

**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 an Thalamus und Striatum

von normalen und pathologisch veränderten Gehirnen des Menschen

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Kerstin Anni Müller

aus Euerbach

Würzburg, Mai 2007

Referent: Prof. Dr. med. Helmut Heinsen

Koreferent: Prof. Dr. med. Wolfgang Roggendorf

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 02.10.2007

Die Promovendin ist Ärztin

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung	1
B. Material und Methode	2
1. Histologie.....	2
2. Computerunterstützte 3D-Rekonstruktion.....	5
2.1 Digitalisierung von Serienschnitten.....	5
2.1.1 Digitale Kamera ProgRes 3012 der Firma Jenoptik im Rechenzentrum der Universität Würzburg.....	5
2.1.2 Datenbearbeitung mit dem Bildbearbeitungsprogramm Adobe Photoshop 6.0.....	6
2.2 Bearbeitung mit Amira.....	6
2.2.1 Kurzbeschreibung der Amirabearbeitung.....	7
2.2.2 Ausführliche Beschreibung der Amirabearbeitung.....	7
a) Datenverarbeitung vom zweidimensionalen Schnitt zum dreidimensionalen Modell.....	7
b) Volumenberechnung.....	11
3. Stereologie der untersuchten Strukturen.....	12
3.1 Punktzählverfahren nach Chalkley.....	12
3.2 Zelldichtebestimmung.....	13
4. Bearbeitete Hemisphären.....	15
C. Ergebnisse	16
1. Standardansichten.....	16
1.1 Kontrollfälle Striatum	
Sektionsnummer 15 83 97, weiblich, 65 Jahre: Kontrollhemisphäre links	
Sektionsnummer 9 1835 99, männlich, 28 Jahre: Kontrollhemisphäre rechts..	17
1.2 Pathologisch veränderte Fälle Striatum.....	20
a) Sektionsnummer 7 115 98, männlich 48 Jahre: Megalenzephalie linke Hemisphäre.....	20
b) Sektionsnummer 26 01 02, männlich, 65 Jahre: M. Little linke Hemisphäre.....	22

c) Sektionsnummer 26 54 90, weiblich, 85 Jahre: M. Alzheimer linke Hemisphäre.....	23
d) Sektionsnummer 26 47 98, männlich, 49 Jahre: Chorea Huntington.....	25
1.3 Kontrollfälle Thalamus	
Sektionsnummer 15 83 97, weiblich, 65 Jahre: Kontrollhemisphäre links	
Sektionsnummer 9 1835 99, männlich, 28 Jahre: Kontrollhemisphäre rechts...	27
1.4 Pathologisch veränderte Thalami.....	29
2. Quantitative Befunde.....	31
2.1 Methodenvergleich Amira – Punktzählverfahren und tabellarische Zusammenstellung der quantitativen Befunde.....	31
D. Diskussion.....	35
1. Probleme der Methodik.....	35
1.1 Anordnen der Serienschritte in Amira mit dem Modul „Align-slice“.....	35
1.2 Minimierung von Rohdaten und Glättung der dreidimensionalen Rekonstruktionen.....	37
2. Gegenüberstellung konventioneller Abbildungen von Thalamus und Striatum mit den dreidimensionalen Rekonstruktionen von Amira.....	38
3. Verwendung der Rekonstruktionen als 3D-Atlas.....	42
4. Stereologische Auffälligkeiten.....	43
4.1 Chorea Huntington.....	43
4.2 Alzheimersche Krankheit.....	45
4.3 Little'sche Krankheit	47
E. Zusammenfassung.....	49
F. Literaturverzeichnis.....	52

Danksagung

Lebenslauf

A. Einleitung

Die Größe und die Komplexität des menschlichen Gehirns erfordern besondere Techniken für eine detaillierte Untersuchung. Dieses gilt vor allem für die tief im Marklager eingebetteten subkortikalen Kerngebiete. In der Vergangenheit wurden Gehirne nach der Klinglerschen Methode (Klingler J., 1935) eingefroren, aufgetaut und das Marklager in mühevoller Kleinarbeit bis auf die Kerngebiete vorsichtig abgetragen. Dabei kam es natürlich je nach Fähigkeiten des Präparators oder Formstabilität des bearbeiteten Gehirns immer wieder zu Artefakten an den freigelegten Strukturen.

In den letzten Jahren ist es durch die Entwicklung von computer- und kernspintomographischen Techniken möglich geworden das menschliche ZNS in virtuelle Schnittbilder bis zu 1mm Schnittdicke zu zerlegen. Vor allem magnetresonanztomographische Bilder zeigen einen guten Kontrast zwischen grauer und weißer Substanz. Aus den Schnittbildern kann man mit Hilfe eines Computers 3D-Modelle errechnen, die aus allen Richtungen des Raumes betrachtet werden können. Für größere Hirnstrukturen ist diese Art der Darstellung verlässlich, für einzelne Kerngebiete ist es mit der heutigen Technik allerdings noch nicht möglich, eine ausreichende Auflösung zu erzielen, so dass diese nicht realitätsgetreu dargestellt werden können.

In dieser Arbeit haben wir versucht, gerade solch kleine Gehirnstrukturen getreu der Wirklichkeit zu rekonstruieren. Dazu wurden bewährte histologische Techniken mit den Möglichkeiten moderner Computertechnologie kombiniert und so dreidimensionale Rekonstruktionen auf der Grundlage histologischer Serienschnitte generiert.

Da die Untersuchung aller subkortikalen Kerngebiete zu umfangreich wäre, stehen in dieser Arbeit die Rekonstruktionen von Thalamus und Striatum im Zentrum der Untersuchungen.

B. Material und Methode

1. Histologie

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

Das Gehirn wird 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 wöchentlich 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 teilt man die rostralen Hirnabschnitte durch einen Mediosagittalschnitt und eröffnet das Septum pellucidum. Durch die Perforation des Septum pellucidum können sowohl Alkohol als auch Celloidin im Verlauf der Einbettung besser in die Seitenventrikel eindringen. Bei älteren Individuen werden zusätzlich die Plexus choroidei entfernt. Altersabhängige Kalkeinlagerungen führen leicht zu Schneideartefakten der in Celloidin eingebetteten Gehirne.

Nach der Fixierung werden die beiden Hemisphären in Leitungswasser für einen halben Tag gründlich gewässert und anschließend in 70, 80 und 96%igen Äthanollösungen für jeweils eine Woche in der entsprechenden Alkoholstufe dehydriert. Ist die Alkoholeinbettung abgeschlossen, werden Hirnhäute und oberflächliche Gefäße entfernt, damit das Einbettungsmedium Celloidin bis in den Grund breiterer Sulci eindringen kann.

Zur Einbettung werden getrocknete Flocken von kommerziellem Celloidin in einem Gemisch aus gleichen Teilen 100%igem Alkohol und Diethyläther zu einer 8%igen Lösung angesetzt. Nach Abschluss der Alkoholdehydration werden die einzelnen Hemisphären in eine ausreichend große transparente, mit einem Überschuss an 8%igem Celloidin gefüllte Plastikbox eingelegt, die anschließend in einen Exikator gestellt und für 48 Stunden an eine Vakuumpumpe angeschlossen wird. Dadurch werden die Äther-

Alkohol-Dämpfe bei einem Unterdruck von 600 mBar rasch und gleichmäßig abgesaugt und das Celloidin von 8 auf 16% konzentriert. Dieser Eindickungsvorgang des Celloidins auf die Hälfte des Ausgangsvolumens lässt sich durch die transparente Plastikbox leicht verfolgen. Die rasche Vakuumextraktion von Äthanol 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 oben durch eine Glasscheibe verschlossen wird. 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 Äthanollösung für zwei Tage. Nach dieser Prozedur kann die Hemisphäre geschnitten werden. Dafür wird der Celloidin-Block mit 8% Celloidin auf den Objekthalter eines Mikrotoms geklebt, den man zusammen mit dem Hemisphärenblock vor dem Schneiden für drei bis vier Stunden in 70%igem Äthanol versenkt. 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 Äthanollösung feucht gehalten.

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

Vor einer Gallozyanin-Färbung müssen die Schnitte in Perameisensäure vorbehandelt werden. (1 Teil 100% Ameisensäure, 3 Teile 30% H₂O₂ und 6 Aqua dest.). Zusammen mit der Lösung werden die Schnitte in Petrischalen (185 mm Durchmesser, 40 mm Höhe) gegeben und über Nacht permanent mit Hilfe eines Schüttlers in Bewegung

gehalten. Die Schnitte werden dabei mit Filterpapier bedeckt, das deren Auftauchen verhindert.

Am nächsten Morgen wird die Perameisensäure für eine Stunde unter fließendem Wasser entfernt. Die Schnitte werden anschließend für 3 Stunden unter leichter aber permanenter Bewegung in Gallozyanin-Chromalum gefärbt. Die dafür benötigte Farblösung setzt sich aus 1,5g Gallozyanin in 1000ml 5% Kaliumchrom (III)-sulfat Dodecahydrat zusammen und wird vor Gebrauch 10 Minuten gekocht.

Sobald die Mischung abgekühlt ist, wird sie abgossen, mit destilliertem Wasser auf 1000 ml aufgefüllt und auf einen pH von 1,8 eingestellt. Der Gallozyanin-Überschuss wird nach dem Färben durch 1 Stunde Wässern mit Leitungswasser entfernt.

Jetzt werden die Schnitte in 50% Äthanol gegeben und zwischen zwei Filterpapieren geglättet. Um die Glättung dauerhaft zu machen, werden die Schnitte zusammen mit den Filterpapieren zwischen zwei perforierte Keramikscheiben (Hoechst CeramTec, Marktredwitz, FRG) gelegt.

Anschließend werden die Schnitte in aufsteigenden Alkohollösungen nach folgendem Schema dehydriert.

80% Äthanol	1 Stunde
100% vorher benutztes Äthanol	1 Stunde
100% frisches Äthanol	über Nacht
100% Propanol : Xylol im Verhältnis 1 : 1	2 Stunden
vorher benutztes Xylol	2 Stunden
frisches Xylol	über Nacht.

Die Schnitte werden auf Objektträger der Größe 10 x15 cm mit Permount eingedeckt, das eine hohe Transparenz der 440µm dicken Schnitte garantiert.

2. Computerunterstützte 3D-Rekonstruktion

Die galloxyanin gefärbten Serienschritte bilden die Grundlage für eine computer-gestützte dreidimensionale Rekonstruktion von subkortikalen Kerngebieten des menschlichen ZNS. Zu diesem Zweck müssen die Serienschritte digitalisiert werden.

2.1 Digitalisierung von Serienschritten

2.1.1 Digitale Kamera ProgRes 3012 der Firma Jenoptik im Rechenzentrum der Universität Würzburg

Für die Digitalisierung und weitere Bearbeitung bzw. Auswertung von Serienschritten ist es unerlässlich, dass alle Schnitte unter denselben Bedingungen digitalisiert werden, das heißt, dass sie jeweils mit dem gleichen Kameraobjektiv und einem konstanten Arbeitsabstand aufgenommen werden.

Der optimale Arbeitsabstand wurde an Serienschritten mit der größten Ausdehnung der zu untersuchenden Strukturen ermittelt, nach unserer Erfahrung auf Schnitthöhen durch das Chiasma opticum. Die einzelnen Schnitte werden anschließend bei höchster Kameraauflösung gescannt, im Originalformat hat dann eine Aufnahme eine Größe von 48 MB im Tif-Format.

Die Serienschritte werden mit Durchlicht aufgenommen. Die ProgRes 3012 Kamera selbst wird durch einen PC gesteuert. Über ein Standard-Bildbearbeitungsprogramm, in unserem Fall Adobe Photoshop 6.0, werden dabei die genauen Einstellungen der Kamera justiert.

Der Abbildungsmaßstab der digitalisierten Aufnahmen wird mit Hilfe einer gleichzeitig gescannten Millimeterskala kalibriert. Da sie einen reellen Bezugspunkt darstellt, kann mit ihrer Hilfe jederzeit die reale Größe einer ausgewählten Struktur bestimmt werden.

2.1.2 Datenbearbeitung mit dem Bildbearbeitungsprogramm Adobe Photoshop 6.0

Sind die Daten auf den Computer übertragen, müssen noch einige Veränderungen vorgenommen werden, damit danach die digitalisierten Schnitte dem 3D- Programm Amira angeboten werden können.

Mit Hilfe des Bildbearbeitungsprogramms Photoshop wird zunächst eine Pixelauflösung (z. B. 450 Pixel/Inch) gewählt, die ein optimales Verhältnis von benötigtem Speicherplatz und Bildschärfeverlust bietet. Aus praktischen Gründen legt man während dieses Schrittes zusätzlich die Bildgröße auf 5,99cm Breite und 5cm Höhe fest.

Über die jeweils gewählte Auflösung erhält man eine bestimmte Pixelanzahl für die Raumachsen x und y, die für die spätere Bearbeitung und Volumenberechnung von Bedeutung sind (siehe 2.2.2 Abschnitt b). Die Farbinformationen des Bildes werden verworfen und eine Beschriftung zur leichteren Wiedererkennung eingefügt.

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

2.2 Bearbeitung mit Amira

Amira ist ein kommerzielles Computerprogramm für die dreidimensionale Rekonstruktion zweidimensionaler Ausgangsdaten (digitalisierte und bearbeitete Serienschnitte). Für diesen Vorgang bietet Amira eine Reihe von Möglichkeiten, von denen die folgende für die Auswertung der vorbereiteten Serienschnitte angewendet wird.

2.2.1 Kurzbeschreibung der Amirabearbeitung

In Amira umfährt man nach dem Öffnen einer Schnittserie mit geeigneten Werkzeugen die Gehirnstrukturen, die dreidimensional generiert werden sollen (Thalamus und Striatum). Dies ist nötig, weil Amira einen speziell ausgewiesenen Teil von Informationen braucht, um ein optimales Ergebnis liefern zu können. Wird kein Bereich für Amira festgelegt, versucht das Programm alle Bildinformationen zu verarbeiten und es entsteht ein unbrauchbares dreidimensionales Gebilde.

Aus den Bildinformationen des zuvor festgelegten Auswahlbereiches erstellt Amira ein erstes dreidimensionales Modell. Der einzig limitierende Faktor ist dabei nach unserer Erfahrung ein ausreichend großer Arbeitsspeicher des benutzten Computers. (siehe hierzu Kap.2.2.2)

Mit dem so erzeugten 3D-Modell lassen sich erste Aussagen über Größenverhältnisse und Volumina machen. Da Amira die Möglichkeit bietet, die ursprünglichen Schnitte einzublenden, kann zusätzlich die Lage zu anderen Hirnstrukturen beurteilt werden. Außerdem ist es möglich über mehrere eingeblendete „Viewer“ verschiedene 3D-Modelle nebeneinander zu betrachten.

2.2.2 Ausführliche Beschreibung der Amirabearbeitung

a) Datenverarbeitung vom zweidimensionalen Schnitt zum dreidimensionalen Modell

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 reale Größe 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 Vergrößerungsfaktoren berücksichtigt werden, die bei der Digitalisierung der Schnittserien anfallen.

Dazu öffnet man das 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 festlegt 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 mit eingescannte 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 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.

$$z_{[Pixel]} = Pixel_{[pro\ mm]} \cdot (k \cdot \text{Schnittdicke})$$

Für die ersten Schritte kann der am Mikrotom voreingestellte Wert für die Schnittdicke übernommen werden. Der reelle Wert der Schnittdicke wird nach folgender Methode optisch bestimmt.

Anhand einer geeichten Mikrometer-Schraube ($1^\circ = 0,00165\text{ mm}$) wird am Lichtmikroskop die Schnittdicke jedes vierten Originalschnittes durch Fokussieren auf die obere und untere Schnittebene abgelesen. Aus den so ermittelten Gradangaben wird anschließend ein Durchschnittswert errechnet, der sich über die bekannte Eichung der Mikrometerschraube in Millimeter umrechnen lässt.

Im nächsten Schritt werden nacheinander alle Serienschritte mit Hilfe des Moduls „align slice“ genau übereinandergelegt, wodurch diese in der z-Achse so exakt wie möglich übereinander angeordnet werden, um eine Rekonstruktion zu ermöglichen.

Die Hauptaufgabe besteht darin, den Bereich festzulegen, der von Amira rekonstruiert werden soll. Dazu öffnet man das Modul „labelfield“ und umfährt mit geeigneten Werkzeugen die Grenzen der Gehirnstrukturen, die später dargestellt werden sollen. Es empfiehlt sich dafür verschiedene Farben und Werkzeuge zu verwenden. Für unsere Zwecke haben sich besonders die Werkzeuge „Lasso“ und „Pinsel“ geeignet.

Die Grenzen der untersuchten Strukturen sind an den mit Gallocyanin gefärbten Dickschnitten größtenteils sicher zu erkennen. An schwer abgrenzbaren Stellen muss auf die Originalschnitte zurückgegriffen werden, um anhand der Morphologie der Neurone auf die Zugehörigkeit zum jeweiligen Kerngebiet schließen zu können. Schwer zu differenzierende Bereiche liegen zum Beispiel am Übergangsbereich zwischen Thalamus und Hypothalamus oder zwischen Putamen und Globus Pallidum (Abb. 1, 2).

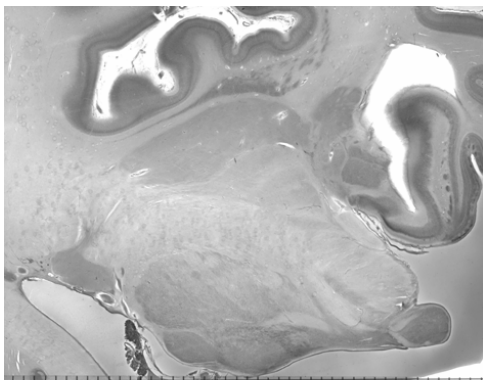


Abb. 1: Datengrundlage für die Amira-Bearbeitung. Beachte Grenzbereich zwischen Thalamus und Hypothalamus

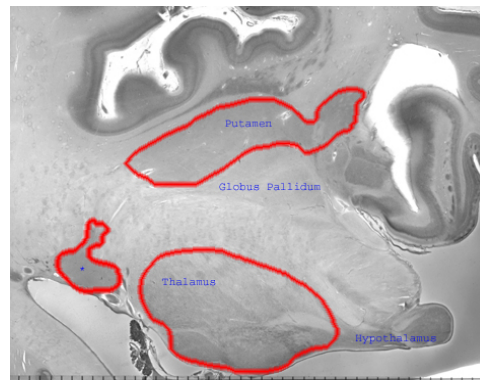


Abb. 2: Abgrenzung der Kerngebiete (rot) nach Betrachtung der Originalschnitte (* = Nucleus caudatus)

An einigen Stellen ist es auch auf diese Weise nicht möglich, eine eindeutige Grenze zwischen verschiedenen Kerngebieten zu finden, weshalb bestimmte Festlegungen getroffen werden müssen, unter deren Einhaltung bei jeder Hemisphäre auf die gleiche Weise die Grenze einer Struktur gezogen wird.

So werden Thalamus und Hypothalamus in den rostralen Abschnitten durch Verlängerung des Fundus Sulci hypothalamici abgegrenzt. In den folgenden Rekonstruktionen werden die Corpora geniculata mediale und laterale (Metathalamus) farbig erkennbar dargestellt. Außerdem ist bei der späteren Interpretation der Rekonstruktionen zu beachten, dass der Ncl. reticularis thalami nicht mitbearbeitet worden ist.

Auch die Separierung von Putamen und Ncl. caudatus gestaltet sich in bestimmten Hirnregionen schwierig. Die beiden Kerngruppen bilden zusammen das Striatum und sind in rostralen Gehirnabschnitten völlig miteinander verschmolzen. In diesem Bereich wird eine gedachte Trennlinie in Frontalebene durch die optische Mitte des Striatum gelegt. In den kaudalen Hirnregionen lassen sich Putamen und Ncl. caudatus leicht voneinander abgrenzen, da die Capsula interna beide auseinander drängt. Diese natürliche Grenze wird nur durch einzelne Zellbrücken (Pontes grisei lenticulostriales) zwischen den Kerngebieten unterbrochen.

Wegen der unsicheren Grenzen wurde das ventrale Striatum bei der Rekonstruktion nicht berücksichtigt, sondern zur einen Hälfte dem Putamen und zur anderen Hälfte dem Ncl. caudatus zugeschlagen.

Wenn alle Strukturen umfahren sind, kann über das Modul „SurfaceGen“ eine erste dreidimensionale Darstellung der menschlichen Basalganglien errechnet werden.

Da Amira - einfach ausgedrückt - bei der Generierung von dreidimensionalen Modellen alle Daten der ausgewählten Bereiche der Serienschnitte in der z-Achse übereinander legt, ergibt sich in dieser ersten Berechnung noch eine Rekonstruktion mit vielen Stufen und Kanten. Um den Übergang zwischen den einzelnen Schnitten fließender darzustellen, bietet Amira die Möglichkeit, Bildinformationen in einem zuvor festgelegten Umfang zu verwerfen und so die Rekonstruktionen für den Betrachter optisch zu glätten (Abb. 3 und 4). Dabei interpoliert Amira die Daten und viele Details gehen verloren. Gleichzeitig werden die Dateigrößen verringert, die Rechengeschwindigkeit und die Darstellungsgeschwindigkeit aber erhöht. Damit dabei die von Amira generierten Modelle der Basalganglien reproduzierbar bleiben, haben wir für jeden

Thalamus und jedes Striatum der verschiedenen Hemisphären dieselben Vorgaben für das Interpolieren der dreidimensionalen Rekonstruktionen gewählt.

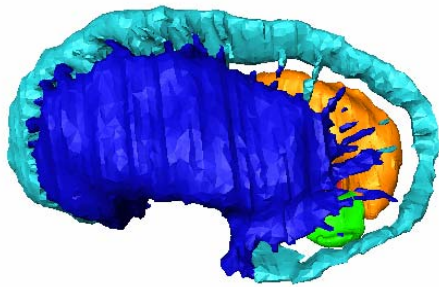


Abb. 3: Dreidimensionale Darstellung von Thalamus und Striatum einer linken Kontrollhemisphäre – ohne Interpolieren

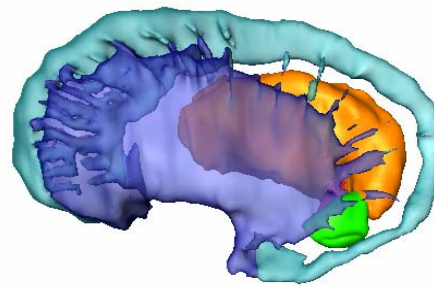


Abb. 4: Dreidimensionale Darstellung von Thalamus und Striatum einer linken Kontrollhemisphäre – mit Interpolieren, das Putamen erscheint transparent

b) Volumenberechnung

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

$$V_{[mm^3]} = \frac{V_{A[Voxel]}}{(Pixel_{[pro\ mm]})^3}$$

V_A : Volumen aus Amira

$Pixel_{[pro\ mm]}$: Ausdehnung eines Millimeter in Pixel (siehe 2.2.2 a))

3. Stereologie der untersuchten Strukturen

Um die korrekte Arbeitsweise von Amira zu überprüfen wird das Volumen von Striatum und Thalamus auch auf herkömmliche Weise 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 (Heinsen et al., 2000):

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

3.1 Punktzählverfahren nach Chalkley

Mit diesem Verfahren lassen sich Volumendichten von Serienschnitten schätzen. Dazu wird ein Raster auf eine transparente Folie gedruckt (in unserem Fall ein 4mm-Raster) und jeweils ohne bestimmte Regeln oder Vorzugsrichtungen rein zufällig auf den Serienschnitten mit Hilfe von herkömmlichem Tesafilm fixiert.

Mit einem Lichtmikroskop (Typ Olympus BH2) werden anschließend in der Übersichtsvergrößerung die Schnittpunkte des Rasters gezählt (Abb. 5), die auf die relevanten Gehirnstrukturen fallen (Striatum und Thalamus).

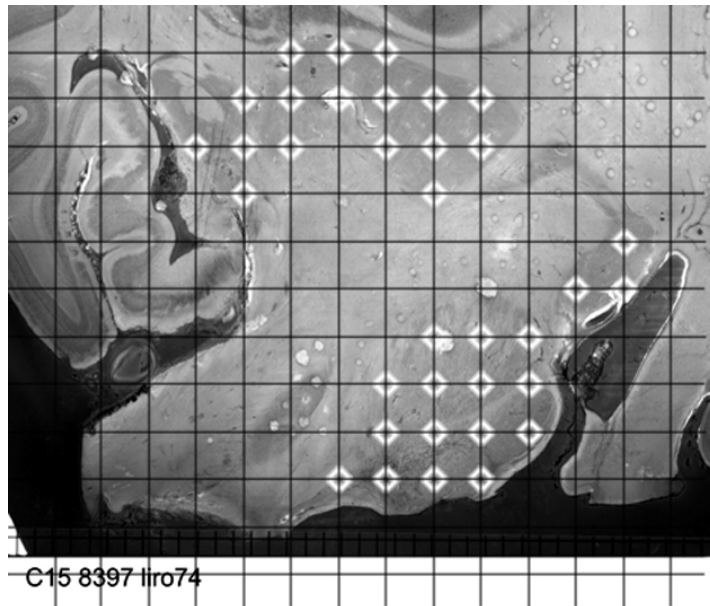


Abb. 5: Schnitt mit Raster und gekennzeichneten Schnittpunkten

Mit der Beziehung $V = a * z$ lässt sich das Volumen der einzelnen Kerngebiete bestimmen.

Dabei ist a das Produkt aus der Anzahl der Schnittpunkte und der Fläche eines Zählquadrats (bei einem 4 mm Raster entspricht diese $4 * 4mm = 16mm^2$) und z das Produkt aus der mittleren Schnittdicke und der Anzahl der Schnitte.

3.2 Zelldichtebestimmung

Bei der eben beschriebenen Volumendichtebestimmung wird zusätzlich eine numerische Schätzung der Neuronendichte durchgeführt.

Dazu benötigt man neben dem bereits erwähnten 4 mm-Raster auch ein geeichtes Okularraster mit 10 auf 10 Zählquadraten. In der schwächsten Vergrößerung bringt man das Okularraster mit den relevanten Schnittpunkten des fixen 4 mm Rasters zur Deckung. Dabei sollte stets die gleiche Stellung des Okularrasters zum 4 mm-Raster verwendet werden, um systemische Fehler bei der Schätzung zu vermeiden. Bei 400-facher Vergrößerung können mit einem Ölimmersionsobjektiv (Planapo Öl 40/NA 1,0

Okular WHK 10) jetzt die im Fokusbereich von 29 μm neu hinzukommenden Neurone innerhalb des Okularrasters gezählt werden (Abb. 6).

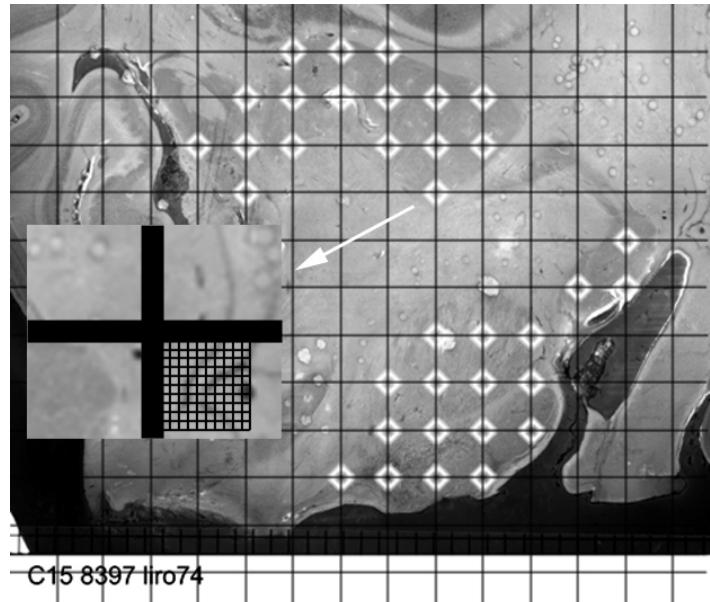


Abb. 6: Vergrößerung und Blick durch das Okularraster an einem Zähl-Schnittpunkt

Die Summe der Neurone ergibt sich aus folgender Beziehung:

$$N = \sum Q * \frac{t}{h} * \frac{1}{asf} * \frac{1}{ssf}$$

$\sum Q$: Summe der gezählten Nukleoli

t : durchschnittliche Schnittdicke

h : Höhe des Disektors (0,029mm)

asf : area sampling fraction (0,01mm² / 4mm * 4mm)

ssf : section sampling fraction (0,5)

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

4. Bearbeitete Hemisphären

Nach dem beschriebenen Verfahren werden acht Hemisphären von verschiedenen Individuen bearbeitet und die Ergebnisse zusammengetragen. Allgemeine Angaben zu den Hemisphären können aus der folgenden Tabelle entnommen werden.

Sektionsnummer	Bearbeitete Hemisphäre	Alter (in Jahren)	Geschlecht	Todesursache	Pathologie
9 1835 99	rechts	28	männlich	Tod durch äußeres Verbluten	keine
15 83 97	links	65	weiblich	Myokardinfarkt	keine
7 115 98	links	48	männlich	fulminante Lungenembolie	Nebenbefund Megalenzephalie
26 01 02	links	65	männlich	Myokardinfarkt	M. Little, chronische-paranoid-halluzinatorische Schizophrenie
26 54 90	links	85	weiblich	Myokardinfarkt	senile Demenz, z.B. Morbus Alzheimer
26 47 98	rechts	49	männlich	Myokardinfarkt	Chorea Huntington
26 47 98	links	49	männlich	Myokardinfarkt	Chorea Huntington

Tab. 1

C. Ergebnisse

1. Standardansichten

Wie in Abschnitt B dieser Arbeit beschrieben, wurden sowohl von Kontrollfällen als auch von pathologisch veränderten Gehirnen mit Amira dreidimensionale Rekonstruktionen von Striatum und Thalamus angefertigt. Amira ermöglicht die Ansicht der Rekonstruktionen aus allen Richtungen des Raumes. Für die gedruckte Darstellung muss man sich allerdings aus technischen Gründen auf Standardansichten der Kerngebiete beschränken.

Im Folgenden werden die Kerngebiete in den Ansichten von kaudal – rostral (z-Achse), dorsal – ventral (y-Achse) und lateral – medial (x-Achse) bzw. vice versa abgebildet, wobei jeweils nur die aussagekräftigsten Ansichten aufgeführt sind.

Zur Farbgebung: blau = Putamen

türkis = Ncl. caudatus

orange = Hauptkomplex des Thalamus

grün = Corpus geniculatum laterale

magenta = Corpus geniculatum mediale

1.1 Kontrollfälle Striatum

Sektionsnummer 15 83 97, weiblich, 65 Jahre: Kontrollhemisphäre links

Sektionsnummer 9 1835 99, männlich, 28 Jahre: Kontrollhemisphäre rechts

Bei beiden Kontrollhemisphären erscheint der Schweifkern (Ncl. caudatus) als eine mächtige Keule, deren Stiel (Cauda nuclei caudati) allerdings nicht gestreckt, sondern henkelförmig gebogen ist (Abb. 7, 8). Das Caput nuclei caudati ist dabei aufgetrieben und verschmilzt in seinen rostralen Abschnitten mit dem Putamen (Abb. 14). In den weiter kaudal gelegenen Bereichen verjüngt sich der Schweifkern rasch zum halbkreisförmig gebogenen Kaudatusschwanz, welcher bei der linken Kontrollhemisphäre durchgängig verläuft und nach dem Umbiegen nach oben wieder Kontakt zum Putamen aufnimmt (Abb. 9, 11). Im Gegensatz dazu ist der Kaudatusschwanz bei der rechten Kontrollhemisphäre teilweise unterbrochen und tangiert nach dem Umschwenken vom Boden des Seitenventrikels in das Dach des Unterhorns mit seinem äußersten Pol das Putamen nicht mehr (Abb. 7, 12).

Der Ncl. caudatus begrenzt mit seiner kompletten medialen Oberfläche den Seitenventrikel und ist von dort bereits makroskopisch bei eröffnetem Seitenventrikel gut zu sehen (Abb. 11). Die laterale Fläche des Schweifkerns ist der Capsula interna zugewandt, welche den Ncl. caudatus und das Putamen in kaudalen Hirnregionen weit voneinander trennt (Abb. 10). Die räumliche Trennung ist nicht vollständig und es lassen sich immer wieder Zellbrücken zwischen den beiden Kerngebieten finden. Diese Pontes grisei lenticulostriales sind nach rostral zu teilweise sehr ausgeprägt und werden nach kaudal im Bereich des Kaudatuschwanzes immer spärlicher (Abb. 9).

Das Putamen schließt sich dem Ncl. caudatus weiter lateral an und hat die Gestalt einer unregelmäßig geformten Schale [(deswegen im Deutschen auch als Schalenkern bezeichnet (Clara, 1953)]. Das nach medial eingedellte Putamen umgibt die lateralsten Teile des sich anschließenden Globus pallidus lateralis von letzterem nur durch die Lamina medullaris getrennt (Abb. 11). In den rostrobasalen Hirnbereichen verschmilzt das Putamen wie bereits erwähnt mit dem Ncl. caudatus zum Fundus striati (Abb. 13).

Typische Zellbrücken zwischen
 kaudalem Pol des Putamens und
 Kaudatusschwanz

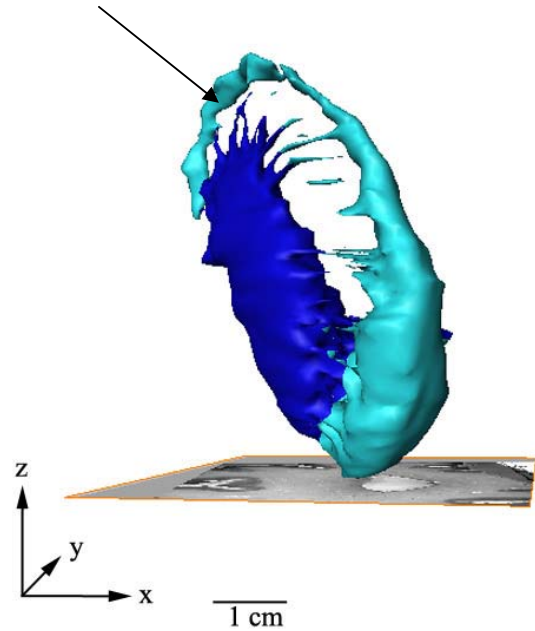
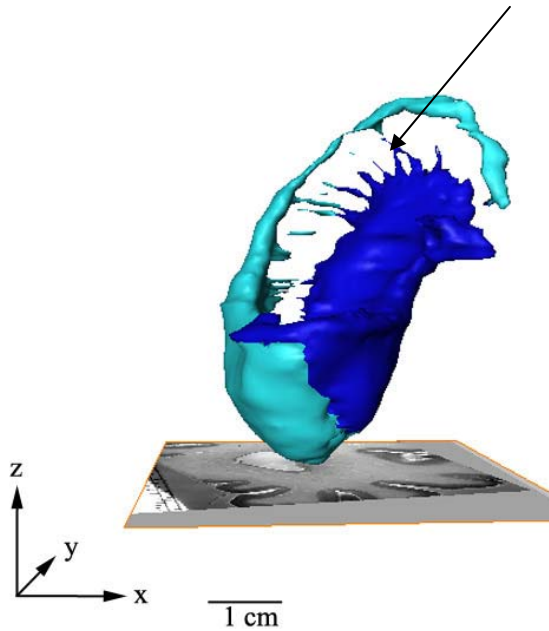
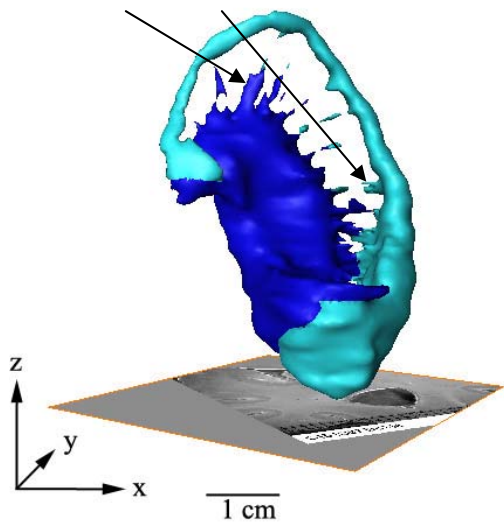


Abb. 7: Striatum Kontrollhemisphäre rechts 9 1835 99 Ansicht ventral – dorsal. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

Abb. 8: Striatum Kontrollhemisphäre rechts 9 1835 99 Ansicht dorsal - ventral. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

Pontes grisei
 lenticulostriatales



Capsula interna

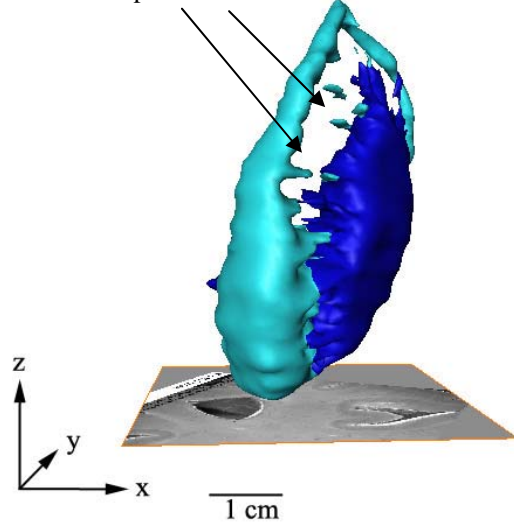


Abb. 9: Striatum Kontrollhemisphäre links 15 83 97 Ansicht ventral -dorsal. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

Abb. 10: Striatum Kontrollhemisphäre links 15 83 97 Ansicht dorsal – ventral. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

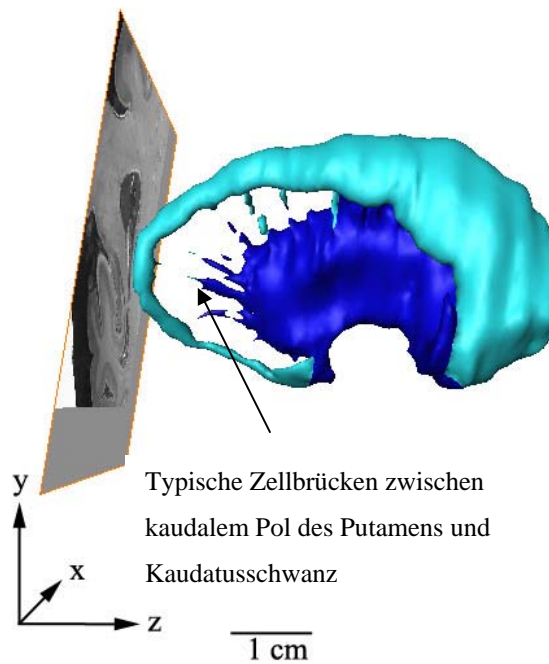


Abb. 11: Striatum Kontrollhemisphäre links 15 83 97 Ansicht medial – lateral. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

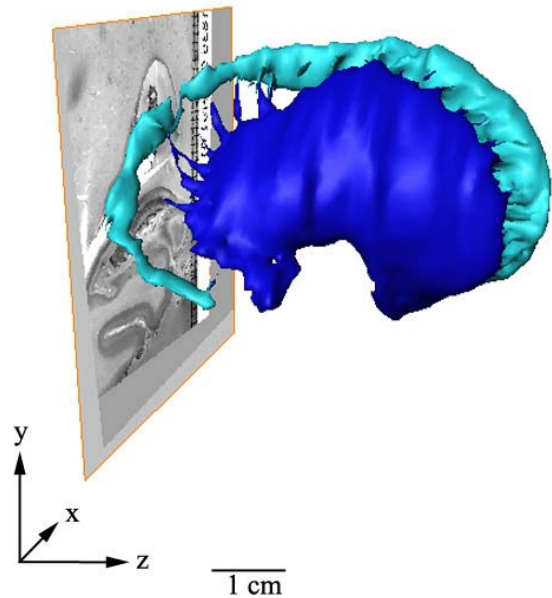


Abb. 12: Striatum Kontrollhemisphäre rechts 9 1835 99 Ansicht lateral – medial. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

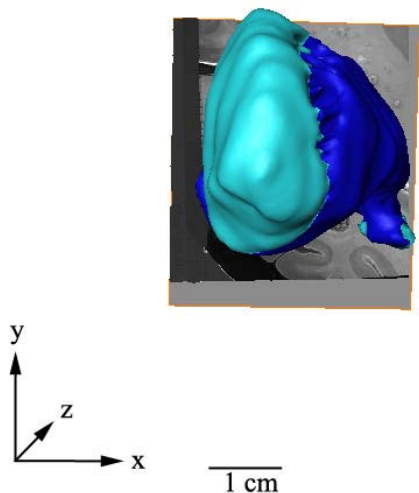


Abb. 13: Striatum Kontrollhemisphäre links 15 83 97 Ansicht rostral – kaudal. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

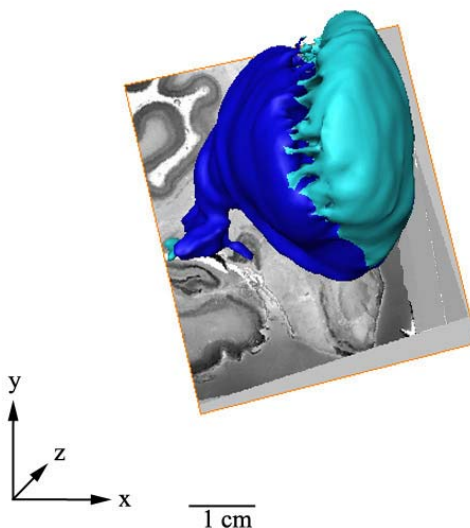


Abb. 14: Striatum Kontrollhemisphäre rechts 9 1835 99 Ansicht rostral – kaudal. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

1.2 Pathologisch veränderte Fälle Striatum

a) Sektionsnummer 7 115 98, männlich, 48 Jahre: Megalenzephalie linke Hemisphäre

Bei dieser megalenzephalen Hemisphäre ähneln die Oberflächen von Ncl. caudatus und Putamen den Kontrollfällen sehr stark. Es lässt sich auch bei der Megalenzephalie beobachten, dass der kaudale Kaudatusschwanz nicht durchgängig ist, sondern in mehrere unterschiedlich große perlschnurartig angeordnete Fragmente zerfällt. Auch diese Fragmente sind nicht direkt mit dem Putamen verbunden (Abb. 15).

Insgesamt dehnt sich das Striatum in dorsoventraler Richtung stärker als bei den Kontrollfällen aus (Abb. 16, 17). Dagegen erscheint der Kaudatuskopf weniger aufgetrieben und auch das Putamen ist in seiner mediolateralen Ausdehnung eher abgeplattet (Abb. 16, 17). Die Zahl der kaudalen Pontes grisei lenticulostriatales ist reduziert und der Raum, den die Capsula interna zwischen Cauda nuclei caudati und Putamen einnimmt, ist vergrößert (Abb. 15).

Diese Beobachtungen spiegeln sich auch in den Volumina der einzelnen Corpora striata wieder: linke Kontrollhemisphäre $V = 4.097,7 \text{ mm}^3$, rechte Kontrollhemisphäre $V = 5.353,5 \text{ mm}^3$, Megalenzephalie $V = 6.035,3 \text{ mm}^3$ (Tab. 2).

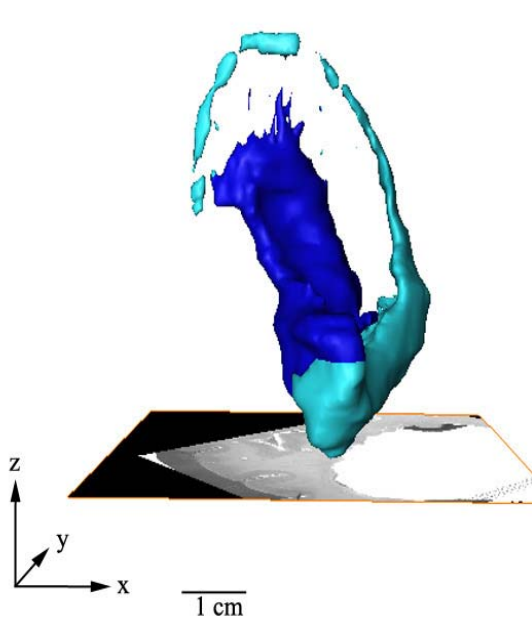


Abb. 15: Striatum Megalenzephalie links 7 115 98 Ansicht ventral - dorsal. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

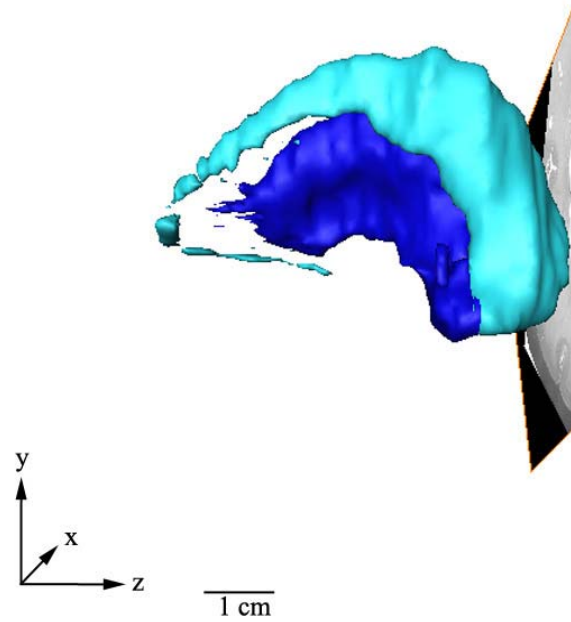


Abb. 16: Striatum Megalenzephalie links 7 115 98 Ansicht medial - lateral. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

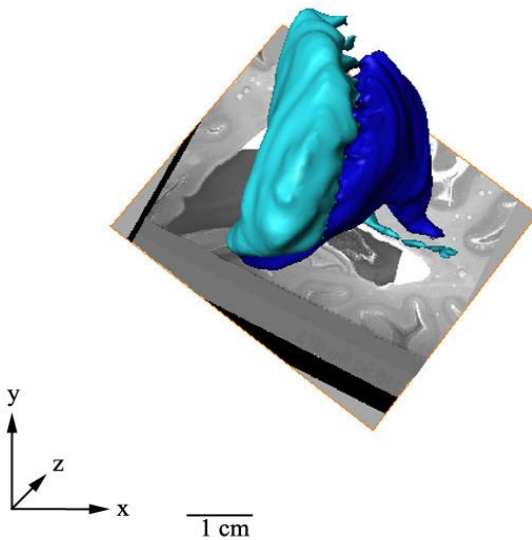


Abb. 17: Striatum Megalenzephalie links 7 115 98 Ansicht rostral - kaudal. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

b) Sektionsnummer 26 01 02, männlich, 65 Jahre: M. Little linke Hemisphäre

Im Gegensatz zum Fall mit Megalenzephalie (Abb. 15) und zum Kontrollfall rechts (Abb. 7) zerfallen die kaudalen Abschnitte des Ncl. caudatus nicht in einzelne Fragmente. Allerdings verschmilzt der kaudale Pol des Kaudatuschwanzes ebenfalls nicht mit dem kaudoventralen Putamen (Abb. 18). Außerdem verjüngt sich der Schweifkern nicht so rasch wie bei den Kontrollhemisphären, sondern geht erst kurz vor dem Umbiegen nach ventral endgültig in den Kaudatuschwanz über (Abb. 11, 19).

Daneben fällt auf, dass der Ncl. caudatus in der dorsoventralen Ausdehnung flacher als bei den Kontrollfällen erscheint und insgesamt weniger Pontes grisei lenticulostriales Ncl. caudatus und Putamen miteinander verbinden (Abb. 20).

In der Ansicht von dorsal drängen die vorderen Fasermassen der Capsula interna die rostralen Anteile des Putamen und Ncl. caudatus weniger brüsk auseinander als bei den Kontrollfällen (Abb. 10, 21).

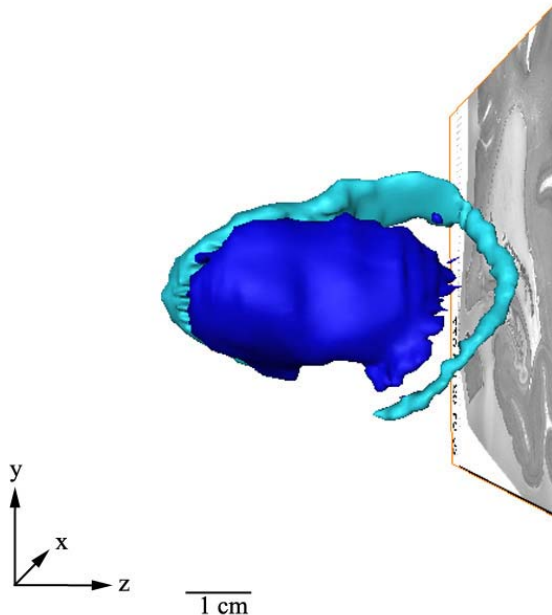


Abb. 18: Striatum M. Little links 26 01 02 Ansicht lateral - medial. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

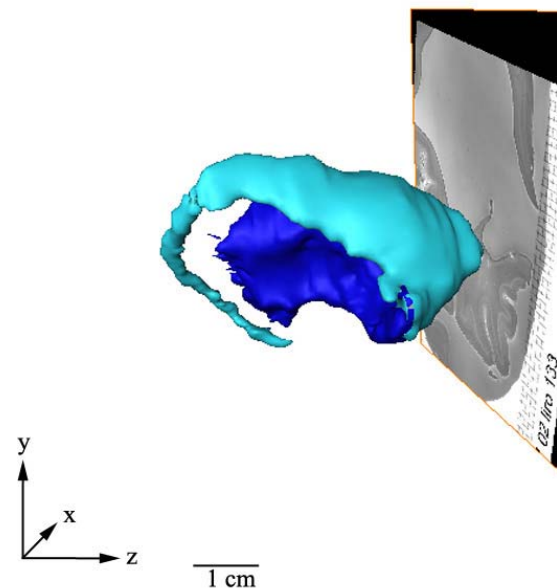


Abb. 19: Striatum M. Little links 26 01 02 Ansicht medial -lateral. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

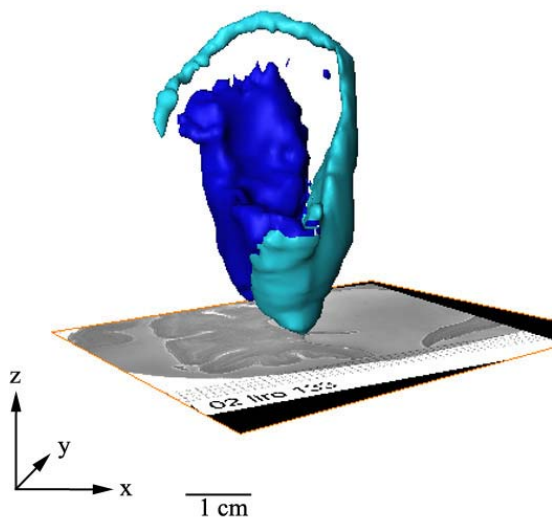


Abb. 20: Striatum M. Little links 26 01 02 Ansicht ventral - dorsal. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

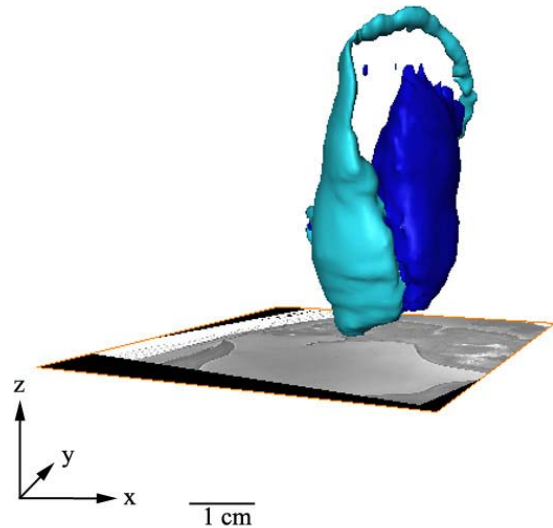


Abb. 21: Striatum M. Little links 26 01 02 Ansicht dorsal - ventral. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

c) Sektionsnummer 26 54 90, weiblich, 85 Jahre: M. Alzheimer linke Hemisphäre

Bei dem untersuchten Fall mit Alzheimerscher Krankheit entspricht die Form des Striatums weitgehend der Form des Kontrollfalles. Auffällig ist wieder der unterbrochene Kaudatusschwanz, der nach dem Umbiegen im Bereich des Unterhorns des Seitenventrikels keine Verbindung zum Putamen aufnimmt (Abb. 22).

Bei genauem Hinschauen erscheinen beide Kerngebiete - Ncl. caudatus mehr als das Putamen – im Vergleich zu den Kontrollfällen abgeflacht. Das Putamen reicht nicht so weit nach rostral und weniger Zellbrücken verbinden in diesen Abschnitten Ncl. caudatus und Putamen (Abb. 21, 22). Ähnlich wie beim M. Little-Fall geht auch bei diesem Fall das Corpus nuclei caudati nur zögerlich unter allmählicher Verjüngung in die schmälere Schwanzregionen über (Abb. 23).

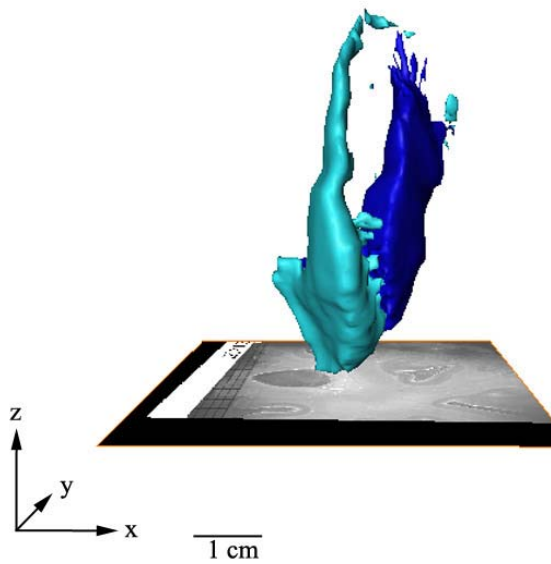


Abb. 21: Striatum M. Alzheimer links 26 54 90
Ansicht dorsal – ventral. Blau = Putamen, türkis =
Ncl. caudatus

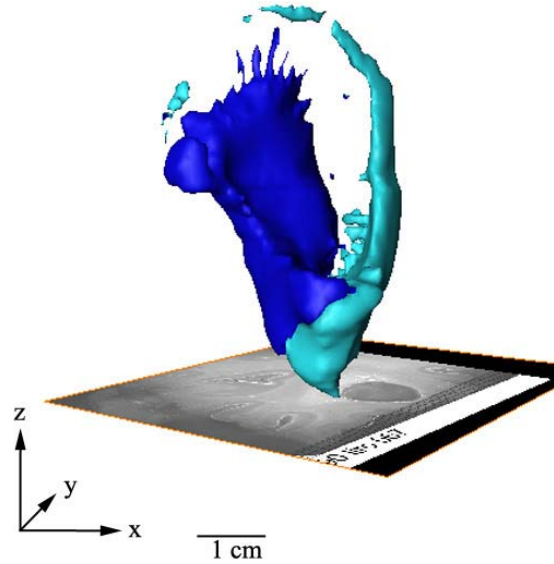


Abb. 22: Striatum M. Alzheimer links 26 54 90
Ansicht ventral - dorsal. Blau = Putamen, türkis =
Ncl. caudatus

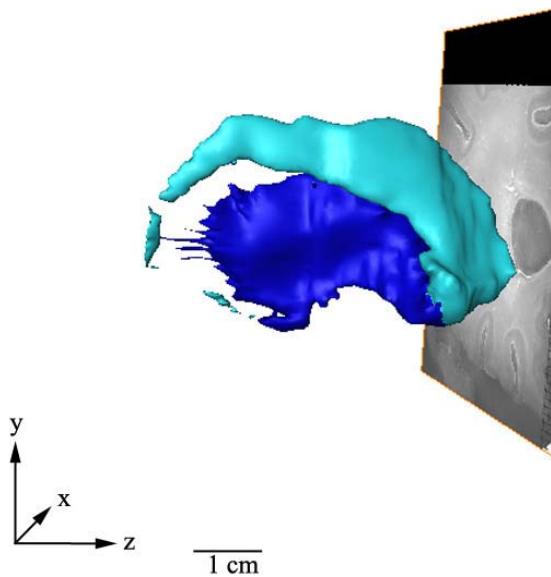


Abb. 23: Striatum M. Alzheimer links 26 54 90
Ansicht medial – lateral. Blau = Putamen, türkis =
Ncl. Caudatus

d) Sektionsnummer 26 47 98, männlich, 49 Jahre: Chorea Huntington

Die ursprüngliche Form des Striatum lässt sich bei diesem untersuchten Fall mit Chorea Huntington nur erahnen. Die kaudalen Anteile des Kaudatuschwanzes sind fast vollständig degeneriert (Abb. 24, 25). Der Kaudatuskopf ist nicht wie gewohnt keulenförmig aufgetrieben, sondern erscheint als eine nach medial eingedellte, tellerförmige Scheibe (Abb. 26).

Beide Putamina schrumpfen auf die Form einer dünnen Schale, die sich um den Globus pallidus legt (Abb. 28, 29). Die Crura anteriora der Capsula interna drängen Putamen und Ncl. caudatus weit auseinander (Abb. 29, 9, 10). Die Zahl der Pontes grisei lenticulostriatiales ist dramatisch reduziert. In Höhe des kaudalen Pols des Putamens verbinden mit schöner Regelmäßigkeit ein oder zwei deutlich ausgebildete Pontes grisei lenticulostriatiales diesen Pol des Putamens mit der Konkavität des Kaudatuschwanzes (vgl. Abb. 7, 8, 11). Ansatzweise sind die kaudalen Zellbrücken auch in diesem Spätstadium einer Chorea Huntington noch erkennbar (Abb. 27, 28).

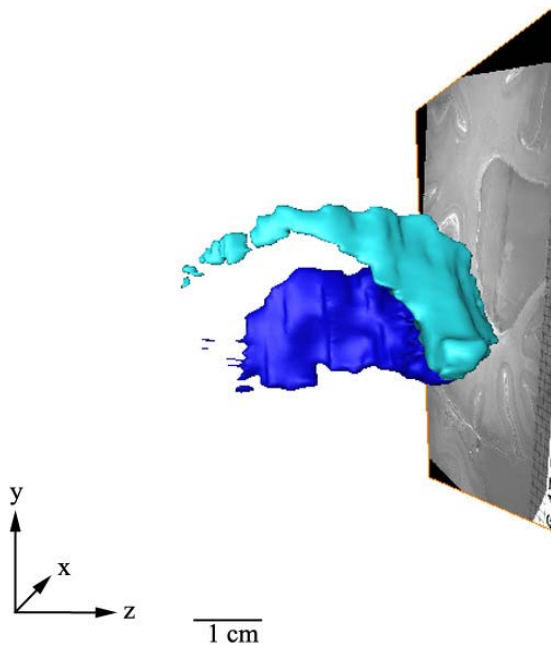


Abb. 24: Striatum Chorea Huntington links 26 47 98 Ansicht medial – lateral. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

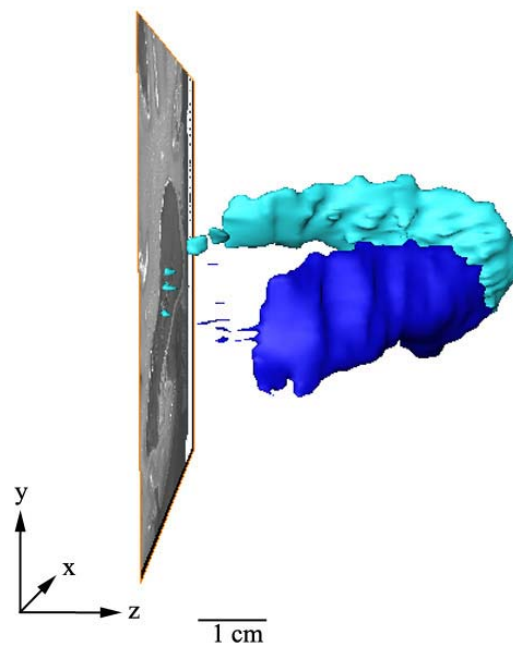


Abb. 25: Striatum Chorea Huntington rechts 26 47 98 Ansicht lateral - medial. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

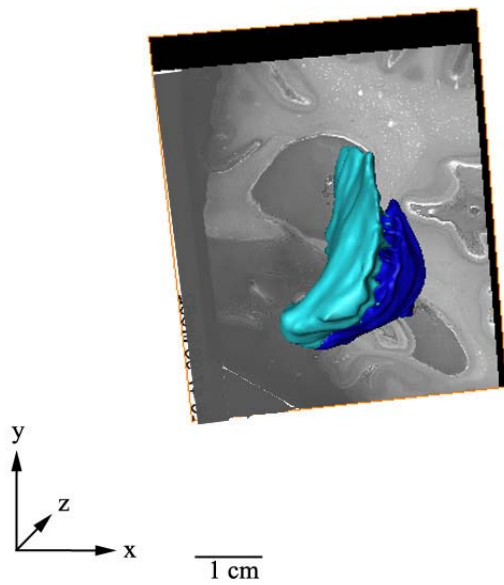


Abb. 26: Striatum Chorea Huntington links 26 47 98 Ansicht rostral - kaudal. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

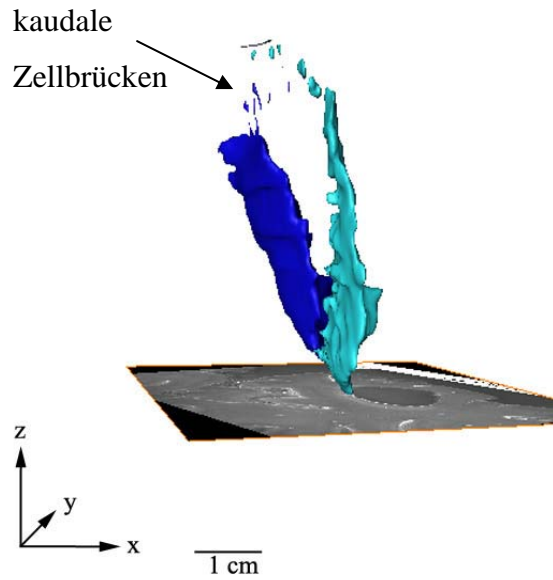


Abb. 27: Striatum Chorea Huntington rechts 26 47 98 Ansicht dorsal - ventral. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

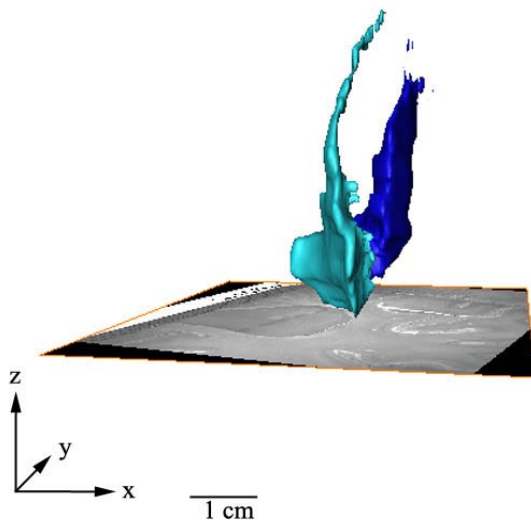


Abb. 28: Striatum Chorea Huntington links 26 47 98 Ansicht dorsal - ventral. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

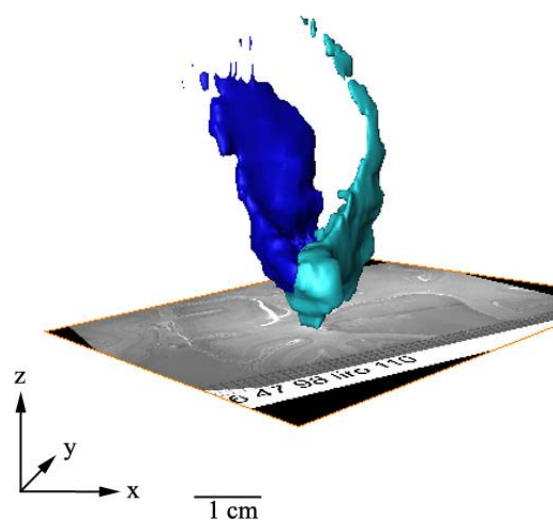


Abb. 29: Striatum Chorea Huntington links 26 47 98 Ansicht ventral - dorsal. Blau = Putamen, türkis = Ncl. caudatus

1.3 Kontrollfälle Thalamus

Sektionsnummer 15 83 97, weiblich, 65 Jahre: Kontrollhemisphäre links

Sektionsnummer 9 1835 99, männlich, 28 Jahre: Kontrollhemisphäre rechts

Der Thalamus zweier gesunder Kontrollgehirne erscheint walzen- oder kartoffelförmig (Abb. 30, 31), am rostralen Ende teilweise stark abgeplattet (Abb. 32). Die Thalamusoberfläche ist nicht gleichförmig glatt, sondern durch die verschiedenen Kerngebiete ausgebuckelt. Das kaudale Ende des Kernkomplexes, Pulvinar thalami biegt in charakteristischer Weise unter Verjüngung nach lateral in Richtung auf das Corpus geniculatum laterale um (Abb. 31). Die medialen Anteile des Kernkomplexes begrenzen den dritten Ventrikel, seine dorsalen Anteile liegen am Boden der Pars centralis des Seitenventrikels.

Die laterale Thalamusansicht wird weitgehend durch die laterale Kerngruppe, bestehend aus Ventraler Gruppe [Ventralis-Anterior-Komplex, Ventralis-Intermedius-Komplex, Ventralis-Posterior-Komplex nach amerikanischer Terminologie (Walker, 1982)] und die Corpora geniculata (mediale und laterale) bestimmt. Die Corpora geniculata – zusammengefasst unter dem Begriff Metathalamus - werden größtenteils von seitlich gesehen vom Ventralis-Posterior-Komplex bedeckt. Die Medialfläche des Corpus geniculatum mediale bleibt immer in mehr oder minder enger Verbindung zum Ventralis-Posterior-Komplex (Abb. 31). Das Corpus geniculatum laterale erinnert in seiner äußeren Form an einen dreispitzigen Hut (Abb. 33). Die laterale Krempe buckelt die obere Wand des Unterhorns des Seitenventrikels in Richtung auf die Fimbria fornix vor, die mediale Krempe zeigt auf das Corpus geniculatum mediale und ist von diesem durch markhaltige Fasern getrennt. Die hintere Krempe nähert sich dem Pulvinar ohne es direkt zu berühren. Weiter lateral trennt die Lamina medullaris externa den Ncl. reticularis thalami, der bei dieser Rekonstruktion nicht berücksichtigt wurde und auf den im Verlauf nicht näher eingegangen werden soll, vom Thalamushauptmassiv ab.

Territorium anterius und Territorium mediale nach Hassler (1982) werfen die vorderen Abschnitte des Thalamus in Form des Tuberculum anterius auf bzw. wölben sich in den III. Ventrikel vor (Abb. 30).

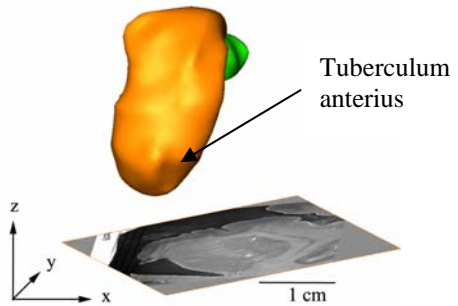


Abb. 30: Thalamus Kontrollhemisphäre links 15 83 97 Ansicht dorsal – ventral

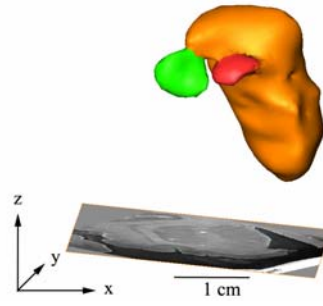


Abb. 31: Thalamus Kontrollhemisphäre links 15 83 97 Ansicht ventral - dorsal

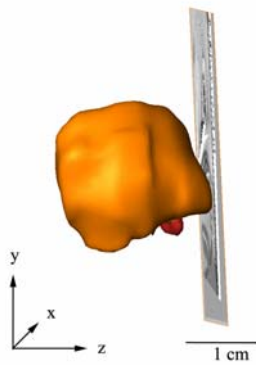


Abb. 32: Thalamus Kontrollhemisphäre rechts 9 1835 99 Ansicht medial - lateral

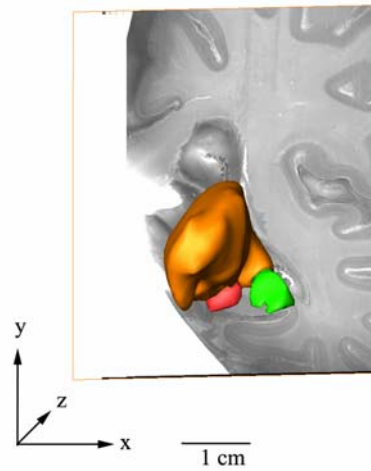


Abb. 33: Thalamus Kontrollhemisphäre links 15 83 97 Ansicht rostral - kaudal

1.4 Pathologisch veränderte Thalami

Die Gestalt des Thalamus ist nicht gleichförmig, sondern variiert auch bei gesunden Individuen teilweise erheblich von Fall zu Fall. Da wir in dieser Arbeit die dreidimensionale Struktur von Thalamus und Striatum allerdings nur für ausgewählte Einzelfälle wiedergeben, sollen die nachfolgenden Abbildungen vom Thalamus pathologisch veränderter Gehirne nur die auffälligsten Unterschiede zu den Kontrollfällen darstellen.

Beim Alzheimer-Fall gleicht die Gestalt des Thalamus im Großen und Ganzen derjenigen, wie wir sie bei den Kontrollfällen beobachtet haben. Auffällig in der Ansicht von ventral ist eine nach vorn zu flache und breite, sich nach kaudal verschmälernde und vertiefende Furche (Abb. 34, 35). Diese lässt den rostralen Pol des Thalamus weniger gedrungen und kompakt erscheinen, sondern verschmälert und zugespitzt.

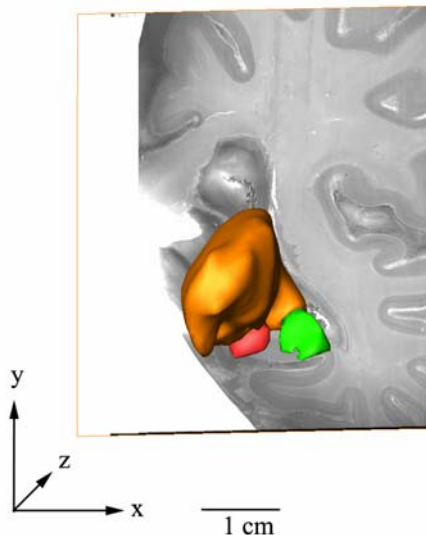


Abb. 34: Thalamus M. Alzheimer links 26 54 90
Ansicht rostral - kaudal

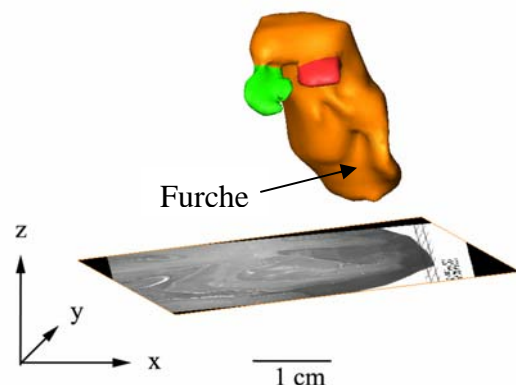


Abb. 35: Thalamus M. Alzheimer links 26 54 90
Ansicht ventral - dorsal

Bei der megalenzephalen Hemisphäre fällt auf, dass der Kernkomplex in medio-lateraler Ausdehnung verschmälert ist und der Thalamus im Vergleich zu den Kontrollfällen eher als eine dicke nach medial gebogene Scheibe imponiert (Abb. 36, 30, 33). Die Kerngebiete des Territorium anterius scheinen nach ventral verlagert und in Form und Größe deutlich verringert (Abb. 36, 37).

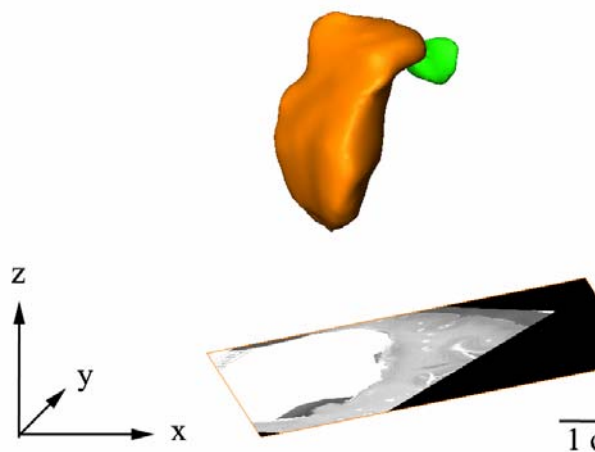


Abb. 36: Thalamus Megalenzephalie links 7 115 98
Ansicht dorsal – ventral

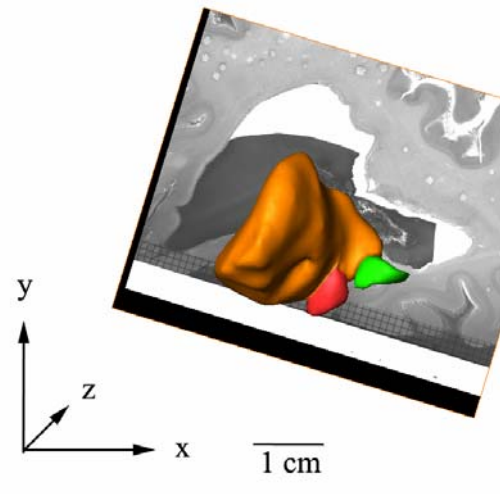


Abb. 37: Thalamus Megalenzephalie links 7 115 98
Ansicht rostral - kaudal

Bei allen anderen Fällen waren kaum Unterschiede zu den Kontrollfällen erkennbar. Der Thalamus war auch bei den neurodegenerativen Erkrankungen wie Chorea Huntington in seiner äußeren Form gut erhalten.

2. Quantitative Befunde

2.1. Methodenvergleich Amira – Punktzählverfahren und tabellarische Zusammenstellung der quantitativen Befunde

Neben der Möglichkeit, umfahrene Strukturen räumlich zu rekonstruieren, berechnet Amira auch das Volumen der umfahrenen Kerngebiete. Mit dem Punktzählverfahren steht eine alternative Methode zur Kontrolle der von Amira berechneten Werte zur Verfügung.

Grundsätzlich scheint Amira aus den manuell segmentierten (mit einem Cursor umfahrenen) Umrissen der Serienschnitte ein kleineres Volumen zu errechnen als dieses mit dem Punktzählverfahren an denselben Kerngruppen geschätzt wird. Bei Betrachtung aller Ergebnisse bewegen sich die Differenzen zwischen Schätzung und Computergestützter Berechnung zwischen 1,4 und 6,65 (Tabelle 2, 3).

Für die weitere Betrachtung der quantitativen Befunde haben wir die mit dem Punktzählverfahren ermittelten Werte herangezogen. Wir gehen davon aus, dass diese Werte durch die Art der Zählmethode näher an der Wirklichkeit liegen als die mit Amira errechneten.

Wirft man nun einen Blick auf die Volumina der Corpora striata, lässt sich feststellen, dass die Spannweite aller Werte von 6314,9 mm³ bis 1523,8 mm³ reicht. Dabei nimmt der Megalenzephalie-Fall den größten und der Chorea-Huntington-Fall den kleinsten Wert ein. Auffallend ist unter anderem der Nervenzellverlust beim M. Little-Fall im Vergleich zu den Kontrollfällen (rund 37 Millionen Nervenzellen beim M. Little gegenüber 63 bzw. 67 Millionen Nervenzellen bei den Kontrollfällen, Tab. 2).

Die Volumina der untersuchten Thalami schwanken zwischen 4007,5 mm³ (Megalenzephalie) und 2031,5 mm³ (M. Little, Tab. 3). Die Volumenreduktion des Thalamus beim M. Little ist verbunden mit einem Zellverlust auf etwa 6 Millionen Nervenzellen. Dies sind deutlich weniger als die rund 9 Millionen Nervenzellen beim

Chorea-Huntington-Fall und sehr viel weniger als bei den Kontrollen (rund 15 bis 18 Millionen Neuronen).

Am auffälligsten bei den Untersuchungen des Thalamus war, dass auch bei schweren neurodegenerativen Erkrankungen wie Chorea Huntington und M. Alzheimer nicht nur die äußere Form, sondern auch das Volumen weitgehend konstant zu den Kontrollfällen war. Anders verhält es sich mit der Nervenzellzahl. Diese ist beim Chorea-Huntington-Fall mit etwa 9 Millionen Nervenzellen geringer als beim M. Alzheimer-Fall mit rund 11 Millionen Neuronen (Tab. 3).

Sektionsnummer	Striatum			
	Volumen Amira (A) [mm ³]	Volumen Punktzählverfahren (Pt) [mm ³]	Diskrepanz (A) / (Pt) [%]	Anzahl der Nucleoli
9 18 35 99 Kontroll- hemisphäre rechts	5.353,5	5.631,3	4,93	67.874.816
15 83 97 Kontroll- hemisphäre links	4.097,7	4.389,5	6,65	63.521.906
7 115 98 Megalenzephalie Hemisphäre links	6.035,3	6.314,9	4,43	71.345.429
26 01 02 M. Little Hemisphäre links	4.786,8	4.942,1	3,14	37.048.981
26 54 90 M. Alzheimer Hemisphäre links	4.204,4	4.390,8	4,25	51.964.587
26 47 98 Chorea Huntington Hemisphäre links	1.565,6	1.523,8	2,74	6.892.902
26 47 98 Chorea Huntington Hemisphäre rechts	1.727,8	1.703,6	1,42	8.121.799

Tab. 2

Sektionsnummer	Thalamus			
	Volumen Amira (A) [mm ³]	Volumen Punktzählverfahren (Pt) [mm ³]	Diskrepanz (A) / (Pt) [%]	Anzahl der Nucleoli
9 18 35 99 Kontroll- hemisphäre rechts	3.478,6	3.538,3	1,69	17.766.059
15 83 97 Kontroll- hemisphäre links	2.547,7	2.694,0	5,43	14.896.577
7 115 98 Megalenzephalie Hemisphäre links	3.818,1	4.007,5	4,73	14.143.781
26 01 02 M. Little Hemisphäre links	1.950,1	2.031,5	4,01	6.253.714
26 54 90 M. Alzheimer Hemisphäre links	2.842,4	2.882,9	1,4	11.236.530
26 47 98 Chorea Huntington Hemisphäre links	2.643,2	2.567,0	2,97	9.486.643
26 47 98 Chorea Huntington Hemisphäre rechts	2.485,2	2.578,8	3,63	8.843.143

Tab. 3

D. Diskussion

1. Probleme der Methodik

Entsprechend der Ausführungen in Teil B dieser Arbeit, wirft die von uns gewählte Methode der dreidimensionalen Rekonstruktion anhand histologischer Serienschnitte an einigen Stellen Probleme auf. Dabei spielt vor allem die Arbeitsweise von Amira eine große Rolle.

1.1 Anordnen der Serienschnitte in Amira mit dem Modul „Align-slice“

Da alle Serienschnitte einzeln fotografiert wurden, war es nicht möglich, diese stets exakt in derselben räumlichen Stellung aufzunehmen. Deshalb mussten die einzeln eingescannten bzw. aufgenommenen Schnitte in Amira mit dem Modul „Align-slice“ in der dritten Raumachse so genau wie möglich für die anschließende dreidimensionale Rekonstruktion übereinander gelegt und angepasst werden. (vergleiche Material und Methode 2.2.2)

Dabei traten im Wesentlichen folgende Probleme auf:

- Für das möglichst genaue Übereinanderlegen der Serienschnitte ist ein eindeutiger Bezugspunkt unerlässlich, der sich von Schnitt zu Schnitt verfolgen lässt. Als ein Solcher bieten sich die Sulci und Gyri der Hemisphärenoberfläche an. Da aus Gründen der Datenverarbeitung allerdings nicht die kompletten Schnitte eingescannt wurden, sondern nur die für die Rekonstruktion entscheidenden Anteile (siehe Material und Methode 2.1), waren auf diesen nicht immer die Hirnrinde mit abgebildet und andere eindeutige Orientierungspunkte nur schwer oder gar nicht auszumachen. In solchen Fällen haben wir versucht, den räumlichen Verlauf der relevanten Strukturen anhand der Serienschnitte nachzuvollziehen und die jeweiligen Kerngebiete von Schnitt

zu Schnitt nach subjektivem Empfinden anzuordnen bis wieder ein Teil der Hirnrinde mit abgebildet war.

- Ein weiteres Problem stellten die durch das Schneiden und Färben entstandenen Verformungen einzelner Schnitte dar. Vor der Bearbeitung mit Amira gingen wir davon aus, dass sich die aufgetretenen Verformungen nicht wesentlich auswirken würden, zumal wir das Di- und Telenzephalon mit seinen subkortikalen Kerngebieten als relativ formstabil ansahen. Wir mussten allerdings feststellen, dass selbst in dem kleinen eingescannten Ausschnitt teilweise so extreme Verformungen vorhanden waren, dass wir gezwungen waren, diese per Hand und nach eigenem Befinden auszubessern.

Aus diesen Gründen ist dieser Arbeitsschritt sehr von der subjektiven Betrachtung des jeweiligen Untersuchers abhängig und stellt damit auch gleichzeitig eine der größten Fehlerquellen für die Ergebnisse der Rekonstruktion dar. Unter diesem Gesichtspunkt müssen Auffälligkeiten an den generierten Modellen bei der späteren Interpretation stets kritisch hinterfragt werden.

Die exakte „Alinierung“ stellte auch für andere Untersucher bei der Generierung dreidimensionaler Rekonstruktionen von subkortikalen Kerngebieten ein großes Problem dar. Diese versuchten mit Hilfe von MRT-Aufnahmen desselben Gehirns einen realen Bezugspunkt zu schaffen, mit dem die Serienschritte exakt angeordnet werden sollten (Chakravarty et al., 2006; Yelnik et al., 2007). Beim Vergleich mit unseren Ergebnissen stellt diese Methode allerdings keinen entscheidenden Vorteil dar, so dass die Kombination von histologischen Serienschritten mit MRT-Aufnahmen noch nicht die Lösung sein kann.

1.2 Minimierung von Rohdaten und Glättung der dreidimensionalen Rekonstruktionen

Bei der Erstellung dreidimensionaler Modelle von Thalamus und Striatum wird vom Computer eine enorme Menge an Daten verarbeitet, zu deren Bearbeitung und Darstellung der Datensatz an zwei Stellen der Generierung verkleinert wird:

- Minimierung der eingescannten Rohdaten mit dem Photoshop,
- Reduktion des Datensatzes der dreidimensionalen Rekonstruktionen mit Amira.

Da bei jeder Form der Minimierung von Datensätzen durch Interpolation auch Daten verloren gehen, muss dabei berücksichtigt werden, dass ein solcher Arbeitsschritt das Ergebnis verfälschen kann.

Um zu überprüfen, ob unsere Bearbeitung der eingescannten Schnitte mit dem Photoshop die dreidimensionale Rekonstruktion zu stark verändert hat, haben wir zusätzlich einen Datensatz einer Kontrollhemisphäre unverändert rekonstruiert. Dieses Modell wurde in dieser Arbeit nicht vorgestellt. Die beiden dreidimensionalen Modelle derselben Hemisphäre unterschieden sich nur unwesentlich, so dass wir davon ausgehen, dass die Aufbereitung der Rohdaten mit dem Photoshop das Ergebnis nur geringfügig beeinflusst.

Die Reduktion des Datensatzes der endgültigen Rekonstruktion mit Amira ist wohl die eigentliche Fehlerquelle, denn diese Veränderungen sind an den Modellen bereits augenscheinlich zu erkennen. Da das Ziel dieser Arbeit allerdings eine möglichst wirklichkeitsnahe dreidimensionale Darstellung der menschlichen Basalganglien verfolgt, können die ursprünglich generierten Modelle mit ihren Stufen und Kanten nicht das endgültige Ergebnis sein. Deshalb haben wir uns durch Austesten verschiedener Werte für das Minimieren der Datensätze und Vergleichen der jeweiligen Modelle auf einen Wert geeinigt, der auf Kosten des Datenverlustes ein für das Auge gefälliges und realitätsnahes Modell der Basalganglien erzeugt.

2. Gegenüberstellung konventioneller Abbildungen von Thalamus und Striatum mit den dreidimensionalen Rekonstruktionen von Amira

Bereits bei kurzem Überblicken der Ergebnisse wird schnell der Unterschied zwischen unseren Rekonstruktionen und herkömmlichen Darstellungen deutlich. In solchen Abbildungen wird der Thalamus häufig nur als eiförmige Gestalt mit mehr oder weniger glatter Oberfläche dargestellt und das Putamen als ein ovales bzw. ellipsoides Gebilde, an das sich sichelförmig der Ncl. caudatus mit seinem Schwanz anschließt. Beide, Putamen und Ncl. Caudatus, sind durch regelmäßig wiederkehrende Zellbrücken wie Sprossen einer Leiter miteinander verbunden (Nieuwenhuys et al., 1988; Benninghoff, Band 2, 1994). Diese Abbildungen erinnern eher an regelmäßige technische Gebilde als an die biologischen Strukturen des menschlichen Gehirns.

Nach umfangreichem Quellenstudium der aktuellen Lehrbücher und Atlanten kann man sich nur schwer des Eindrucks erwehren, dass alle diesbezüglichen Abbildungen eher das idealisierte Modell eines mehr oder minder häufig kopierten oder gedachten Normalzustandes vor Augen führen sollen. Lediglich in einer weit zurückliegenden Untersuchung hat Heinrich Obersteiner im Jahr 1888 an gefrorenen und anschließend aufgetauten Hemisphären in einer mühsamen Fasertechnik mit Skalpell und Pinzette die äußere Gestalt von Thalamus und Striatum herausmodelliert. Seine Beschreibungen sind mit unseren Rekonstruktionen vergleichbar. Da unsere Computer gestützten 3D-Rekonstruktionen direkt auf histologischen Serienschnitten basieren, können wir davon ausgehen, dass diese die Realität besser abbilden als die von einem wissenschaftlichen Zeichner in Lehrbüchern und Atlanten angefertigten Abbildungen und Ansichten.

In unseren Rekonstruktionen lassen sich die in Atlanten und Lehrbüchern abgebildeten Formen zwar wiedererkennen, aber die Oberflächen von Thalamus und Striatum sind bei weitem nicht so ebenmäßig. Beim Vergleich beider Darstellungen war auffällig, dass die Pontes grisei lenticulostriatales eben nicht in gleichen Abständen und gleicher Stärke Putamen und Ncl. caudatus miteinander verbinden, sondern von Fall zu Fall sowohl in ihrer Zahl als auch in ihrer Form variieren. Nur in den weiter kaudalen Anteilen des Striatum ließ sich mit konstanter Regelmäßigkeit eine immer wiederkehrende Zellbrücke finden (Abb. 7, 8, 11). Diese ist selbst im Spätstadium des

Chorea-Huntington-Falles noch erkennbar, während die übrigen Teile von Ncl. caudatus und Putamen schwerst atrophisch sind (Abb. 27). Bei diesem Fall konnten wir bereits beim Schneiden und Färben eine deutliche Atrophie des Striatum erkennen. Je nach Stadium der Chorea-Huntington-Erkrankung erscheint das Striatum bereits makroskopisch in unterschiedlichem Ausmaß atrophiert. Vonsattel et al. (1985, 1998) unterscheiden dabei fünf Stadien, von Stadium 0 mit 30 – 40% Neuronenverlust ohne Gliose bis Stadium 4 mit über 90% Neuronenverlust und schwerer astrozytärer Gliose. Je nach Stadium beschreiben sie dabei auch Formveränderungen des Ncl. caudatus, der als erstes von der Erkrankung betroffen ist. In den ersten beiden Stadien erscheint dieser in seiner äußeren Form noch unverändert zu Kontrollfällen. Ab Stadium 2 ist bereits makroskopisch eine Atrophie im Bereich des Kaudatuskopfes zu erkennen, während dieser seine gewohnte konvexe Form beibehält. Im weiteren Verlauf atrophiert der Kaudatuskopf weiter und wird bereits deutlich flacher. Auch das Putamen erscheint nun atrophiert. Im Endstadium 4 findet sich das Striatum noch weiter atrophiert, so dass der Kaudatuskopf jetzt sehr flach erscheint und eine konkave Form einnimmt. Diese makroskopischen Veränderungen entstehen durch den fortschreitenden Neuronenverlust, der typischerweise im Striatum beginnt und sich sekundär auf die weiterverschalteten Gebiete auswirkt (Mitchell, 1872; De la Monte et al., 1988; Heinsen et al., 1994).

Auffällig war weiterhin, dass der Kaudatusschwanz nicht immer durchgängig bis zum Putamen angelegt ist, wie dies in den konventionellen Abbildungen dargestellt wird. So fanden wir bei den Kontrollfällen einmal den Kaudatusschwanz durchgängig und mit Kontakt zum Putamen und einmal unterbrochen und nach dem Umbiegen nach oben ohne Kontaktaufnahme zum Putamen (Abb. 11, 12). Vonsattel und DeFiglia (1998) machten in ihren Untersuchungen vergleichbare Beobachtungen. Sie beschreiben den Kaudatusschwanz in Normalfällen als eine homogene Struktur, die meistens durchgängig angelegt ist. Daneben finden auch sie bei einigen anderen, ebenfalls nicht pathologisch veränderten Fällen den Kaudatusschwanz segmentiert angelegt.

Die größten Veränderungen im Bereich des Kaudatuschwanzes zeigten sich in unseren Rekonstruktionen beim Chorea-Huntington-Fall. Hier erscheint dieser in seinen kaudalen Anteilen fast vollständig degeneriert. Auch auf diese Veränderungen gehen

Vonsattel und DeFiglia (1998) in ihren Untersuchungen näher ein. Sie beschreiben den Kaudatusschwanz als eine der Regionen des Striatum, die bei dieser Erkrankung frühzeitig von der einsetzenden Degeneration befallen sind. Während in den ersten Stadien der Chorea Huntington andere Teile des Striatum wie der Kaudatuskopf oder das Putamen noch weitgehend unverändert erscheinen, sind im Bereich des Kaudatuschwanzes bereits deutliche Zeichen der Atrophie zu erkennen. Je weiter die Erkrankung fortschreitet, desto mehr Anteile des Kaudatuschwanzes gehen zu Grunde, bis dieser schließlich nur noch bruchstückhaft oder gar nicht mehr zu erkennen ist. Vergleichbare Ergebnisse fanden Gómez-Tortosa et al. (2001) in ihren Untersuchungen.

Auch im Bereich der Thalamusoberfläche fanden wir einige Auffälligkeiten. Diese dehnt sich nicht gleichförmig aus, sondern buckelt sich an vielen Stellen vor (Abb. 30 - 33). Diese Ausbuckelungen entstehen durch die Anordnung der verschiedenen Kerngruppen des Thalamus. Bei unseren Rekonstruktionen ließen sich einige konstant wiederkehrende Vorwölbungen finden.

Im kaudalen Anteil des Thalamus bestimmt das Pulvinar die äußere Form. Diese bleibt in den untersuchten Fällen weitgehend konstant und selbst in den pathologisch veränderten Fällen biegt es stets in Richtung auf das Corpus geniculatum laterale um (Abb. 31, 35, 36).

In den rostralen Abschnitten fällt bei beiden Kontrollfällen eine Vorbuckelung in Form des Tuberculum anterius auf, die durch das Territorium anterius und mediale aufgeworfen wird (Abb. 30), (Hassler, 1982; Walker, 1982; Braak und Braak, 1993 a; Braak und Braak, 1993 c). Diese Vorwölbung lässt sich bei allen bearbeiteten Fällen außer beim Megalenzephalie-Fall finden. Hier erscheint dieser Thalamusanteil abgeflacht (Abb. 36). Die Megalenzephalie wird als eine abnorme Größenzunahme des Gehirns definiert, die mehr als 2,5 Standardabweichungen über dem mittleren Gehirngewicht für das jeweilige Alter und Geschlecht liegt (Rutsaert et al., 1977; Fensom et al., 1979; Antonarakis et al., 1984). Weiterhin wird die Megalenzephalie nach verschiedenen Aspekten klassifiziert. Dekaban und Sakuragawa (1977) unterscheiden

drei Hauptkategorien (primäre und sekundäre Megalenzephalie und Hemimegalenzephalie) und mehrere Unterkategorien. Dabei werden auch Veränderungen in der Zytoarchitektur beschrieben, allerdings konnten wir in den Abhandlungen keinen Hinweis dafür finden, dass die Erkrankung ursächlich für die beschriebene Verlagerung des Tuberculum anterius ist. Da bei dem von uns bearbeiteten Megalenzephalie-Fall nebenbefundlich ein Hydrozephalus internus vorlag, gehen wir davon aus, dass der massiv erweiterte Ventrikel durch Druck den Thalamus entsprechend verformt und abgeplattet hat.

Die ventrale Oberfläche des Thalamus erscheint in den meisten Fällen eher glatt ohne wesentliche Vorwölbungen. Nur beim M. Alzheimer-Fall kerbt eine Furche die ventrale Fläche tief ein. Da wir uns diese Furche durch äußere Faktoren wie größere Gefäße oder Faserbahnen nicht erklären konnten, haben wir die zytoarchitektonischen Grenzen der anliegenden Kerngebiete in den mit Galloxyanin gefärbten Serienschnitten verfolgt. Dabei entdeckten wir, dass die ventrale Kerngruppe in unmittelbarer Nachbarschaft zur medialen Kerngruppe weit weniger nach ventral reicht als die angrenzende mediale Gruppe. So entsteht in der dreidimensionalen Rekonstruktion der Eindruck einer Furche. Braak et al. (1991, 1993 b, 1996) beschreiben in verschiedenen Untersuchungen an Alzheimer-Gehirnen, dass der Thalamus bei dieser Erkrankung je nach Stadium zunächst im Bereich der medialen Kerngruppe und später in den rostralen Anteilen betroffen ist. Hier kommt es zur typischen Ablagerung von pathologisch veränderten Eiweißen in Form von extrazellulärem Amyloid und intraneuronalen Alzheimerschen Fibrillen und Neuropilfäden (Thomas und Jones, 1967; Liebermann, 1968; Braak und Braak, 1991; Tanaka et al., 1992). Dabei finden sich diese Veränderungen typischerweise vorwiegend in der ventralen und anterodorsalen Kerngruppe (Braak und Braak, 1991; Braak und Braak, 1993 a; Braak und Braak, 1993 b; Braak et al., 1996; Cummings, 1986). Inwieweit sich dies auf die äußere Form des Thalamus auswirkt, wird nicht erläutert. Da sich die von uns beschriebene Furche in diesem Bereich befindet, gehen wir davon aus, dass dies eine Folge der Alzheimerschen Erkrankung ist. Inwieweit dies für diese Erkrankung regelhaft ist, muss an ausführlicheren Studien weiter geklärt werden.

Insgesamt erscheint der Thalamus aber auch beim M. Alzheimer-Fall in der von den Kontrollfällen gewohnten Form. Erst bei genauerer Betrachtung fallen die beschriebenen Unterschiede auf.

3. Verwendung der Rekonstruktionen als 3D-Atlas

Mit Hilfe der modernen Bildgebung wie der Computertomographie (CT) oder der Magnetresonanztomographie (MRT) können am lebenden Menschen Schnittbilder des Gehirns erstellt werden. Mit speziellen Programmen lassen sich aus dem so gewonnenen Datensatz ähnlich wie bei unserer Methode dreidimensionale Modelle von verschiedenen Hirnbereichen erstellen. Für größere Hirnanteile liefert dieses Verfahren realistische Bilder, aber bei den sehr viel kleineren Hirnstrukturen wie dem Striatum und Thalamus reicht das Auflösungsvermögen der heutigen Geräte für eine detaillierte Analyse noch nicht aus. Und so ähneln Thalamus und Striatum immer noch den üblichen Abbildungen in Atlanten und Lehrbüchern (Niemann et al., 2000; Douaud et al., 2006; Koo et al., 2006; Chakravarty et al., 2006; Yelnik et al., 2007). Für noch kleinere Kerngebiete wie zum Beispiel die Gebiete des Ncl.-basalis-Komplexes ist das Auflösungsvermögen der Kernspintomographie sogar so ungenügend, dass diese Strukturen im Gegensatz zu unserer Methode teilweise gar nicht mehr differenziert werden können (Teipel et al., 2005, Heinsen et al., 2006).

Die von uns generierten Modelle enthalten eine Vielzahl von Informationen und Verwendungsmöglichkeiten, die wir nur ansatzweise in den abgebildeten Darstellungen zeigen konnten (vgl. Ergebnisteil). Mit dem Computer und einem geeigneten Programm lassen sich die Modelle zum Beispiel in alle Richtungen des Raumes bewegen, einzelne Schnitte ein- und ausblenden oder verschiedene Hirnstrukturen in einem Modell verbinden, um nur einen Teil der Möglichkeiten zu nennen.

Die Idee, das menschliche Gehirn oder einzelne Hirnstrukturen dreidimensional darzustellen und Modelle zu generieren, die mit dem Computer betrachtet werden können, ist nicht neu. Es gibt einige 3D-Atlanten, wie beispielsweise von Hirsch und

Kramer (1999), in dem solche Modelle entweder mit 3D-Brille oder mit dem Computer studiert werden können. Allerdings sind diese Modelle vor allem im Bereich kleiner Hirnstrukturen wie Thalamus und Striatum nicht realitätsnah, sondern zeigen diese in der oben beschriebenen vereinfachten Form.

Mit unserer Methode ist es uns gelungen beides miteinander zu verbinden: eine realitätsnahe Abbildung von Thalamus und Striatum und die dreidimensionale Betrachtung dieser Modelle mit Hilfe des Computers. Zwar haben wir in dieser Arbeit nur ausgewählte Einzelfälle besprochen, aber bereits anhand dieser Fälle können wir sagen, dass mit solchen Modellen die Möglichkeit besteht einen 3D-Atlas des menschlichen Gehirns zu erstellen, der auch kleine Hirnanteile wirklichkeitsgetreu darstellt. Durch die Grundlage histologischer Serienschnitte ist der Bezug zur Realität stets gegeben und vor allem kleine Hirnstrukturen, die sich mit anderen bildgebenden Verfahren noch unzureichend auflösen lassen, können realitätsnah abgebildet werden.

4. Stereologische Auffälligkeiten

Ausgehend von Teil B (Material und Methode) wurde bei der Generierung unserer Modelle nicht nur die äußere Begrenzung der jeweiligen Kerngebiete festgelegt, sondern auch die Anzahl der Nervenzellen von Thalamus und Striatum geschätzt. Dabei ergaben sich ebenfalls einige Auffälligkeiten, von denen im Folgenden nur die auffälligsten behandelt werden sollen.

4.1 Chorea Huntington

Im Vergleich zu den Kontrollfällen fanden wir die größten Nervenzellverluste beim Chorea-Huntington-Fall. Hier enthielt das Striatum 88 - 89% und der Thalamus 36 - 50% weniger Neurone. Vergleichbare Beobachtungen machten Bruyn et al. (1979) und Hein-sen et al. (1994, 1996) in ihren Untersuchungen.

Bei Chorea Huntington handelt es sich um eine neurodegenerative Erkrankung. Man unterscheidet die seltenere sporadische von der häufigeren hereditären Form, welche durch einen autosomal-dominant vererbten Gendefekt auf Chromosom 4 verursacht ist. Dieser führt zu einer vermehrten Wiederholung der Trinukleotid-Sequenz CAG und einem codierten Protein, das Polyglutaminsequenzen in seiner Struktur aufweist. Dieses Protein wird Huntingtin genannt, aber eine einfache molekulargenetische Erklärung für systemische Nervenzellausfälle in der Hirnrinde und im Bereich des Nucleus caudatus, Putamen und Globus pallidus ist derzeit nicht möglich (Albin et al., 1992; Gusella et al., 1993; Hedreen et al., 1995; Quinn und Schrag, 1998; Sano et al., 1999; Gómez-Tortosa et al., 2001; Bossy-Wetzel et al., 2004). Charakteristisch für die Erkrankung ist die systemische Atrophie des Striatum. Diese beginnt typischerweise im Kaudatusschwanz und erreicht erst in den späteren Stadien den Kaudatuskopf. Insgesamt nimmt die Degeneration im Striatum von rostral nach kaudal und von ventral nach dorsal zu (Vonsattel und DiFiglia, 1998).

Im Rahmen dieser Atrophie kommt es zu einem dramatischen Verlust von Nervenzellen im Bereich des Striatum (Bruyn et al., 1979; Graveland et al., 1985; Cummings, 1986; Heinsen et al., 1994). In erster Linie sind dabei die Neurone betroffen, die mit nachgeschalteten Hirnbereichen verbunden sind, wie die mittelgroßen GABAergen Nervenzellen (Graveland et al., 1985; Hedreen et al., 1995; Li, 1999; Hickey und Chesselet, 2003). Daneben bleiben einige Neurone von dieser Degeneration verschont, wozu die cholinergen Neurone und die Neurone zählen, in denen sich Somatostatin, Neuropeptid Y und NADPH-Diaphorase nachweisen lassen (Mitchell et al., 1999; Glass et al., 2000). Insgesamt war in unserem Fall die linke Seite von der Atrophie stärker betroffen als die rechte. Vergleichbare Ergebnisse fanden Dunlap (1927) und Rosas et al. (2001).

Der Thalamus ist bei Chorea Huntington nicht direkt betroffen, dennoch kommt es auch in diesem Kerngebiet zu dramatischen Nervenzellverlusten. Dies scheint in erster Linie daran zu liegen, dass dieses Kerngebiet bei der Informationsübertragung innerhalb der motorischen Bahn dem Striatum nachgeschaltet ist (Penney und Young, 1983; Smith und Bolam, 1990; Alheid et al., 1990; DeLong, 1990; Braak und Braak, 1993 b; Hallet,

1993; Wichmann und DeLong, 1996; Vonsattel und DiFiglia, 1998; Mitchell et al., 1999; Brooks, 2000; Crossman, 2000; Parent et al., 2000). Denn eine mangelnde Nervenzellstimulation ausgelöst durch den Verlust vorausgeschalteter Striatumzellen führt unter anderem zu einem Untergang von nachgeschalteten Thalamusneuronen (Folstein, 1991).

4.2 Alzheimersche Krankheit

Weitere Auffälligkeiten fanden wir bei dem von uns bearbeiteten M. Little- und M. Alzheimer-Fall. Auch hier ist es zu einem erheblichen Verlust von Nervenzellen gekommen.

Die Alzheimersche Krankheit zählt wie Chorea Huntington zu den neurodegenerativen Erkrankungen. Entscheidend für die Diagnose ist das Vorhandensein von neurofibrillären Bündeln, neuritischen und Amyloidplaques und anderen neurodegenerativen Ablagerungen, die normalerweise nicht im Gehirn vorkommen. Diese sind intra- und extrazellulär zu finden und sind das Ergebnis von fehlerhaftem und dadurch verklumptem Tau-Protein (German et al., 1987; Delacourte, 1990; Braak und Braak, 1991; Braak und Braak, 1993 a; Braak und Braak, 1993 b; Braak et al., 1996; Braak et al., 1997).

Für gewöhnlich finden sich die ersten pathologischen Veränderungen in der Hirnrinde. Von dort breiten sich die Ablagerungen weiter aus und befallen im Endstadium auch die subkortikalen Kerngebiete. Mit dem Fortschreiten der Erkrankung lassen sich mit Hilfe histopathologischer Untersuchungen sechs Stadien unterscheiden: transentorhinale Stadien I und II, limbische Stadien III und IV, neokortikale Stadien V und VI (German et al., 1987; Braak et al., 1996; Braak et al., 1997).

Im Rahmen dieser Ablagerungen kommt es nicht nur zu einer Störung der interneuronalen Informationsübertragung, sondern auch zu einem Untergang von Neuronen. (Braak und Braak, 1991; Braak und Braak, 1993 a; Braak und Braak, 1993 b; Oyanagi et al., 1994; Selden et al., 1994; Braak et al., 1996; Braak et al., 1997).

Von diesem Nervenzellverlust sind je nach Stadium der Erkrankung einige Hirnareale besonders betroffen. Dazu zählt unter anderem der Thalamus. Braak et al. (1991, 1993 b, 1996, 1997) haben sich ausgiebig mit Veränderungen im Thalamus beschäftigt. Die histopathologischen Veränderungen finden sich im gesamten Thalamus, das anterodorsale Kerngebiet ist dabei am stärksten betroffen. Bei dem von uns bearbeiteten M. Alzheimer-Fall fanden wir im Vergleich zu den Kontrollfällen 25-37% weniger Nervenzellen.

In der Literatur ist daneben auch ein Nervenzellverlust im Striatum beschrieben. Hier sind im Gegensatz zur Chorea Huntington nicht die mittelgroßen Nervenzellen, sondern die großen ChAT-positiven (Cholin Acetyltransferase) Neurone betroffen (German et al., 1987; Geula et al., 1990; Braak und Braak, 1993 b; Oyanagi et al., 1987, 1994; Selden et al., 1994; Braak et al., 1996). Insgesamt fanden wir im Bereich des Striatum bei dem von uns bearbeiteten M. Alzheimer-Fall 19 - 23% weniger Nervenzellen.

Der Thalamus ist bereits in frühen Stadien der Erkrankung direkt von den pathologischen Veränderungen betroffen. Der genaue Mechanismus ist dabei noch nicht völlig geklärt (German et al., 1987; Braak und Braak, 1991; Braak und Braak, 1993 a; Braak und Braak, 1993 b; Selden et al., 1994; Braak et al., 1996; Braak et al., 1997).

Das Striatum dagegen ist im Allgemeinen frei von pathologischen Ablagerungen. Diese findet man hier nur in den Endstadien der Erkrankung. Dennoch kommt es auch in diesem Bereich zu einem Neuronenverlust. Die genauen Abläufe sind dabei ebenfalls noch nicht völlig verstanden. Man geht davon aus, dass neben den Ablagerungen die gestörte Neurotransmitterübertragung von vorausgeschalteten Neuronen für den Nervenzellverlust verantwortlich ist. Das Striatum erhält unter anderem afferente Fasern vom Thalamus, der seine Aufgabe durch die pathologischen Veränderungen nicht mehr wahrnehmen kann (German et al., 1987; Folstein, 1991; Braak und Braak, 1991; Braak und Braak, 1993 a; Braak und Braak, 1993 b; Selden et al., 1994; Oyanagi et al., 1994; Braak et al., 1996; Braak et al., 1997).

4.3 Littlesche Krankheit

Unter der infantilen Zerebralparese (Little-Syndrom) versteht man ein klinisch-pathologisch-anatomisches Krankheitsbild als Endzustand von intrauterin oder perinatal entstandenen Hirnschäden, wie sie zum Beispiel bei Frühgeburten, Geburtstraumata oder Intoxikationen vorkommen können. Klinisch stehen dabei spastische Paresen im Vordergrund. Störungen der intellektuellen und psychischen Fähigkeiten sowie eine frühkindliche Epilepsie können zusätzlich vorliegen.

Diese Symptome resultieren aus einer Gewebseinschmelzung des unreifen Gehirns, die sich morphologisch je nach Art, Zeitpunkt und Schweregrad der Schädigung unterschiedlich darstellt. So findet man zum Beispiel eine Ulegyrie (Fasergliose und Nervenzelluntergang in den Windungstätern der Großhirnrinde), lobäre Sklerose (Atrophie und gliotische Vernarbung der Hirnrinde und Marksubstanz) oder Status marmoratus (Narbenbildung im Striatumbereich) (Riede und Schäfer, 1993).

Bei dem von uns bearbeiteten M. Little-Fall fanden sich im Vergleich zu den Kontrollfällen im Bereich des Striatum 42 - 45% und im Bereich des Thalamus 58 - 65% weniger Neurone. In Anbetracht der pathologischen Veränderungen bei dieser Erkrankung überraschte uns dieser Nervenzellverlust nicht.

Überraschend allerdings war die Tatsache, dass sowohl beim M. Little- als auch beim M. Alzheimer-Fall trotz ausgeprägter Neuronenverluste die äußere Form von Thalamus und Striatum weitgehend erhalten geblieben ist. Anders verhält es sich beim Chorea-Huntington-Fall. Hier ist bei ausgeprägten Neuronenuntergängen die gewohnte Gestalt des Thalamus erhalten geblieben, während das Striatum stark atrophiert erscheint.

Die Ursache dafür sehen wir in der durch den Nervenzelluntergang ausgelösten Gliabildung. Gehen Neurone zugrunde, wird die entstehende Lücke mit Glia aufgefüllt und so erscheint das jeweilige Kerngebiet makroskopisch unauffällig. Dieser Mechanismus scheint beim Striatum des Chorea-Huntington-Falles an seine Grenzen geraten zu sein. Hier ist der Neuronenverlust zu groß als dass die restlichen Nervenzellen die ursprüngliche Form aufrecht erhalten könnten. Stattdessen zerfällt das Striatum und es

kommt zu einer diffusen Gliabildung um die verbleibenden Neurone. Gleichzeitig nimmt auch die absolute Zahl der Astrogliazellen ab (Heinsen et al., 1994).

E. Zusammenfassung

Es wurden insgesamt sieben Gallozyanin-gefärbte Schnittserien durch die rechte oder linke Hemisphäre von zwei Kontrollfällen (männlich, 28 Jahre, rechte Hemisphäre, weiblich, 65 Jahre, linke Hemisphäre), einem Fall mit Megalenzephalie (männlich, 48 Jahre, linke Hemisphäre), einem Fall von M. Little (65 Jahre, männlich, linke Hemisphäre), einem Fall von Alzheimerscher Krankheit (85 Jahre, weiblich, linke Hemisphäre) und einem Fall mit Huntingtonscher Krankheit (männlich, 49 Jahre, beide Hemisphären) verwendet. Die zentralen Anteile der Hemisphären mit den kompletten Schnittserien durch Thalami und Corpora striata wurden mit einer digitalen Kamera in Nahaufnahmetechnik aufgenommen, mit einem kommerziellen Bildbearbeitungsprogramm (Adobe Photoshop 6.0®) aufbereitet und die derart aufbereiteten Bilder am Computer mit einer Computer gestützten 3D-Rekonstruktionssoftware (Amira®) verarbeitet.

Ein wesentlicher Schritt in der Bearbeitung besteht in der Abgrenzung von Thalamus und Striatum von den benachbarten Strukturen. Die hohe Schnittdicke von 440 µm erleichterte dabei die zytoarchitektonische Abgrenzung beider Kerngebiete. Anders als erwartet unterliegen auch Serienschnitte mit einer Dicke von 440 µm Schrumpfungartefakten, die nicht immer auf den ersten Blick erkennbar sind. Aus diesem Grund beschränken sich die 3D-Rekonstruktionen nicht auf das manuelle Abgrenzen von Strukturen. Vielmehr müssen alle Schnitte sorgfältig den Koordinaten des Raumes angepasst, hintereinander in der z-Achse angeordnet und bei Bedarf gedreht und verschoben werden. Die Rekonstruktionssoftware bietet für diese Prozedur eine halbautomatische Unterstützung. Einzelne stark verformte Schnitte mussten aber dennoch teilweise aufwändig der Serie angepasst werden.

Amira® bietet vielseitige Möglichkeiten in der Darstellung der räumlich rekonstruierten Schnitte. Durch Interpolation werden die Rohdaten zum Teil stark verändert und die ursprünglich kantigen und eckigen Formen zunehmend geglättet. Diese Glättung ist der Erfahrung/Willkür des Untersuchers anheim gestellt und folglich werden die Grenzen zwischen einer realistischen 3D-Rekonstruktion und einer Fiktion fließend.

Neben 3D-Rekonstruktionen lassen sich mit Amira auch die Volumina von Striatum und Thalamus berechnen. Diese Daten wurden mit den stereologisch bestimmten Kernvolumina und Nervenzellzahlen verglichen. Grundsätzlich liegen die mit Amira erhobenen Volumenwerte zwischen 1,4 und 6,65% unter den stereologisch geschätzten Werten. Diese Diskrepanz ist bei der bekannten biologischen Variabilität des menschlichen ZNS akzeptabel und im Vergleich mit Literaturangaben und -abbildungen dürften Form und Größe der rekonstruierten Thalami und Corpora striata der Wirklichkeit weitgehend entsprechen.

Die Nervenzellzahlen schwanken dabei in einem weiten Bereich zwischen rund 71 Millionen im Striatum bei Megalenzephalie und weniger als 7 Millionen bei Chorea Huntington. Im Thalamus liegt die Nervenzellzahl zwischen rund 18 Millionen (Kontrollfall) und etwas mehr als 6 Millionen bei dem untersuchten Fall mit M. Little. Berücksichtigt man die vielfältigen physiologischen Verbindungen zwischen Thalamus und Striatum, so lassen die Schwankungen in den Nervenzellzahlen auf komplexe Interaktionen und Defizite bei den untersuchten Fällen schließen.

Im Ergebnis unerwartet ist die weitgehende Konstanz in Form und Aussehen von Thalamus und Striatum im Endstadium von Alzheimerscher Demenz und bei einem Fall von M. Little. Offensichtlich stehen globale Atrophie- bzw. Degenerationsprozesse bei der Alzheimerschen Krankheit im Vordergrund mit der Folge, dass Thalamus und Striatum trotz deutlicher Nervenzellausfälle bei erhöhter Zahl von Gliazellen insgesamt nur wenig kleiner werden. Allerdings tat sich bei dem Fall mit M. Alzheimer an der Ventralseite des Thalamus eine Rinne auf, die bei den anderen untersuchten Fällen nicht gefunden und deren Ursache nicht geklärt werden konnte. Dramatisch erschienen die Größen- und Formveränderung des Striatum beim Chorea-Huntington-Fall. Nervenzell- und Gliazellausfälle im Striatum bei Chorea Huntington dürften die ausgeprägten makroskopischen Veränderungen erklären.

Die Kombination von Serienschneittechnik mit hoher Schnittdicke und einer Computer gestützten 3D-Rekonstruktion bietet bisher nie da gewesene und faszinierende Aspekte vom Bau des menschlichen ZNS. Nach Import in spezielle Computersoftware zur Animation von 3D-Modellen eröffnen die 3D-Rekonstruktionen auch neue Aspekte in der Präsentation der vermuteten Funktionsweise des ZNS. Dabei sollte aber in Anbetracht der komplexen methodischen Faktoren immer eine kritische Distanz zu vielfältigen Darstellungsformen am Bildschirm gewahrt bleiben

Literaturverzeichnis

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

Albin R.L., Reiner A., Anderson K.D., Dure L.S., Handelin B., Balfour R., Whetsell W.O., Penney J.B., Young A.B., 1992. Preferential Loss of Striato-External Pallidal Projection Neurons in Presymptomatic Huntington`s Disease. *Ann. Neurol.* 31, 425-430

Alheid G.F., Heimer L., Switzer III R.C., 1990. Basal Ganglia. In: *The human nervous system.* Paxinos, G., San Diego, Academic Press, Kap 19, 483-582

Antonarakis S.E., Valle D., Moser H.W. et al., 1984. Phenotypic variability in sibling things with Farber disease. *J Pediatr.* 104, 406-409. In: *Greenfield`s Neuropathology,* sixth edition, 1997, Oxford University Press, London

Benninghoff Anatomie, Band 2, 15. Auflage, 1994, Urban und Schwarzenberg

Bossy-Wetzel E., Schwarzenbacher R., Lipton S.A., 2004. Molecular pathways to neurodegeneration. *Nat. Rev. Neurosci.* S2-S9

Braak H., Braak E., 1991. Alzheimer`s disease affects limbic nuclei of the thalamus. *Acta Neuropathology* 81, 261-268

Braak H., Braak E., 1993 (a). Alzheimer Neuropathology and Limbic Circuits. In: *Neurobiology of cingulate cortex and limbic thalamus.* Vogt B. A., Gabriel M., Birkhäuser-Verlag, 606-626

Braak H., Braak E., 1993 (b). Pathology of Alzheimer`s disease. In: *Neurodegenerative diseases,* Calne D.B., Philadelphia, W.B. Saunders, Kap 35, 585-613

Braak H., Braak E., 1993 (c). Anatomy of the human basal ganglia. In: Inhibitors of monoamine oxidase B. Pharmacology and clinical use in neurodegenerative disorders, Szelenyi I., Basel, Birkhäuser-Verlag, Kap 1, 3-23

Braak H., Braak E., Yilmazer D., de Vos R.A.I., Jansen E.N.H., Bohl J., 1996. Pattern of brain destruction in Parkinson`s and Alzheimer`s disease. Journal of Neural Transmission 103, 455-490

Braak H., Griffing K., Braak E., 1997. Neuroanatomy of Alzheimer`s disease. Alzheimer`s Res. 3, 235-247

Brooks D.J., 2000. Imaging basal ganglia function. J.Anat. 196, 543-554

Bruyn G.W., Bots G.Th.A.M., Dom R., 1979. Huntington`s Chorea: Current Neuropathological Status. In: Huntington`s disease: Advances in Neurology Vol. 23. Chase T.N., Wexler N.S., Barbeau A., Raven Press New York, 83-93

Chakravarty M. Mallar, Bertrand Gilles, Hodge Charles P., Sadikot Abbas F., Collins D. Louis, 2006. The creation of a brain atlas for image guided neurosurgery using serial histological data. NeuroImage 30, 359-376

Clara M., 1953. Das Nervensystem des Menschen ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. 2. Auflage. Johann Ambrosius Barth Verlag/Leipzig, 593-596

Crossman A.R., 2000. Functional anatomy of movement disorders. J. Annal., 196, 519-525

Cummings J.L., 1986. Subcortical Dementia, Neuropsychology, Neuropsychiatry and Pathophysiology. British Journal of Psychiatry 149, 682-697

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.

Delocourte A., 1990. General and dramatic glial reaction in Alzheimer brains. Neurology 40, 33-37

De la Monte S.M., Vonsattel J.P., Richardson E.P., Jr., 1988. Morphometric demonstration of atrophic changes in the cerebral cortex, white matter and neostriatum in Huntington`s disease. Journal of Neuropathology and experimental Neurology 47, 516-525

DeLong M.R., 1990. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. Trends Neurosci 13, 281-285

Douaud G., V. Gaura, M.-J. Ribeiro, F. Lethimonnier, R. Maroy, C. Verny, P. Krystkowiak, P. Damier, A.-C. Bachoud-Levi, P. Hantraye, P. Remy, 2006. Distribution of grey matter atrophy in Huntington`s disease patients: A combined ROI-based and voxel-based morphometric study. NeuroImage 32, 1562-1575

Dunlap C.B., 1927. Pathologic changes in Huntington`s chorea:with special reference to the corpus striatum. Arch. Neurol. Psychiatry 18, 867-943

Fensom A.H., Benson P.F., Neville B.R. et al., 1979. Prenatal diagnosis of Farber`s disease. Lancet 990-992. In: Greenfield`s Neuropathology, sixth edition, 1997, Oxford University Press, London

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

Folstein S.E., 1991. The Psychopathology of Huntington's Disease. *Genes, Brain and Behavior* 69, 181-191

German D.C., White C.L., Sparkman D.R., 1987. Alzheimer's Disease: Neurofibrillary tangles in nuclei that project to the cerebral cortex. *Neurosci.* 21, 305-312

Geula C., Tokuno H., Hersh L., Mesulam M.-M., 1990. Human striatal cholinergic neurons in development, aging and Alzheimer's disease. *Brain Res.* 508, 310-312

Glass M., Dragunow M., Faull R.L.M., 2000. The pattern of neurodegeneration in Huntington's Disease: A comparative study of cannabinoid, dopamine, adenosine and GABA_A receptor alterations in the human basal ganglia in Huntington's Disease. *Neuroscience* 97, 505-519

Gómez-Tortosa E., MacDonald M.E., Friend J.C., Taylor S.A.M., Weiler L.J., Cupples L.A., Srinidhi J., Gusella J.F., Bird E.D., Vonsattel J.P., Myers R.H., 2001. Quantitative Neuropathological Changes in Presymptomatic Huntington's Disease. *Ann. Neurol.* 49, 29-34

Graveland G.A., Williams R.S., DiFiglia M.A., 1985. Evidence for Degenerative and Regenerative Changes in Neostriatal Spiny Neurons in Huntington's Disease. *Science* 227, 770-773

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

Gusella J.F., MacDonald M.E., Ambrose C.M., Duyao M.P., 1993. Molecular Genetics of Huntington's Disease. *Arch. Neurol.* 50, 1157-1163

Hallet M., 1993. Physiology of basal ganglia disorders: an overview. *Can. J. Neurol. Sci.* 20, 177-183

Hassler R., 1982. Architectonic organization of the thalamic nuclei. In: Schaltenbrand G, Baily P (eds) *Stereotaxy of the human brain*. Thieme, Stuttgart New York, 140-180

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, 203-217

Hedreen J.C., Folstein M.D., Folstein S.E., 1995. Early Loss of Neostriatal Striosome Neurons in Huntington`s Disease, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 54, 105-120

Heinsen H., Strik M., Bauer M., Luther K., Ulmar G., Gangnus D., Jungkunz G., Eisenmenger W., Gotz 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 centrtomedian-parafscicular complex in patients with Huntington`s disease. *Acta Neuropathol.* 91, 161-168

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

Heinsen H., Hampel H., Teipel S.J., 2006. Nucleus subputaminalis: neglected part of the basal nucleus of Meynert-Response to Bobanat al.: computer-assisted 3D reconstruction of the nucleus basalis complex, including the nucleus subputaminalis (Ayala`s nucleus). *Brain* 129, U1-U4

Hickey M.A., Chesselet M.-F., 2003. Apoptosis in Huntington`s Disease. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 27, 255-265

Hirsch M.C., Kramer T., 1999. *Neuroanatomy 3D-Stereoscopic Atlas of the Human Brain*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Klingler J., 1935. Erleichterung der makroskopischen Präparation des Gehirns durch den Gefrierprozeß. *Schweiz. Arch. Neurol.* 36, 247-256

Koo M.-S., Levitt J.J., McCarley R.W., Seidman L.J., Dickey C.C., Niznikiewicz M.A., Voglmaier M.M., Zamani P., Long K.R., Kim S.S., Shenton M.E., 2006. Reduction of Caudate Nucleus Volumes in Neuroleptic-Naive Female Subjects with Schizotypal Personality Disorder. *Biol Psychiatry* 60, 40-48

Li, X.-J., 1999. The early pathology of Huntington`s Disease. *Mol. Neurobiol.* 20, 111-124

Liebermann A.R., 1968. The connective tissue elements of the mammalian nodose ganglion. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 89, 95-111. In: *Greenfield`s Neuropathology*, sixth edition, 1997, Oxford University Press, London

Mitchell I.J., Cooper A.J., Griffiths M.R., 1999. The selective vulnerability of striatopallidal Neurons. *Prog. Neurobiol.* 59, 691-719

Mitchell S., 1872. *Injuries of nerve and their consequences*. Philadelphia: Lippincott, 92. In: *Greenfield`s Neuropathology*, sixth edition, 1997, Oxford University Press, London

Niemann K., Mennicken V.R., Jeanmonod D., Morel A., 2000. The Morel Stereotactic Atlas of the Human Thalamus: Atlas-to-MR Registration of Internally Consistent Canonical Model. *NeuroImage* 12, 601-616

Nieuwenhuys R., Voogd J., van Huijzen C., 1988. The human central nervous system, third edition. Springer-Verlag Berlin

Obersteiner H., 1888. Anleitung beim Studium des Baues der nervösen Centralorgane im gesunden und kranken Zustande. Leipz.&Wien, Toeplitz&Deuticke, 414p. 8°

Oyanagi K., Takahashi H., Wakabayashi K., Ikuta F., 1987. Selective involvement of large neurons in the neostriatum of Alzheimer`s disease and senile dementia: a morphometric investigation. Brain Res. 411, 205-211

Oyanagi K., Makifuchi T., Ohtoh T., Chen K.-M., Gajdusek D.C., Chase T.N., Ikuta F., 1994. The neostriatum and nucleus accumbens in parkinsonism-dementia complex of Guam: a pathological comparison with Alzheimer`s disease and progressive supranuclear palsy. Acta Neuropathol 88, 122-128

Parent A., Sato F., Wu Y., Grauthier J., Levesque M., Parent M., 2000. Organization of the basal ganglia: the importance of axonal collateralization. Trends Neurosci. 13, 20-27

Penney J.B., Young A.B., 1983. Speculations on the functional anatomy of basal ganglia disorders. Ann. Neurosci 6, 73-94

Quinn N., Schrag A., 1998. Huntington`s disease and other choreas. J. Neurol. 245, 709-716

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

Rosas H.D., Goodman J., Chen Y.I., Jenkins B.G., Kennedy D.N., Makris N., Patti M., Seidman L.J., Beal M.F., Koroshetz W.J., 2001. Striatla volume loss in HD as measured by MRI and the influence of CAG repeat. Neurology 57, 1025-1028

Rutsaert J., Tondeur M., Vamos Hurtwitz E., Dustin P., 1977. The cellular lesions of Farber's disease and their experimental reproduction in tissue culture. *Lab invest* 36, 474-480. In: Greenfield's Neuropathology, sixth edition, 1997, Oxford University Press, London

Sano M., Marder K., Dooneief G., 1999. Basal Ganglia Diseases. *Neuropsychiatry*, Fogel B.S., Schiffer R.B., Rao S.M., Williams and Wilkins, 805-826

Selden N., Geula C., Hersh L., Mesulam M.-M., 1994. Human striatum: chemoarchitecture of the caudate nucleus, putamen and ventral striatum in health and Alzheimer's disease. *Neurosci* 60, 621-636

Smith A.D., Bolam J.P., 1990. The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurons. *Trends Neurosci.* 13, 259-265

Tanaka K., Zhang Q.-L., Webster H. de F., 1992. Myelinated fiber regeneration after sciatic nerve crush: morphometric observations in the young, adult and aging mice and the effects of macrophage suppression and conditioning lesions. *Exp Neurol* 118, 53-61. In: Greenfield's Neuropathology, sixth edition, 1997, Oxford University Press, London

Teipel S., Flatz W.H., Heinsen H., Bokde A.L.W., Schönberg S.O., Stöckel S., Dietrich O., Reiser M.F., Möller H.-J., Hampel H., 2005. Measurement of basal forebrain atrophy in Alzheimer's disease using MRI. *Brain* 128, 2626-2644

Thomas P.K., Jones D.G., 1967. The cellular response to nerve injury. II. Regeneration of the perineurium after nerve section. *J Anat* 101, 45-55. In: Greenfield's Neuropathology, sixth edition, 1997, Oxford University Press, London

Vonsattel J.P., Myers R.H., Stevens T.J., Ferrante R.J., Bird E.D., Richardson E.P., Jr., 1985. Neuropathologic classification of Huntington's disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 44, 559-577

Vonsattel J.P.G., DiFiglia M., 1998. Huntington Disease. J. Neuropathol. Exp. Neurol. 57, 369-384

Walker A. E., 1982. Normal and pathological physiology of the thalamus. In: Schaltenbrand G, Walker A.E. (eds) Stereotaxy of the human brain. Anatomical, physiological and clinical applications. Thieme, Stuttgart New York, 181-217

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

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

Wichmann T., DeLong M.R., 1996. Functional and pathophysiological models of the basal ganglia. Curr. Opin. Neurobiol 6, 751-758

Yelnik J., Bardinet E., Dormont D., Malandain G., Ourselin S., Tande D., Karachi C., Ayache N., Cornu P., Agid Y., 2007. A three-dimensional, histological and deformable atlas of the human basal ganglia. I. Atlas construction based on immunohistochemical and MRI data. NeuroImage, 34, 618-638

Danksagung

Ich danke meinen Eltern und meinem Lebensgefährten für die viele Geduld und Unterstützung während der Fertigstellung dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Helmut Heinsen, der mir stets mit Rat und konstruktiver Kritik zur Seite stand und so zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat. In diesem Sinne danke ich ihm auch für die Erstellung des Referates.

Ebenso danke ich Prof. Dr. med. Wolfgang Roggendorf für die freundliche Erstellung des Koreferates.

Lebenslauf

Name Kerstin Anni Müller

Geburtsdatum 03.02.1980

Geburtsort Schweinfurt

Nationalität deutsch

Schulbildung

1986 – 1990: Grundschule Euerbach

1990 – 1999: Walther-Rathenau-Gymnasium, Schweinfurt

Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Studium

1999 – 2005: Studium der Humanmedizin an der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Herbst 2001 Ärztliche Vorprüfung

Herbst 2002 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Herbst 2004 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Herbst 2005 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Promotion

Seit 02/2002 Computergestützte 3D-Rekonstruktionen und stereologische Untersuchungen an Thalamus und Striatum 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. Helmut Heinsen

Ärztliche Tätigkeit

Seit 12/2005 Assistenzärztin in der Chirurgie der Geomed Klinik in Gerolzhofen