilfe des Moduls „align slice“ genau übereinander gelegt. Durch diesen Vorgang werden die Schnitte in der z-Achse so exakt wie möglich in Bezug auf die Kongruenz der abgebildeten Strukturen übereinander angeordnet, was eine naturgetreue Rekonstruktion der Amygdala ermöglicht.

Im weiteren Verlauf muss der Bereich, der von Amira rekonstruiert werden soll, festgelegt werden. Dazu öffnet man das Modul „labelfield“ und kennzeichnet mit

geeigneten graphischen Werkzeugen genau die Gehirnstrukturen, die später dargestellt werden sollen. Es empfiehlt sich, für die unterschiedlichen darzustellenden Strukturen verschiedene Farben zu verwenden. Zur exakten internen Differenzierung der Strukturgrenzen hat sich das Werkzeug „Pinsel“ am geeignetsten erwiesen (siehe Abbildung 3).

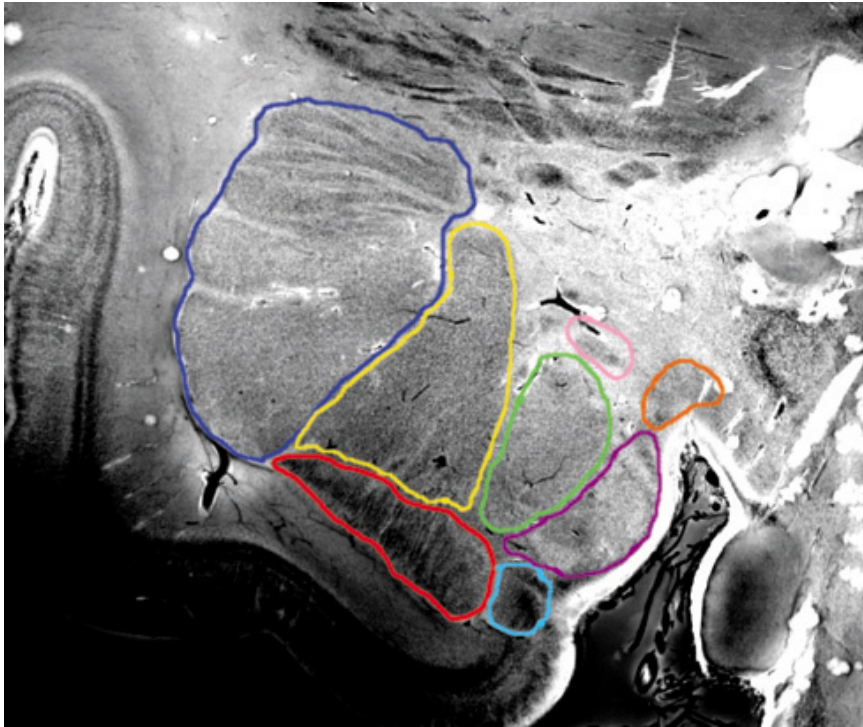


Abb. 3: Markierung der verschiedenen Kerngebiete mit unterschiedlichen Farben im „labelfield“ von Amira

Wegen der Grenzen der optischen Auflösung der Kamera und der durch die Tiefenschärfe bedingten Projektion tiefer Strukturen an die Oberfläche waren an manchen Stellen die Grenzen benachbarter Struktur im gescannten Bild nicht eindeutig festzulegen.

In diesem Falle musste auf die Originalschnitte zurückgegriffen werden. Besondere Schwierigkeiten entstanden bei der Abgrenzung von Anschnitten durch benachbarte Amygdalakerne.

Die Abbildung 4 zeigt exemplarisch einen Serienschchnitt in detailreduzierter Ansicht im „Label-Field-Modus“ in Amira.

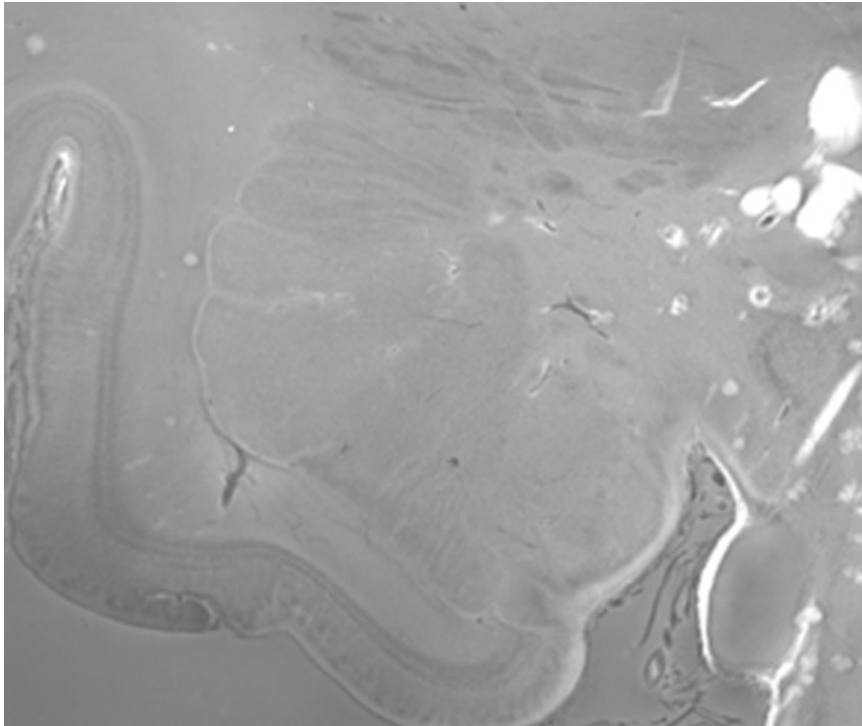


Abb. 4: vergrößerte Ansicht des Serienschchnittes im „Label-Field“-Modus von Amira

Hier (siehe Abbildung 4) reicht der durch die Färbung der Schnitte entstandene Kontrast zwischen den einzelnen Kerngebieten nicht aus, um eine eindeutige Grenze zwischen den Strukturen ziehen zu können. Dieser ungenügende Kontrast basiert auf der notwendigen Reduzierung der Auflösung der digitalisierten Aufnahmen. Limitierend für die Qualität der Auflösung der Bilddateien in der Amirabearbeitung sind die Speicherkapazität der Computerfestplatte, der Arbeitsspeicher sowie die Rechenleistung des Computers.

In den Fällen, in denen Unklarheit über die genaue Abgrenzung der Kerngebiete besteht, müssen die Originalschnitte begutachtet werden. Gegebenenfalls muss die Grenze einer Struktur mit Hilfe der Auswertung von Neuronen unter dem Lichtmikroskop bestimmt werden.

Zusätzlich werden bei Bedarf die hochaufgelösten digitalisierten Schnitte mit dem Bildbearbeitungsprogramm Photoshop in Bezug auf Kontrast und Helligkeit optimiert, um die einzelnen Konturen und Strukturen hervorzuheben.

Die Ergebnisse dieser weiteren Untersuchungen werden in analoger Weise auf die digitalisierten Schnitte im „Label-Field“-Modus von Amira übertragen (siehe Abbildung 5).

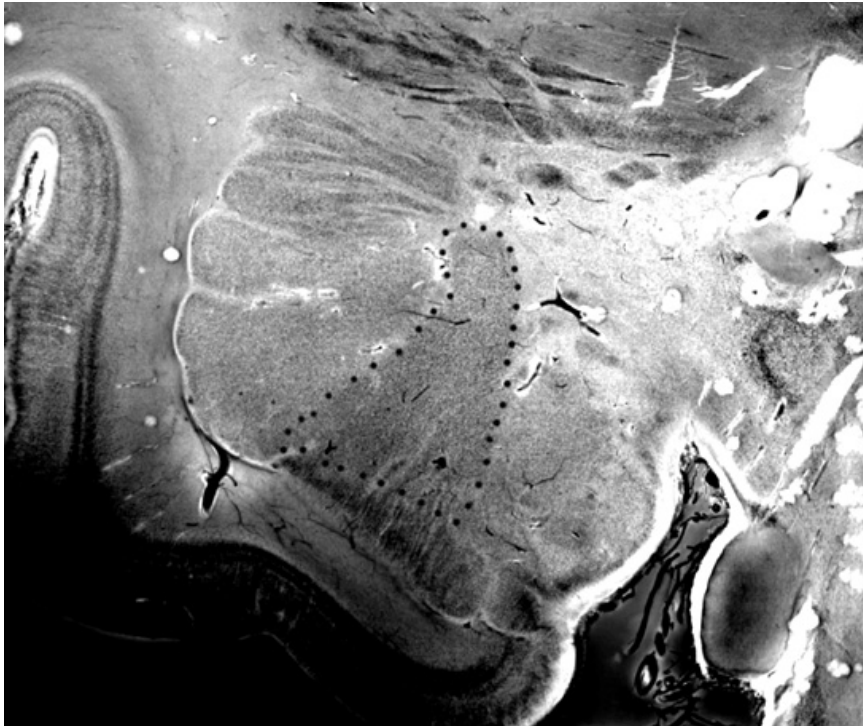


Abb. 5: Darstellung des Serienschchnittes nach Optimierung von Kontrast und Helligkeit im Bildbearbeitungsprogramm

Ist dieser Vorgang abgeschlossen, sind alle notwendigen Daten für die dreidimensionale Rekonstruktion vorhanden. Über das Modul „SurfaceGen“ berechnet Amira ein dreidimensionales Gebilde der gekennzeichneten Strukturen. Auf diese Weise ergeben sich erste Eindrücke der dreidimensionalen Darstellung der menschlichen Amygdala.

### **2.3.c. Kontrolle der Alignierung**

Beim Orientieren oder Reihem der Serienschritte in Richtung der z- oder Schnittachse ist nicht auszuschließen, dass bei Benutzung der Funktion „align slice“ in Amira (siehe Kapitel 2.3.a.) die Schnitte nicht in naturgetreuer Weise übereinander platziert wurden. Das gilt vor allem für Bereiche, in denen sich die Umriss der Oberfläche sehr stark von Schnitt zu Schnitt entweder rasch vergrößern oder verkleinern. Ferner sind Artefakte bei der Färbung der Schnitte nicht immer zu vermeiden; Schrumpfung oder Dislokation von oberflächlichen Gyri oder Sulci können dann nicht mehr als verlässliche Referenzpunkte beim Übereinanderlegen und Orientieren der mehr oder minder willkürlich auf dem Objektträger aufgeklebten Schnitte dienen.

Wird dagegen der Celloidinblock mit einem Gehirn auf dem Halter der Mikrotoms durch Aufkleben fixiert und wird das Gehirn in Serie geschnitten, so kann sich auf der Anschnittsfläche im Block weder die Form noch der Umriss noch die z-Achse des Gehirns artifiziell verändern. Aus diesen Überlegungen fertigten wir eine zusätzliche Hirnschnittserie an und fotografierten mit einer am Mikrotom fixierten Digitalkamera jeden Schnitt in konstantem Abstand. Auf diese Weise entstand eine Schnittserie von exakt gleicher Ausrichtung der Umriss (siehe Abbildung 6).

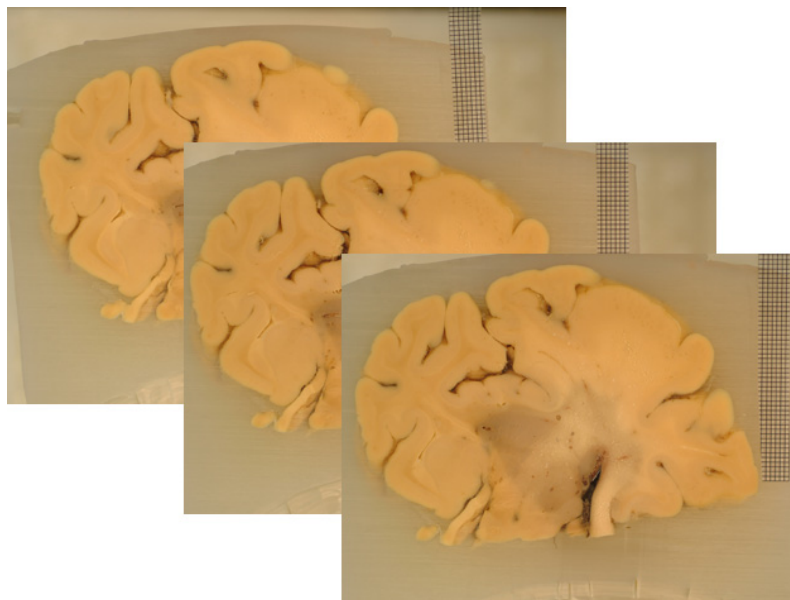


Abb. 6: digitalisierte Schnitte des fixierten Gehirns

Jeder dieser Schnitte wurde wie beschrieben gefärbt, auf einem Objektträger eingedeckt und nochmals mit Hilfe einer Digitalkamera unter den gleichen Bedingungen wie beim Schneiden fotografiert. Mit dem Bildbearbeitungsprogramm Adobe Photoshop 6.0 können auf dem Bildschirm des Computers sowohl der ungefärbte als auch der willkürlich auf den Objektträger aufgebraute gefärbte Schnitt übereinander gelegt werden. Da der ungefärbte Schnitt in seiner Form und Ausrichtung invariabel fotografiert wurde, kann er für den gefärbten Schnitt als fixer Bezugspunkt dienen und der gefärbte Schnitt durch Drehen und Verschieben im Bildbearbeitungsprogramm mit dem ungefärbten Bezugsschnitt zur Deckung gebracht werden. Dermaßen getrimmt und orientiert können die gefärbten Schnitte dann abgespeichert und Amira direkt zur Segmentierung und Oberflächenrekonstruktion angeboten werden.

### 2.3.d. Volumenberechnung

Amira bietet neben der dreidimensionalen Rekonstruktion die Möglichkeit, das Volumen der rekonstruierten Strukturen zu bestimmen. Das Volumen wird dabei von Amira in Voxel angegeben. Um diese Größe in eine gängige Einheit ( $\text{mm}^3$ ) umwandeln zu können, bedient man sich einer Umrechnungsformel:

$$V_{R[\text{mm}^3]} = \left( \frac{V_{A[\text{Voxel}]}}{x_v[\text{Pixel}] * y_v[\text{Pixel}] * z_v[\text{Pixel}]} \right) \div VF^3$$

---

$V_R$  : Reales Volumen

$V_A$  : Volumen aus Amira

$VF$  : Vergrößerungsfaktor

$x_v$  : Pixelgröße eines virtuellen Millimeter

$y_v$  : Pixelgröße eines virtuellen Millimeter

$z_v$  : Pixelgröße eines virtuellen Millimeter

Diese Beziehung ergibt sich aus folgenden Überlegungen:

Da das Ausgangsmaterial zweidimensionale Frontalschnitte waren, musste eine Beziehung zwischen der realen Ausdehnung der Schnitte (Millimeter) und den Größen, mit denen ein Computer rechnet (Pixel, Voxel), hergestellt werden.

Dazu wurde ein Millimeter-Raster auf die Schnitte gelegt und dieses mit eingescannt. Danach wurde eine virtuelle Bildgröße von  $x = 59,9$  mm,  $y = 50,0$  mm und eine Auflösung von 200 Pixel/Inch bzw. 450 Pixel/Inch festgelegt.

Mit Hilfe eines Bildbearbeitungsprogramms konnte so eine erste Beziehung zwischen Millimeter und Pixel hergestellt und erste Aussagen darüber getroffen werden, wie viele Pixel ein virtueller Millimeter umfasst (siehe Kapitel 2.3.a.).

Anhand des eingescannten Rasters wurde anschließend ein Vergrößerungsfaktor ermittelt, der das Verhältnis zwischen reeller und virtueller Bildgröße wiedergibt.

Abschließend muss die Ausdehnung in z-Richtung bestimmt werden. Dazu wird anhand einer geeichten Mikrometer-Schraube ( $1^\circ = 0,00165$  mm) am Lichtmikroskop die Schnittdicke durch Fokussieren auf die obere und untere Schnittebene eines jeden vierten Originalschnittes abgelesen.

Durch diesen Vorgang erhält man verschiedene Gradangaben, aus denen man einen Durchschnittswert ermitteln kann. Dieser lässt sich durch die Verwendung der geeichten Mikrometerschraube wieder leicht in Millimeter umrechnen.

Diesen Mittelwert für die Schnittdicke multipliziert man mit der jeweiligen Anzahl der Schnitte einer Serie, um so die Ausdehnung in z-Richtung zu errechnen.

Da es sich hierbei allerdings um die reale Ausdehnung handelt, muss dieser Wert noch mit Hilfe des Vergrößerungsfaktors und dem Verhältnis aus dem Bildbearbeitungsprogramm in einen virtuellen Pixelwert umgerechnet werden, bevor dieser in die oben genannte Formel eingesetzt werden kann.

### **3. Stereologie der untersuchten Strukturen**

Um die von Amira errechneten Werte für die Volumina der Amygdalakerne zu bewerten, wurden die Volumina auch auf herkömmliche Weise mit Hilfe stereologischer Methoden geschätzt.

Zusätzlich wurden mit dieser Methode die Gesamtzahl der Neuronen der einzelnen Amygdalae sowie deren Neuronendichte bestimmt.

Die Stereologie bedient sich dabei mathematischer Methoden, mit deren Hilfe sie dreidimensionale Parameter (Volumen-, Oberflächen-, Längen- und numerische Dichten) schätzt. Die Daten selbst werden an Serienschnitten biologischer Objekte erhoben (Weibel, 1979).

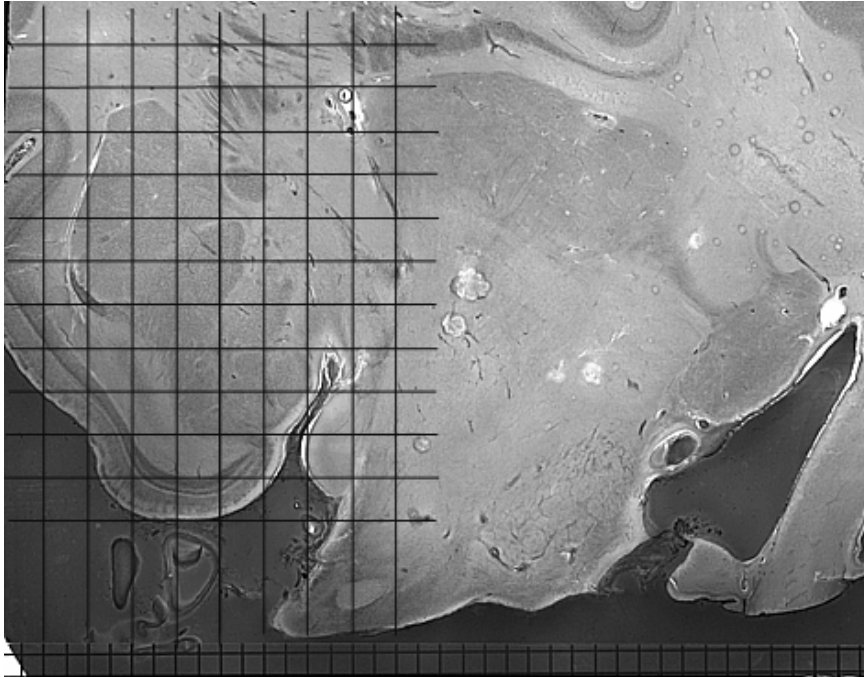
In unserem Fall haben wir uns für eine Kombination von zwei etablierten Methoden entschieden (siehe Heinsen, 2000)

1. Punktzählverfahren nach Chalkley (Weibel, 1979)
2. Zelldichtebestimmung

#### **3.1. Punktzählverfahren nach Chalkley**

Mit diesem Verfahren lassen sich Volumendichten von Serienschnitten schätzen. Zu diesem Zweck druckten wir auf eine transparente Folie ein Raster mit Linien, die im 90 Grad Winkel zueinander stehen und einen Abstand von 2 mm haben. Dieses Raster wird über die Amygdala jedes Schnittes gelegt und mit Klebeband fixiert (siehe Abbildung 7).





C15 8397 liro87

Abb. 7: Serienschchnitt mit darüber liegendem 2 mm-Raster

Die Anzahl der Kreuzungspunkte, die auf Strukturen der Amygdala fallen, werden anschließend in der Übersichtsvergrößerung eines Lichtmikroskops (Typ Olympus BH2) gezählt und in eine Tabelle eingetragen. Aus ihnen errechnet man das Volumen nach folgender Formel:

$$V = Pt \times d^2 \times t$$

Pt = Gesamtzahl der Trefferpunkte

d = Kantenlänge des Zählquadrats

t = Schnittdicke

Um die Volumina von Kortex, Mark, subkortikalen Bereichen und Cerebrum zu bestimmen, werden mit dem gleichen Verfahren aber mit einem Raster von 10 mm Linienabstand die Kreuzungspunkte gezählt, die auf die jeweiligen Strukturen des Serienschnittes fallen, und anschließend in obige Formel eingesetzt.

### 3.2. Zelldichtebestimmung

Im zweiten Schritt misst man nun die Neuronendichte. Dazu fährt man bei schwächster Vergrößerung (Olympusmikroskop BH2, Planachromat 4x, Okular WHK10, Netzmikrometer 10x10 mm, unterteilt in 10x10 Linien) die Kreuzungspunkte des 2x2 mm Rasters auf jedem Schnitt durch den Mandelkern mit dem Kreuztisch an. Fällt ein Kreuzungspunkt auf ein Kerngebiet des Mandelkerns, so orientiert man Folienraster und Okularnetzmikrometer wie in Abbildung 8 gezeigt. Mit einem Ölimmersionsobjektiv (Planapo Öl 40/NA 1,0) werden anschließend alle neu ins Blickfeld kommenden Nukleoli innerhalb des Okularrasters bis zu einer Tiefe von 29 µm durch Fokussieren bei 400x Vergrößerung gezählt.

Die Summe der Neurone und die Neuronendichte ergeben sich aus folgenden Überlegungen:

$$N = V * N/A$$

- N*: Gesamtzahl der Neurone  
*V*: Volumen  
*N/A*: Neuronendichte (Anzahl pro mm<sup>2</sup>)

$$N/V = \sum Q / (P * a * d)$$

- N/V*: Neuronendichte (Anzahl pro mm<sup>3</sup>)  
 $\sum Q$ : Gesamtsumme der gezählten Nukleoli  
*P*: Gesamtzahl Trefferpunkte  
*a*: Fläche des Okularrasters (0,0125mm x 0,0125mm x 100)  
*d*: Schnittdicke des optischen Disektors

Diese Art des Vorgehens entspricht einer Partikelanalyse bzw. numerischen Dichtebestimmung nach den Maßgaben einer stereologischen Analyse.

Während bei den klassischen Formeln nach Abercrombie (1946), Floderus (1944) und Haug (1992) Schätzfehler durch Korrekturformeln ausgeglichen werden mussten, sind bei unserem Vorgehen diese Korrekturen nicht notwendig (Gundersen et al., 1988; West et al., 2001).

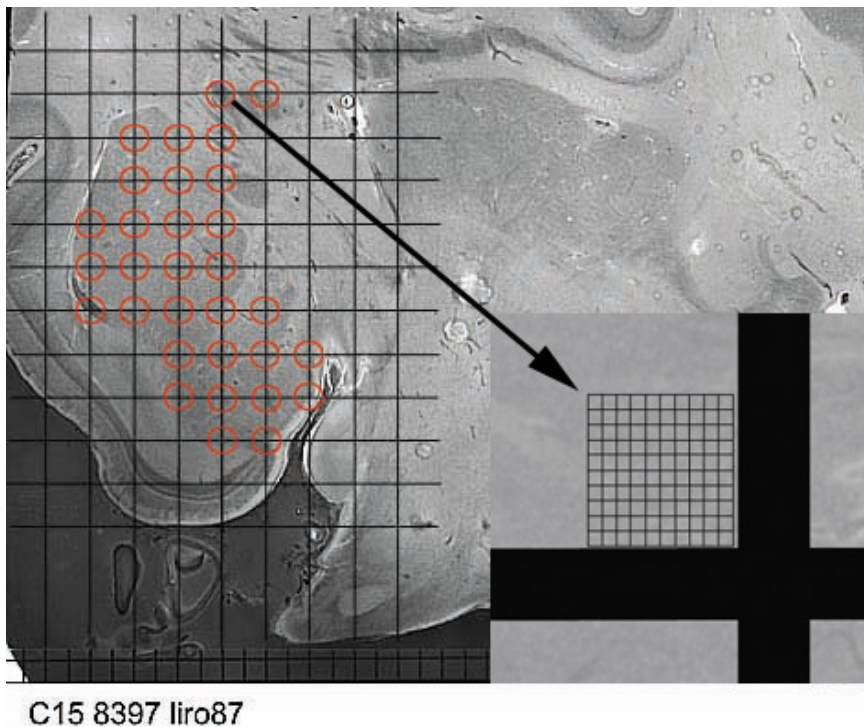


Abb. 8: Markierte Kreuzungspunkte (rote Kreise) und Abbildung des Okullarrasters oberhalb und links einer Rasterlinienkreuzung

#### 4. Nomenklatur

Aus Gründen der Komplexität des Kerngebietes und speziesspezifischer Unterschiede gibt es bisher keine einheitliche Nomenklatur, Abgrenzung und Einteilung der verschiedenen Kerne der Amygdala.

In dieser Arbeit übernehme ich die Nomenklatur von Braak und Braak, weil sie in den meisten Aspekten mit Nieuwenhuys, Pitkänen, Sovari, Price und Amaral (s. o.) übereinstimmt und weil sie aufgrund der zytomorphologischen Betrachtungsweise und Untergliederung der Amygdala den besonderen morphologischen Aspekt, um den es unter anderem in dieser Arbeit besonders geht, unterstreicht.

Die Abbildung 9 zeigt die Abkürzungen der in dieser Arbeit verwendeten Nomenklatur mit ihren topographisch korrekten Projektionen auf die einzelnen Kerne der Amygdala.

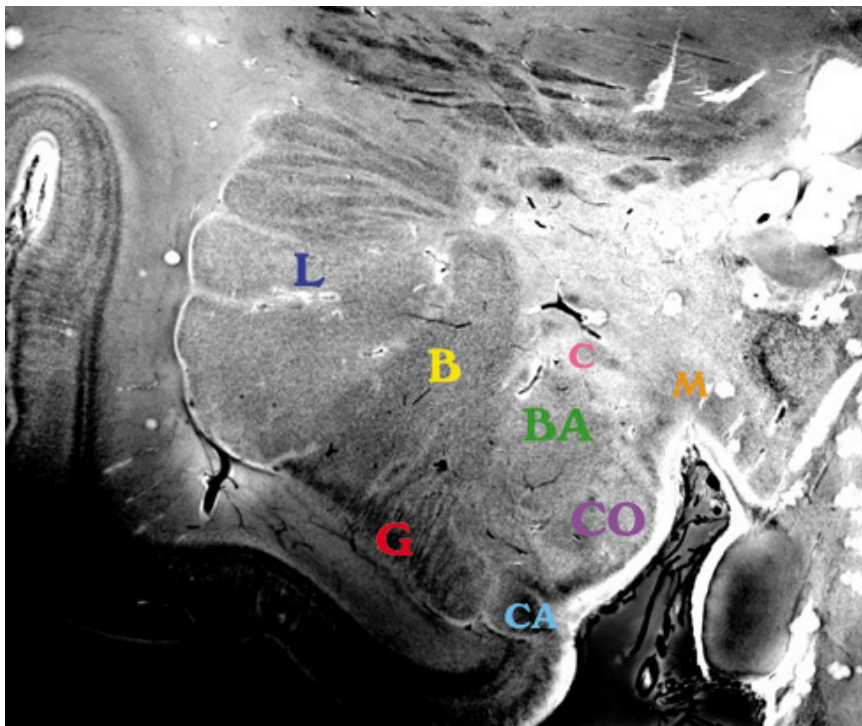


Abb. 9: Definition der Abkürzungen: L: Ncl. lateralis, B: Ncl. basalis, C: Ncl. centralis, M: Ncl. medialis, BA: Ncl. basalis accessorius, G: Ncl. granularis, CO: Ncl. corticalis, CA: Ncl. corticalis accessorius

## C) Ergebnisse

### 1. Topographie und Definition der Amygdalakerne

#### 1.1. Lage der Amygdala in der linken Hemisphäre

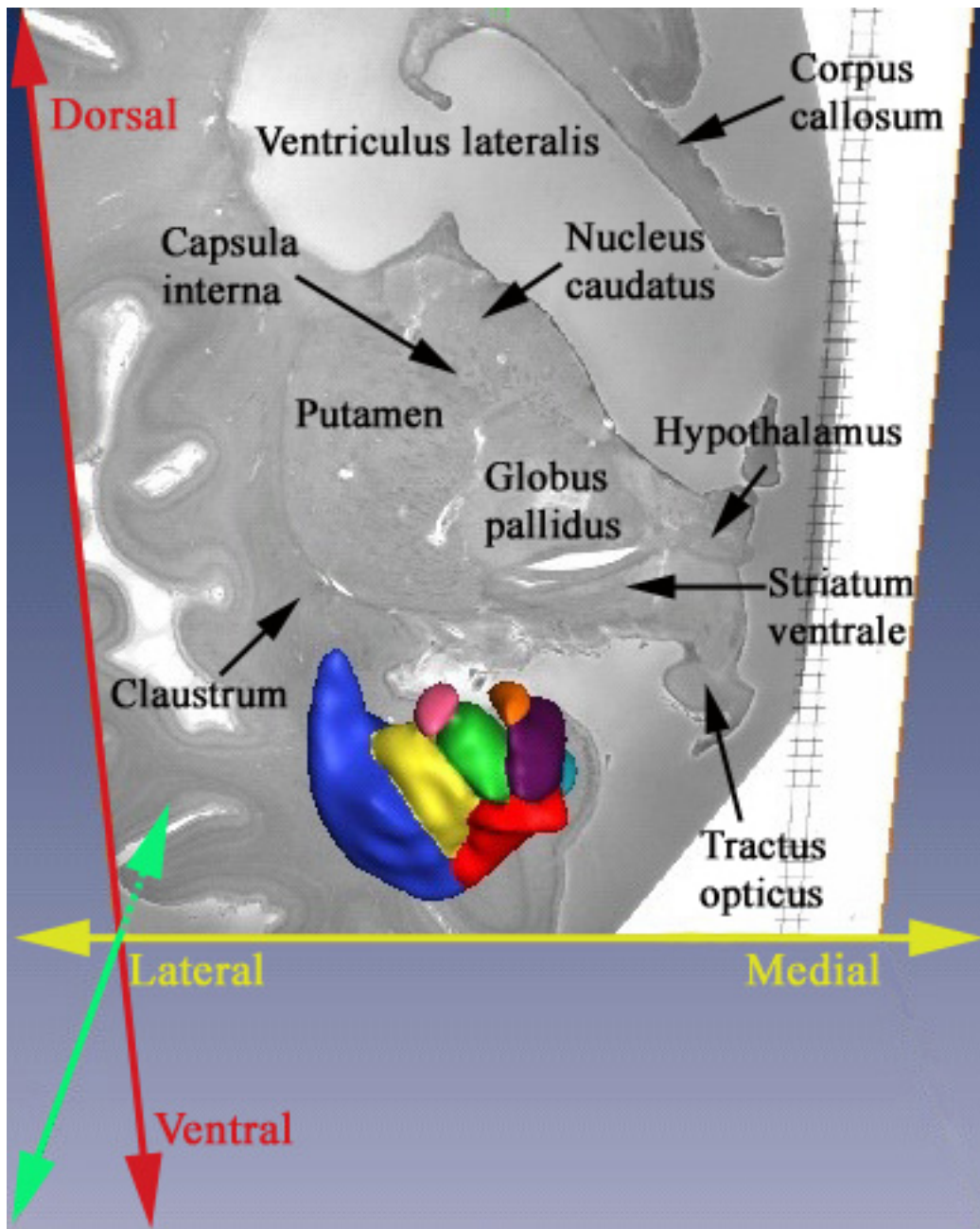


Abb. 1: Ansicht der Amygdala mit Blick vom Okzipital- auf den Frontalpol des Gehirns eines 65-jährigen Mannes mit Projektion auf den Hemisphärenschnitt in Höhe des Chiasma opticum

## 1.2. Definition der Amygdalakerne nach dreidimensionaler Rekonstruktion

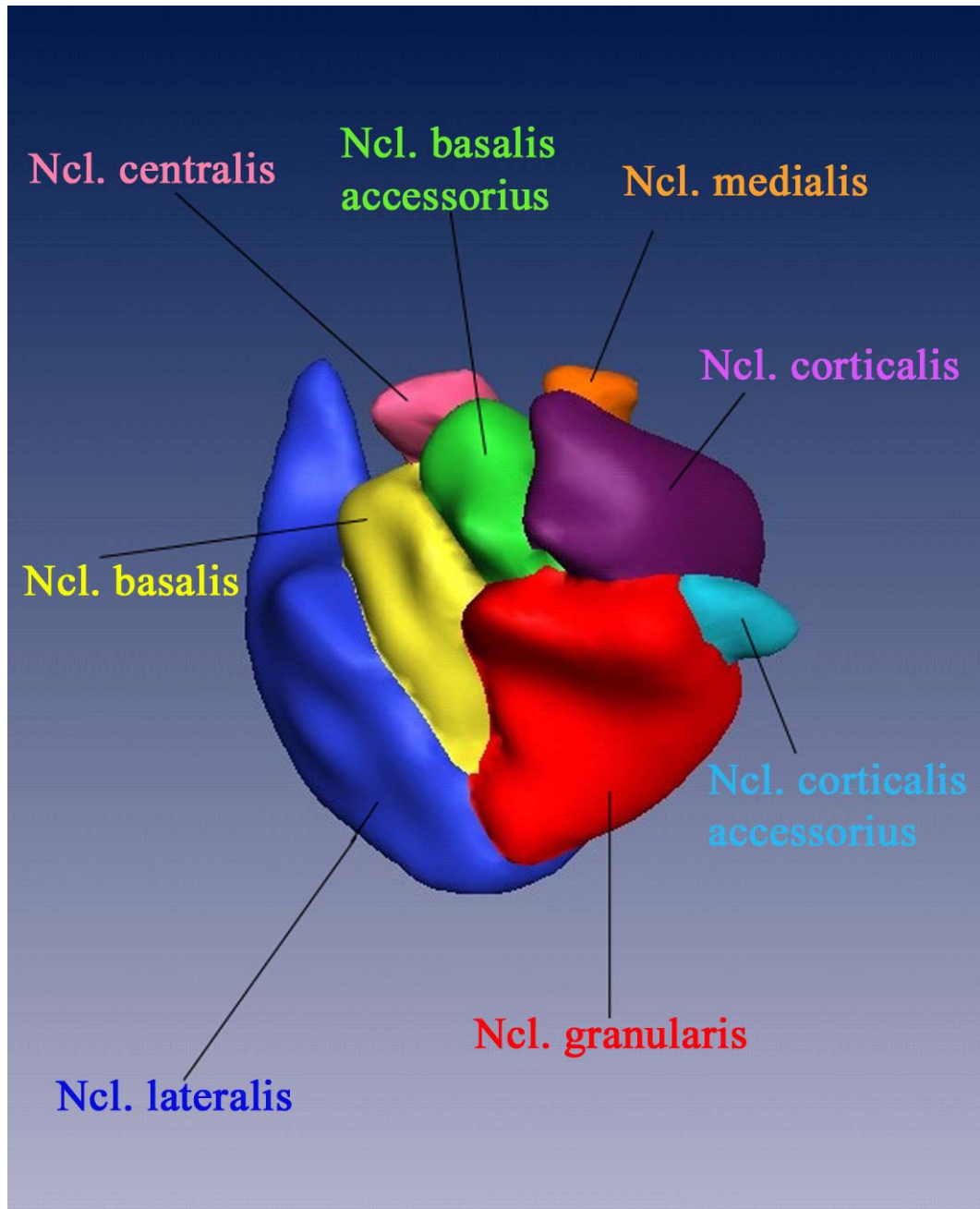


Abb. 2.: dreidimensionale Rekonstruktion der Amygdala aus mediokaudaler Perspektive mit Definition der unterschiedlichen Amygdalakerne

## 2. Ergebnisse der Kontrollfälle

### 2.1. Weiblich, 65 Jahre, Myokardinfarkt, linke Hemisphäre, (S.-Nr. 158397liro)

Die Serienschnittreihe Nummer 158397 wurde von der linken Hemisphäre angefertigt. Jeder Schnitt wurde gescannt und zur Rekonstruktion verwendet.

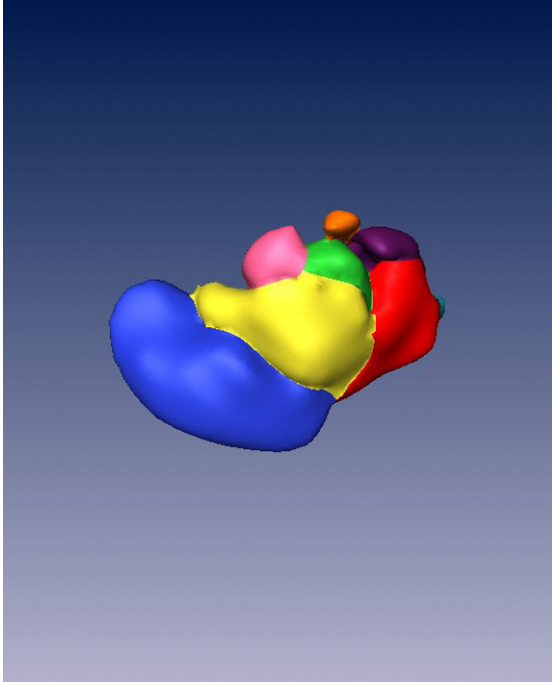


Abb.2.1.a. Ansicht von kaudal

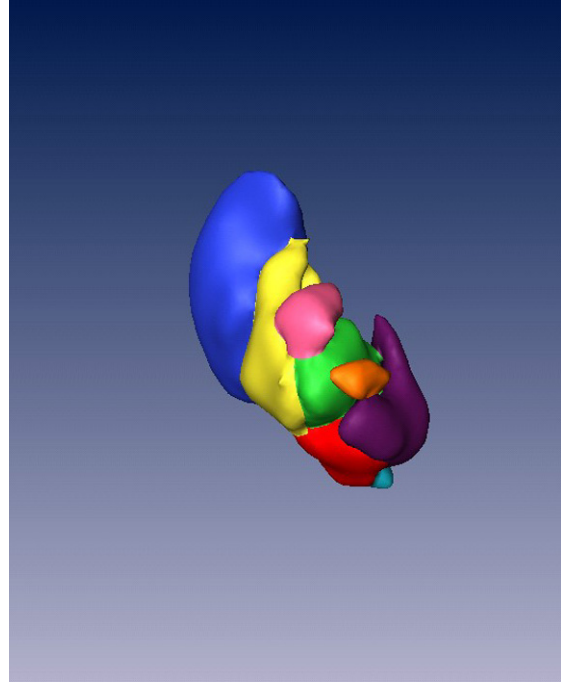


Abb.2.1.b. Ansicht von kaudomediodorsal

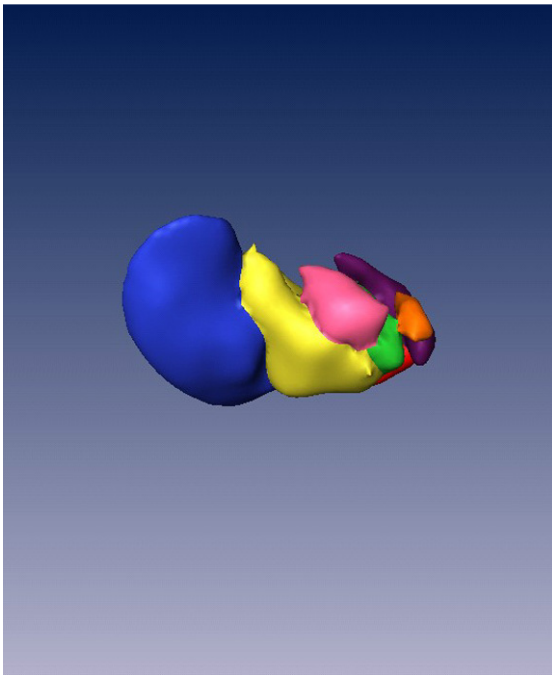


Abb.2.1.c. Ansicht von dorsal

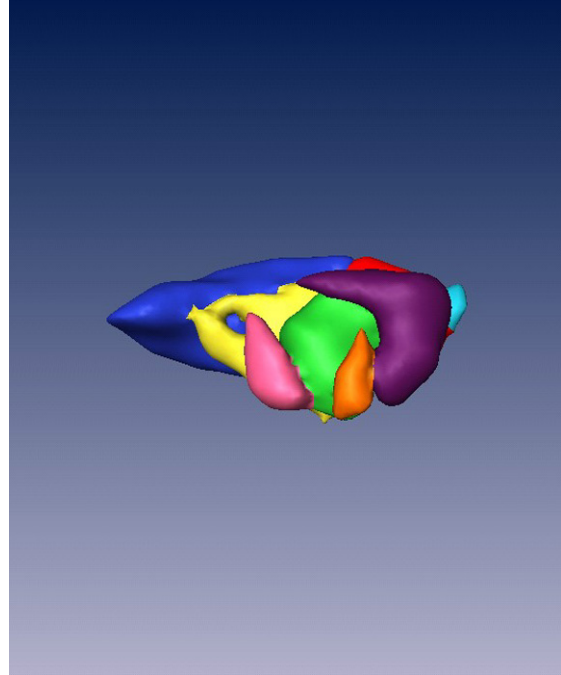


Abb.2.1.d. Ansicht von laterokaudodorsal

Von allen untersuchten Mandelkernen war der Komplex des Falles 15 83 97 von Größe und Form her weitgehend repräsentativ für den allgemeinen Bau der menschlichen Amygdala.

Die einzelnen Kerne des Mandelkernkomplexes sollen in topographisch-anatomischer Reihenfolge beginnend von dorsal über medial und anschließend nach lateral im Uhrzeigersinne beschrieben werden.

### **Morphologie**

Der *Nucleus centralis* (Fig. 2.1., *magenta*) hat die Gestalt einer Pyramide mit einer breiten und leicht schräg gestellten Basis. Von der Basis zur Spitze überspannt der Kern den Mandelkernkomplex von kaudal nach rostral nicht völlig, sondern nur dessen hintere Hälfte. Die Längsachse verläuft schräg in rostromedialer Richtung (Fig. 2.1.c.). Der *Nucleus centralis* liegt dem *Nucleus basalis* und *Nucleus basalis accessorius* nicht – wie es die Abbildungen 2.1.c. und 2.1.a. suggerieren könnten – direkt auf, sondern wird durch die *Lamella dorsolateralis* vom *Nucleus basalis* und durch die *Lamella dorsomedialis* vom *Nucleus basalis accessorius* getrennt.

Der ebenfalls pyramidenförmige aber deutlich schlankere *Nucleus medialis* (Fig. 2.1., *orange*) befindet sich knapp einen Millimeter entfernt medial vom *Nucleus centralis* und bedeckt wie jener auf der dorsalen Oberfläche der *Nuclei basalis accessorius* und *corticalis* liegend die hintere Hälfte der Amygdala. Er wird vom *Nucleus basalis accessorius* durch die *Lamella medialis* getrennt und verläuft anders als beim *Nucleus centralis* in rostromedialer Richtung. Jedoch ist seine Längsachse um 1/3 kürzer als die des *Nucleus centralis* (Fig. 2.1.c.).

Der *Nucleus corticalis* (Fig. 2.1., *violett*) bildet die dorsomediale Kante des Mandelkernkomplexes. Von dorsal gesehen erscheint der Kern y-förmig bzw. gegabelt (Fig. 2.1.c.). Die beiden Zinken der Gabel divergieren nach rostral und kaudal und umschließen so durch die *Lamella medialis* getrennt den *Nucleus basalis accessorius*. Der Griff erscheint kurz, plump und biegt am medialen Rand des Mandelkernkomplexes nach ventral um. Der gegabelte Kern nimmt eine große gewölbte Fläche ein, ist aber relativ flach (Fig. 2.1.b.).



Der *Nucleus corticalis accessorius* (Fig. 2.1., *hellblau*) sitzt als eiförmige Struktur dem nach ventromedial abgebogenen unpaaren Fortsatz des Nucleus corticalis wie ein Knauf auf (Fig. 2.1.c.).

Der *Nucleus granularis* (Fig. 2.1., *rot*) bildet die gesamte ventromediale Basis des Mandelkernkomplexes. Der Nucleus basalis delmt die lateralen Teile des Nucleus granularis weit nach ventral ein (Fig. 2.1.a.). Die mediale Hälfte des Kernes zieht unter Verbreiterung nach medial und dorsal, um sich dann den lateral gelegenen konvexen Anteilen des Nucleus corticalis anzuschmiegen bzw. den Nucleus corticalis accessorius zu tangieren. Die Lamella ventralis trennt den Nucleus granularis von den Nuclei lateralis und basalis, die Lamella medialis von dem Nucleus basalis accessorius.

Umrahmt von den Nuclei centralis, medialis, corticalis, granularis und basalis wirkt der kaudale Anteil des *Nucleus basalis accessorius* (Fig. 2.1., *grün*) eher unscheinbar. Dieser Eindruck ist unzutreffend, denn umhüllt und bedeckt von den oben erwähnten Kerngebieten täuscht sich das Auge des Betrachters über die wahre Größe des Nucleus basalis accessorius. Obwohl er von den Nachbarkernen mehrfach eingedellt wird, ist er dennoch recht kompakt und erinnert an eine leicht gekrümmte, teils eingedrückte, teils schwielige Kartoffel.

Nach lateral legt sich der *Nucleus basalis* (Fig. 2.1., *gelb*) dem Nucleus basalis accessorius getrennt von letzterem durch die Lamella intermedia an. In der Kaudalansicht bestimmt die hintere Fläche des Kernes etwa 1/3 der Gesamtoberfläche des Kernkomplexes, in der Rostralansicht dagegen engen der ausgedehnte Nucleus lateralis, der medial gelegene Nucleus basalis accessorius und der ventrale Nucleus granularis die rostrale Oberfläche auf ein kleineres dreieckiges Feld ein. Von allen Kernen des Komplexes besitzt der Nucleus basalis die merkwürdigste Gestalt. An seiner Medialfläche ist er durch den Nucleus basalis accessorius tief gekehlt. Seine Kaudalansicht erinnert an eine Bocksbeutelflasche (Fig. 2.1.a.), wobei der Flaschenhals dem dorsomedialen Rand des Nucleus lateralis aufliegt, getrennt von diesem nur durch die Lamella lateralis. In der Ansicht von medial dagegen entpuppt sich der Flaschenhals

als eine bogenförmige oder halbringförmige dorsolaterale Ausstülpung, die offensichtlich einer Faserstruktur in Form einer Öse als Durchlass dient (Fig. 2.1.c.).

Der *Nucleus lateralis* (Fig. 2.1., *dunkelblau*) ist beim Menschen der größte Kern des Mandelkernkomplexes. Er rekapituliert im Kleinen nochmals die Gesamtgestalt des Komplexes und erscheint daher ebenfalls als Mandel, jedoch flacher und weniger unregelmäßig an seiner Oberfläche als der Komplex. Nach kaudal überragen ihn die kaudalen Anteile der Nuclei basalis, basalis accessorius, centralis, medialis und corticalis um etwas 1/6 des rostrokaudalen Gesamtdurchmessers (Fig. 2.1.c.), nach rostral dagegen begleiten ihn nur noch die letzten Ausläufer des Nucleus granularis. Auf der computergestützten 3D-Rekonstruktion erscheint die sichtbare und nicht von anderen Kernen verdeckte Oberfläche glatt und konvex. In Wirklichkeit sind aber vor allem die rostralen Anteile des Lateralkernes durch ein- bzw. austretende Faserstränge tief geklüftet. Diese ausgefransten rostralen Kernanteile verschmelzen mit ähnlichen Zellsträngen des temporalen Klaustrums. Eine Grenzziehung zwischen beiden ist nur durch die stärkere Färbung der klastralen Zellstränge möglich. Die 3D-Darstellung dieser starken Oberflächenvergrößerung durch Zellstränge ist derartig rechenaufwändig, dass sie mit kommerziellen Personalcomputern nicht simuliert werden kann.

### **Volumen**

In diesem Kontrollfall 158397liro fällt der im Vergleich zu den anderen Fällen vergrößerte *Nucleus centralis* auf. Nur bei den Fällen Megalenzephalie und M. Alzheimer sind die Nuclei centrales ein wenig größer. Im Vergleich zu den Kontrollfällen 15119699liro und 9183599rero ist sein Volumen zwischen 15-25% höher (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Demgegenüber besitzt der *Nucleus corticalis accessorius* in diesem Fall von allen untersuchten Kernen das absolut und relativ kleinste Volumen. Er ist circa halb so groß wie der entsprechende linke Nucleus corticalis accessorius der 76jährigen Frau bzw. circa 50% kleiner als der rechte gleichnamige Kern des 28jährigen Mannes (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Das Volumen des *Nucleus basalis* liegt zwar absolut betrachtet zwischen dem der anderen beiden Kontrollfälle, jedoch ist sein relativer Anteil der größte von allen Fällen, er übersteigt den der anderen Kontrollfälle um 15% (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Im Gegensatz dazu hat der *Nucleus corticalis* das relativ kleinste Volumen. Es liegt circa 30% unter dem der anderen Kontrollfälle. Das absolute Volumen beträgt die Hälfte des Kontrollfalls 15119699liro und zwei Drittel des Kontrollfalls 9183599rero. Insgesamt wird das absolute Volumen nur noch von dem M. Alzheimer-Fall unterboten (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

## 2.2. Männlich, 28 Jahre, Unfalltod, rechte Hemisphäre, (S.-Nr. 9183599rero)

Die Serienschnittreihe Nummer 9183599 wurde von der rechten Hemisphäre angefertigt. Jeder Schnitt wurde gescannt und zur Rekonstruktion verwendet.

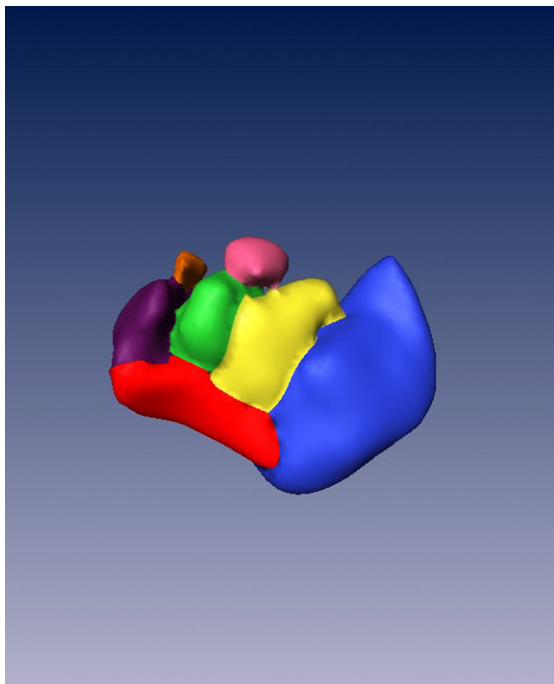


Abb.2.2.a. Ansicht von kaudal

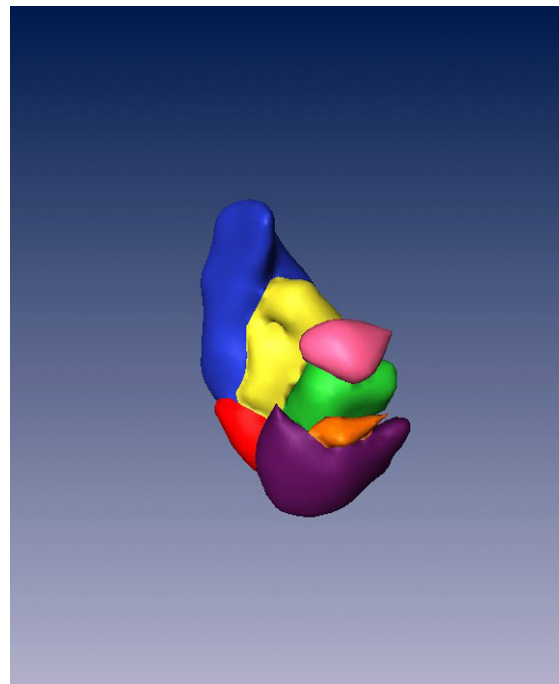


Abb.2.2.b. Ansicht von mediodorsorostral

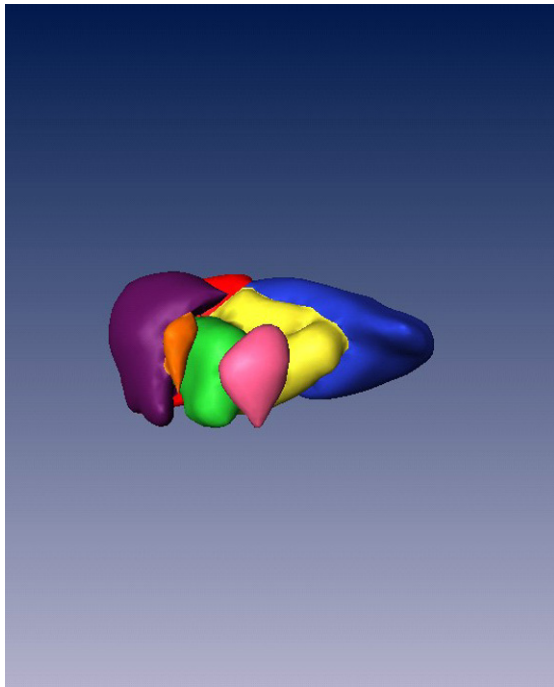


Abb.2.2.c. Ansicht von dorsal

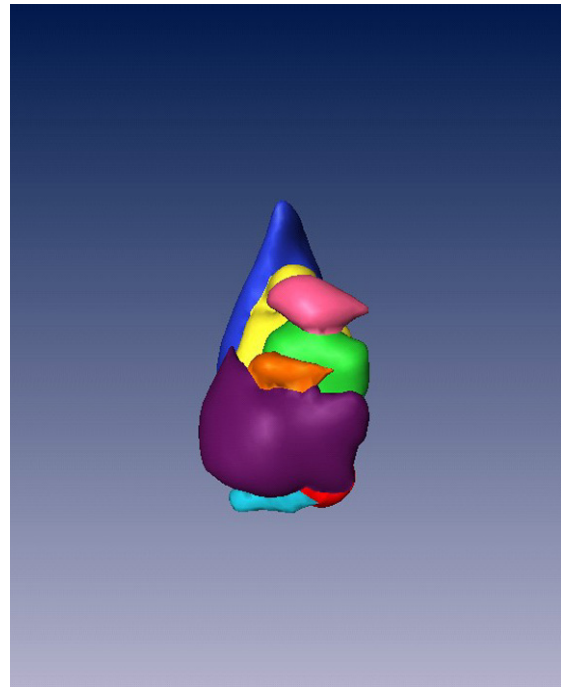


Abb.2.2.d. Ansicht von mediodorsal

### Morphologie

Auch in dem Kontrollfall 9183599rero schmiegt sich wie im vorhergehenden Fall der *Nucleus corticalis* (Fig. 2.2. a., violett) um den Nucleus basalis accessorius, ist aber eher gleichförmig flächenhaft gebaut (Fig. 2.2.d.) und zieht rostral nicht so weit nach lateral auf den Nucleus lateralis zu. Er wird hier kaudal weniger von dem *Nucleus granularis* verdrängt (Fig. 2.2.a.) und kann sich kaudal weiter nach ventral ausdehnen.

Die Gestalt des *Nucleus centralis* (Fig. 2.2.d., magenta) ähnelt bei diesem Falle eher der eines Eies mit spitzerem kaudalen und stumpferem rostralen Pol. Sein kaudales Ende zieht nicht so weit nach medial über den Nucleus basalis accessorius.

Das dorsalste Ende des *Nucleus lateralis* (Fig. 2.2., dunkelblau) zieht sich aus kaudaler und rostraler Perspektive konisch zu (Fig. 2.2.a.) während im Fall zuvor dieser Teil einen eher bogenförmigen Abschluss bildet (Fig. 2.1.d.). Die ventromediale Begrenzung zum Nucleus granularis verläuft hier nicht so weit medial, außerdem senkt sich hier der

kaudale Anteil des Nucleus basalis nicht so weit nach ventral und medial wie im vorhergehenden Fall (vgl. Fig. 2.2.a. mit 2.1.a.).

Der *Nucleus granularis* (Fig. 2.2., rot) umgreift mit seinem lateroventralen Anteil das kaudoventrale Ende des Nucleus lateralis weiter lateral als im Fall zuvor (vgl. Fig. 2.2.a. mit Fig. 2.1.a.).

Der *Nucleus corticalis accessorius* (hellblau) ist lang gestreckt und liegt fast wurstförmig zwischen dem medialen Rand des Nucleus granularis und dem ventralen Rand des Nucleus corticalis (Fig. 2.2.d.).

### **Volumen**

Der *Nucleus medialis* hat in diesem Fall im Vergleich zu den anderen Amygdalae das relativ und absolut kleinste Volumen. Beide liegen circa 15% unterhalb des vorhergehenden Falles (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Der *Nucleus basalis accessorius* besitzt das relativ geringste Volumen. Der absolute Wert für das Volumen wird nur noch vom gleichnamigen Kern des Falles mit M. Alzheimer unterschritten (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

**2.3. Weiblich, 76 Jahre, Myokardinfarkt, linken Hemisphäre, (S.-Nr. 15119699liro)**

Die Serienschichtreihe Nummer 15119699 wurde von der linken Hemisphäre angefertigt. Jeder Schnitt wurde auf dem Mikrotom abfotografiert und jeder zweite zur Rekonstruktion verwendet (siehe Kapitel B.2.3.c.).

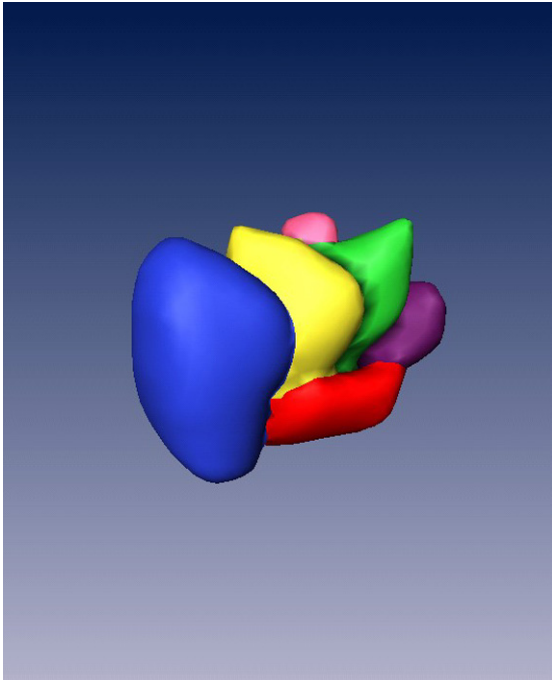


Abb.2.3.a. Ansicht von kaudal

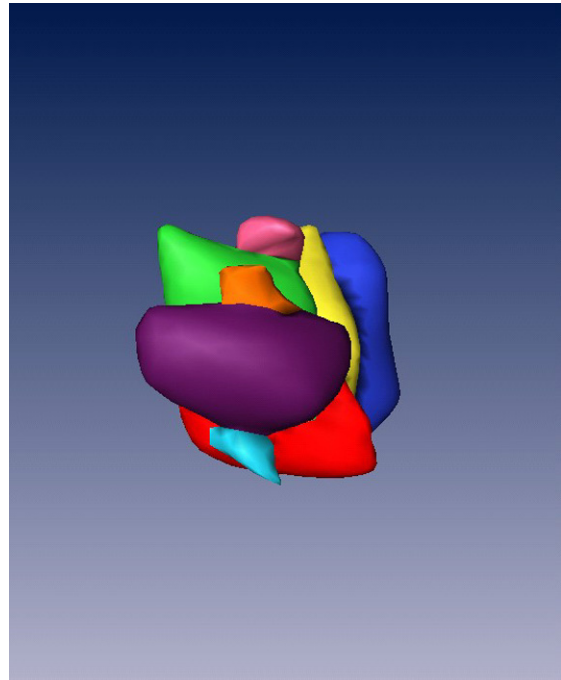


Abb. 2.3.b. Ansicht von mediorostral

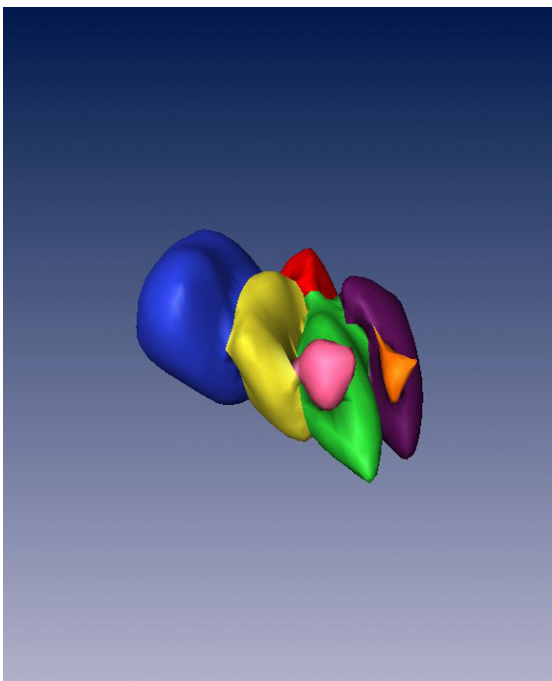


Abb. 2.3.c. Ansicht von dorsal

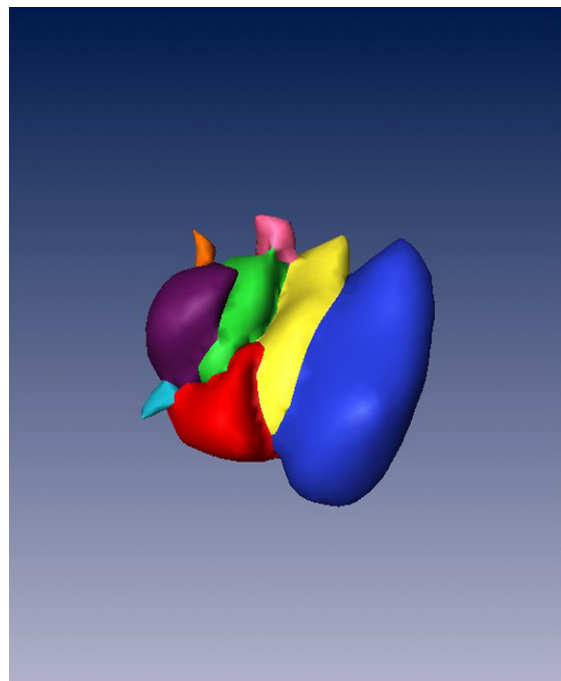


Abb.2.3.d. Ansicht von rostral

### **Morphologie**

In dem Kontrollfall 15119699liro verläuft die Längsachse vom lateralen zum medialen Ende schräger, d. h. die lateralen Kerne sind im Vergleich zu den medialen Kernen weiter nach rostral verschoben (Fig. 2.3.c.).

Während bei den anderen beiden Kontrollfällen der *Nucleus lateralis* (Fig. 2.3.d., *dunkelblau*) rostral wie die flache Seite einer in dorsolateraler Richtung liegenden Auster anmutet, deren dorsaler Rand flach schräg nach medioventral verlaufend den Nucleus basalis überdeckt und mit ihrem schmalen Ende den Nucleus granularis tangiert, steht er hier aus rostraler Sicht wie ein lang gestrecktes Ei (Fig. 2.3.d.), nahezu senkrecht und ohne Ausdehnung nach medial. Auch aus kaudaler Perspektive unterscheidet er sich ventral durch den fehlenden Ausläufer nach medial, der eher senkrecht stehenden gestauchten Eierform sowie durch die Ausbuchtung des mittleren Abschnitts nach medial (Fig. 2.3.a.).

Von besonderer Auffälligkeit ist bei dem *Nucleus basalis accessorius* (Fig. 2.3., *grün*) eine hornförmige Ausstülpung, die in kaudodorsomediale Richtung zeigt (Fig. 2.3.a., b. und c.).

Der *Nucleus corticalis* (Fig. 2.3., *violett*) ist insgesamt kaudorostral verlängert und er legt sich nicht wie in den Fällen zuvor schmal und spitz zulaufend rostral um den Nucleus basalis accessorius (Fig. 2.3.d.).

Der *Nucleus granularis* (Fig. 2.3, *rot*) besitzt eine insgesamt größere kaudorostrale Ausdehnung sowie eine kaudale Ausstülpung nach lateroventral und rostral nach dorsal bis zur Hälfte der Amygdalahöhe mit Verdrängung der benachbarten Nuclei basalis und basalis accessorius (Fig. 2.3.d.).

Auch der *Nucleus basalis* (Fig. 2.3., *gelb*) ist kaudorostral verlängert, seine beiden Schenkel sind hier miteinander verschmolzen und bilden keine Öse mit Sicht auf den Nucleus lateralis wie im ersten Kontrollfall (vgl. Fig. 2.1.c.). Sein dorsolateraler Teil

endet spitzer und steht fast senkrecht anstatt sich der dorsomedialen Oberfläche des Nucleus lateralis anzuschmiegen (Fig. 2.3.d.).

Der *Nucleus corticalis accessorius* (Fig. 2.3., *hellblau*) besitzt einen längeren, spitzen Ausläufer nach mediorostroventral (2.3.b.).

Im Gegensatz zu den insgesamt großen Nachbarkernen ist die Längsachse des *Nucleus centralis* (Fig. 2.3., *magenta*) verkürzt und seine Gestalt eher kugelförmig (Fig. 2.3.c.).

Der *Nucleus medialis* (Fig. 2.3., *orange*) kommt auf dem mittleren Drittel der dorsalen Oberfläche des Nucleus corticalis zu liegen (Fig. 2.3.b.). Der Kern ist mediolateral verschmälert (Fig. 2.3.c.), nimmt eine aus rostraler Perspektive halbmondförmige Gestalt an und weist mit seiner dorsalen Spitze nach medial.

### **Volumen**

Das Gesamtvolumen dieser Amygdala ist circa 20% größer als das jeweilige der beiden anderen Kontrollfälle. Zu dieser Differenz tragen besonderes die drei deutlich größeren Kerngebiete des Nucleus corticalis, granularis und basalis accessorius bei (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

### **Zusammenfassende Beurteilung der Kontrollfälle**

Abgesehen von kleineren Differenzen in Bezug auf die Form (Nucleus basalis, lateralis, granularis und centralis), in Bezug auf die Lage (Nucleus medialis) und in Bezug auf die Größe (Nucleus basalis accessorius, centralis, corticalis und corticalis accessorius) sind die Mandelkerne der 65-jährigen Frau und des 28-jährigen Mannes von weitgehend ähnlicher Gestalt.

Gestalt und Volumen des linken Mandelkerns der 76-jährigen Frau weichen erheblich von den beiden anderen untersuchten Mandelkernen ab. Signifikant in Bezug darauf sind der eiförmige Nucleus lateralis, der hohe, fast senkrecht stehende, dorsal spitz zulaufende und nach kaudal ausgebeulte Nucleus basalis, der plumpere, weniger sichelförmig um den Nucleus basalis accessorius verlaufende, aber dennoch größere Nucleus corticalis, der ebenfalls erheblich vergrößerte Nucleus basalis accessorius mit



seiner dorsokaudomedialen hornförmigen Ausstülpung sowie der vergrößerte Nucleus granularis mit seiner verlängerten kaudorostralen Ausdehnung, seiner kaudalen Ausstülpung nach lateroventral und rostral nach dorsal.

Insgesamt ist diese Amygdala mehr als 20% größer als die vorhergehenden. Im Gegensatz zu den anderen untersuchten Kontrollfällen weist die mediolaterale Längsachse nach laterorostral.

### **3. Ergebnisse der pathologischen Fälle**

#### **3.1. Männlich, 48 Jahre, Lungenembolie, linke Hemisphäre, Megalenzephalie (S.-Nr. 711598liro)**

Die Serienschnittreihe Nummer 711598 wurde von der linken Hemisphäre angefertigt. Jeder zweite Schnitt wurde gescannt und zur Rekonstruktion verwendet.

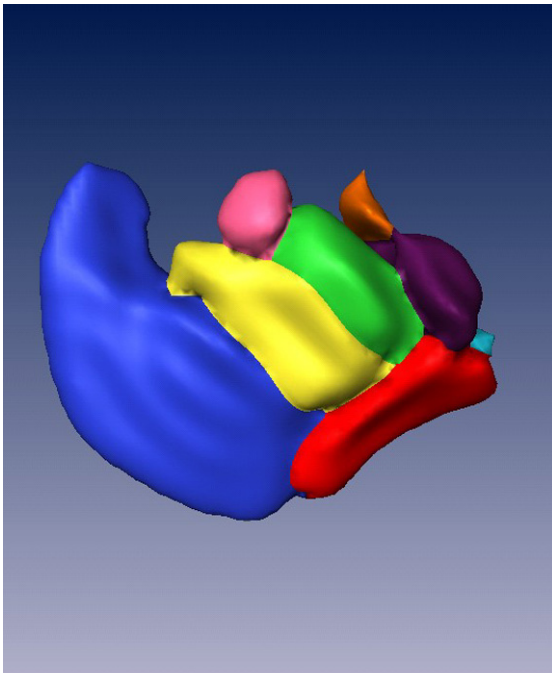


Abb.3.1.a. Ansicht von kaudal

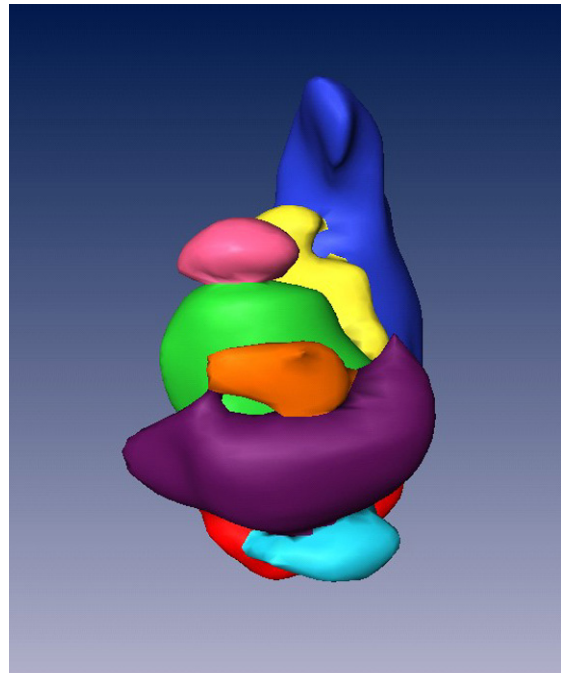


Abb.3.1.a. Ansicht von mediodorsal

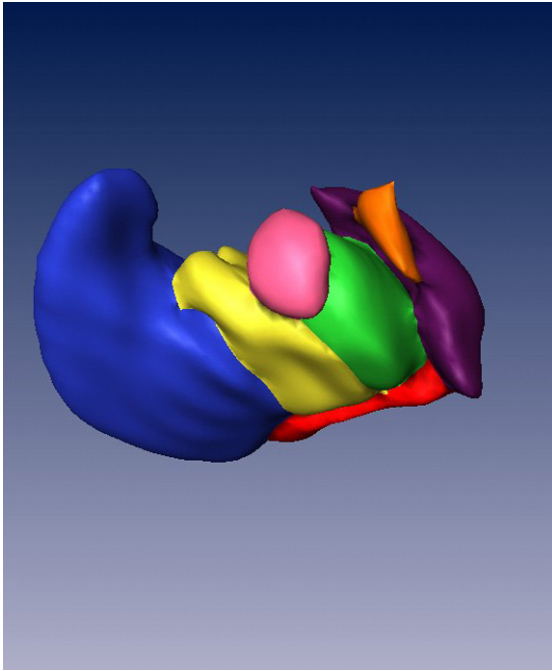


Abb.3.1.c. Ansicht von kaudodorsal

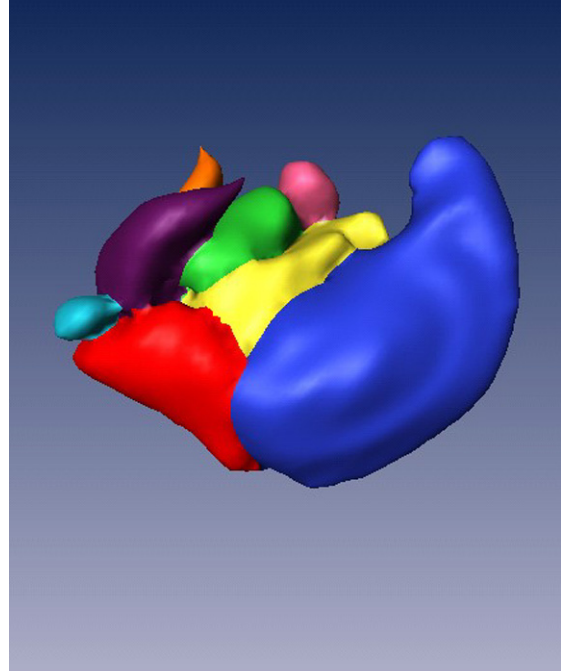


Abb.3.1.d. Ansicht von rostral

### **Morphologie**

Abgesehen von einem insgesamt größeren Ausmaß des Kernkomplexes entspricht die Morphologie der Kerne im Großen und Ganzen den Kontrollfällen, besonders den ersten beiden (vgl. Fall 158397liro und 9183599rero).

Eine Formdifferenz ist bei dem *Nucleus corticalis accessorius* (Fig. 3.1., *hellblau*) zu konstatieren. Dieser Kern erstreckt sich unter einer keulenförmigen Volumenzunahme von kaudal nach rostral (Fig. 3.1.b.).

### **Volumen**

Bei dem Fall der Megalenzephalie sind alle Kerne des Amygdalakomplexes mit 15-60% mehr oder weniger stark im Vergleich zu den Kontrollfällen vergrößert. Am weitesten nach oben hin weichen die Volumina des Nucleus medialis (+40-50%) und corticalis accessorius (+35-60%) ab (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

**3.2. Männlich, 65 Jahre, Myokardinfarkt, linke Hemisphäre, M. Little, (S.-Nr. 260102liro)**

Die Serienschnittreihe Nummer 260102 wurde von der linken Hemisphäre angefertigt. Jeder zweite Schnitt wurde gescannt und zur Rekonstruktion verwendet.

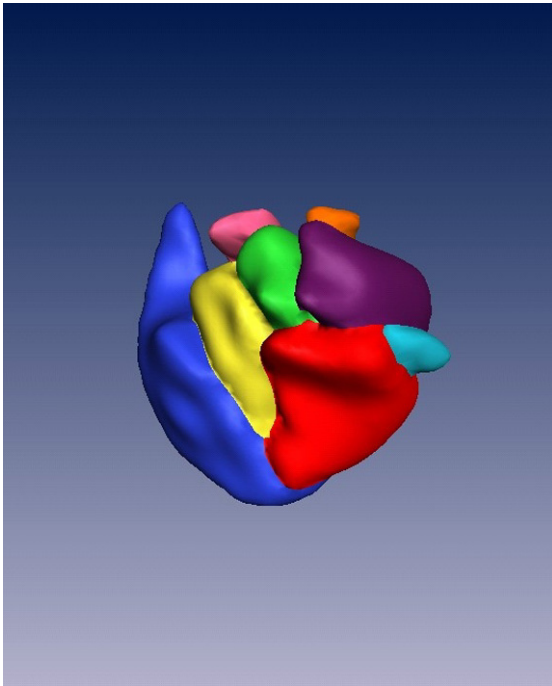


Abb.3.2.a. Ansicht von mediokaudal

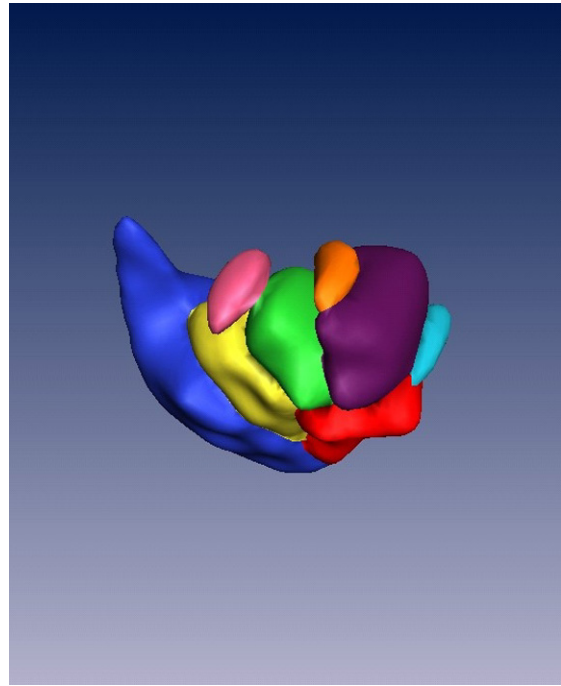


Abb.3.2.b. Ansicht von mediodorsokaudal

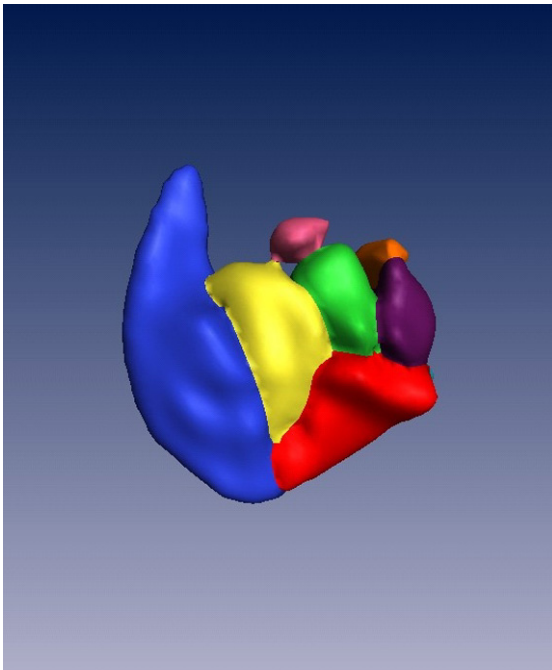


Abb.3.2.c. Ansicht von kaudal

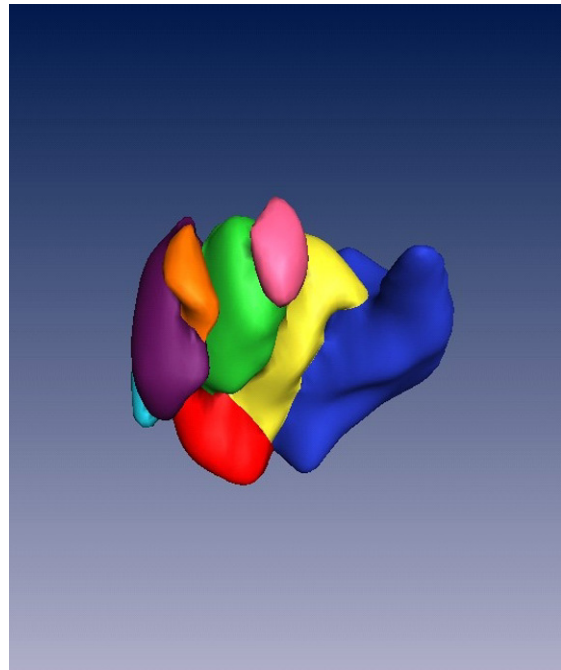


Abb.3.2.d. Ansicht von rostradorsal

### **Morphologie**

Im Vergleich zum Kernkomplex der Kontrollfälle erscheint der Mandelkern in der mediolateralen Achse gestaucht, dafür in der rostrokaudalen Achse gestreckt.

Der *Nucleus granularis* (Fig. 3.2., rot) überragt sehr lang gestreckt in kaudorostraler Richtung alle anderen Kerngebiete und schmiegt sich aus kaudaler Perspektive relativ breit von ventral an die *Nuclei corticalis* und *basalis accessorius* (Fig. 3.2.b.).

### **Volumen**

Das Gesamtvolumen der Amygdala dieses Falles ist zwischen 2-20% größer als bei den Kontrollfällen (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Das sowohl absolute als auch relativ größte Volumen besitzt der *Nucleus granularis* in dieser Amygdala (+20 – +40% im Vergleich zu den anderen Kontrollfällen). Sein Volumen übertrifft sogar den gleichnamigen Kern des Falles mit Megalenzephalie (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Der *Nucleus centralis* weist hier im Vergleich zu den anderen Fällen das relativ kleinste Volumen auf. Auch das absolute Volumen für diesen Kern liegt unterhalb der Kontrollfälle. Nur das Volumen des gleichnamigen Kernes aus der rechten Hemisphäre des Falles von Chorea Huntington unterschreitet sein Volumen (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Das Relativvolumen des *Nucleus corticalis accessorius* übertrifft das aller anderen untersuchten Fälle, das absolute Volumen mit 20-60% das der Kontrollfälle (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

**3.3. Männlich, 49 Jahre, linke Hemisphäre, Chorea Huntington (S.-Nr. 264798liro)**

Die Serienschneitreihe Nummer 264798 wurde von der linken Hemisphäre angefertigt.

Jeder zweite Schnitt wurde gescannt und zur Rekonstruktion verwendet.

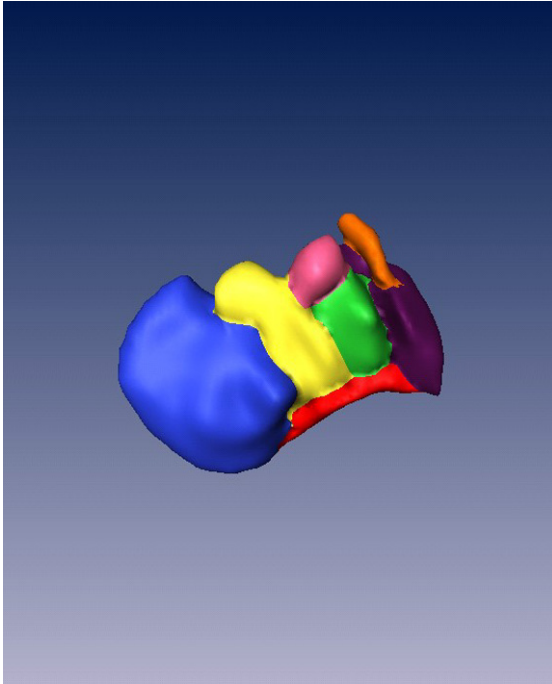


Abb.3.3.a. Ansicht von kaudal

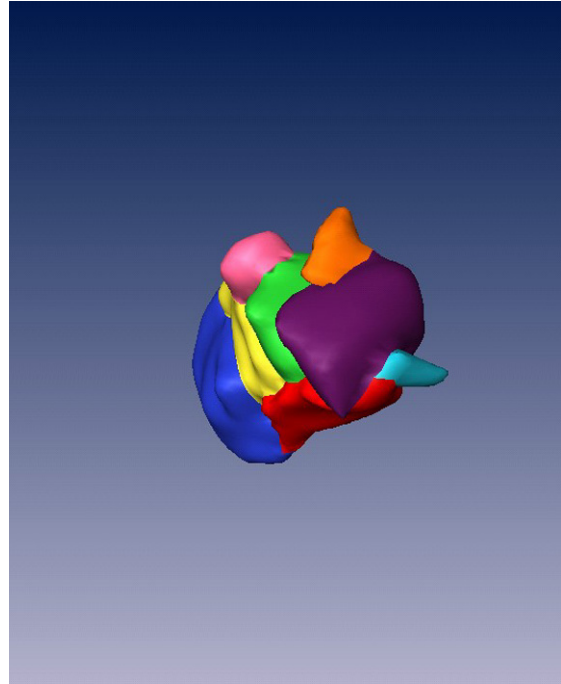


Abb.3.3.b. Ansicht von mediokaudal

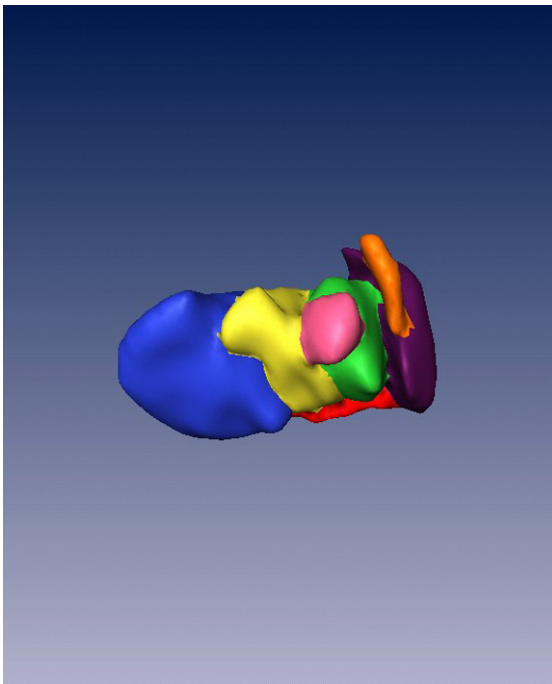


Abb.3.3.c. Ansicht von laterokaudodorsal

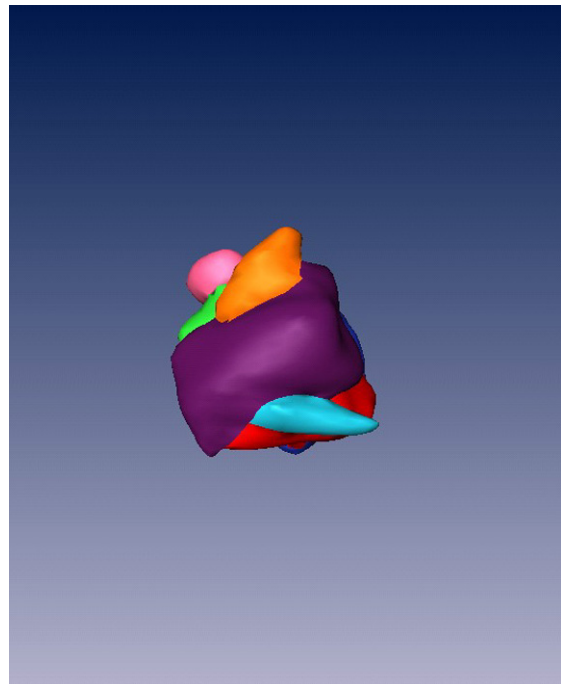


Abb.3.3.d. Ansicht von medial

### **Morphologie**

Die Form des Mandelkernkomplexes und die Gestalt der Kerne sind bei dieser schweren neurodegenerativen Krankheit kaum verändert. In ihrem Aussehen ähneln die einzelnen Kerne mal mehr dem des einen mal dem des anderen Kontrollfalles. Insgesamt erscheint der Mandelkernkomplex etwas kleiner als bei den Kontrollfällen.

### **Volumen**

Bei dem Chorea Huntington-Fall aus der linken Hemisphäre ist das Gesamtvolumen im Vergleich zu den Kontrollfällen um circa 10-30% und im Vergleich zu der Amygdala aus der gegenseitigen Hemisphäre um circa 5% reduziert, wohingegen die Nuclei granularis, corticalis, centralis und medialis größer als auf der Gegenseite sind (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

### **3.4. Männlich, 49 Jahre, rechte Hemisphäre, Chorea Huntington, (S.-Nr. 264798rero)**

Die Serienschnittreihe Nummer 264798 wurde von der rechten Hemisphäre angefertigt. Jeder zweite Schnitt wurde gescannt und zur Rekonstruktion verwendet.

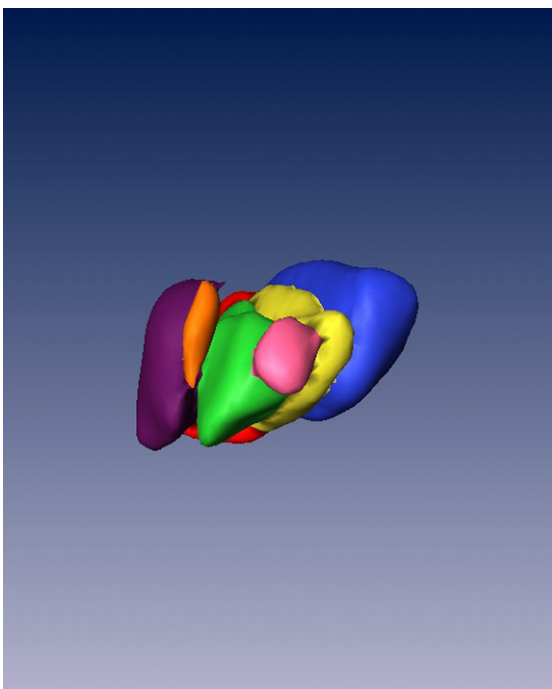


Abb.3.4.a. Ansicht von dorsal

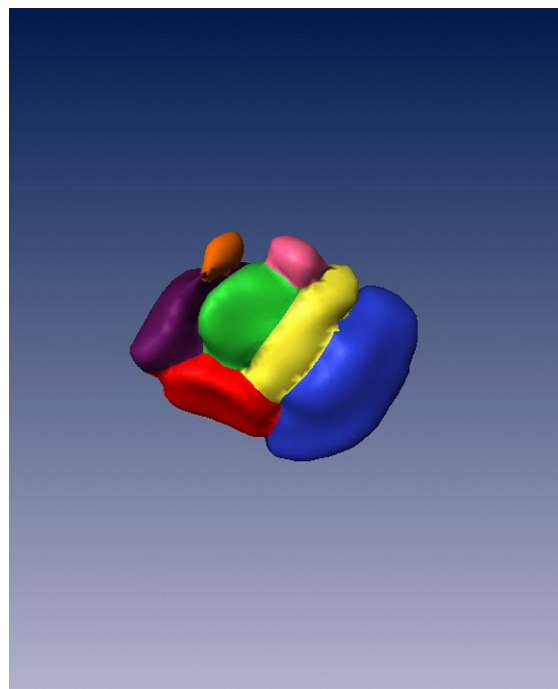


Abb.3.4.b. Ansicht von kaudal

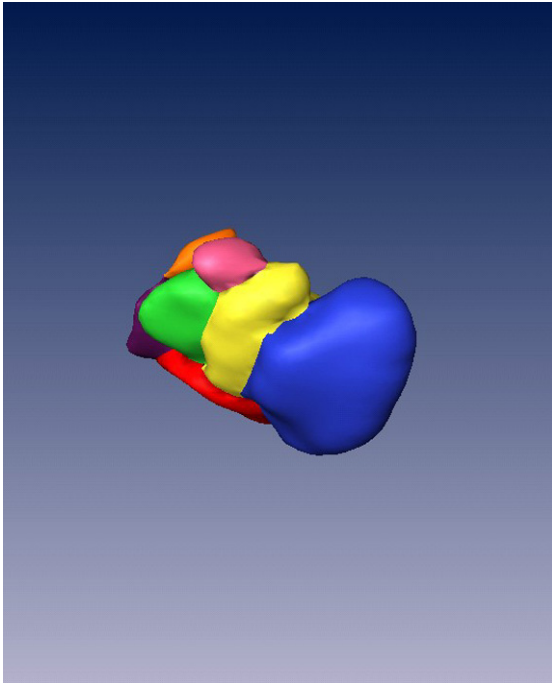


Abb.3.4.c. Ansicht von laterokaudal

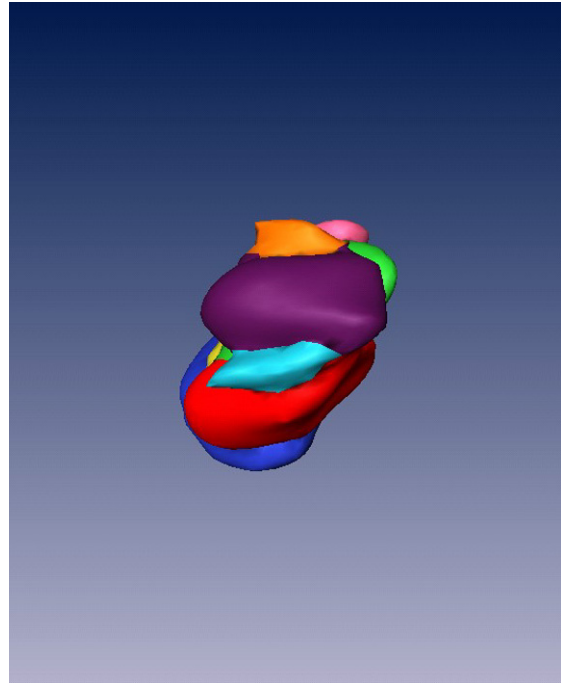


Abb.3.4.d. Ansicht von medial

### **Morphologie**

Die morphologischen Differenzen zur kontralateralen Amygdala leiten sich aus dem linksseitig verkleinerten basolateralen Komplex und dem rechtsseitig verkleinerten corticomedialen Komplex ab.

### **Volumen**

Die Amygdala der rechten Hemisphäre ist um circa 5% größer als das kontralaterale Kerngebiet (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Die asymmetrische Volumenverteilung betrifft die Kerne nicht gleichmäßig. Die größten Seitenunterschiede wurden im Nucleus centralis (re 30% < li), Nucleus medialis und corticalis (re 20% < li) und im Nucleus und granularis (re 10% < li) beobachtet.

Die Nuclei lateralis, basalis und corticalis accessorius weichen von dieser Tendenz ab und waren rechts 5-15% größer als links (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen, 4.2.).

Der *Nucleus centralis* weist in diesem Fall das geringste relative Volumen auf und ist auch unter dem Gesichtspunkt des absoluten Volumens deutlich kleiner als bei allen anderen Fällen (vgl. Tabellen 2.1.a., 2.2.a., 2.3.a, 4.1.2., 3.4.a, Diagramm 4.1.).

**3.5. Weiblich, 85 Jahre, Myokardinfarkt, linke Hemisphäre, M. Alzheimer, (S.-Nr. 265490liro)**

Die Serienschichtreihe Nummer 15119699 wurde von der linken Hemisphäre angefertigt. Jeder zweite Schnitt wurde gescannt und zur Rekonstruktion verwendet.

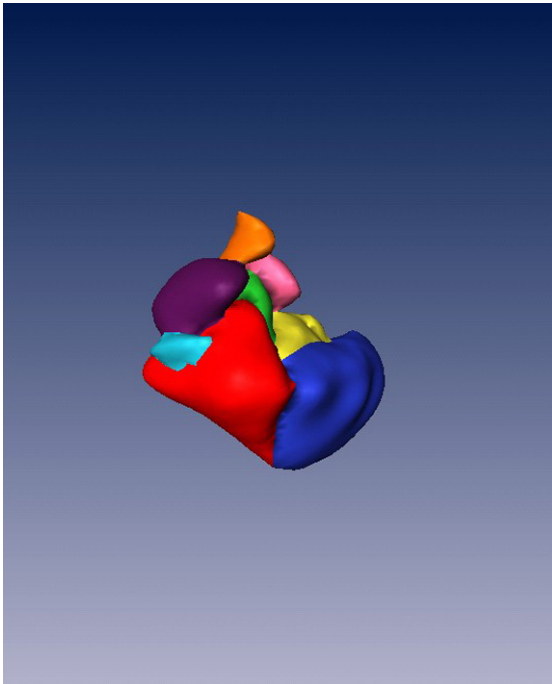


Abb.3.5.a. Ansicht von mediorostral

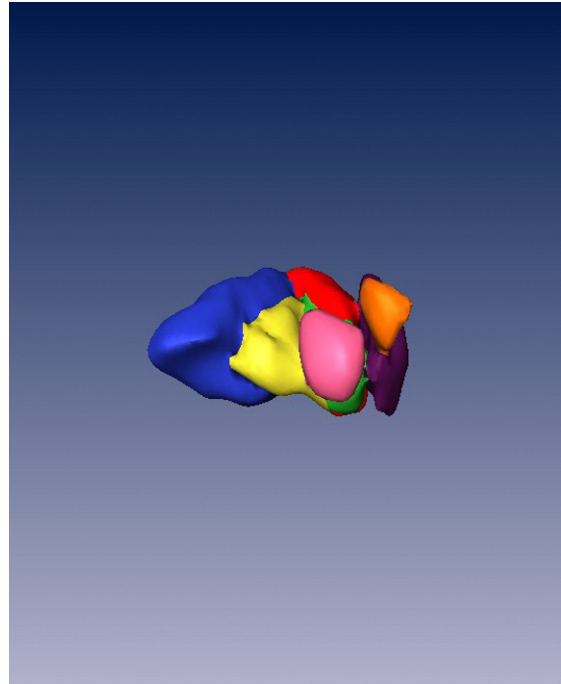


Abb.3.5.b. Ansicht von dorsal

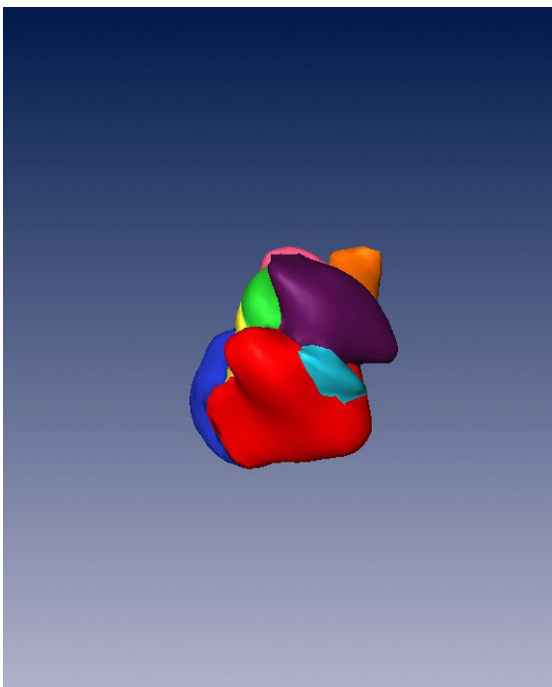


Abb.3.5.c. Ansicht von kaudomedioventral

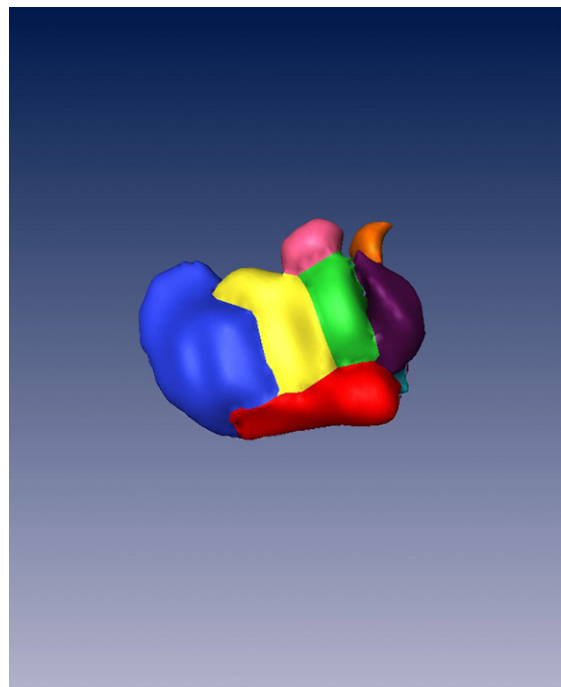


Abb.3.5.d. Ansicht von kaudal



### **Morphologie**

Die Morphologie dieser Amygdala wird sehr beeinflusst von der stark unterschiedlichen Atrophie der einzelnen Kerne. Insgesamt wirkt der Kernkomplex in der mediolateralen Achse noch stärker gestaucht als bei dem Fall von Chorea Huntington. Morphologisch hat er die meiste Ähnlichkeit mit dem zweiten Kontrollfall (vgl. Fig. 3.5.d. mit 2.2.a. und 3.3.a.)

Auffällig sind bei dem *Nucleus granularis* (Fig. 3.5., rot) der längere kaudorostrale Durchmesser, wodurch dieser Kern kaudal und rostral die anderen überragt, und die mediorostrodorsale Ausdehnung, die den Nucleus basalis accessorius überdeckt. Diese Form findet sich bei keinem der Kontrollfälle (Fig. 3.5.a. und b.).

### **Volumen**

Die Amygdala des M. Alzheimer-Falles hat von allen untersuchten Fällen das kleinste Volumen (-35 bis -50% im Vergleich zu den Kontrollfällen).

Das Volumen des *Nucleus lateralis* ist im Vergleich von allen Fällen das kleinste und um circa 30-40% geringer als das der Kontrollfälle (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Noch stärker ist die Diskrepanz bei dem *Nucleus basalis*. Er nimmt weniger als die Hälfte des Volumens der Kontrollfälle ein. Ebenso ist der *Nucleus basalis* von allen Fällen der kleinste. Das relative Volumen ist im Vergleich zu den Kontrollfällen um 40-50% reduziert (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Auch der *Nucleus basalis accessorius* besitzt hier das absolut kleinste Volumen. Jedoch ist die Vergleichsvarianz zu den Kontrollfällen breiter. Sie reicht von einem circa 10% größeren Volumen bei dem zweiten Kontrollfall 9183599rero über ein circa 30% größeres bei dem ersten Kontrollfall 158397liro bis hin zu einem circa 100% größeren Volumen bei dem dritten Kontrollfall 15119699liro. Das relative Volumen liegt zwischen dem der Kontrollfälle (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Entgegen der Atrophie mancher Kerne sind sowohl der *Nucleus granularis* als auch der *Nucleus centralis* im Vergleich zu den Kontrollfällen vergrößert. Erstgenannter hat ein um circa 10-40% größeres Volumen als die Kontrollfälle, das relative Volumen ist fast doppelt so hoch. Letztgenannter überragt das Volumen der Kontrollfälle um circa 2-25%. Das relative Volumen liegt 25-50% über den Kontrollfällen. Beide Kerngebiete besitzen ebenfalls das höchste relative Volumen von allen Vergleichsfällen (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

Das größte relative und absolute Volumen (exklusive Megalenzephalie) liegt hier für den *Nucleus medialis* vor. Das relative Volumen ist doppelt so hoch wie bei den Kontrollfällen und der absolute Wert übersteigt um circa 30-40% den der Kontrollfälle (vgl. Diagramme 4.1., 4.2. und Tabellen 4.1., 4.2.).

#### **4. Zusammenfassender Ergebnisvergleich, Tabellen und Diagramme**

##### **4.1. Die Kernvolumina nach Berechnung durch Amira und Schätzung mit dem Punktzählverfahren**

Die mit der Amira-Software errechneten Volumina der dreidimensionalen Rekonstruktionen liegen bei allen verwendeten Serienschichtreihen mehr oder weniger unterhalb der quantitativen Ergebnisse, die mit dem herkömmlichen Punktzählverfahren nach Chalkley erzielt wurden.

Im Fall des M. Alzheimer kommen beide Methoden zu dem fast identischen Ergebnis. Bei dem linken Kontrollfall 158397liro, den Fällen mit Megalenzephalie, M. Little und dem linksseitigen Chorea Huntington-Fall schwankt der Differenzwert um die 2%. Bei dem Kontrollfall 9183599rero beträgt er knapp unter und bei dem rechtsseitigen Chorea Huntington-Fall knapp über 5% (vgl. Tabelle 4.3. und Diagramm 4.3.).

##### **4.2. Vergleich des Mandelkernvolumens mit Kortex- und Endhirnvolumen**

Der Anteil der Amygdala am Telenzephalon beträgt bei den beiden Kontrollfällen 158397liro und 9183599rero 0,276 und 0,247%. Innerhalb dieser Spanne liegen die Werte für die linken Hemisphären des Falles mit Chorea Huntington und des Falles mit

Megalenzephalie. Die Relationen in der rechten Hemisphäre des Falles mit Chorea Huntington und des Falles mit M. Alzheimer weisen eine circa 10% Vergrößerung im Vergleich zum Durchschnittswert der Kontrollfälle auf; bei dem M. Little-Fall liegt der Anteil circa 20% darüber.

Die relativen Volumina der Amygdalae der beiden Kontrollfälle 158397liro und 9183599rero in Bezug auf den Kortex liegen bei 0,51 und 0,56%. Die Anteile in den Fällen von Chorea Huntington und M. Alzheimer weisen im Vergleich zum Durchschnittswert der Kontrollfälle eine Vergrößerung um circa 8% und der M. Little-Fall sogar um fast 25% auf. Der Anteil im Fall der Megalenzephalie entspricht dem des linken Kontrollfalles.

Kortex und Telenzephalon sind also bei der Megalenzephalie im gleichen Maße vergrößert wie die Amygdala, während bei den anderen pathologischen Fällen die über den Kontrollfällen liegenden Anteile der Amygdalae an Telenzephalon und Kortex einer stärkeren Atrophie extraamygdaloider Strukturen als der Amygdalae entsprechen (vgl. Tabelle 4.4 und Diagramme 4.4.a. und 4.4.b.).

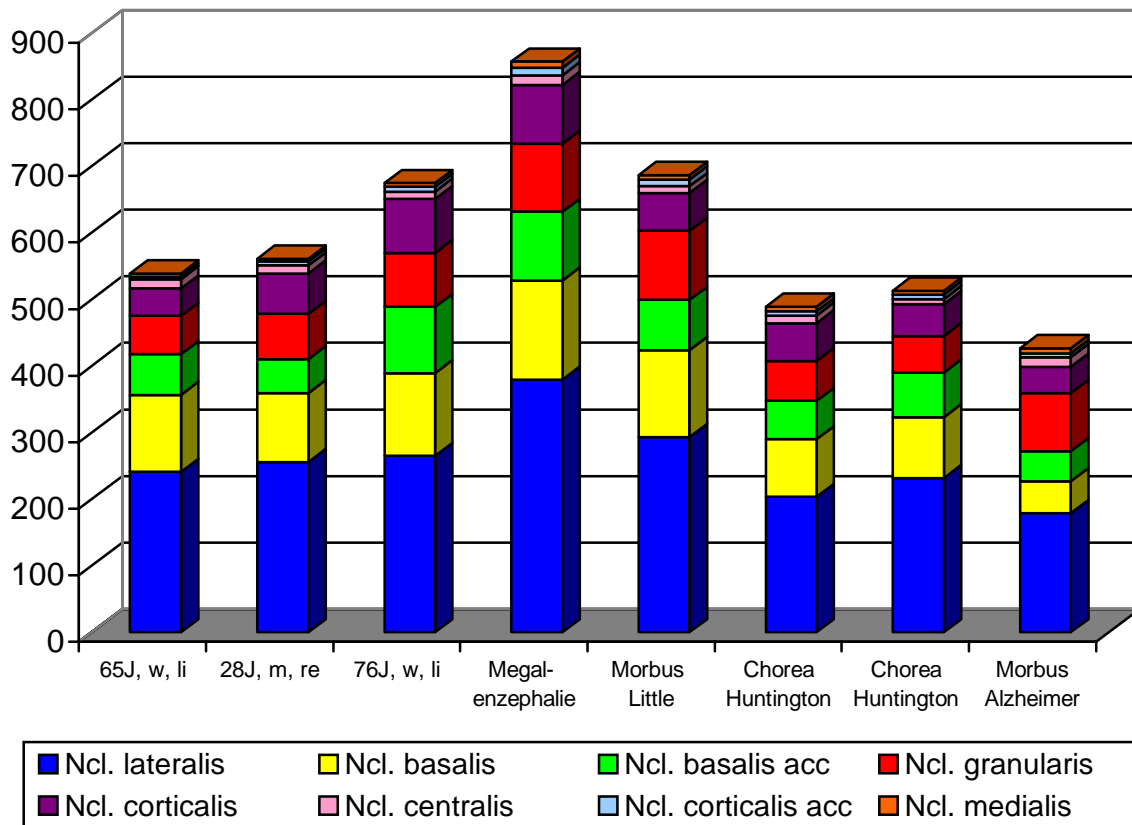
**Tabelle 4.1.**

**Übersicht der untersuchten Amygdalae**

	Fallnummer	Alter	Geschlecht	Hemisphäre	Volumen
Kontrolle 1	158397liro	65	weiblich	links	539,07mm <sup>3</sup>
Kontrolle 2	9183599rero	28	männlich	rechts	560,67mm <sup>3</sup>
Kontrolle 3	15119699liro	76	weiblich	links	674,6mm <sup>3</sup>
Megalenzephalie	711598liro	48	männlich	links	856,9mm <sup>3</sup>
M. Little	260102liro	65	männlich	links	686,66mm <sup>3</sup>
Chorea Huntington	264798liro	49	männlich	links	488,64mm <sup>3</sup>
Chorea Huntington	264798rero	49	männlich	rechts	513,1mm <sup>3</sup>
M. Alzheimer	265490liro	85	weiblich	links	426,25mm <sup>3</sup>

**Diagramm 4.1.**

**Vergleich der Amygdalavolumina in Kubikmillimeter**



**Tabelle 4.2.a.**

**Kernvolumenanteile am Gesamtvolumen**

	158397li	9183599r	15119699	711598li	260102li	264798li	264798re	265490li
<b>Ncl. lat.</b>	44,6%	45,6%	39,3%	44,3%	42,7%	41,6%	45,2%	42,0%
<b>Ncl. bas.</b>	21,4%	18,5%	18,4%	17,4%	19,1%	17,6%	17,7%	11,3%
<b>Ncl. bas. ac.</b>	11,3%	9,1%	14,8%	12,0%	11,0%	11,8%	13,2%	10,6%

<b>Ncl. gran.</b>	10,7%	12,1%	12%	11,9%	15,1%	12,3%	10,7%	20,5%
<b>Ncl. cort.</b>	7,7%	10,9%	12%	10,3%	8,3%	11,5%	9,4%	9,3%
<b>Ncl. centr.</b>	2,6%	2,1%	1,6%	1,7%	1,5%	2,3%	1,5%	3,3%
<b>Ncl. cort. ac.</b>	0,7%	1,0%	1,1%	1,3%	1,4%	1,3%	1,3%	1,3%
<b>Ncl. med.</b>	0,9%	0,8%	0,9%	1,1%	1,0%	1,5%	1,2%	1,8%

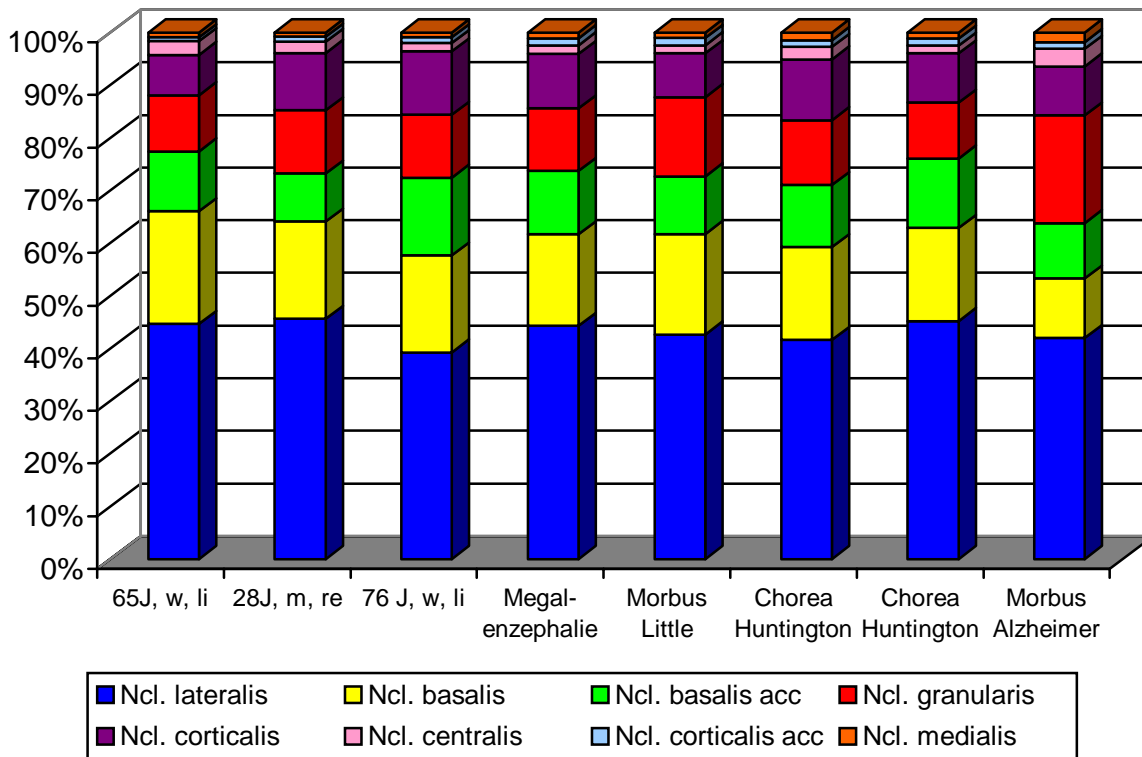
Tabelle 4.2.a.

Volumina in mm<sup>3</sup>

	158397li	9183599r	15119699l	711598li	260102li	264798li	264798re	265490li
<b>Ncl. lat.</b>	240,69	255,7	264,93	379,36	292,88	203,43	231,82	178,87
<b>Ncl. bas.</b>	115,46	103,76	124,06	149,12	130,97	86,08	90,90	48,18
<b>Ncl. bas. acc.</b>	61,14	50,86	99,51	102,90	75,24	57,71	67,55	44,99
<b>Ncl. gran.</b>	57,51	67,73	81,23	102,25	103,51	60,26	54,71	87,19
<b>Ncl. cort.</b>	41,54	61	81,04	88,45	57,21	56,42	47,98	39,51
<b>Ncl. centr.</b>	13,93	11,79	10,67	14,22	10,18	11,42	7,57	14,26
<b>Ncl. cort. acc.</b>	3,87	5,57	7,3	11,48	9,71	6,17	6,67	5,64
<b>Ncl. med.</b>	4,92	4,27	5,86	9,12	6,95	7,15	5,91	7,61
<b>Gesamt</b>	539,07	560,67	674,60	856,90	686,66	488,64	513,10	426,25

**Diagramm: 4.2.**

**Kernvolumenanteile vom Gesamtvolumen**



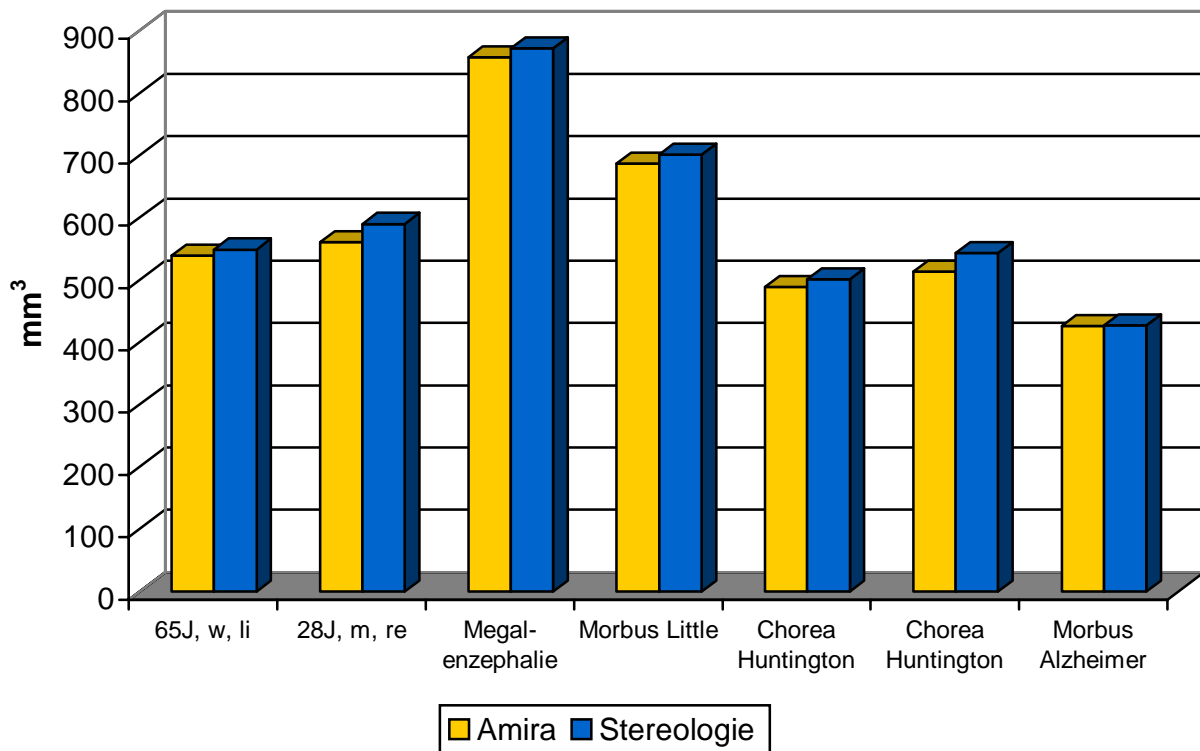
**Tabelle 4.3.**

**Voluminavergleich: Amira versus Punktzählverfahren**

	158397li	9183599r	711598li	260102li	264798li	264798re	265490li
<b>Amira</b>	539,07	560,67	856,9	686,66	488,64	513,1	426,25
<b>Stereologie</b>	548,68	589,72	871,33	700,92	501,1	542,6	426,89

**Diagramm 4.3.**

**Voluminavergleich: Amira versus Punktzählverfahren**



**Tabelle 4.4.**

**Mit dem Punktzählverfahren geschätzte Volumina von Telenzephalon, Kortex und Mandelkern**

	158397	9183599	711598	260102	264798l	264798r	265490
Volumen Kortex in cm <sup>3</sup>	107,591	106,237	169,257	105,435	86,447	93,35	74,844
Volumen Telenzephalon in cm <sup>3</sup>	198,931	239,213	345,345	216,068	179,487	184,513	144,144
Volumen Amygdala in mm <sup>3</sup>	548,68	589,72	871,33	700,92	501,1	542,6	426,89
Anteil der Amygdala am Telenzephalon	0,2756%	0,2465%	0,2523%	0,32%	0,279%	0,294%	0,296%
Anteil der Amygdala am Kortex	0,51%	0,555%	0,515%	0,665%	0,58%	0,581%	0,57%

Diagramm 4.4.a.

Mit dem Punktzählverfahren geschätzte Volumina von Telencephalon, Kortex und Mandelkern

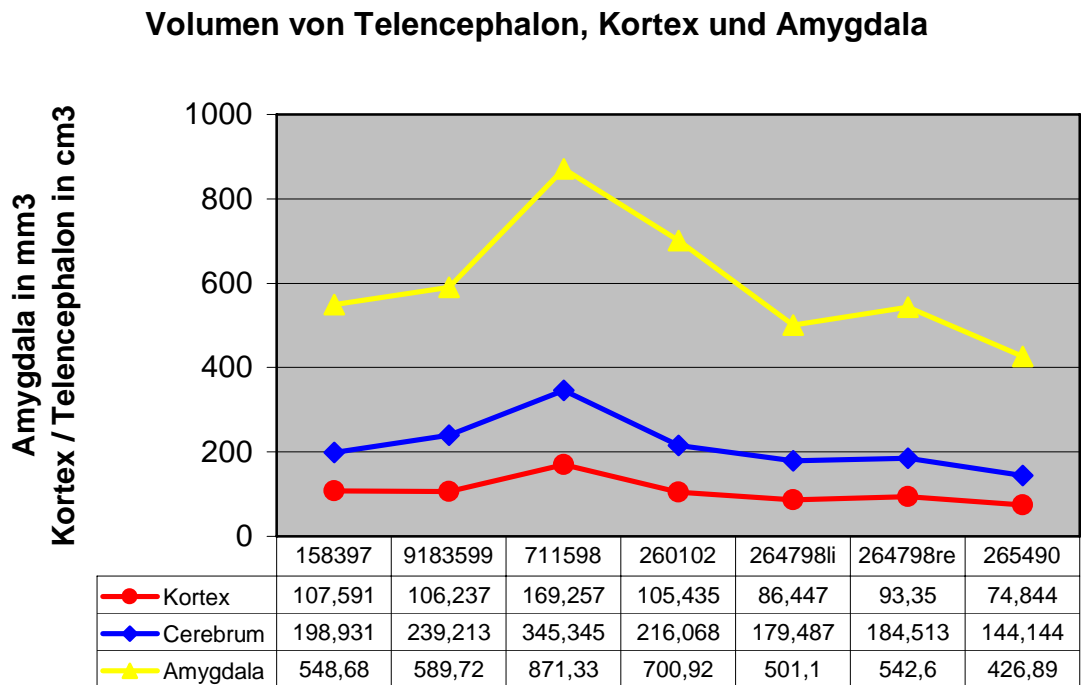


Diagramm 4.4.b.

Vergleich stereologisch ermittelter relativer Amygdalavolumina

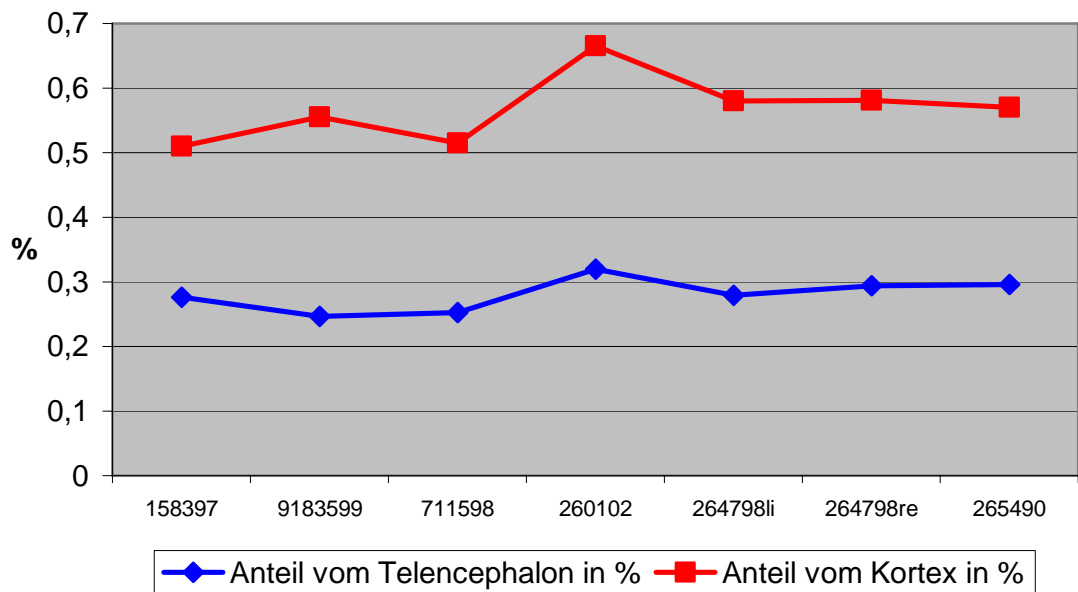




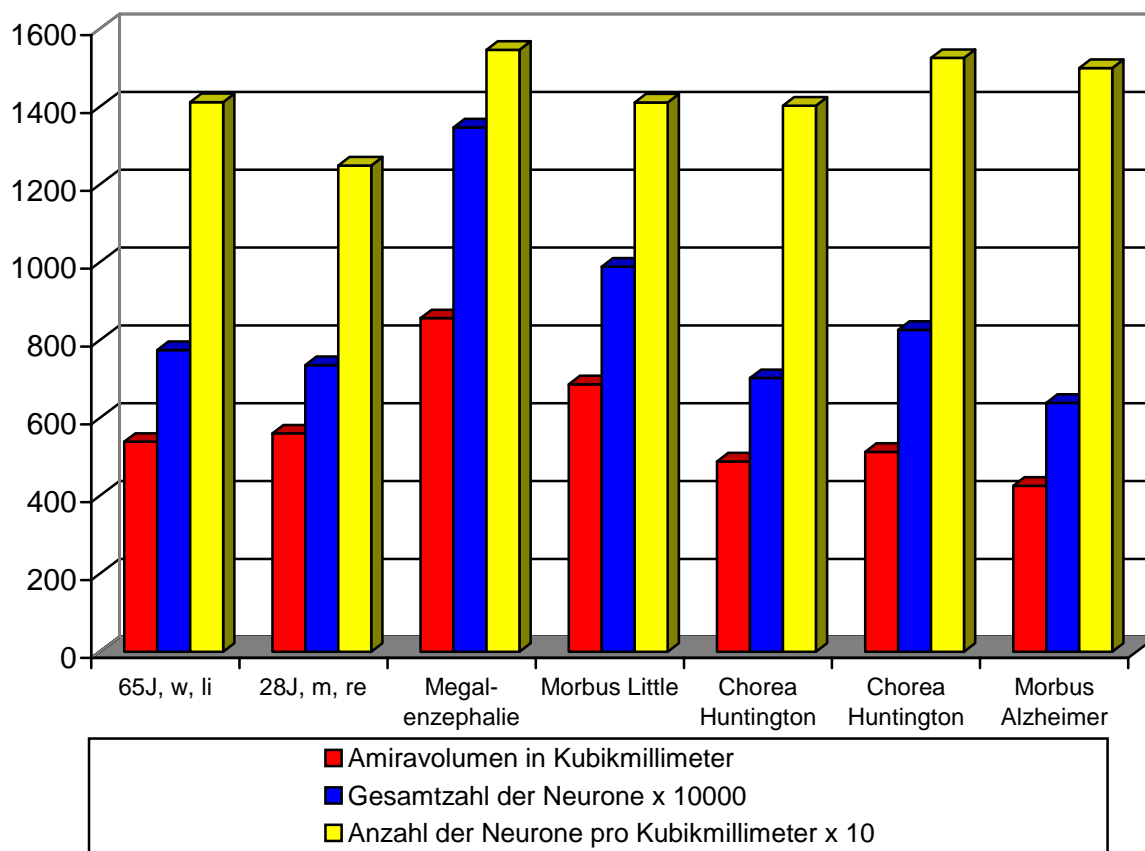
Tabelle 4.5.

Zusammenfassung von Volumen, Neuronenanzahl und Neuronendichte

	158397li	9183599re	711598li	260102li	264798li	264798re	265490li
<b>mm<sup>3</sup></b>	539,07	560,67	856,90	686,66	488,64	513,10	426,25
<b>Neuronenanzahl</b>	7.749717	7.363072	13.470436	9.888000	7.028224	8.272668	6.397440
<b>Neurone pro mm<sup>3</sup></b>	14.124	12.485	15.459	14.107	14.025	15.246	14.986

Diagramm 4.5.

Vergleich von Volumen, Neuronenanzahl und Neuronendichte



Die Gesamtzahl der Nervenzellen variiert zwischen 6,4 (M. Alzheimer) und 13,4 Millionen Nervenzellen (Megalenzephalie). Bei den beiden Kontrollfällen liegt die Gesamtzahl zwischen rund 7,4 und 7,7 Millionen (Tabelle und Diagramm 4.5.). Hinzuweisen ist auf die Asymmetrie der Nervenzellzahlen beim untersuchten Fall mit Chorea Huntington. Im rechten Mandelkernkomplex ist die Gesamtzahl der Nervenzellen mit 8,3 Millionen höher als bei beiden untersuchten Kontrollfällen, während sie auf der linken Seite nur rund 7 Millionen beträgt. Mit rund 9,9 Millionen Nervenzellen ist die Zahl der Neurone im Mandelkern des Falles mit M. Little ungewöhnlich hoch.

Die Verteilung der Nervenzelldichten zeigt keine einheitliche Tendenz (Tabelle und Diagramm 4.5.). Sie ist am höchsten im linken Mandelkernkomplex des Megalenzephaliefalles gefolgt vom rechten Mandelkernkomplex des Falles mit Chorea Huntington und dem linken Mandelkernkomplex des Alzheimerfalles. Die hohe Nervenzelldichte beim Megalenzephaliefall gepaart mit einem großen Volumen des Mandelkernkomplexes resultiert in einer ungewöhnlich hohen Nervenzellzahl, da die Gesamtzahl der Nervenzellen aus dem Produkt von Nervenzelldichte x Volumen resultiert. Dagegen kann die hohe Nervenzelldichte beim Fall von M. Alzheimer den Volumenverlust nicht kompensieren und die Nervenzellzahl ist am niedrigsten von allen untersuchten Fällen.

## **D) Diskussion**

### **1. Terminologie**

Wie schon einleitend erwähnt, gibt es keine einheitliche Nomenklatur für die Kerne der Amygdala. Der Grund dafür liegt in der gleichzeitigen Erforschung des Kerngebietes durch mehrere unabhängige Untersucher zu Beginn des 20. Jahrhunderts mit der Folge, dass sich Terminologien parallel entwickelten (Jimenez-Castellanos, 1949). Ferner erschweren spezies-spezifische Unterschiede im Bau des Mandelkernkomplexes zusammen mit starken Lageveränderungen zwischen den einzelnen untersuchten Arten während der Phylogenese und Ontogenese (Stephan, 1975; Crosby und Humphrey, 1941) eine homologe Nomenklatur. Ein weiterer Grund für die unterschiedliche Beschreibung der Morphologie war die Unterteilung der Amygdala in verschiedene Aspekte der Erforschung wie Feinbau, Funktion, Faserverbindungen, Zytomorphologie und Histochemie (Stephan, 1975).

Im Folgenden möchte ich die von mir gewählten Bezeichnungen für die einzelnen Kerne der Amygdala den Terminologien der entsprechenden Kerngebiete anderer Autoren in chronologischer Reihenfolge gegenüberstellen.

#### **Nucleus lateralis**

M (Völsch, 1910)

Nucleus lateralis (Johnston, 1923)

Noyau extern (Foix und Nicolesco, 1925)

Nucleus ventralis (Hilpert, 1928)

C. poststriatum (Kappers et al., 1936)

Amygdaleum profundum laterale (Brockhaus, 1938)

Lateral amygdaloid nucleus (Crosby und Humphrey, 1941)

Lateral principal nucleus (Koikegami, 1963)

Lateral nucleus (Amaral et al., 1992)

#### **Nucleus basalis**

T' (Völsch, 1910)

Nucleus basalis, large celled (Johnston, 1923)  
Noyau moyen (Foix und Nicolesco, 1925)  
Nucleus centralis (Hilpert, 1928)  
Amygdaleum profundum intermedium (Brockhaus, 1938)  
Basal amygdaloid nucleus, pars lateralis (Crosby und Humphrey, 1941)  
Intermediate principal nucleus (Koikegami, 1963)  
Lateral and medial basal nucleus of the amygdala (Pandya et al., 1973)  
Nucleus basalis (Braak und Braak, 1983; Nieuwenhuys et al., 1991)  
Basolateral nucleus (Barbas und de Olmos, 1990)  
Basal nucleus, magnocellular, intermediate and parvocellular divisions (Amaral et al., 1992)

**Nucleus basalis accessorius**

T (Völsch, 1910)  
Nucleus basalis, small celled (Johnston, 1923)  
Noyau intern (Foix und Nicolesco, 1925)  
Nucleus medialis (Hilpert, 1928)  
Amygdaleum profundum mediale (Brockhaus, 1938)  
Accessory basal nucleus (Crosby und Humphrey, 1941)  
Medial principal nucleus (Koikegami, 1963)  
Nucleus basalis accessorius (Braak und Braak, 1983)  
Basomedial nucleus (Barbas und de Olmos, 1990)  
Accessory basal nucleus (Amaral et al., 1992)

**Nucleus granularis**

Nucleus granularis (Hilpert, 1928)  
Amygdaleum profundum ventrale (Brockhaus, 1938)  
Basal amygdaloid nucleus, pars medialis (Crosby und Humphrey, 1941)  
Basal amygdaloid nucleus, medial part, superficial portion (Lauer, 1945)  
Ventral principal nucleus (Koikegami, 1963)  
Nucleus granularis (Braak und Braak, 1983)  
Paralamellar basolateral nucleus (Barbas und de Olmos, 1990)

Basal nucleus paralaminar region (Scott et al., 1991)

Paralaminar nucleus (Amaral et al., 1992)

### **Nucleus centralis**

E' + E2 (Völsch, 1910)

Nucleus centralis (Johnston, 1923)

Nucleus striae terminalis (Kappers et al., 1936)

Supraamygdaleum profundum ventrale et dorsale (Brockhaus, 1938)

Central amygdaloid nucleus, Anterior amygdaloid area (Crosby und Humphrey, 1941)

Anterior amygdaloid area (Lauer, 1945; Jimenez-Castellanos, 1949)

Dorsal central nucleus (Koikegami, 1963)

Central nucleus (Amaral et al., 1992)

### **Nucleus medialis**

D (Völsch, 1910)

Nucleus medialis (Johnston, 1923)

Perisupraamygdalea ventralis et intermedia (Brockhaus, 1938)

Medial amygdaloid nucleus (Crosby und Humphrey, 1941)

Medial superficial nucleus (Koikegami, 1963)

Regio periamygdalaris anteromedialis – Area medialis (Pam Am) (Stephan, 1975)

Medial nucleus (Amaral et al., 1992)

### **Nucleus corticalis**

B1 (Völsch, 1910)

Area semilunaris (Vogt und Vogt, 1919)

Nucleus corticalis (Johnston, 1923; Hilpert, 1928)

Amygdaleum superficiale und periamygdaleum (Brockhaus, 1938)

Cortical amygdaloid nucleus (Crosby und Humphrey, 1941)

Regio periamygdalaris corticalis (Pam C) (Stephan, 1975)

Cortical amygdaloid transition area (Aggleton, 1985)

Ventral cortical nucleus (Barbas und de Olmos, 1990)

Periamygdaloid cortex (PAC2, PAC3, PACs) (Amaral et al., 1992)

Allen Autoren gemein ist die Untergliederung des Amygdalakomplexes in einen basolateralen (entspricht dem Amygdaleum proprium von Brockhaus) Anteil (Nucleus lateralis, basalis, basalis accessorius) und einen corticomedialen (entspricht dem Supraamygdaleum von Brockhaus) Anteil (Nucleus corticalis, medialis, centralis), zu dem Crosby und Humphrey (1941) noch den so genannten "Nucleus of the lateral olfactory tract" hinzurechnen (entspricht der Regio periamygdalaris anteromedialis Ao (Area olfactoria) bei Stephan (1975) und der Perisupraamygdalea dorsalis bei Brockhaus).

Einige Autoren grenzen den medialen Teil des Nucleus centralis und das sehr nervenzellarme Gebiet zwischen diesem Kern und dem Nucleus medialis in eine anterior amygdaloid area (Gurdjian, 1928; Young, 1936; Fox, 1940; Crosby und Humphrey, 1941) bzw. E<sup>2</sup> (Völsch, 1910) ab. Es entspricht der Area perisupraamygdalea dorsalis und dem medialen Teil des Supraamygdaleum profundum von Brockhaus (1938).

Die Ergebnisse der vergleichenden anatomischen Untersuchungen von unterschiedlichen Säugern zeigen, dass es eine positive Korrelation der Größe des basolateralen Komplexes mit dem evolutionären Status gibt, während man bei dem corticomedialen Komplex von einer negativen Korrelation sprechen kann, das heißt, dass beim Menschen der basolaterale Anteil der Amygdala vergrößert ist und der corticomediale Anteil im Vergleich verkleinert und seine Kerne schwerer voneinander zu differenzieren sind (Crosby und Humphrey, 1941). Letzteres konnte in der allometrischen Analyse für dieses Kerngebiet von Stephan (1975) jedoch nur für den Nucleus tractus olfactorius nachgewiesen werden. Dieser von Humphrey (1936) und Johnston (1923) abgegrenzte beim Menschen sehr schwach entwickelte „Nucleus of the lateral olfactory tract“ liegt vor dem rostralen Ende des Nucleus medialis und wird von Rose (1927) als Pam 1 und von Völsch (1910) als D<sub>1</sub> bezeichnet. Hilpert (1928) hingegen fand bei seiner Untersuchung von menschlichen Gehirnen keinen Hinweis auf dieses Kerngebiet.

Abgesehen von den unterschiedlichen Terminologien für die gleichen Kerngebiete, gibt es eine geteilte Auffassung von den eigentlichen Grenzen der Amygdala. So sprechen

Crosby und Humphrey (1941) von einem Amygdalakomplex, der auch periamygdaläre Anteile enthält, während Brockhaus (1938), Rose (1927) und Vogt (1919) die Grenzen enger ziehen und von einem Amygdalakern sprechen, der weder periamygdaläre Anteile wie zum Beispiel den „Nucleus of the lateral olfactory tract“ noch die „anterior amygdaloid area“ beinhaltet.

Diese Diskrepanz ist dadurch begründet, dass die Ergebnisse von Brockhaus auf morphologischen Untersuchungen basieren, wohingegen Crosby und Humphrey die phylogenetische Entwicklung der Strukturen berücksichtigten (Jimenez-Castellanos, 1949).

Zusammengefasst erweist sich für die Grundgliederung der Amygdala nach vergleichend-anatomischen Untersuchungen eine Aufspaltung in zwei Hauptkomplexe als sinnvoll (siehe oben). Diese Unterteilung steht zwar im Einklang mit den Ergebnissen von Brockhaus, jedoch ist es aufgrund der teilweise vorhandenen Unsicherheiten in Bezug auf die Homologisierung nicht ratsam, seine Terminologie zu verwenden. Außerdem ist diese Nomenklatur recht kompliziert und birgt die Gefahr von Verwechslung der Buchstabenreihenfolge der Abkürzungen.

Als Alternative bietet sich die relativ einfache auf Johnston (1923) zurückgehende Terminologie an. Sie vereint sowohl topographische Aussagen über die einzelnen Kerne der Amygdala als auch die einfachere Möglichkeit zur Homologisierung mit anderen Autoren (Stephan, 1975). Darauf aufbauend entwickelten Braak und Braak (1983) eine weitere auf Zytoarchitektur und Verteilung von Zellpigmenten basierende Klassifizierung, die die Kernbereiche Nucleus lateralis, Nucleus basalis, Nucleus basalis accessorius, Nucleus corticalis, Nucleus corticalis accessorius, Nucleus medialis, Nucleus centralis und Nucleus granularis voneinander unterschied.

In dieser Arbeit übernehme ich die letztgenannte Terminologie, da sie in den meisten Aspekten der von Nieuwenhuys et al. (1991), Amaral et al. (1992) und anderen verwendeten entspricht, weil sie die zytomorphologische Betrachtungsweise der Amygdala unterstreicht und weil sie im Gegensatz zu anderen auf Untersuchungen der menschlichen Amygdala basiert.

## 2. Exogene Volumen und Zelldichte beeinflussende Faktoren

*Fixierung und histologische Bearbeitung* haben unterschiedliche Auswirkungen auf das Volumen von Nervengewebe. Künstliche Volumen- und Gewichtszunahme um circa 10% entstehen initial nach Formalinfixierung des Gehirns in 10% Formalin (Bauchot et al., 1967; Small und Peterson, 1982; Frydl et al., 1989). Zu berücksichtigen sind ferner eine Volumenabnahme durch Liquorverlust oder Austrocknung (Greenfield's Neuropathology). Nach Kretschmann et al. (1979, 1982) schrumpft das Gehirn bei der Einbettung in Paraffin oder Celloidin um 40-80%. Weitere Faktoren für Veränderungen sind die Temperatur und die Osmolalität der verwendeten Reagenzien (Eins, 1976). Haug (1980) fanden heraus, dass je nach Präparationsmittel das Alter des zu untersuchenden Gehirns eine Rolle für das Ausmaß der Veränderung spielt.

Ein junges Gehirn schrumpft stärker bei der Präparation als ein altes unter Verwendung von Methylbenzoat während bei Verwendung von Xylol wie in dieser Arbeit keine unterschiedliche Schrumpfungstendenz festzustellen ist (Haug, 1986).

Die Volumina des Mandelkernkomplexes und seiner Komponenten wurden durch zwei unterschiedliche quantitative Methoden bestimmt. Die bei der dreidimensionalen Rekonstruktion mit Hilfe der Amira-Software errechneten Volumina lagen an allen untersuchten Schnittserien mehr oder weniger unterhalb der quantitativen Ergebnisse, die mit dem Punktzählverfahren nach Weibel (1979) erzielt wurden. (siehe Tabelle 4.3. des Befundteils). Bereits Weibel wies auf Diskrepanzen zwischen planimetrischen und Punktzählverfahren hin. Gerade bei stark unregelmäßig geformten Strukturen ist eine Abgrenzung mit der Treffermethode des Punktzählverfahrens sicherer und schneller. Beide Methoden sollten daher in künftigen Untersuchungen komplementär eingesetzt werden

Das begrenzte *Auflösungsvermögen* sowie die auf circa 1 mm beschränkten minimalen Schichtdickenaufnahmen von MRT, CT oder PET erschweren die Abgrenzung kleinerer amygdaloider Kerngebiete sowie der periamygdaloiden Strukturen mit ähnlicher Signalintensität wie zum Beispiel Hippokampus, Area entorhinalis, Claustrum und Nucleus caudatus von der Amygdala (Convit et al., 1999).



Zusammengefasst lässt sich feststellen, dass eine ganze Reihe von Unwägbarkeiten die exakte und reproduzierbare Volumenbestimmung des menschlichen ZNS und seiner Komponenten erschwert. In-vivo-Untersuchungen mit bildgebenden Verfahren sind nicht durch agonal oder postmortal bedingte Volumenveränderungen verfälscht. Das derzeit noch geringe Auflösungsvermögen von Kernspintomographen verhindert aber eine detaillierte Analyse der Komponenten des Mandelkernkomplexes

### **3. Biologische Faktoren mit Einfluss auf Volumen und Nervenzelldichte**

Ergebnisse von postmortem Untersuchungen demonstrieren zusätzlich zu den oben genannten *artifiziellen* Einflussfaktoren die Bedeutung *natürlicher* Ursachen wie das Altern für eine Verringerung von Volumen und Zelldichte (Chrzanowska et al., 1973; Dekaban et al., 1978; Ho et al., 1980). Ab dem 50. Lebensjahr verliert das Gehirn pro Dekade circa 2-3% seiner Masse (Miller et al., 1980). Zurückgeführt wird der Verlust von Volumen und Gewicht auf eine verringerte Zahl von Nervenzellen sowie auf die Degeneration von Dendriten, Axonen und Myelin.

Auch Untersuchungen von Haug (1985) haben gezeigt, dass die Neuronenzahl, –dichte und –größe sich mit zunehmendem Alter verändert. In unterschiedlichen Regionen des Gehirns stellten sie eine mehr oder weniger starke Verringerung der Neuronenzahl und –größe fest. Auch zeigte sich, dass in manchen Regionen der Verlust von großen Neuronen mit einer Zunahme von kleinen Neuronen einhergeht. Mit einem Verlust von über 30% der Neurone zwischen dem 13. und 85. Lebensjahr ist besonders stark das Hippokampus-Gebiet betroffen (West et al., 1993), ihm folgen der Kortex (Anderson et al., 1983; Braak und Braak, 1986; Terry et al., 1987), die Amygdala (Herzog und Kemper, 1980), die Substantia nigra (McGeer et al., 1977).

Abgesehen von den natürlichen quantitativen Veränderungen mit zunehmendem Alter beeinflussen zusätzlich Erkrankungen des Gehirns Neuronenzahl und –morphologie (siehe Kapitel 4.).

Um also nicht durch natürliche Schwankungen dieser Parameter inkorrekte Aussagen zur Neuronenzahl in spezifischen Gehirnregionen bei pathologischen und unauffälligen Gehirnen zu treffen, bedarf es großer Vergleichsgruppen und eines sicheren Zählverfahrens der Neurone (Coggeshall, 1992; Oorschot, 1994).

Da aber die Berechnung der absoluten Zellzahl keinen artifiziellen Schwankungen unterworfen ist, kann sie als gewichtiges Argument für oder gegen Asymmetrien und altersabhängige Atrophien verwendet werden.

Zuletzt gilt es natürliche postmortale oder agonale das Amygdalavolumen beeinflussende Faktoren zu berücksichtigen. So können präfinale oder postmortale Flüssigkeitsansammlungen im ZNS in Form von Ödemen zu einer starken Erhöhung des Hirnvolumens führen. Die Gyri erscheinen abgeplattet, die Sulci verstrichen, Druckzeichen in Form von Schnürfurchen lassen sich am Gyrus parahippocampalis und den Kleinhirntonsillen erheben. Stark ödematöse Gehirne werden vor allem bei jüngeren Individuen nach tödlichen Myokardinfarkten beobachtet. Es ist nicht auszuschließen, dass ödematöse Gehirne mit ihrem erhöhten Gewicht bei jüngeren Individuen in transversalen Altersuntersuchungen eine frühzeitig einsetzende Altersatrophie des menschlichen ZNS vorgaukeln.

#### **4. Form und Volumen des Mandelkernkomplexes**

In der vorliegenden Arbeit lag der Schwerpunkt auf einer computergestützten 3D-Rekonstruktion des Mandelkernkomplexes. Diese Rekonstruktion gründet auf Serienschnitten, die möglichst vollständig, nicht verformt und in denen nach einer Zellfärbung die zu rekonstruierenden Strukturen mit Sicherheit abzugrenzen waren.

Nach den bisherigen Erfahrungen an den Endhirnen von Erwachsenen bilden Schnittdicken von 400 – 440 µm einen guten Kompromiss zwischen Arbeitsaufwand, Material- und Färbekosten sowie der Abgrenzungsmöglichkeit kleinerer Strukturen wie des Nucleus centralis, corticalis medialis und medialis. Trotz ungewöhnlich hoher Schnittdicken (440 µm versus 20 µm bei konventioneller Paraffintechnik) ist die Erstellung von lückenlosen Serienschnitten mit viel Zeitaufwand und sorgfältiger manueller Tätigkeit verbunden. Zum Zeitpunkt der vorliegenden Arbeit konnte daher nur eine begrenzte Anzahl normaler und pathologisch veränderter Mandelkerne untersucht werden. Vor allem die quantitativen Daten sind daher nur mit großer Vorsicht zu generalisieren.

#### 4.1. Kontrollfälle

Die Morphologie der in dieser Arbeit untersuchten Amygdalae differierte im Großen und Ganzen nicht wesentlich.

Kleinere Formunterschiede gab es beim Nucleus basalis, lateralis, granularis und centralis, in Bezug auf die Lage beim Nucleus medialis (siehe Befundteil Abb. 2.1.a., d. versus Abb. 2.2.a., c.). Jedoch zeigen die ersten beiden Kontrollfälle grundsätzlich eine ähnliche Gestalt. Der dritte Kontrollfall 15119699liro hingegen wies einen eher eiförmigen Nucleus lateralis, einen nach kaudal ausgebeulten Nucleus basalis und einen plumperen Nucleus corticalis auf (siehe Befundteil Abb. 2.3.a. und b.).

Die eigenen 3D-Rekonstruktionen bestätigen weitgehend die Ergebnisse von Brockhaus (1938) und Scott et al. (1991). Beide Autoren haben aber lediglich jeweils einen einzigen Kontrollfall räumlich rekonstruiert. Dabei unterteilte Brockhaus (1938) die Kerngebiete des Mandelkernkomplexes noch weiter in groß- und kleinzellige Unterkerne. Seine Terminologie ist in sich logisch gegliedert und mit geringen Lateinkenntnissen nachvollziehbar. Sie überfordert aber offensichtlich Autoren aus dem angloamerikanischen Raum [vgl. Sims und Williams (1990)].



Abb. 1: dorsale Ansicht auf das Modell einer Amygdala aus der linken Hemisphäre eines Menschen (Brockhaus, 1938)

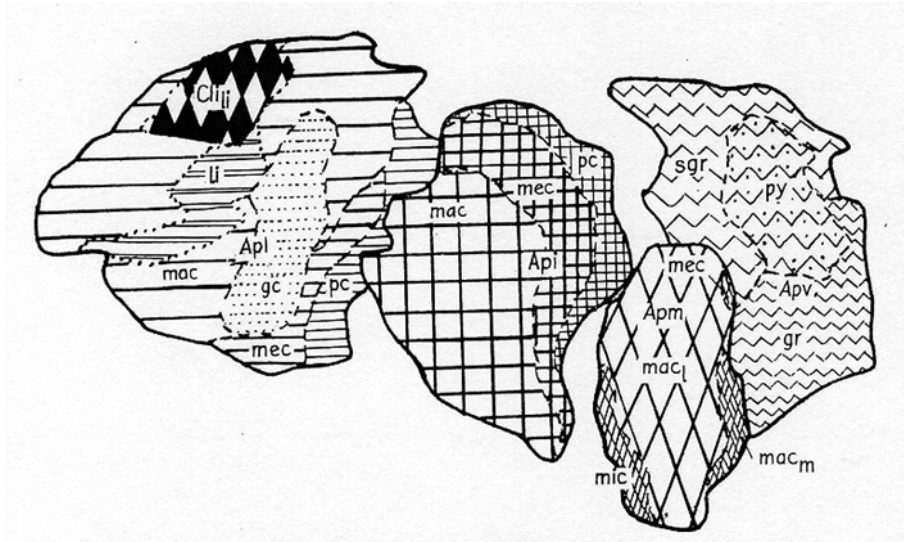
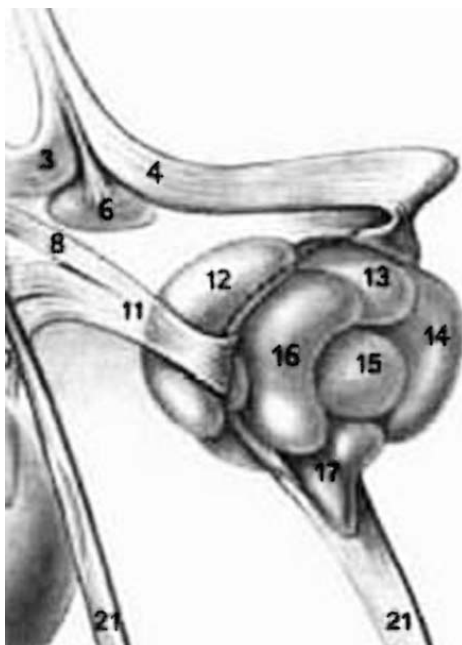


Abb. 2: schematische Darstellung der Amygdala aus Abb. 1.

Von Nieuwenhuys et al. (1991) wurden die räumlichen Zusammenhänge der Kerngebiete des Mandelkernkomplexes zeichnerisch aus einer ungewöhnlichen Perspektive und stark vereinfacht dargestellt.



- 4. Stria olfactoria lateralis
- 11. Fibrae amygdalofugales ventrales
- 12. Nucleus corticalis
- 13. Nucleus anterior
- 14. Nucleus lateralis
- 15. Nucleus centralis
- 16. Nucleus medialis
- 17. Nucleus basalis (accessorius)
- 21. Stria terminalis

Abb. 3: Ansicht der rechten Amygdala aus dorsaler Perspektive (Abb. aus Nieuwenhuys et al., 1991)

In ihrer Abbildung erscheint der Mandelkern von dorsal eher walnussförmig und nicht, wie in natura, dorsal und ventral abgeplattet. wie ein Mandelkern. Zudem erscheint die Zuordnung ihres so genannten Nucleus anterior schwierig und anhand unserer Fälle so nicht nachvollziehbar. Am ehesten entspricht die Lage dieses Kerns aber unserem Nucleus basalis (vgl. Befundteil Abb. 2.2.c).

Die Darstellung von Scott et al. (1991) vermittelt nur einen vagen Eindruck von der räumlichen Struktur der Komponenten.

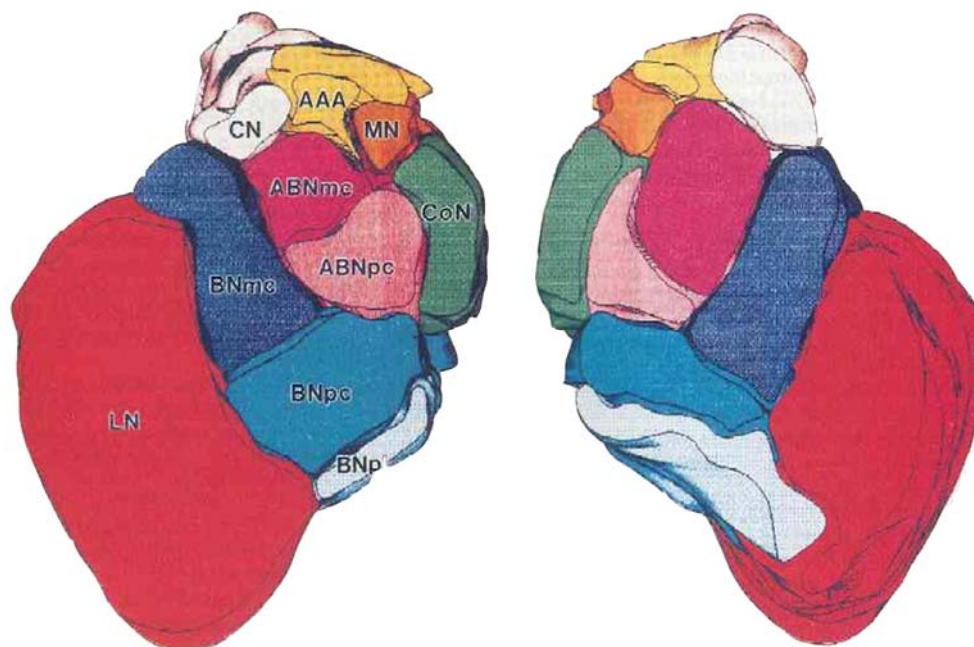


Abb. 4: rostrale und kaudale Ansicht einer rechtshemisphärischen menschlichen Amygdala (Abbildung aus Scott et al., 1991)

Die Kerngebiete des Mandelkernkomplexes lassen sehr deutlich die computergestützte Rekonstruktion aus einzelnen Schnitten/Scheiben erkennen. Die Computergraphik steckte zu diesem Zeitpunkt noch in ihren Kinderschuhen. Diese Mängel sind mit der aktuellen Hard- und Software weitgehend beseitigt und eröffnen ganz neue Möglichkeiten der Darstellung und Animation.

Die 3D-Darstellungen aus Schnittserien von Computer- und Kernspintomographen haben nur wenig gemein mit Rekonstruktionen von Nisslschnitten.



Abb. 5: Hippokampus-Amygdala-Komplex aus sagittaler Sicht (links), Hippokampus-Amygdala-3D-Modell (mitte), Hippokampus-Amygdala-Begrenzung (rechts) (aus Golland et al., 2000)

Der Grund dafür dürfte vor allem im geringen Auflösungsvermögen der Tomographen liegen. Dies bedingt, dass der Mandelkernkomplex nicht von der Hippokampusformation und nur schwer oder willkürlich von den periamygdalären Strukturen abgegrenzt werden kann (Convit et al., 1999). Daher ist die biologische Aussagekraft fragwürdig und die teilweise widersprüchlichen Ergebnisse von unterschiedlichen Arbeitsgruppen bezüglich des Amygdalavolumens von circa  $1 \text{ cm}^3$  (Achten et al., 1998) bis fast  $4 \text{ cm}^3$  (Killiany et al., 1993) sind dadurch erklärbar.

Insgesamt ist zu konstatieren, dass Form und Volumen vermutlich nicht korrelieren. Zu den funktionellen Bedeutungen dieser individuellen Unterschiede können wir momentan keine Aussage treffen, da zu wenige Amygdalae untersucht worden sind. Allerdings deuten sich Tendenzen an im Sinne von Asymmetrien, geschlechtsspezifischen Unterschieden und altersabhängigen Volumenminderungen, die schon in anderen Untersuchungen beschrieben worden sind.

Das mittlere Volumen des Mandelkernkomplexes der drei untersuchten Kontrollen betrug  $591,45 \text{ mm}^3$ . Das größte Volumen hatte der linke Mandelkernkomplex einer 76

Jahre alt gewordenen Frau, das Geringste unter den Kontrollfällen der linke Mandelkernkomplex einer 65 Jahre alt gewordenen Frau (siehe Befundteil Tabelle 4.1.).

Die hier berechneten Volumina sind etwa halb so groß wie die von Herzog und Kemper (1980) und Amunts et al. (2005) veröffentlichten Mittelwerte. Amunts et al. (2005) haben ihre an Paraffin-Serienschnitten erhobenen Rohdaten mit einem Schrumpfungsfaktor korrigiert. Sie sind mehr als doppelt so groß wie die eigenen Werte. Da nach Entwässerung im Alkohol und Celloidineinbettung Gehirne zwischen 50-70% schrumpfen, entsprechen die vorliegenden Daten denen von Herzog und Kemper (1980) und Amunts et al. (2005). Vermutlich sind die Werte von Amunts etwas höher als die eigenen, da die Autoren den Nucleus centralis sehr viel weiter umfahren haben. Gleiches gilt für die kürzlich von Schumann und Amaral (2005, 2006) veröffentlichten quantitativen Befunde.

Es ist allerdings nicht ohne weiteres einsichtig, wie die letzteren Autoren auf die höheren Werte ihres Erratums gekommen sind. Es ist unwahrscheinlich, dass sich die Schnittdicke durch Schrumpfung um den Faktor 4 ändern sollte. Ihre Werte (vermutlich Frischvolumina) sind in etwa doppelt so hoch wie die eigenen und durch die gleichen Faktoren wie in der Studie von Amunts et al. (2005) zu erklären. Ihre mittleren Zellzahlen dagegen sind deutlich höher als die eigenen. Im Unterschied zu den eigenen Untersuchungen haben Schumann und Amaral (2005) auch die Nervenzellen der anterior amygdaloid area [Brockhaus' (1938) Claustrocortex praeamygdaleus] dem Mandelkern zugerechnet. Das dürfte die mittleren Zellzahlen zwischen 20-30% erhöhen.

Unter Berücksichtigung von Schrumpfungsfaktoren und mehr oder minder großen Differenzen in der Abgrenzung des Mandelkernkomplexes sind also die eigenen Daten mit bisher veröffentlichten Untersuchungen gut vergleichbar. Die Zahl und das Alter der hier untersuchten Fälle sind zu gering um Aussagen von altersspezifischen Veränderungen (Mu et al., 1998), Geschlecht (Goldstein et al., 2001; Giedd et al., 1996; Caviness et al., 1996; Szabo et al., 2003), Händigkeit (Szabo et al., 2001) und natürlich vorkommenden Asymmetrien (Pedraza et al., 2004; Giedd et al., 1996; Szabo et al., 2003) auf Volumen und Zellzahl des Mandelkernkomplexes zu machen.

Die Analyse der Neuronenzahl und -dichte in dieser Arbeit ergab, dass die Gesamtneuronenzahl der beiden Kontrollfälle 158397liro und 9183599rero (bei dem Kontrollfall 15119699liro wurden Neuronenzahl und -dichte nicht bestimmt) sich nur unwesentlich voneinander unterscheiden und die Neuronendichte bei dem rechten Kontrollfall 9183599 circa 10% unterhalb des linken Kontrollfalls 158397 liegt (vgl. Tabelle 4.5. und Diagramm 4.5.).

Abgesehen von den oben genannten natürlichen und den artifiziellen Einflussfaktoren auf das Amygdalavolumen hat sich gezeigt, dass bestimmte neuropsychiatrische Erkrankungen morphologische und volumetrische Differenzen im Vergleich zu neuropsychiatrisch unauffälligen Kontrollen bedingen.

### **4.2. Megalenzephalie**

Von einer Megalenzephalie spricht man ab einer Standardabweichung von 2,5 über dem Durchschnitt des Gehirngewichts bei bestimmtem Alter und Geschlecht.

Dekaban et al. (1977) unterteilten den Oberbegriff der Megalenzephalie in drei Gruppen, die Primäre Megalenzephalie, die Sekundäre Megalenzephalie und die Hemimegalenzephalie. Die Primäre Megalenzephalie tritt isoliert, assoziiert mit der Achondroplasie oder endokrinen Störungen oder aber familiär auf. Bei 25% dieser Fälle fand sich keine Abnormalität des Gehirns außer seiner Größe. Die restlichen Fälle wiesen zytoarchitektonische oder neuronale Auffälligkeiten auf, wobei bei der Hälfte der Fälle sogar makroskopische Missbildungen sichtbar waren. Mentale und neurologische Störungen lagen bei den meisten Patienten vor (Bailey et al., 1993).

Bei dem von uns untersuchten Fall handelte es sich um eine primäre Megalenzephalie ohne Achondroplasie.

Abgesehen von einem insgesamt größeren Ausmaß des Kernkomplexes entspricht die Morphologie der Kerne im Großen und Ganzen den Kontrollfällen, besonders den ersten beiden (vgl. Fall 158397liro, Abb. 2.1.a. und d; Fall 9183599rero Abb. 2.2.a.). Lediglich für den *Nucleus corticalis accessorius* (Fig. 3.1., hellblau) ist eine Formdifferenz zu konstatieren, die sich unter einer keulenförmigen Volumenzunahme dieses Kerns von kaudal nach rostral (Fig. 3.1.b.) darstellt.



Das absolute Volumen dieser Amygdala liegt 21-37% über den Kontrollfällen, während das relative Volumen der Amygdala in Bezug auf das Telenzephalon respektive Kortex zwischen denen der Kontrollfälle liegt. Kortex und Telenzephalon sind also im gleichen Maße vergrößert wie die Amygdala. Eine auf die Amygdala beschränkte volumetrische Varianz konnte also nicht nachgewiesen werden (vgl. Tabelle 4.4. und Diagramme 4.4.a., 4.4.b.).

Die Neuronenanzahl verläuft hingegen circa 45% oberhalb der Kontrollfälle und die Neuronendichte 8% über dem linken Kontrollfall und 19% oberhalb des rechten Kontrollfalls (vgl. Tabelle 4.5. und Diagramm 4.5.).

Die Vergrößerung der Amygdala in dem untersuchten Fall ist also auf eine deutlich höhere Nervenzellzahl zurückzuführen. Welchen Anteil die Nervenzellfortsätze, die sich nach Galloxyaninfärbung nicht darstellen, an der Hyperplasie des Mandelkernkomplexes haben, lässt sich momentan aus methodischen Gründen nicht feststellen.

### **4.3. M. Alzheimer**

Die Alzheimersche Krankheit ist durch die Ablagerung von pathologischen Eiweißen in Form von intrazellulären Alzheimerschen Fibrillen bzw. Neuropilfäden und extrazellulärem Amyloid charakterisiert. Die intrazellulären Fibrillen leiten sich von hyperphosphoryliertem Tau ab. Biochemisch/molekularbiologisch wird der M. Alzheimer zu den Tauopathien gerechnet. Zusammen mit umschriebenen Atrophien und Nervenzelluntergängen breiten sich die tau-positiven Fibrillen systemisch von allocorticalen auf neocorticale Rindenregionen aus. Regelmäßig sind auch subkortikale Grisea betroffen. Dabei werden sechs Stadien unterschieden. Im Stadium I-II ist die transentorhinale Region betroffen, im Stadium III-IV kommt die limbische Region hinzu und im Stadium V-VI ist auch der Isocortex betroffen (Braak und Braak, 1991). Alzheimersche Fibrillen finden sich besonders in der anteriomedialen temporalen grauen Substanz einschließlich des Uncus, des Hippokampus, Parahippokampus und des kortikomedialen Teils der Amygdala; prä- und postzentrale Gyri sowie primär

sensorische Areale sind gewöhnlich weniger betroffen (Tomlinson et al., 1970; Jamada und Mehraein, 1968).

Die Reihenfolge der Amyloidablagerungen verläuft gewissermaßen spiegelbildlich zu den Tau Ablagerungen, erfasst im Stadium 1 den Neokortex und im Stadium 5 die Rinde des Kleinhirns (Thal et al., 2002).

Neurofibrilläre Tangles treten besonders früh im entorhinalen Kortex, im Hippokampus und in der Amygdala (Braak und Braak, 1986) auf. Da der Nucleus basalis der Amygdala zahlreiche Afferenzen aus der Hippokampusformation erhält, könnte eine Degeneration dieses Kerns von der Hippokampusformation ausgehen.

Die Formveränderungen dieser Amygdala lassen sich auf unterschiedlich stark ausgeprägte Atrophien und Degenerationen einzelner Kerngebiete zurückführen. Insgesamt wirkt der Kernkomplex in der mediolateralen Achse gestaucht, hat aber dennoch große Ähnlichkeit mit dem zweiten Kontrollfall (vgl. Fig. 3.5.d. mit 2.2.a.).

Eine Varianz zeigt sich beim *Nucleus granularis* (Fig. 3.5., rot) durch einen längeren kaudorostralen Durchmesser und in der mediorostrodorsalen Ausdehnung, die den Nucleus basalis accessorius überdeckt.

Die Amygdala des M. Alzheimer-Falles hat von allen untersuchten das kleinste Volumen. Der volumetrische Mittelwert der Kontrollfälle liegt circa 28% oberhalb dieses Volumens (vgl. Befundteil Tabelle 4.1. und Diagramm 4.1.).

Das relative Volumen der Amygdala des M. Alzheimer-Falles liegt 5-15% über den beiden Kontrollfällen, das relative Volumen bezogen auf den Kortex liegt 2-10% darüber (siehe Befundteil Tabelle 4.4.). Dies impliziert eine stärkere Schrumpfung der extraamygdaloiden Strukturen als der Amygdala per se.

Herzog et al. berechneten 1980 in ihrer Postmortem-Alzheimer-Vergleichsstudie mit stereologischen Methoden ein Durchschnittsvolumen für die Amygdala bei Alzheimererkrankten von 1159 mm<sup>3</sup> und bei der Vergleichsgruppe von 1530 mm<sup>3</sup>. Der Grund für diese größeren Volumina im Vergleich zu den Ergebnissen in dieser Arbeit ist der korrigierte Schrumpfungsfaktor (siehe Kapitel 4.1.). Das Ergebnis deren

Volumendifferenz von Kontroll- und Alzheimer-Fällen von 25% ist jedoch der Vergleichsuntersuchung in dieser Arbeit sehr ähnlich.

Die Gesamtneuronenanzahl des Alzheimerfalles liegt hier circa 18% unterhalb der Kontrollfälle und unterscheidet sich damit von den Ergebnissen von Vereecken et al. (1994), die einen Neuronenverlust von 56,3% für die linke Amygdala und 50,5% für die rechte Amygdala bei M. Alzheimer-Fällen feststellten (vgl. Befundteil Tabelle 4.5.).

Die Neuronendichte der Amygdala des M. Alzheimer-Falles übersteigt in dieser Arbeit die beiden Kontrollfälle. Eine höhere Neurondichte könnte ein Hinweis auf eine Atrophie/Degeneration der Nervenzellfortsätze ohne Nervenzelluntergang sein. Als Folge des verminderten Volumens der Nervenzellfortsätze rücken die Perikarya enger zusammen. Übereinstimmend zu den Ergebnissen von Vereecken et al. (1994) konnte auch in dieser Arbeit eine Zunahme von kleinen Neuronen gefunden werden.

Brockhaus fand 1938 bei seinen M. Alzheimer-Fällen ebenfalls eine starke Volumenminderung einiger Amygdalakerne. Auf unsere Nomenklatur übertragen beschrieb er dies für die Nuclei basalis, corticalis und medialis. Gut erhalten dagegen waren nach seiner Analyse die Nuclei lateralis und granularis.

So konnte auch in dieser Arbeit festgestellt werden, dass der Nucleus basalis im Vergleich zu den Kontrollgruppen sehr stark atrophiert ist, die Nuclei corticalis und medialis hingegen sind in ihrem Volumen nicht auffällig vermindert. Sein absolutes Volumen liegt über der Vergleichsgruppe, das relative beträgt fast das Zweifache der Vergleichsgruppe. Der Nucleus lateralis ist zwar insgesamt geschrumpft, jedoch entspricht sein relatives Volumen der Vergleichsgruppe.

Die Ursache für die ausgeprägte Atrophie des Nucleus basalis dürfte vor allem in den Verbindungen des Nucleus basalis mit dem Subiculum, dem hippocampalen Feld CA1 und der Regio entorhinalis zu suchen sein (De Olmos, 1990; Amaral et al., 1992; Aggleton und Saunders, 2000). Diese allokortikalen Rindengebiete sind im Verlauf der Alzheimerschen Krankheit früh befallen (Braak und Braak, 1991) und eine anterograde prozesshafte Ausbreitung der pathologischen Veränderungen von den allokortikalen Rindengebieten auf den amygdalären Nucleus basalis ist denkbar.

Bemerkenswert sind die quantitativen Befunde am Nucleus granularis. Sein absolutes Volumen liegt über dem der Vergleichsgruppe und sein Relativvolumen beträgt das Zweifache der Vergleichsgruppe (Diagramme 4.1. und 4.2.). Es könnte sich beim untersuchten Fall mit Alzheimerscher Krankheit um eine individuelle Variabilität des Kernvolumens handeln. Allerdings beschreibt auch Brockhaus eine Atrophieresistenz des Nucleus granularis. Im Gegensatz zu den übrigen Kernen des Mandelkernkomplexes setzt sich der Nucleus granularis aus überwiegend kleinen und kleinsten Nervenzellen zusammen, die im Nisslbild fast an Lymphozyten erinnern. Sanides (1957, 1958) versteht den Nucleus granularis als Teil eines Komplexes mit teils streifen- teils inselförmig angeordneten kleinen bis mittelgroßen Nervenzellen, die sich vom Gebiet des ehemaligen medialen Ganglienhügel über die Callejasche Insel, das Tuberculum olfactorium, Substantia innominata und den Mandelkernkomplex bis zum Bed Nucleus der Stria terminalis erstrecken. Er deutete die kleinsten lymphozytenähnlichen Nervenzellen als einen unreifen Nervenzelltyp, der sich in benachbarte größere Nervenzellen differenzieren könne. Dieses Konzept hat in den letzten fünf Jahren durch den immunhistochemischen Nachweis von BCL-2 eine Renaissance erlebt, ohne dass aber die Autoren die alten Beobachtungen zitieren (Yachnis et al., 2000; Fudge, 2004). BCL-2 wirkt sowohl antiapoptotisch als auch regenerativ-trophisch (Behl et al., 1993; Chen et al., 1997; Suzuki und Tsunomi, 1998). Letztere Eigenschaft könnte das höhere Volumen des Nucleus granularis bei M. Alzheimer im Sinne einer Nervenzellregeneration und plastischen Reaktion erklären. Ein immunhistochemisch verstärkter Nachweis von BCL-2 wurde von Satou et al. (1995) in der Hippokampusformation bei M. Alzheimer beschrieben.

Auffällig erhöht beim Fall mit M. Alzheimer ist das Relativvolumen des Nucleus centralis, das 3,3% zum Gesamtvolumen beiträgt und somit das höchste Relativvolumen von allen untersuchten Fällen erreicht (Tabelle 4.2.). Da aber das Gesamtvolumen des Mandelkerns beim Fall mit Alzheimerscher Krankheit deutlich erniedrigt ist, weicht das absolute Volumen des Nucleus centralis kaum von den Werten der anderen untersuchten Fälle und Kontrollen ab. Somit erweist sich der Nucleus centralis beim M. Alzheimer in quantitativer Hinsicht als resistent gegen degenerative Erscheinungen in benachbarten Kern- oder entfernten Rindengebieten. Ähnliches wurde auch in den

hypothalamischen Nuclei supraopticus und paraventricularis beschrieben (Fliers et al., 1985; Goudsmit et al., 1990; Vogels et al., 1990; de Lacalle et al., 1993; Lucassen et al., 1993; van der Woude et al., 1995). Sowohl die hypothalamischen Kerngebiete als auch der Nucleus centralis amygdalae regulieren vegetative Funktionen. Letztere bleiben bekanntlich bei Alzheimerscher Krankheit selbst in den Endstadien der Demenz weitgehend intakt.

#### **4.4. Chorea Huntington**

Chorea Huntington gehört zu den hyperkinetischen Störungen, wobei man die genetische von der sporadischen Form unterscheidet. Ätiologisch liegt Ersterem ein autosomal-dominant vererbtes multi-repetitives Basentriplet auf dem Chromosom 4 zugrunde, das von Generation zu Generation zu größerer Expression und früherer Penetranz der Symptome wie nicht-rhythmische, rasche unkontrollierte Bewegungen und Demenz führt.

Neuropathologisch korrelieren die Symptome mit einem bis zu 30% Gewichtsverlust des Gehirns. Nucleus caudatus, Putamen und Globus pallidus büßen über 50% ihres Volumens ein; zwischen 20-30% Volumenverlust liegen bei dem Kortex, Thalamus und der weißen Substanz vor (de la Monte, 1988; Mann et al., 1993; Heinsen et al., 1994; Heinsen et al., 1996; Heinsen et al., 1999).

Dem zugrunde liegt histologisch der Verlust von Neuronen, der im Striatum mit einer relativen Astrogliose einhergeht und der ansonsten auch im Neocortex, Allocortex, Hippokampus, Hypothalamus, Substantia nigra etc. zu beobachten ist (Storel, 1991; Spargo, 1993; Braak und Braak, 1992; Kremer et al., 1990; Oyanagi, 1989).

Die Gestalt der beiden Mandelkernkomplexe sowie ihrer einzelnen Kerne entspricht bei dem Chorea Huntington-Fall im Großen und Ganzen den Kontrollfällen, nur dass die Amygdalae insgesamt etwas kleiner als die der Kontrollfälle erscheinen. Innerhalb dieses Falles zeigte sich, dass der basolaterale Komplex bei der linken und der corticomediale bei der rechten Amygdala verkleinert ist (siehe Befundteil Fig. 3.3.c. und 3.4.a.).

Das Volumen der Amygdala aus der linken Hemisphäre ist im Vergleich zu den Kontrollfällen um circa 10-30% geringer, 5% im Vergleich zur Gegenseite.

Die relativen Volumina bei den Chorea Huntington-Fällen liegen zwischen 1-7% über dem linken Kontrollfall und bis zu 15% über dem rechten, auch ist das relative Volumen bezogen auf den Kortex im Vergleich zu den Kontrollfällen erhöht. So liegt hier wie bei dem M. Alzheimer-Fall (siehe 4.3.) eine geringere Schrumpfung der Amygdala als der extraamygdaloiden Strukturen vor (vgl. Befundteil Tabelle 4.4.).

Brockhaus stellte 1938 fest, dass die einzelnen Kerne der Amygdala bei Chorea Huntington unterschiedlich stark von der Atrophie betroffen sind. Eine Minderung des Volumens konstatierte er auf unsere Nomenklatur übertragen für die Nuclei basalis, granularis und corticalis und medialis. Auffällig findet sich diese Tendenz in dieser Arbeit in Bezug auf die Nuclei basalis wieder, nicht jedoch für die übrigen genannten Kerne. In noch stärkerem Maße findet sich eine Atrophie des Nucleus basalis nur noch im M. Alzheimer-Fall.

In Bezug auf die Neuronenzahl zeigt sich, dass die linke Amygdala des Chorea Huntington-Falles etwas unterhalb und die kontralaterale etwas oberhalb der Kontrollfälle liegt. Ebenso verhält es sich mit der Neuronendichte beider Amygdalae (vgl. Befundteil Tabelle 4.5. und Diagramm 4.5.).

### **4.5. M. Little**

Als M. Little (syn. angeborene Tetraspastik, infantile Zerebralparese) werden alle Hirnschädigungen bezeichnet, die intrauterin oder perinatal erworben werden, und bei denen spastische Paresen im Vordergrund stehen. Zusätzlich kann eine Störung der intellektuellen und psychischen Fähigkeiten sowie eine frühkindlichen Epilepsie vorliegen.

Diese Symptome resultieren aus einer hypoxie-, trauma- oder infektionsbedingten Gewebseinschmelzung des unreifen Gehirns, die sich morphologisch je nach Art, Zeitpunkt und Schweregrad der Schädigung als Ulegyrie (Fasergliose und Nervenzelluntergang in den Windungstätern der Großhirnrinde), lobäre Sklerose

(Atrophie und gliotische Vernarbung der Hirnrinde und Marksubstanz), Porencephalie (liquorgefüllte Höhlenbildung in der Marksubstanz), Hydranencephalie (Entstehung einer Liquorblase aus nekrotischen Großhirnhemisphären) oder Status marmoratus (Narbenbildung im Striatumbereich) darstellt.

Je nach Lokalisation des Hirndefekts kommt es zu unterschiedlichen Fehlsteuerungen des Muskeltonus und der Bewegungskoordination, so entsteht zum Beispiel Tetraspastik infolge Hirnrindenschädigung, Rigor oder Athetose bei Stammganglienschädigung oder Ataxie bei Kleinhirnschädigung (Riede und Schäfer, 1993). Im vorliegenden Falle fanden sich eine große zystische Erweiterung im Marklager des linken Präfrontallappens, umschriebene Nervenzelldegenerationen im linken dorsorostralen Globus pallidus sowie eine ungewöhnlich verlaufende Capsula interna, die in ihrem rostralen Teil Nucleus caudatus und Putamen nur unvollständig trennte. Die rechte Hemisphäre war weitgehend unauffällig.

Der Mandelkern dieses Falles erscheint im Vergleich zum Kernkomplex der Kontrollfälle in der mediolateralen Achse gestaucht und in rostrokaudaler gestreckt. Besonders der *Nucleus granularis* (Fig. 3.2., rot) überragt hier sehr langgestreckt in kaudorostraler Richtung alle anderen Kerngebiete und schmiegt sich aus kaudaler Perspektive relativ breit von ventral an die Nuclei corticalis und basalis accessorius (siehe Befundteil Fig. 3.2.b.).

Die Amygdala weist hier ein 2-20% größeres Volumen als bei den Kontrollfällen auf (vgl. Befundteil Tabelle 4.1. und Diagramm 4.1.), was bedingt sein kann durch eine reaktive Gliose, ein intravitales oder postmortales Ödem, durch präparatorische Differenzen oder aber durch eine individuelle Normvariante.

Bei der Untersuchung des relativen Volumens der Amygdala in Bezug auf das Telenzephalon zeigte sich ein um circa 18% vergrößertes und in Bezug auf den Kortex ein um circa 19% vergrößertes relatives Volumen im Vergleich mit den Kontrollfällen. Das bedeutet, dass die extraamygdaloiden Strukturen stärker atrophiert sind als die Amygdala (vgl. Befundteil Tabelle 4.4. und Diagramme 4.4.a., 4.4.b.).

Die Neuronenanzahl beim Fall von M. Little verläuft circa 25% oberhalb der Kontrollfälle und die Neuronendichte entspricht fast genau dem Wert des linken Kontrollfalls (vgl. Befundteil Tabelle 4.5. und Diagramm 4.5.).

Ebenso wie beim Fall mit M. Alzheimer ist auch das Relativvolumen des linken Nucleus granularis bei dem Fall mit M. Little auf 15,1% (Tabelle 4.1.) erhöht und liegt somit über dem der Kontrollfälle und der untersuchten neuropathologischen Fälle mit Ausnahme des Alzheimer-Falles. Das absolute Volumen des Nucleus granularis übertrifft alle Kontrollfälle und auch das Volumen des gleichnamigen Kernes des Falles von Megalenzephalie. Auch hier wäre es lohnend, mögliche kompensatorische Hypertrophien bzw. -plasien mit geeigneten Methoden ähnlich wie beim Fall mit M. Alzheimer diskutiert zu studieren.



## **E) Zusammenfassung**

Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Begrenzungen und Terminologien für die Kerne der Amygdala erweist sich nach vergleichend-anatomischen Untersuchungen für die Grundgliederung der Amygdala eine Aufspaltung in zwei Hauptkomplexe als sinnvoll. Zudem ist die Übernahme der angloamerikanischen Terminologie zweckmäßig, da sie sowohl topographische Aussagen über die einzelnen Kerne der Amygdala als auch die einfachere Möglichkeit zur Homologisierung mit anderen Autoren vereint.

Diese Arbeit hat aufgezeigt, dass bei der Berechnung von Volumina aus Hirnstrukturen anhand von Serienschnitten sowohl artifizielle Faktoren, die bei Fixierung und histologischer Bearbeitung entstehen, als auch natürliche Faktoren, die in-vivo, agonal oder postmortal entstehen, zu berücksichtigen sind. Diese Unwägbarkeiten erschweren die exakte und reproduzierbare Volumenbestimmung des menschlichen ZNS und seiner Komponenten.

In-vivo-Untersuchungen mit bildgebenden Verfahren sind zwar nicht durch agonal oder postmortal bedingte Volumenveränderungen verfälscht, aber das derzeit noch geringe Auflösungsvermögen sowie die bisher auf circa 1 mm beschränkten minimalen Schichtdickenaufnahmen von Computer-, Kernspin- und Positronen-emissionstomographen verhindern eine detaillierte Analyse der Komponenten des Mandelkernkomplexes und die Abgrenzung kleinerer amygdaloider Kerngebiete. Daher ist die biologische Aussagekraft bei widersprüchlichen Ergebnissen von unterschiedlichen Arbeitsgruppen bezüglich des Amygdalavolumens von circa 1 cm<sup>3</sup> bis fast 4 cm<sup>3</sup> fragwürdig.

Die mit Hilfe der Amira-Software errechneten Volumina der dreidimensionalen Rekonstruktionen lagen bei allen untersuchten Schnittserien mehr oder weniger unterhalb der quantitativen Ergebnisse, die mit der herkömmlichen stereologischen Methode erzielt wurden.

Bei stark unregelmäßig geformten Strukturen ist eine Abgrenzung mit der Treffermethode des Punktzählverfahrens sicherer und schneller. Beide Methoden sollten daher in künftigen Untersuchungen komplementär eingesetzt werden.

Unter Berücksichtigung von Schrumpfungsfaktoren und mehr oder minder großen Differenzen in der Abgrenzung des Mandelkernkomplexes sind die eigenen Daten mit bisher veröffentlichten Untersuchungen gut vergleichbar. Es deuteten sich auch Tendenzen an im Sinne von Asymmetrien, geschlechtsspezifischen Unterschieden und altersabhängigen Volumenminderungen, die schon in anderen Untersuchungen beschrieben worden sind.

Da aber in dieser Arbeit nur eine begrenzte Anzahl normaler und pathologisch veränderter Mandelkerne untersucht werden konnten, sind die quantitativen Daten nur mit großer Vorsicht zu generalisieren. Zur Vermeidung inkorrektur Aussagen über Volumina und Zelldichte in spezifischen Gehirnregionen bei pathologischen und unauffälligen Gehirnen bedarf es großer Vergleichsgruppen und eines sicheren Zählverfahrens der Neurone.

Da die Berechnung der absoluten Zellzahl keinen artifiziellen Schwankungen unterworfen ist, kann sie als gewichtiges Argument bei der Interpretation von Asymmetrien und Atrophien verwendet werden.

Die Morphologie der in dieser Arbeit untersuchten Amygdalae differierte im Großen und Ganzen nicht wesentlich. Unsere detaillierten 3D-Rekonstruktionen mit Differenzierung und Darstellung der verschiedenen Amygdalakerne anhand mikroskopischer Kontrollen am Nisslpräparat haben nur wenig gemein mit den derzeitigen 3D-Darstellungen aus Schnittserien von Computer-, Kernspin- und Positronenemissionstomographen, bei denen der Mandelkernkomplex nicht von der Hippokampusformation und nur schwer oder willkürlich von den periamygdalären Strukturen abgegrenzt werden kann. Ganz unmöglich ist die Differenzierung der einzelnen Kerne, so dass keine wirklichkeitsgetreue Rekonstruktion erstellt werden kann.

Die in dieser Arbeit beschriebene Methode zur Darstellung dreidimensionaler Hirnstrukturen mit Hilfe der Amira-Software eröffnet ganz neue Möglichkeiten der

Darstellung und Animation. Sie kann entscheidende wissenschaftliche Kenntnisse und wichtige Hinweise zur Auswertung MRT-basierter Morphometrie liefern und damit zur Diagnostik neuropsychiatrischer Erkrankungen beitragen.

Die Untersuchungen weisen ferner auf individuelle Variabilitäten in Form und Größe einzelner Kerngebiete hin, die charakteristisch für jedes einzelne Gehirn sind und somit zwar weniger ausgeprägt aber doch ähnlich wie der unterschiedliche Verlauf und die Form von Gyri und Sulci jedem Mandelkernkomplex ein individuelles Gepräge geben. Die funktionelle Bedeutung dieser Unterschiede ist ebenso rätselhaft wie die individuellen Form- und Größenunterschiede des Hirnmantels.

Unterschiedliche neurodegenerative Erkrankungen haben offensichtlich unterschiedliche Effekte auf einzelne Kerngebiete des Mandelkernkomplexes. Bei der Alzheimerschen Krankheit ist der Nucleus basalis schwerer betroffen als die anderen Kerngebiete, während umgekehrt der Nucleus centralis lange erhalten bleibt und die Nervenzellen im Nucleus granularis bei der Alzheimerschen wie bei der Littleschen Krankheit mögliche regenerative/plastische Phänomene entfalten. Dieses müsste an einer größeren Zahl von Fällen stichhaltig nachgewiesen werden.

## **F) Literaturverzeichnis**

Abercrombie, M., 1946. Estimation of nuclear population from microtome sections. *The Anatomical Record* 94, 239-247

Achten, E., Deblaere, K., de Wagter, C., van Damme, F., Boon, P., de Reuck, J., 1998. Intra- and interobserver variability of MRI-based volume measurements of the hippocampus and amygdala using the manual ray-tracing method, *Neuroradiology* 40, 558-566

Adolphs, R., Russel, J. A., Tranel, D., 1999. A role for the human amygdala in recognizing emotional arousal from unpleasant stimuli. *Psychological Science* 10, 167-171

Aggleton, J. P., 1985. A description of intra-amygdaloid connections in old world monkeys. *Exp Brain Res* 57, 390-399

Aggleton, J. P., 1992. The functional effects of amygdala lesions in humans: A comparison with findings from monkeys. In: Aggleton, J.P. (Herausgeber). *The Amygdala*, Wiley-Liss, New York S. 483-503

Aggleton, J.P. und Saunders, R.C., 2000. The amygdala- what happened in the last decade? In J.P. Aggleton (Herausgeber). *The amygdala: A functional analysis*. Oxford University Press S. 1-30

Alheid, G. F., Heimer, L., Swizer, R. C., 1990. Basal ganglia. In: Paxinos, G. (Herausgeber). *The human nervous system*. Academic Press, New York, S. 483-582

Amaral, D. G., Veazey, R. B., Cowan, W. M., 1982. Some observations on hypothalamo-amagdaloid connections in the monkey. *Brain Res* 252, 13-27

Amaral, D.G., 1986. Amygdalohippocampal and amygdalcortical projections in the primate brain. In: Schwarcz R, Ben-Ari Y, (Herausgeber). Excitatory amino acids and epilepsy. New York: Plenum Press S. 3-17

Amaral, D.G., Price, J. L., Pitkänen, A., Carmichael, S. T., 1992. Anatomical organization of the primate amygdaloid complex. In: Aggleton, J. P. (Herausgeber) The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory and Mental Dysfunction. Wiley-Liss, New York, S. 1-115

Amunts, K., Kedo, O., Kindler, M., Pieperhoff, P., Mohlberg, H., Shah, N. J., Habel, U., Schneider, F., Zilles, K., 2005. Cytoarchitectonic mapping of the human amygdala, hippocampal region and entorhinal cortex: intersubject variability and probability maps, *Anat Embryol* 210, 343-352

Anderson, J. M., Hubbard, B. M., Coghill, G. R., Slidders, W., 1983. The effect of advanced old age on the neurone content of the cerebral cortex. *J Neurol Sci* 58, 233-244

Aylward, E. H., Qiang, L., Honeycutt, N. A., Warren, A. C., Pulsifer, M. B., Barta, P. E., 1999. MRI volumes of the hippocampus and amygdala in adults with Down's Syndrom with and without dementia, *Am J Psychiatry* 156, 564-568

Babinski, R., Calabrese, P., Durwen, H. F., Markowitsch, H. J., Brechtelsbauer, D., Heuser, L., Gehlen, W., 1993. The possible contribution of the amygdala to memory. *Behav Neurol* 6, 167-170

Bailey, A., Luthert, P., Bolton, P., 1993. Autism and megalencephaly. *Lancet* 341, 1225-1226

Barbas, H., de Olmos, J., 1990. Projections from the amygdala to basoventral and mediodorsal prefrontal regions in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 300, 549-571

Bauchot, R., 1967. Les modifications du poids encéphalique au cours de la fixation. *J f Hirnforschung* 6, 253-283

Behl, C., Hovey, L., Krajewski, S., Schubert, D., Reed, J. C., 1993. BCL-2 prevents killing of neuronal cells by glutamate but not by amyloid beta protein. *Biochem Biophys Res Commun* 197, 949-956

Bogerts, B., Meertz, M., Schoenfeld-Bausch, R., 1985. Basal ganglia and limbic system pathology in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* 42, 784-791

Bogerts, B., Ashtari, M., Degreef, G., Alvir, J. M., Bilder, R. M., Lieberman, J. A., 1990. Reduced temporal limbic structure volumes on magnetic resonance images in first episode schizophrenia. *Psychiatry Research: Neuroimaging* 35, 1-13

Bogerts, B., Lieberman, J. A., Ashtari, M., Bilder, R. M., Degreef, G., Lerner, G., Johns, C., Masiar, S., 1993. Hippocampus-amygdala volumes and psychopathology in chronic schizophrenia. *Biological Psychiatry* 33, 236-246

Braak, H. and Braak, E., 1983. Neuronal Types in the basolateral amygdaloid nuclei of man. *Brain Research Bulletin*, Vol. 11, 349-365

Braak, H., Braak, E., Grundke-Iqbal, I., 1986. Occurrence of neuropil threads in the senile human brain and in Alzheimer's disease: a third location of paired helical filaments outside of neurofibrillary tangles and neuritic plaques. *Neurosci Lett* 65, 351-355

Braak, H., Braak, E., 1986. Ratio of pyramidal cells versus non-pyramidal cells in the human frontal isocortex and changes in ratio with ageing and Alzheimer's disease. *Progr Brain Res* 70, 185-212

Braak, H., Braak, E., 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica* 82, 239-259

Braak, H., Braak, E., 1992 Allocortical involvement in Huntington's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 18, 539-47.

Breiter, H. C., Etcoff, N. L., Whalen, P. J., Kennedy, W. A., Rauch, S. L., Buckner, R. L., Strauss, M. M., Hyman, S. E. and Rosen, B. R., 1996. Response and habituation of the human amygdala during visual processing of facial expression. *Neurol* 17, 875-887

Brockhaus, H., 1938. Zur normalen und pathologischen Anatomie des Mandelkerngebietes. *Journal für Psychologie und Neurologie*, Band 49, Heft 1 und 2

Burdach, K. F., 1819 *Vom Baue und Leben des Gehirns*, Leipzig

Caviness, V. S., Kennedy, D. N., Richelme, C., Rademacher, J., Filipek, P. A., 1996. The human brain age 7-11 years: a volumetric analysis based on magnetic resonance images. *Cereb Cortex* 6, 726-736

Cendes, F., Andermann, F., Gloor, P., Evans, A., Jones-Gotman, M., Watson, C., Melanson, D., Olivier, A., Peters, T., Lopes-Cendes, I., Leroux, G., 1993. MRI volumetric measurement of amygdala and hippocampus in temporal lobe epilepsy. *Neurol* 43, 719-725

Chance, S. A., Esiri, M. E., Crow, T. J., 2002. Amygdala volume in schizophrenia: post-mortem study and review of magnetic resonance imaging findings, *Br J Psychiatr* 180, 331-338

Chen, D. F., Schneider, G. E., Martinou, J. C., Tonegawa, S., 1997. Bcl-2 promotes regeneration of severed axons in mammalian CNS. *Nature* 385, 434-439

Chrzanowska, G., Beben, A., 1973. Weight of the brain and body height in man between the ages of 20 and 89 years. *Folia Morphologica (Warsaw)* 32, 391-406

Coggeshall, R. E., 1992. A consideration of neural counting methods. Trends Neuroscience 15, 9-13

Convit, A., McHugh, P., Wolf, O. T., de Leon, M. J., Bobinski, M., de Santi, S., Roche, A., Tsui, W., 1999. MRI volume of the amygdala: a reliable method allowing separation from the hippocampal formation, Psychiatry Research: Neuroimaging Section 90, 113-123

Crosby, E. C., Humphrey, T., 1941, Studies of the vertebrate telencephalon: II. The nuclear pattern of the anterior olfactory nucleus, tuberculum olfactorium and the amygdaloid complex in adult man. J Comp Neur 74, 309-352

Davis, M. und Whlen, P. J., 2001. The amygdala: Vigilance and emotion. Molecular Psychiatry 6, 13-34

Dekaban, A. S., Sakuragawa, N., 1977. Megalencephaly. In: Vinken, P. J., Bruyn, G. W. (Herausgeber). Handbook of clinical neurology. Amsterdam: North-Holland Publishing Co, S. 647-660.

Dekaban, A.S., Sadowsky, D., 1978. Changes in brain weights during the span of human life: relation of brain weights to body heights and body weights. Ann Neurol 4, 345-356.

de Lacalle, S., Iraizoz, I., Gonzalo, L. M., 1993. Cell loss in supraoptic and paraventricular nucleus in Alzheimer's disease. Brain Res 609, 154-158

de la Monte, S., Vonsattel, J. P., Richardson, E. J., 1988. Morphometric demonstration of atrophic changes in the cerebral cortex, white matter, and neostriatum in Huntington's disease. J Neuropathol Exp Neurol 47, 516-525

de Olmos, J., 1990. Amygdala. In: Paxinos, G. (Herausgeber). The human nervous system. Academic Press, New York, S. 583-710



Dong, H.-W., Petrovich, G. D., Swanson, L. W., 2000. Organization of projections from the juxtacapsular nucleus of the BST: a PHAL study in the rat, *Brain Research* 859, 1-14

Eins, S., 1979 Methods for the study of inhomogeneities in central nervous tissue. *Microsc Acta Suppl* 3, 139-46

Emery, N. J., Amaral, D. G., 2000. The role of the amygdala in primate social cognition, in R. D. Lane & L. Nadel (Herausgeber), *Cognitive Neuroscience of Emotion*. New York, Oxford University Press

Everitt, B. J., Morris, K. A., O'Brien, A., Robbins, T. W., 1991. The basolateral amygdala- ventral striatal system and conditioned place preference: further evidence of limbicstriatal interactions underlying reward-related processes. *Neuroscience* 42, 1-18

Fliers, E., Swaab, D. F., Pool, C. W., Verwer, R. W., 1985. The vasopressin and oxytocin neurons in the human supraoptic and paraventricular nucleus; changes with aging and in senile dementia. *Brain Res* 342, 45-53

Floderus, S., 1944. Untersuchungen über den Bau der menschlichen Hypophyse mit besonderer Berücksichtigung der quantitativen mikromorphologischen Verhältnisse. *Act Pathol Microbiol Scand* 53, 1-76

Foix, C., Nicolesco, J., 1925. Les noyaux gris centraux et la région mésencéphalo-sous-optique. Masson et Cie., Paris.

Fox, C. A., 1940. Certain basal telencephalic centers in the cat. *J Comp Neur* 72, 1-62

Frydl, V., Koch, R., Zavodska, H., 1989. The effect of formalin fixation on several properties of the brain. *Zentralbl Allg Pathol* 135(7), 649-55

Fudge, J. L., 2004. Bcl-2 immunoreactive neurons are differentially distributed in subregions of the amygdala and hippocampus of the adult macaque. *Neuroscience* 127, 539-556

Giedd, J. N., Vaituzis, A. C., Hamburger, S., Jajapakse, J. C., Kaysen, D., Vauss, Y. C., Rapoport, J. L., 1996. Quantitative MRI of the temporal lobe, amygdala, and hippocampus in normal human development: ages 4-18 years. *J Comp Neurol* 366, 223-230

Goldstein, J. M., Seidmann, L. J., Horton, N. J., Makris, N., Kennedy, D. N., Verne, S., Caviness, J., Faraone, S. V., Tsuang, M. T., 2001. Normal Sexual Dimorphism of the Adult Human Brain Assessed by in Vivo Magnetic Resonance Imaging. *Cerebral Cortex* 11, 490-497

Goudsmit, E., Hofman, M. A., Fliers, E., Swaab, D. F., 1990. The supraoptic and paraventricular nuclei of the human hypothalamus in relation to sex, age and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 11, 529-536

Greenfield's Neuropathology, sixth edition, 1997, Oxford University Press, London

Gundersen, H. J. G., Bagger, P., Bendtsen, T. F., Evans, S. M., Korbo, L., Marcussen, N., Moller, A., Nielsen, K., Nyengaard, J. R., Pakkenberg, B., Sorensen, F. B., Vesterby, A., West, M. J., 1988. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 96, 857-881

Gurdjian, E. S., 1928. The corpus striatum of the rat. *J Comp Neurol* 45, 294-284

Haug, H., 1980. Die Abhängigkeit der Einbettungsschrumpfung des Gehirngewebes vom Lebensalter. *Ver Anat Ges* 74, 699-700

Haug, H., 1985. Are neurons of the human cerebral cortex really lost during ageing? A morphometric examination. In: Traber, J., Gispén, W. H. (Herausgeber). Senile dementia of the Alzheimer type. Berlin: Springer Verlag, S. 150-163

Haug, H., 1986. History of neuromorphometry. *Journal of Neuroscience Methods* 18, 1-17

Haug, H., Eggers, R., 1992. Methods and problems in the quantitative study of cerebral cortex. In: Fujisawa, K., Morimatsu, Y. (Herausgeber). Development and involution of neurons. Tokyo, Japan Scientific Societies Press, S. 203-217

Heckers, S., Heinsen, H., Heinsen, Y. C., Beckmann, H., 1990. Limbic structures and lateral ventricle in schizophrenia: a quantitative postmortem study. *Archives of General Psychiatry* 47, 1016-1022

Heinsen, H., Strik, M., Bauer, M., Luther, K., Ulmar, G., Gangnus, D., Jungkunz, G., Eisenmenger, W., Götz, M., 1994. Cortical and striatal neurone number in Huntington's disease. *Acta Neuropathol* 88, 320-333

Heinsen, H., Rüb, U., Gangnus, D., Jungkunz, G., Bauer, M., Ulmar, G., Bethke, B., Schüler, M., Böcker, F., Eisenmenger, W., Götz, M., Strik, M., 1996. Nerve cell loss in the thalamic centromedian-parafascicular complex in patients with Huntington's disease. *Acta Neuropathol* 91, 161-168

Heinsen, H., Rüb, U., Bauer, M., Ulmar, G., Bethke, B., Schüler, M., Böcker, F., Eisenmenger, W., Götz, M., Korr, H., Schmitz, C., 1999. Nerve cell loss in the thalamic mediodorsal nucleus in Huntington's disease. *Acta Neuropathol* 97, 613-622

Heinsen, H., Arzberger, T., Schmitz, C., 2000. Celloidin mounting (embedding without infiltration)- a new, simple and reliable method for producing serial sections of high thickness through complete human brains and its application to stereological and immunohistochemical investigations. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 20, 49-59

Herzog, A. G., Kemper, T. L., 1980. Amygdaloid changes in aging and dementia. Archives of Neurology 37, 625-629

Hilpert, P., 1928. Der Mandelkern des Menschen: I. Cytoarchitektonik und Faserverbindungen. J f Psychol u Neur 36, 44-74

Ho, K.-C., Roessmann, U., Straumfjord, J. V., Monroe, G., 1980. Analysis of brain weight. Arch Pathol Lab Med 104, 635-39

Honeycutt, N., Smith, P. D., Aylward, E., Li, Q., Chan, M., Barta, P. E., 1998. Mesial temporal lobe measurements on magnetic resonance imaging scans, Psychiatry Research: Neuroimaging 83, 85-94

Humphrey, T., 1936. The telencephalon of the bat. I. The non-cortical nuclear masses and certain pertinent fiber connections. J Comp Neur 65, 603-711

Hymann, B. T., van Hoesen, G. W., Damasio, A. R., 1990. Memory-related neural systems in Alzheimer's disease: an anatomic study. Neurology 40, 1721-1730

Jamada, M., Mehraein P., 1968. Verteilungsmuster der senilen Veränderungen im Gehirn. Arch psychiat Z Ges Neurol 211, 308-324

Jimenez-Castellanos, J., 1949. Amygdaloid complex in monkey studied by reconstructional methods. J Comp Neurol 91, 507-526

Johnston, J. B., 1923. Further contributions to the study of the evolution of the forebrain. J Comp Neurol 35, 337-482

Kappers, C. U. A., Juber, G. C., Crosby, C., 1936. The comparative anatomy of the nervous system of vertebrates, including man. The Macmillan Company, New York.

Killiany, R. J., Moss, M. B., Albert, M. S., Sandor, T., Tieman, J., Jolesz, F., 1993. Temporal lobe regions on magnetic resonance imaging identify patients with early Alzheimer's disease. Arch Neurol 50, 949-954

Kluver, H. and Bucy, P.C., 1937. Psychic blindness and othersymtoms following bilateral temporal lobectomy in rhesus monkeys. Am J Physiol 119, 352-353

Koikegami, H., 1963. Amygdala and other related limbic structures; experimental studies on the anatomy and function. Acta Med Biol 10, 161-277

Kremer, H. P., Roos, R. A., Dingjian, G., 1990. Atrophy of the hypothalamic lateral tuberal nucleus in Huntington's disease. Neuropathol Exp Neurol 18, 539-47

Kretschmann, H. J., Schleicher, A., Grottschreiber, J. F., Kullmann, W., 1979. The Yakovlev Collection. Journal of the Neurological Sciences 43, 111-126

Kretschmann, H. J., Tafesse, U., 1982. Different volume changes of cerebral cortex and white matter during histological preparation. Microscopica Acta 86, 13-24

Lauer, E. W., 1945. The nuclear pattern and fiber connections of certain basal telencephalic centers in the Macaque. J Comp Neurol 82, 215-254

LeDoux, J. E., 1998. Das Netz der Gefühle: Wie Emotionen entstehen. München: Carl Hanser Verlag

Mann, D. M., Oliver, R., Snowden, J. S., 1993. The topographic distribution of brain atrophy in Huntington's disease and progressive suppranuclear palsy. Acta Neuropathol 85, 553-9

McDonald, A. J., 1992. Cell types and intrinsix connections of the amygdala, in J. P. Aggleton (Herausgeber) The Amygdala: Neurobiological aspects of emotion, memory and mental dysfunction, Wiley-Liss Inc., S. 67-96

McGeer, P. L., McGeer, E. G., Suzuki, J. S., 1977. Ageing and extra-pyramidal function. *Arch neuro* 34, 33-35

Mehler, W. R., 1980. Subcortical afferent connections of the amygdala in the monkey. *J Comp Neurol* 190, 733-762

Merker, B., 1983. Silver staining of cell bodies by means of physical development. *Journal of Neuroscience Methods* 9, 235-241

Miller, A. K. H., Alston, R. L., Corsellis, J. A. N., 1980. Variation with age in the volumes of grey and white matter in the cerebral hemispheres of man. Measurements with an image analyser. *Neuropathol Appl Neurobiol* 6, 119-32

Morris, J. S., Friston, K. J., Büchel, C., Frith, C. D., Young, A. W., Calder, A. J., Dolan, R. J., 1998. A neuromodulatory role of the human amygdala in processing emotional facial expressions. *Brain* 121, 47-57

Morris, J. S., Frith, C. D., Perrett, D. I., Rowland, D., Young, A. W., Calder, A. J., Dolan, R. J., 1996. A different neural response in the human amygdala to fearful and happy facial expressions. *Nature* 383, 812-815

Morris, J. S., Ohman, A. und Dolan, R. J., 1999. A subcortical pathway to the right amygdala mediating “unseen” fear. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 96, 1680-1685

Morris, J. S., Scott, S. K. und Dolan, R. J., 1999. Saying it with feeling: Neural responses to emotional vocalization. *Neuropsychologia* 37, 1155-1163

Mu, Q., Xie, J., Wen, Z., Wenig, Y., Shuyun, Z., 1998. A Quantitative MR Study of the Hippocampal Formation, the Amygdala, and the Temporal Horn of the Lateral Ventricle in Healthy Subjects 40 to 90 Years of Age. *Am J Neuroradiol* 20(2), 207-211

Naidich, T. P., Daniels, D. L., Haughton, V. M., Williams, A., Pojunas, K., Palacios, E., 1987. Hippocampal formation and related structures of the limbic lobe: anatomic-MR correlation. Part I. Surface features and coronal sections. *Radiology* 162, 747-754

Nieuwenhuys, R., Voogd, J., van Huijzen, C., 1991. *The human central nervous system* (3. Auflage). Berlin: Springer Verlag

Oorschot, D. E., 1994. Are you using neuronal densities as your definitive data? There is a better way to go. *Progressive Neurobiology* 44, 233-247

Oyanagi, K., Takeda, S., Takahashi, H., 1989. A quantitative investigation of the substantia nigra in Huntington`s disease. *Ann Neurol* 26, 13-19

Pandya, D. N., van Hoesen, G. W., Domesick, V. B., 1973. A cingulo-amygdaloid projection in the rhesus monkey. *Brain Res* 61, 369-373

Pedraza, O., Bowers, D., Gilmore R., 2004. Asymmetry of the Hippocampus and Amygdala in MRI volumetric measurements of normal adults. *Journal of the International Neuropsychological Society* 10, 664-678

Phillips, M. L., Young, A. W., Scott, S. K., Calder, A. J., Andrew, C., Giampetro, V., Williams, S. C. R., Bullmore, E. T., Brammer, M. und Gray, J. A., 1998. Neural responses to facial and vocal epressions of fear and desgust. *Proceedings of the Royal Society: Biological Sciences* 265, 1809-1817

Pitkänen, A., 2000. Connectivity of the rat amygdaloid xomplex. In J.P. Aggleton (Herausgeber). *The amygdala: A functional analysis*. Oxford: Oxford University Press S. 31-115

Price, J. L., Amaral, D. G., 1981. An autoradiographic study of the projections of the central nucleus of the monkey amygdala. *J Neurosci* 11, 1242-49

Price, J. L., Russchen, F. T., Amaral, D. G., 1987. The amygdaloid complex. In: Björklund, A., Hökfelt, T., Swansen, L. W., (Herausgeber). Handbook of chemical neuroanatomy, vol 5, Teil 1 Integrated systems. Elsevier, Amsterdam, S. 279-388

Riede, U. N., Schäfer, H. E., 1993. Allgemeine und spezielle Pathologie, Thieme Verlag, Stuttgart, S. 1044-1046

Romeis, B., 1948. Mikroskopische Technik, 15. Auflage, München

Rose, M., 1927. Die sog. Riechrinde beim Menschen und beim Affen. II. Teil des Allocortex bei Tier und Mensch. J f Psychol u Neur 34, 261-401

Russchen, F. T., 1986. Cortical and subcortical afferents of the amygdaloid complex. In: Schwarcz, R., Ben-Ari, Y., (Herausgeber). Excitatory amino acids and epilepsy. New York: Plenum Press, S. 35-52

Sanides, F., 1957. Die Insulae terminales des Erwachsenengehirnes. J Hirnforsch 3, 244-273

Sanides, F., 1958. Vergleichend morphologische Untersuchungen an kleinen Nervenzellen und an Gliazellen. J Hirnforsch 4, 113-148

Sarter, M. und Markowitsch, H. J., 1985. Involvement of the amygdala in learning and memory: A critical review with emphasis on anatomical relations. Behavioral Neuroscience 99, 342-380

Satou, T., Cummings, B. J., Cotman, C. W., 1995. Immunoreactivity for bcl-2 protein within neurons in the Alzheimer's disease brain increases with disease severity. Brain Res 697, 35-43



Saunders, R. C., Rosene, D. L., 1988. A comparison of the efferents of the amygdala and the hippocampal formation in the rhesus monkey: I. Convergence in the entorhinal, prorhinal and perihinal cortices. *J Comp Neurol* 271, 153-184

Saunders, R. C., Rosene, D. L., Van Hoessen, G. W., 1988. Comparison of the efferents of the amygdala and the hippocampal formation in the rhesus monkey: II. Reciprocal and non-reciprocal connections. *J Comp Neurol* 271, 185-207

Schumann, C. M., Amaral, D. G., 2005, 2006. Stereological estimation of the number of neurons in the human amygdaloid complex. *J Comp Neurol* 491, 320-329

Scott, S. A., DeKosky, S. T., Scheff, S. W., 1991. Volumetric atrophy of the amygdala in Alzheimer's disease: quantitative serial reconstruction. *Neurology* 41, 351-356

Sims, K. S., Williams, R. S., 1990. The human amygdaloid complex: a cytologic and histochemical atlas using Nissl, myelin, acetylcholinesterase and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate diaphorase staining. *Neuroscience* 36(2), 449-472

Small, C. S., Peterson, D. I., 1982. The reliability of dimensions of formalin-fixed brains. *Neurology* 32(4), 413-415

Spargo, E., Everall, I. P., Lantos, P. L., 1993. Neuronal loss in the hippocampus in Huntington's disease: a comparison with HIV infection. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 56, 487-491

Squire, L. R. und Kandel, E. R., 1999. *Gedächtnis: Die Natur des Erinnerns*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag

Stephan, H., 1975. *Allocortex*, Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, 4. Band Nervensystem, 9. Teil, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.

Storel, A., Paskevich, P., Kiely, D., 1991. Morphometric analysis of the prefrontal cortex in Huntington's disease. *Neurology* 1117-1123.

Suzuki, A., Tsutomi, Y., 1998. Bcl-2 accelerates the neuronal differentiation: new evidence approaching to the biofunction of bcl-2 in the neuronal system. *Brain Res* 801, 59-66

Swanson, L. W., Petrovich, G. D., 1998. What is the amygdala? *Trends Neuroscience* 21, 323-331

Szabo, A., C., Xiong, J., Lancaster, J., L., Rainey, L., Fox, P., 2001. Amygdalar and Hippocampal Volumetry in Control Participants: Differences Regarding Handedness. *AJNR* 22, 1342-1345

Szabo, A., C., Xiong, J., Lancaster, J., L., Cook, C., Fox, P., 2003. MRImaging Volumetry of Subcortical Structures and Cerellar Hemispheres in Normal Persons. *Am J Neuroradiol* 24, 644-647

Terry, R. D., DeTeresa, R., Hansen, L. A., 1987. Neocortical cell counts in normal human adult. *Ann Neurol* 21, 530-539

Thal, D. R., Rüb, U., Orantes, M., Braak, H., 2002. Phases of A $\beta$ -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58, 1791-1800

Tomlinson, B. E, Blessed, G., Roth, M., 1970. Observations on the brains of demented old people. *J Neurol Sci* 11, 205-242

van der Woude, P. F., Goudsmit, E., Wierda, M., Purba, J. S., Hofman, M. A., Bogte, H., Swaab, D. F., 1995. No vasopressin cell loss in the human hypothalamus in aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 16, 11-18

Vereecken, T. H. L. G., Vogels, O. J. M., Nieuwenhuys, R., 1994. Neuron loss and shrinkage in the amygdala in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 15, 45-54

Völsch, M., 1910. Zur vergleichenden Anatomie des Mandelkerns und seiner Nachbargebilde; II. Teil. *Arch f mikr Anat* 76, 373-523

Vogels, O. J. M., Broere, C. A. J., Nieuwenhuys, R., 1990. Neuronal hypertrophy in the human supraoptic and paraventricular nucleus in aging and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 109, 62-67

Vogt, C., Volgt, O., 1919. Allgemeinere Ergebnisse unserer Hirnforschung. Zweite Mitteilung: Das Wesen der topischen und architektonischen Differenzen des Cortex cerebri. *J f Psychol u Neur* 25, 292-360

Watson, C., Andermann, F., Gloor, P., Jones-Gotman, M., Petes, T., Evans, A., Olivier, A., Melanson, D., Leroux, G., 1992. Anatomic basis of amygdaloid and hippocampal volume measurement by magnetic resonance imaging. *Neurology* 42, 1743-1750

Weibel, E. R., 1979. *Stereological Methods*, vol. 1. Academic Press, London

West, M., 1993. Regionally specific loss of neurons in the aging human hippocampus. *Neurobiol Aging* 14, 287-93.

West, M. J., Slomanka, L., 2001. What is an optical disector? *Trends Neuroscience* 24, 374

Yachnis, A. T., Roper, S. N., Love, A., Fancey, J. T., Muir, D., 2000. Bcl-2 immunoreactive cells with immature neuronal phenotype exist in the nonepileptic adult human brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 59, 113-119

Young, M. W., 1936. The nuclear pattern and fiber connections of the noncortical centers of the telencephalon of the rabbit. *J Comp Neur* 65, 295-377

Zald, D. H. und Pardo, J. V., 1997. Emotion, olfaction, and the human amygdala: Amygdala activation during aversive olfactory stimulation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 94, 4119-4124

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich ganz herzlich Herrn Prof. Dr. Heinsen für die freundliche Überlassung dieses interessanten Themas und die ausgezeichnete Betreuung danken. Seine fachliche Unterstützung und konstruktive Kritik haben wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. In diesem Zusammenhang danke ich ihm auch für die Erstellung des Referats.

Frau Prof. Dr. Asan danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferats.

## Lebenslauf

Name		Stefan Josef Kircher
Geburtsdatum		23.05.1978
Geburtsort		Fulda
Nationalität		deutsch
Schulbildung	1985-1989	Grundschule: Paul-Gerhardt-Schule in Hünfeld
	1989-1998	Gymnasium: Wigbert-Schule in Hünfeld
Studium	1998-1999	Rechtswissenschaft an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/M.
	1999-2005	Humanmedizin an der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
	08/2001	Ärztliche Vorprüfung
	08/2002	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
	09/2004	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
	10/2005	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Promotion	seit 02/2002	Computergestützte 3D-Rekonstruktionen und stereologische Untersuchungen am Mandelkernkomplex von normalen und pathologisch veränderten Gehirnen des Menschen Im Labor für morphologische Hirnforschung der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität Würzburg unter der Leitung von Prof. Dr. med. Heinsen
Ärztliche Tätigkeit	seit 11/2005	Assistenzarzt an der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

