

Aus dem Institut für Tierpathologie
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie
Der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. W. Schmahl)

STUDIE ZUR MORPHOMETRISCHEN AUSWERTUNG
PERIPHERER NERVEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinische Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität

von
JEANETTE JOSEPHINE TANCK
aus
München

München 2004

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent:	Univ.-Prof. Dr. W. Schmahl
Korreferent:	Prof. Dr. C. Knospe

Tag der Promotion: 23. Juli 2004

Für Peter und Alexa

	Seite
I	
 I	 EINLEITUNG
	1
II	
 II	 LITERATURÜBERSICHT
	2
1	MORPHOLOGIE DES GESUNDEN PERIPHEREN NERVENS
	2
1.1	Kompartimente des peripheren Nervens
	2
1.1.1	Epineurium
	2
1.1.2	Perineurium
	2
1.1.3	Endoneurium
	4
1.1.4	Axon und Nervenscheiden
	4
1.1.4.1	Axon
	5
1.1.4.2	Schwann-Zelle
	7
1.1.4.3	Myelinscheide
	8
2	ENTNAHME PERIPHERER NERVEN
	10
2.1	Auswahl eines geeigneten peripheren Nervens
	10
2.2	Topographie des Nervus fibularis communis und des Ramus ventralis
	10
2.2.1	Anatomische Lage des Nervus fibularis communis
	11
2.2.2	Anatomische Lage des Ramus ventralis des Nervus accessorius
	11
2.3	Biopsie Technik
	12
2.4	Weiterverarbeitung der Nervenbiopsie
	12
2.5	Färbemethoden zur Darstellung peripheren Nervengewebes
	13
2.5.1	Färbungen von Paraffinschnitten
	14
2.5.2	Färbungen von Kunstharz-Semidünnschnitten
	15

3	MORPHOMETRIE IN DER HISTOPATHOLOGIE	17
3.1	Allgemeine Gesichtspunkte der Morphometrie	17
3.2	Morphometrische Methoden	18
3.2.1	Axiom von Delesse	18
3.2.2	Axiom von Rosiwal	19
3.2.3	Axiom von Thomsen und Glagoleff und das Punktzählverfahren	19
3.3	Bildanalytische Verfahren der Morphometrie	20
3.4	Einsatz der Morphometrie im Bereich des PNS	21
III	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	26
1	ZIELSETZUNG	26
2	MATERIAL UND METHODEN	26
2.1	Untersuchungsmaterial	26
2.2	Aufbereitung des Untersuchungsmaterials	28
2.3	Färbeversuche zur selektiven Darstellung der Myelinscheide	31
2.3.1	Azurblau II-Safranin-Färbung	32
2.3.2	Perjodsäure Schiff	33
2.3.3	Woelke-Spielmeyer-Schröder	34
2.3.4	Diaminobezidin	35
2.3.5	Paraphenylendiamin	36
2.4	Qualitätskontrolle und Selektion der Semidünnschnitte für die Morphometrie	37
2.5	Bildverarbeitung und morphometrische Auswertung	38
2.5.1	Bildverarbeitung	38
2.5.2	Morphometrische Auswertung	40

2.5.2.1 Faszikelfläche	41
2.5.2.2 Faser- und Axonfläche	42
2.5.2.3 Faser- und Axonradius	42
2.5.2.4 Faser- und Axondurchmesser	43
2.5.2.5 Myelinscheidenparameter	44
2.5.2.6 Zirkularität	44
2.5.2.7 Exceedingrate	45
2.5.2.8 G-Ratio	45
2.5.2.9 Entropie	46
2.6 Statistische Methoden	46
3 ERGEBNISSE	48
3.1 Ergebnisse der Färbeversuche zur selektiven Darstellung der Myelinscheide	48
3.1.1 Azurblau II-Safranin-Färbung	48
3.1.2 Perjodsäure-Schiff-Reaktion	48
3.1.3 Woelcke-Spielmeyer-Schröder	49
3.1.4 Diaminobezidin	50
3.1.5 Paraphenylendiamin	50
3.2 Ergebnisse der Qualitätskontrolle	51
3.3 Ergebnisse der Bildverarbeitung und morphometrische Auswertung	53
3.3.1 Ergebnisse der morphometrischen Auswertung	54
3.3.1.1 Referenzfläche, Faseranzahl und Faserdichte	54
3.3.1.2 Faser- und Axonfläche	56
3.3.1.3 Faser- und Axonradius	61
3.3.1.4 Faser- und Axondurchmesser	62
3.3.1.5 G-ratio	66
3.3.1.6 Myelinscheidendicke	68
3.3.1.7 Zirkularität	71
3.3.2 Multivariate Analysen	73

IV	DISKUSSION	75
1	BEURTEILUNG DER REPRÄSENTATIVITÄT UND SELEKTION EINZELNER PARAMETER	75
2	RELEVANTE UNTERSUCHUNGSPARAMETER AM EQUINEN PERIPHEREN NERVEN	82
3	NORMWERTE DES NERVUS ACCESSORIUS UND NERVUS FIBULARIS COMMUNIS DES PFERDES	87
4	FEHLERQUELLEN UND PROBLEME	91
5	MORPHOMETRIE-GEEIGNETE FÄRBETECHNIKEN AN MYELINISIERTEN NERVENFASERN	93
6	MORPHOMETRIE AM PERIPHEREN NERVEN DES PFERDES – RESÜMEE UND AUSBLICK	95
V	ZUSAMMENFASSUNG	97
VI	SUMMARY	99
VII	LITERATURVERZEICHNIS	101
VIII	ANHANG	115

Abkürzungen

A	Anschnittfläche
Aa	Flächendichte
aa	Axonfläche
Abb.	Abbildung
acc.	accessorius
af	Faserfläche
AK	Antikörper
AS	Azurlau II-Safranin-Färbung
bidest.	bidestillata
bzw.	beziehungsweise
CV	Variationskoeffizient
D	absoluter Daserdurchmesser
d	Axondurchmesser
d.h.	das heißt
DAB	Diamenzobenzidin
dareaa	Durchmesser aus radareaa
dareaf	Durchmesser aus radareaf
dest.	destillata
dexta	Maximaler Axondurchmesser
dextf	Maximaler Faserdurchmesser
drada	Axondurchmesser aus rada
dradf	Faserdurchmesser aus radf
ent	Entropie
ER	Endoplasmatisches Retikulum
evtl.	eventuell
exc	Exeedingrate
fib.	fibularis
GSF	Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Neuherberg
Hd	Hund
HE	Hämalaun-Eosin
I	Durchstoßpunkte
IC	Index of Circularity
Ktz	Katze
LMU	Ludwig Maximilian Universität
lsg.	Lösung

M	Molar
M.	Musculus
MAG	Myelin-assoziierte Proteine
MAG	major associated glycoprotein
mexta	Maximale Axonausdehnung
mextf	Maximale Faserausdehnung
Mm	Musculi
MW	Mittelwert
myarea	Myelinscheidenfläche
mydick	Mittlere Myelinscheidendicke
mymin	Minimale Myelinscheidendicke
N	Anzahl
N.	Nervus
N. fib. com.	Nervus fibularis communis
NA	Numerische Flächendichte
Nn.	Nervi
Nr.	Nummer
Nv	Numerische Volumendichte
P	Trefferpunkte
p2a	Zirkularitätsfaktor der Faser
p2aa	Zirkularitätsfaktor des Axons
PAS	Periodic Acid Schiff
PC	Personal Computer
PNS	Peripheres Nervensystem
pP	Paraphenylendiamin
p-	para-
R. dorsalis	Ramus dorsalis
rada	Axonradius
radareaa	Aus der Axonfläche berechnete Radius
radareaf	Aus der Faserfläche berechnete Radius
radf	Faserradius
radm	mittlerer Myelinscheidenradius
SD	Standardabweichung
SKL	Schmidt-Lantermansche-Kerbe
SZ	Schwann Zelle
Tab.	Tabelle
TES	3-Amino-propyl-3-ethoxysilan

V	Volumen
V _v	Volumendichte
WWS	Woelke-Spielmeyer-Schröder
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abkürzungen - Einheiten

°C	Grad Celsius
µm	Mikrometer
µm ²	Quadratmikrometer
cm	Zentimeter
g	Gramm
L	Liter
m	Meter
Min.	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
mol	Mol
Mon.	Monate
nm	Nanometer
sek	Sekunde
Std.	Stunden

I EINLEITUNG

Die Vielgestaltigkeit krankhafter morphologischer Erscheinungen wird unter dem Begriff Pathomorphologie zusammengefasst. Sie stellt an den Pathologen hohe Anforderungen im Sinne eines hoch entwickelten visuellen Unterscheidungsvermögens und Gedächtnisses basierend auf der Fähigkeit zur Gestaltwahrnehmung. Diese, von KONRAD LORENZ (1973) als ein „ratio-morpher“ Vorgang bezeichnete (100), Gestaltwahrnehmung ermöglicht es pathologische Strukturveränderungen, die bereits früher schon einmal beobachtet wurden, sofort wieder zu erkennen und zu zuordnen. Sie ist für die diagnostische Pathologie von unschätzbarem Wert (21). Auch für die Interpretation histopathologischer Präparate peripheren Nervengewebes ist dieses Wahrnehmungsvermögen in der lichtmikroskopischen Untersuchung unerlässlich zur Diagnostik peripherer Neuropathien. Dennoch sind hier durch die subjektive Prägung Grenzen gesetzt. Ihm kann ein objektives Verfahren wie die computergestützte Morphometrie ein Kontrollorgan zur Seite gestellt werden. Über die Erfassung und Vermessung geweblicher Merkmale können minimale, für den Untersucher visuell nicht greifbare Veränderungen aufgezeigt und quantifiziert werden.

Die vorliegende Arbeit unterteilt sich in zwei Abschnitte. Der erste Teil beschreibt die adäquate Probengewinnung und Aufbereitung eines peripheren Nervens für die digitale Bildanalyse. Insbesondere bezieht sich dieser Abschnitt auf die Findung einer geeigneten Färbetechnik zur bestmöglichen Differenzierbarkeit spezifischer Gewebskomponenten.

Dem folgt im zweiten Teil der Arbeit, mittels einer eigens modifizierten Software, die Ermittlung und Auswertung möglicher und sinnvoller Merkmale für die Beurteilung von Veränderungen an peripheren Nerven. Von besonderem Interesse ist hier auch die Entwicklung neuer Parameter zur Darstellung von Fasergrößenpopulationen innerhalb eines Nervenfaserbündels.

Darüber hinaus soll, unter spezieller Berücksichtigung equiner Nerven, die Heterogenität einzelner Nervenfaszikel innerhalb eines Individuums sowie tierübergreifend untersucht werden. Dadurch soll eine Basis für die Ermittlung von Normwerten und Erstellung einer Datenbank geschaffen werden.

II LITERATURÜBERSICHT

1 MORPHOLOGIE DES GESUNDEN PERIPHEREN NERVENS

1.1 Kompartimente des peripheren Nervens

Makroskopisch stellt sich der gesunde periphere Nerv als ein weiß schimmerndes Bündel von Fasern dar, die durch Bindegewebshüllen zusammen gehalten werden. Betrachtet man einen Nervenquerschnitt mikroskopisch, so zeigt sich wie das Endoneurium mit all seinen Axonen und Schwann-Zellen als Faszikel vom Perineurium umgeben wird. Dieses wird wiederum von einem epineuralen Gewebe eingeschlossen (119)(Abb. 1).

1.1.1 Epineurium

Das Epineurium umhüllt die einzelnen Nervenfaserbündel, hält sie zusammen und schützt diese. Es setzt sich aus dichtem Bindegewebe, bestehend aus Kollagen und elastischen Fasern, zusammen, wobei sich letztere vor allem um die Faszikel herum anordnen (119,140). Des Weiteren enthält das Epineurium neben Fibroblasten auch eine geringe Anzahl an Mastzellen und Histiozyten. Besonders im Bereich der Unterhaut verbindet sich das Epineurium mit dem den Nerv umgebenden Fettgewebe. Die Menge an epineuralem Gewebe variiert sehr stark und ist in Nerven, die an Gelenke angrenzen, am reichhaltigsten vorhanden (119), da es hier als mechanischer Schutz der Nervenfasern dient. Im Gegensatz dazu ist es in aufgezweigten Nervenästen mit nur einem Faszikel nicht anzutreffen. Parallel zum Nerven verlaufen im Epineurium Arterien, Venen und Lymphgefäße, deren Anzahl proportional zu der Anzahl der Faserbündel ist (119,181).

1.1.2 Perineurium

Die einzelnen Nervenfasern werden durch das Perineurium zu Bündeln definiert (165). Es weist konzentrisch verlaufende Schichten von flachen polygonalen Zellen auf, so genannten Perineuralzellen, welche durch Kollagenschichten voneinander getrennt werden (140). Es erscheint im Nervenquerschnitt als lamelläre Struktur, die alle Nervenfaserbündel umgibt

(104,118,167). Die Anzahl der Lamellen steigt mit zunehmendem Durchmesser des Nervenfaserbündels von einer, bei intramuskulären Nerven, und auf bis zu fünfzehn, bei großen Nervensträngen, an (184). Die äußerste Lamelle ist mit den Fibroblasten und dem Kollagen des Epineuriums verbunden. Betrachtet man die Perineuralzellen elektronenmikroskopisch, so sieht man ein relativ organellenarmes Zytoplasma, mit Ausnahme des perinukleären Bereichs. Hier findet man Mitochondrien, ein schwach ausgebildetes Endoplasmatisches Retikulum und Glykogengranula (104). Außerdem enthalten Perineuralzellen zahlreiche Vesikel, die von beiden Oberflächen der abgeplatteten Zellen abgeschnürt werden (119,165). Ultrastrukturell ist darüber hinaus an beiden Seiten einer Perineurallage eine gut ausgebildete Basalmembran erkennbar (119,185). Benachbarte Perineuralzellen sind über Tight Junctions (*Zonulae occludentes*) miteinander verbunden (119). Anhand von Gefrierschnitten wurde festgestellt, dass sich diese Zell-zu-Zell-Verbindungen in zahlreichen langen, verzweigten Anordnungen darstellen und hier ihre Funktion, ähnlich der Blut-Hirnschranke, in einer gewissen Gewebs-Nerven-Schranke finden (6). Damit spielt das Perineurium eine wichtige Rolle bei der Regulierung des endoneuralen Milieus (165). Hinzukommend, besitzen die Perineuralzellen hoch aktive Enzyme für den Abbau potentiell schädlicher Moleküle. Studien haben erwiesen, dass die meisten Makromoleküle die innerste Perineurallage nicht passieren können, wogegen es Glukose und anderen Elektrolyten möglich ist diese langsam zu durchqueren (6,104).

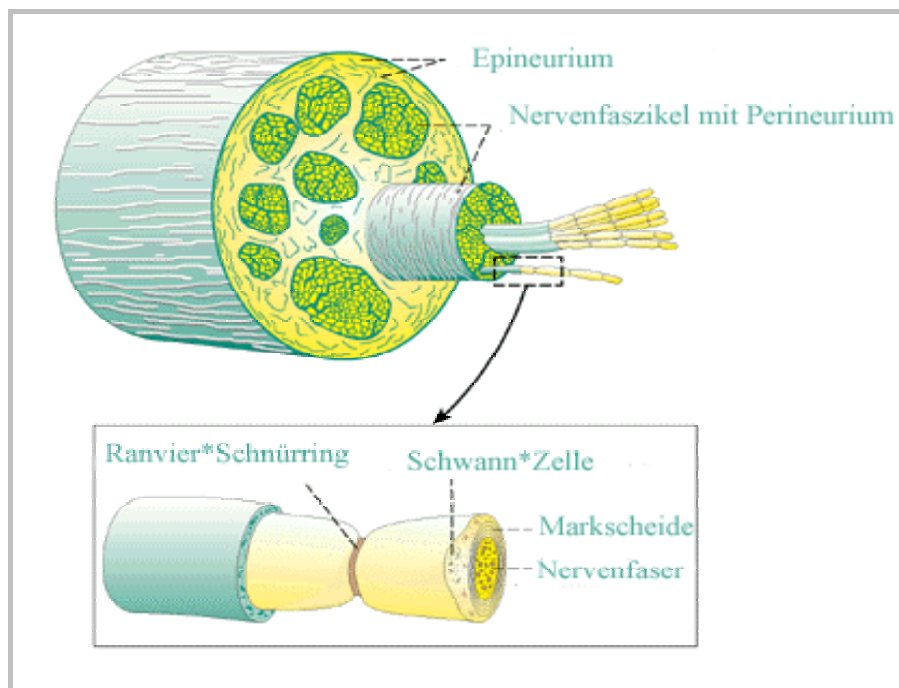


Abb. 1:
Schematische Darstellung eines
Nervenquerschnittes
(aus Roche Lexikon Medizin,
Urban&Fischer Verlag, München)

1.1.3 Endoneurium

Das Endoneurium grenzt an die innerste Perineurallage und besteht, wie auch das Epineurium, aus Kollagenfasern, Fibroblasten, Kapillaren und wenigen Mastzellen. In ihm eingebettet liegen die von den Schwann-Zellen umgebenen Axone. Durch unterschiedlich ausgerichtete Kollagenfasern wird das Endoneurium zu einer äußeren und einer inneren Schicht geformt. Diese umgeben die myelinisierten und nicht-myelinisierten Nervenfasern. Dabei ordnet sich das äußere Blatt, aus dicken Kollagenfasern bestehend, in längsverlaufenden Lagen, das innere Blatt mit seinen dünnen Fasern in schrägen oder quer verlaufenden Lagen um die Nervenfasern an(119). Die äußere longitudinal verlaufende Kollagenschicht spielt zusammen mit der Basalmembran der Schwann-Zellen eine wichtige Rolle als Leitschiene bei der Regeneration von Axonen nach einer Verletzung (4,119,181).

1.1.4 Axon und Nervenscheiden

Periphere myelinisierte Axone sind langgezogene Zellfortsätze, die sich von im Rückenmark, beziehungsweise der grauen Substanz der Lamina ventralis des Hirnstamms, sowie in den spinalen und cranialen sensorischen Ganglien liegenden Perikarien herleiten. Nur die postganglionären, autonomen Fasern sind gänzlich im peripheren Nervensystem lokalisiert und bestehen größten Teils aus nicht myelinisierten Fasern (144,164).

Axone des peripheren Nervensystems werden immer von Schwann-Zellen (SZ) begleitet, welche durch ihre Basalmembran das Axon vom endoneuralen Raum trennen. In Abhängigkeit von der Anordnung der SZ und dem Axon, können diese in myelinisierte und nicht-myelinisierte Axone eingeteilt werden (12). Nicht-myelinisierte Axone lagern sich zu mehreren an die Außenseite von einem Strang an längs arrangierten, dicht benachbarten Schwann-Zellen. Im Falle der myelinisierten Axone ist eine einzelne Faser mit einer Reihe von eng beieinander liegenden Schwann-Zellen assoziiert. Dabei wird von jedem Axonsegment mit einer SZ eine Einheit, das Internodium, gebildet.

Die peripheren Nervenfasern lassen sich üblicherweise in drei Gruppen unterteilen: Klasse A-Fasern, Klasse B-Fasern und Klasse C-Fasern. Sie unterscheiden sich in ihrem Durchmesser, ihrer Nervenleitgeschwindigkeit und Funktion, wobei A-Fasern myelinisierte, schnell leitende Typen darstellen, die sich wiederum entsprechend ihrer Größe in Subgruppen unterteilen lassen.

Hier gilt, dass proportional zum Durchmesser (5-20 μm) die elektrische Leitgeschwindigkeit (12-100 m/sek) zunimmt. Bei den Klasse B-Fasern handelt es sich um langsamer leitende (3-15 m/sek) myelinisierte, meist präganglionär autonome Axone mit geringem Durchmesser (3 μm). Die kleinsten Fasern werden als Typ C-Fasern (0,2-2 μm) bezeichnet. Sie sind nicht myelinisiert und besitzen eine sehr langsame Leitgeschwindigkeit von 0,3-1,6 m/sek (18,119,144).

1.1.4.1 Axon

Das Axon wird durch das Axolemm, einer aus 7-8 nm dicken, asymmetrischen, dreilagigen Oberflächenmembran, begrenzt (12,164). Das innere Blatt der Membran ist dicker und wird von der äußeren, etwas dünneren Lage durch einen elektronenmikroskopisch klar erkennbaren Raum getrennt (12,50,49,173).

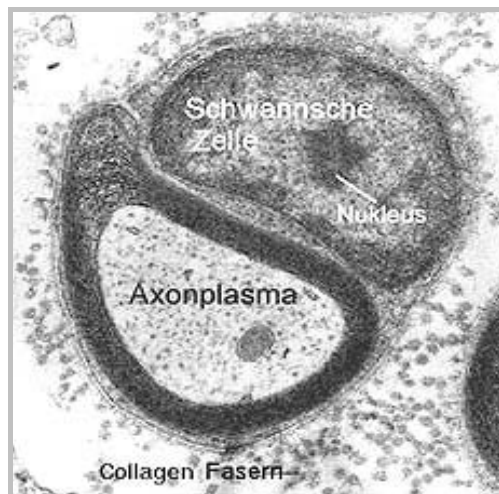


Abb. 2:
Elektronenmikroskopische
Aufnahme des Axons mit
angrenzender Schwann-Zelle

Die an das Axon angrenzende Schwann-Zelle schmiegt sich mit einem Abstand von 10-20 μm an die äußere Lage des Axolemm an (Abb. 2). Das axonale Zytoplasma, auch Axoplasma genannt, enthält Mitochondrien, glattes Endoplasmatisches Retikulum sowie Peroxisomen und Vesikel mit darin enthaltenen Neurotransmittern (119). Darüber hinaus sind hier verschiedene zytoskelettale Bestandteile wie Mikrofilamente, Neurofilamente und Mikrotubuli zu finden. Von diesen Strukturen wird ein dreimensionales Gitterwerk, das Zytoskelett der Nervenzelle, gebildet, welches für die Stabilität und Formerhaltung der Zelle sowie den axonalen Transport verantwortlich ist (30,119).

Axoplasmatische Mikrotubuli, auch Neurotubuli genannt, stellen sich in Form von zylindrischen Röhren mit einem Durchmesser von 24-25 nm dar (11). Da zwar der Großteil der Mikrotubuli in stabiler Form besteht, sie aber unter pathologischen Bedingungen, bzw. in bestimmten Fixierlösungen (91), auch wieder in ihre einzelnen Tubulinmoleküle zerfallen können, sollten die nachfolgenden Zahlenangaben kritisch betrachtet werden. Die Anzahl der Mikrotubuli kann von 50 bis 100 pro μm^2 in nicht-myelinisierten und 10-20 pro μm^2 in großen myelinisierten Axonen variieren (11,113). Funktionell gesehen sorgen die Mikrotubuli für eine Stabilisierung der Zelle und sind maßgeblich am intrazellulären Transportsystem beteiligt (1).

Da das Axon weder Ribosomen noch einen Golgi-Apparat beinhaltet, müssen Makromoleküle im Zellkörper synthetisiert und mit Hilfe dieses Transportsystems weitergeleitet werden. Ist man früher noch davon ausgegangen, dass die vom Zellkörper abgesonderten „Wachstums Substanzen“ (Zitat Scott 1906, 119) ausschließlich vom Zellkörper aus das Axoplasma abwärts wandern, so weiß man heute, dass es sowohl einen anterograden, wie auch retrograden axoplasmatischen Transport gibt (19). Es wird angenommen, dass durch den retrograden Transport Informationen und Organellen zurück zum Zellkörper befördert werden. Auf diese Weise können zum Beispiel bei juvenilen Nerven Wachstumsfaktoren am Nervenende aufgenommen und retrograd zum Zellkörper transportiert werden, wo diese Einfluss auf die Reifung des Neurons nehmen (119).

Der intraaxonale Transport kann mit unterschiedlicher Geschwindigkeit vor sich gehen. Diese kann von 0,25 mm/Tag (*langsamer* Transport) bis hin zu über 400 mm/Tag (*schneller* Transport) variieren. Die meisten Organellen und Substanzen, wie beispielsweise Mitochondrien und Vesikel sowie membranassoziierte Proteine und Enzyme, mit einem hohen molekularen Gewicht werden durch den *schnellen* axoplasmatischen Transport befördert. Darüber hinaus sind Komponenten, die eine synaptische Funktion gewährleisten ebenfalls in den schnellen Transport involviert. Der *langsame* axoplasmatische Transport betrifft die Beförderung zytoskelettaler Elemente, wie Neurofilamente, Mikrotubuli und Actin. Es ist ein *one-way*-Prozess der mit dem Abbau der Neurofilamente durch Calcium-abhängige Proteasen und die Depolymerisierung von Mikrotubuli in der Axonperipherie endet (119,163).

Neben den Mikrotubuli stellen die, zu der Gruppe der Intermediärfilamente gehörenden, Neurofilamente eine weitere Komponente des axonalen Zytoskeletts der Nervenzelle dar. Durch ihre quervernetzte Anordnung wirken sie als Hauptstabilisatoren und machen die Zelle gegenüber Druck- und Zugkräften widerstandsfähiger (79). Zwischen dem Axolemm und der Schwann-Zell-Membran ist ein 15 bis 20 nm breiter Spalt, der periaxonale Raum (119,164). Dieser periaxonale Raum wird von einem myelin-assoziierten Glykoprotein (MAG) in der

periaxonalen Membran der Schwann-Zellen aufrechterhalten. Experimente an Mäusemutanten, die kein MAG exprimieren, zeigten, dass diese auch keinen periaxonalen Raum ausbilden können und die Schwann-Zell-Membran mit dem Axolemm verschmilzt.

1.1.4.2 Schwann-Zelle

Schwann-Zellen leiten sich von der Neuralleiste ab und wandern mit dem wachsenden Axon nach distal. Sie liefern auto- und parakrine Wachstumsfaktoren für die Entwicklung und die Regeneration von Nervenfasern (119).

In einem vollständig entwickelten peripheren Nerv sind Schwann-Zellen sowohl mit nicht-myelinisierten wie auch myelinisierten Fasern assoziiert (85). In myelinisierten Fasern nimmt die Schwann-Zelle eine flache, trapezoide Form an, die sich spiralig um das Axon legt (164). Durch diese spiralige Anordnung und die Verschmelzung der Membranen der Schwann-Zelle ergeben sich zwei voneinander getrennte Zytoplasma-Anteile: ein adaxonaler, dünner, innerer und ein abaxonaler, dicker, äußere, Zytoplasma-Anteil. Dazwischen liegt, das die Marks-substanz bildende kompakte Myelin.

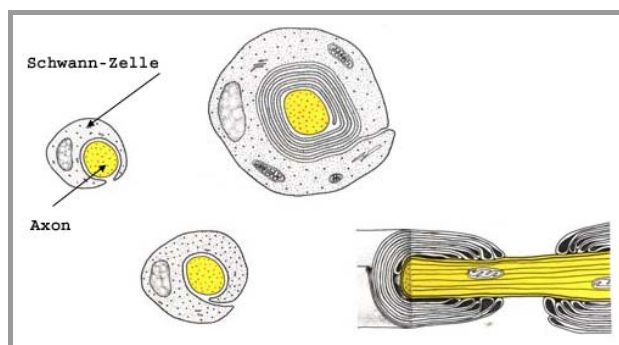


Abb. 3:
Myelinisierung des Axons

Die Myelinisierung einer Nervenfasern beginnt mit dem Anlagern eines Axons an eine Schwann-Zelle. Um dieses schiebt sich nun die Schwann-Zelle soweit herum, bis sie das Axon vollständig umwickelt (Abb. 3). In dem Bereich der Überlappung der Schwann-Zell-Oberflächenmembranen verbinden sich diese beiden über „tight junctions“ zu dem so genannten inneren Mesaxon (164). Die Menge an Zytoplasma im Bereich der inneren Schwann-Zell-Lamelle ist, in Relation gesehen, um kleine Axone wesentlich größer als um große Axone. Es enthält einzelne Organellen und eine beträchtliche Anzahl an membranassoziierten Partikeln. Die äußeren zytoplasmatischen Schichten der Myelinscheide lagern sich durch den Prozess der Spiralisierung zu dem äußeren

Mesaxon aneinander, welches, wie auch das innere Mesaxon, an einer Stelle über eine „tight junction“ verbunden ist (164).

1.1.4.3 Myelinscheide

Betrachtet man einen, beispielsweise mit Toluidin-Blau gefärbten, Nervenquerschnitt, erscheint das Axon sanft gefärbt, umgeben von einer homogenen, dunklen, ringförmigen und gut abgrenzbaren Myelinscheide. Sie entsteht durch die Verschmelzung der Schwann-Zell-Membranen und stellt sich elektronenmikroskopisch als periodisch lamelläre Struktur dar. Die Myelinsubstanz besteht in seiner Trockensubstanz biochemisch zu 75% aus Lipiden und zu 25% aus Proteinen (119,164). Den größten Anteil der Lipide stellen Cholesterol, Phospho- und Glykolipide dar, welche hier in einem weitaus höheren Maße vorhanden sind, als in anderen Zellmembranen. Die Myelinscheide besteht aus alternierend zylindrisch angeordneten Schichten von Lipiden und Proteinen (141,142). In diesem Arrangement sind die Lipide in Form einer bimolekularen Doppelmembran angeordnet (Abb. 4), die zwischen einlagigen Schichten von Proteinen zu liegen kommt. In dieser orientieren sich die hydrophoben Enden der Lipide nach innen und die hydrophilen Anteile nach außen. Mehr als die Hälfte der im Myelin enthaltenen Proteine bestehen aus dem 28.000 bis 30.000 Dalton Glycoprotein P0. Die andere Hälfte setzt sich aus den Proteinen subd P1 und P2 zusammen. Während die Zusammensetzung der Lipide im Myelin des peripheren Nervensystems dem des Zentralen sehr ähnelt, unterscheidet sich die Proteinzusammensetzung im peripheren Myelin merklich. So enthält das zentrale Myelin zum Beispiel kein P0 Protein und ein dem P1 Protein wahrscheinlich homologes 18.000 Dalton *basic* Protein (119).

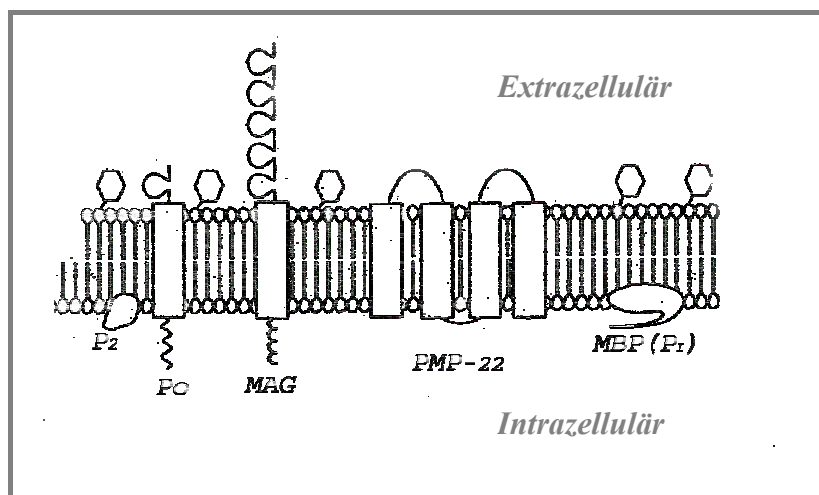


Abb. 4:
Schematische Darstellung der
Myelinscheidenmembran-Proteine
(Zeichnung von Georg Trogadis)

Die Myelinscheiden sind für die elektrische Funktion des peripheren Nervensystems unerlässlich, da sie als biologisch elektrischer Isolator fungieren und somit die saltatorische Erregungsleitung gewährleisten (119).

Der oben bereits beschriebenen Myelinisierung von Axonen gehen die Differenzierung und Produktion einer Basalmembran durch die Schwann-Zelle voraus. Ihre Bedeutung zeigt sich im Falle einer fehlerhaften Basalmembran, die eine mangelhafte Myelinisierung des Axons zur Folge hat. Zusätzlich bildet die Schwann-Zell-Membran myelinisierter Fasern ein myelin-assoziiertes Glykoprotein (MAG) aus (156). Es wird angenommen, dass durch die Interaktion dieser Proteine mit dem Schwann-Zell-Zytoskelett der Prozess der Verlängerung und Rotation der Schwann-Zelle, während der Myelinisierung, erleichtert wird (167).

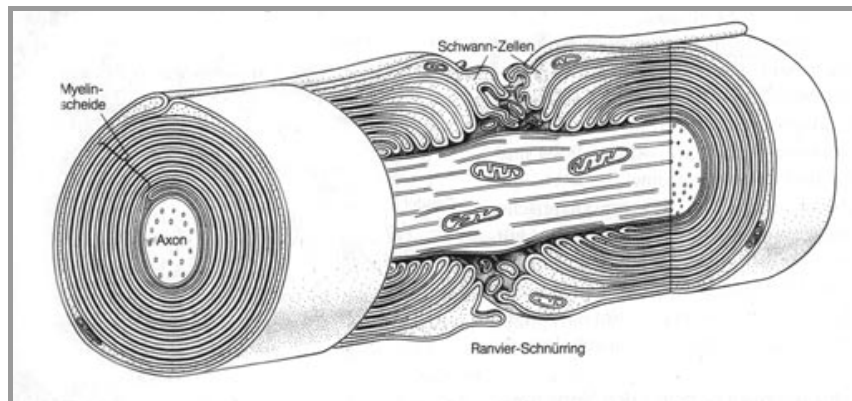


Abb. 5:
Anordnung der Myelinscheide um das Axon
(aus G. Czihak et al.
"Biologie", Springer)

Die Länge einer Schwann-Zelle beträgt im Embryonalstadium zwischen 30 und 60 μm und kann sich, nach Anlagerung an das Axon, bei einer adulten, myelinisierten Faser bis auf 1mm verlängern. Kommt es zu einer Verletzung des peripheren Axons, einer axonalen Degeneration oder Demyelinisierung, verkürzt sich die Schwann-Zelle wieder auf eine Länge von 30 bis 60 μm . Dieses zeigt sich dann in der Kürze der Internodien bei sich regenerierenden und remyelinisierenden Nervenfasern (119).

Das Myelin ist von zytoplasmatischen Kanälen bzw. Taschen, den Schmidt-Lantermanschen-Kerben (SLK) (96), die den ab- und adaxonalen Plasmaraum miteinander verbinden, durchzogen. Das Zytoplasma in den Kerben enthält membrangebundene dichte Bestandteile, Lysosomen und vereinzelt Mikrotubuli, welche die Faser umkreisen. Diese Mikrotubuli sind wahrscheinlich mit dem Transport und der Stabilisierung der Zytoplasmaspirale des Myelins assoziiert (62). Die Anzahl der SLK's korreliert mit dem Durchmesser des Axons; je größer das Axon desto mehr Kerben sind in der Schwann-Zelle vorzufinden.

Es wird angenommen, dass sie eine Art Kommunikationsweg zwischen dem inneren und äußeren Schwann-Zell-Zytoplasma herstellen (119). Darüber hinaus wird ihnen eine metabolische Rolle

bei der Passage von Metaboliten durch die Myelinscheide zum Axon zugesprochen. Des Weiteren tragen die SLK's, durch die in ihnen vorkommenden zytoskelettalen Bestandteile, möglicherweise zur strukturellen Erhaltung des Myelins bei. (24,128,155).

2 ENTNAHME PERIPHERER NERVEN

Die Entnahme von Nervenbiopsien stellt eine sinnvolle Ergänzung zur Diagnostik von Neuropathien dar. In Kombination mit klinischen sowie elektrophysiologischen Messungen, sind Nervenbiopsien eine, für die Diagnostik von peripheren Neuropathien, sich zunehmend etablierende Methode (94,147).

2.1 Auswahl eines geeigneten Peripheren Nervens

Das Entfernen eines Nervensegments zu diagnostischen Zwecken sollte immer mit einer minimalen Traumatisierung des Organismus einhergehen (104). Diesbezüglich haben DYCK und LOFGREN in einer Studie die optimale Lage zur Entnahme einer Nervenbiopsie ermittelt und die zu beachtenden Faktoren aufgelistet (45). Bei der Auswahl des Nervs sollten folgende Kriterien beachtet werden: es sollte sichergestellt sein, dass der Nerv von der pathologischen Veränderung betroffen ist, wobei es sich dabei nicht um den am stärksten betroffenen Nerv handeln muss. Des Weiteren sollte er eine konstante Lokalisation aufweisen, einfach identifizierbar und gut zugänglich sein (94). Routinemäßig werden bevorzugt gemischte Nerven, d.h. Nerven mit sowohl sensorischen als auch motorischen Anteilen, biopsiert (94). Meist wird ein distaler Nerv favorisiert, da bei diversen Neuropathien die längsten Fasern am stärksten betroffen sind. Beim Menschen erfüllt der Wadennerv (N. suralis) diese Kriterien, beim Tier ist es der N. fibularis communis (Hund, Katze) (153) bzw. der N. accessorius (Pferd) (70).

2.2 Topographie des Nervus fibularis communis und des Ramus ventralis

Da für die folgende Arbeit ausschließlich Biopsate aus dem N. fibularis communis beim Hund und dem R. ventralis des N. accessorius beim Pferd entnommen wurden, werden nur diese in ihrer anatomischen Lage beschrieben.

2.2.1 Anatomische Lage des Nervus fibularis communis

Als direkte Fortsetzung des Truncus lumbosacrale tritt der N. ischiadicus über die Incisura ischiadica major an den Oberschenkel, zieht über den Hals des Femurkopfes hinweg und kommt an den Mm. gemelli und der Sehne des M. obturatorius internus zu Liegen. In der Mitte des Oberschenkels, beim Pferd bereits auf der Höhe des Hüftgelenkes, teilt sich der Nerv in die beiden Hauptnerven der Hintergliedmaßen N. fibularis und N. tibialis. Diese verlaufen anfänglich eng miteinander verbunden zwischen M. biceps femoris und M. semitendinosus in der Tiefe der Hinterbacken zur Kniekehle, wo sie sich trennen.

Der N. fibularis teilt sich in den N. fibularis communis, N. fibularis superficialis und den N. fibularis profundus auf. Der N. fib. com. zieht über die laterale Seite des M. gastrocnemius hinweg zur Lateralfläche des Unterschenkels, wo er zwischen der cranialen und caudalen (Hund/Katze) bzw. der mittleren und caudalen (Pferd) Portion des M. biceps femoris an die Oberfläche tritt. Hier teilt er sich in N. fibularis superficialis und den N. fibularis profundus. Der N. fib. com enthält motorische Fasern, die den M. abductor caudalis (Hund), sowie den M. fib. brevis (Katze) versorgen. Außerdem versorgt er sensorisch als N. cutaneus surae lateralis die Haut an Kniegelenk und Unterschenkel. (110)

2.2.2 Anatomische Lage des Ramus ventralis des N. accessorius

Der N. accessorius innerviert als motorischer Hauptanteil des N. vagus den M. trapezius, M. sternocephalicus und M. cleidocephalicus. Es lassen sich aufgrund des Ursprungsortes zwei Anteile unterscheiden: die Radices craniales und spinales, die sich in ihrem Verlauf zum N. accessorius vereinigen. Im Bereich der Flügelgrube des Atlas teilen sich die spinalen Anteile des Nervs in ein Ramus dorsalis und einen Ramus ventralis. Der Ramus dorsalis zieht zwischen M. cleidocephalicus und M. splenius capitis caudodorsalis und gibt ausschließlich beim Fleischfresser einen Zweig an die Pars cervicalis des M. cleidocephalicus ab. Der Stamm des Nervs zieht zum M. trapezius und innerviert dort die Pars cervicalis und Pars thoracalis.

Der Ramus ventralis verläuft dagegen in caudoventraler Richtung brustwärts und versorgt den M. sternocephalicus sowie die Pars mastoidea und Pars occipitalis des M. cleidocephalicus (110).

2.3 Biopsie Technik

Vor der Durchführung einer Nervenbiopsie sollte geklärt werden, ob die Notwendigkeit besteht ein vollständiges Nervenstück zu entnehmen, oder ob eine Faszikularprobe ausreichend Auskunft über eine vorherrschende Neuropathie geben kann. Die Wissenschaft ist darüber allerdings geteilter Meinung. Wurde von DYCK und LOFGREN vorgeschlagen die Technik der Faszikularbiopsie aufgrund von geringeren sensorischen Komplikationen anzuwenden (44), so wird gegenwärtig wegen der ohnehin schon sehr geringen Menge des zur Verfügung stehenden Materials von dieser Technik abgeraten (3,108,114). Bei fokalen Geschehen, wie Vaskulitis, Amyloidose oder malignen Infiltrationen, wäre durch die Entnahme von einzelnen Faszikeln die diagnostische „Ausbeute“ ohne Zweifel eingeschränkt. Auch bei Erkrankungen, die das Epineurium betreffen, ist mit einer Faszikularbiopsie oft nur eine unzureichende Aussage zu treffen, da bei dieser Methodik kein oder nur ein geringer Anteil an Epineurium verfügbar ist (104). Dem entgegen wird immer wieder behauptet, dass die Rate postoperativer Komplikationen durch die Technik der Faszikularbiopsie, gegenüber der „whole trunk“ Biopsie, um einiges reduziert wird (94). Auch von SLATTER wird die Faszikularbiopsie beim Hund für die Methode der Wahl gehalten, da hierbei der Nervenstamm intakt bleibt und somit die neurologischen und elektrophysiologischen Ausfälle minimal sind. Bei der Entnahme eines Nervensegments ist es besonders wichtig darauf zu achten, dass es vermieden wird den Nerv in irgendeiner Form durch ein Quetschen, Zerren oder Austrocknen zu schädigen (2,147). Um dies zu vermeiden kann an beiden Enden eine Klemme gesetzt werden um das Nervensegment zwischen ihnen zu schützen (2). Es sollte generell eine Biopstat von mindestens 3 cm Länge entnommen werden (44,147).

2.4 Weiterverarbeitung der Nervenbiopsie

Nach chirurgischer Entnahme eines Nervenabschnitts sollte dieser, nach Entfernung von umgebendem Fettgewebe, so schnell wie möglich in ein Fixativ übergeführt werden (35). Damit der Nerv sich dabei nicht aufrollt, kann er auf einem kleinen Stück Pappe befestigt, oder ein Gewicht an seinem distalen Ende angebracht werden (88,147). Zur Fixierung der Probe werden in der Literatur verschiedene Möglichkeiten vorgeschlagen. Nachfolgend werden überwiegend die Verfahren erörtert, die zu einem befriedigenden Ergebnis an Kunststoff-Semidünnschnitten führen und daher in der vorliegenden Arbeit angewendet wurden.

Es werden Fixierungen in einer Konzentration von 2,5 bis 4 %igem Glutaraldehyd beschrieben mit Fixierungszeiten von 0,5 bis 24 Stunden. Während SCHRÖDER eine initiale Fixierung mit

0,1M Soerensen Phosphatpuffer versetztem 3 %igem Glutaraldehyd vorschlägt (147), DOUGLAS et al. (35) initial in 4 %igem Glutaraldehyd mit 0,1 mol/L Cacodylate Puffer für 4 Stunden fixiert, empfehlen BRAUND et al. (94) eine Waschung der Probe über Nacht in MILLONING'S Phosphat-Puffer bei 4 °C und eine einstündige Nachfixierung in 1 %igem Osmiumtetroxid. Auch die Möglichkeit einer 2,5 %igen gepufferten Glutaraldehydfixierung, kombiniert mit einer 2 %igen Osmiumtetroxid Nachfixierung wird befürwortet (173). Die fixierte Probe wird zur Herstellung von Semidünnschnitten in Epoxid-Harz eingebettet (14).

Für eine Paraffineinbettung werden Fixierungen je nach Art des Gewebes in Konzentrationen von 4 %igem bis 15 %igem Formalin angegeben (5). Zum Beispiel wird empfohlen die Probe in 7 %igem Formalin für 24 bis 48 Stunden, je nach Dicke der Probe, zu fixieren. Anschließend folgen: eine Dehydrierung der Probe durch eine aufsteigende Alkoholreihe; Ersatz der Dehydratationslösung mit Xylol; Imprägnierung mit Paraffin.

2.5 Färbemethoden zur Darstellung peripheren Nervengewebes

Durch die Möglichkeit Nervengewebe anfärben und spezifischer darzustellen zu können, ist der Diagnostik eine hilfreiche Technik an die Hand gegeben worden, um Neuropathien sichtbar zu machen und sie zu klassifizieren. Durch die selektive Anfärbung spezifischer Gewebekomponenten ist es dabei möglich, gezielt nach pathologischen Veränderungen im Nervengewebe zu suchen.

Die Mehrheit der klassischen Färbemethoden der Neurohistologie basieren auf der Verwendung von Silberimprägnierungen, die bereits im 19. Jahrhundert ihren Ursprung fanden. Laut SILVER (151) verwendete KRAUSE bereits im Jahr 1843, als erster, Silbernitratimprägnierungen zur Darstellung von Nervengewebe. Diese Methodik erfuhr in den folgenden Jahren vielfältige Modifikationen und wird heute noch zur Identifizierung spezifischer Gewebekomponenten des zentralen und peripheren Nervensystems eingesetzt. Hierbei lassen sich im ZNS Nisslsubstanz, Neurone und Zellkerne sowie, im PNS, die Axone anfärben. Des Weiteren stehen der heutigen Neurohistologie noch weitere Techniken zur Verfügung, welche spezifische Aussagen über die unterschiedliche Zusammensetzung des Nervengewebes und deren pathologische Veränderungen erlauben. Die Einsatzmöglichkeiten werden dabei weitgehend durch die Art der Einbettung vorgegeben. So wurden die meisten Färbungen ursprünglich für Paraffinschnitte entwickelt und finden heute auch noch Anwendung in der Routinediagnostik (21). Durch die Einführung von

Gefrierschnitten sowie Epon-Semidünnschnitten mussten allerdings weitere Färbetechniken entwickelt werden, durch die sich spezifische Gewebekomponenten detaillierter darstellen lassen.

2.5.1 Färbungen von Paraffinschnitten

Die in der Routinediagnostik am häufigsten verwendete Übersichtsfärbung ist die Hämalaun-Eosin-Färbung (HE-Färbung) (2,5,94,104). Sie hat die Eigenschaft eine große Anzahl unterschiedlicher zellulärer und extrazellulärer Gewebekomponenten darzustellen und ist besonders zur Identifizierung von fokalen interstitiellen Läsionen, insbesondere von entzündlichen Geschehen, geeignet (147,173). Sie hat sich für die Evaluierung von Nerventumoren und interstitiellen Läsionen, wie Vaskulitiden, Granulomen und Amyloid bewährt (2,4,99). Um selektiv das kollagenhaltige Bindegewebe bzw. darin enthaltene Mastzellen hervorzuheben, werden an Paraffinschnitten bevorzugt Masson-Trichrom- und Toluidin-Blau-Färbungen angewendet (5,119).

Was die Darstellung der eigentlichen Nervenfasern betrifft, sind die Möglichkeiten der Paraffinschnittfärbungen dagegen eingeschränkt. Der begrenzende Faktor ist dabei die Paraffineinbettung, durch welche das Gewebe nicht in seinem feinstrukturellen und chemischen Originalzustand erhalten bleibt.

Eine klassische Methode zur Darstellung von myelinisierten wie auch nicht-myelinisierten Axonen ist die Silberfärbung nach Bodian (5,16,119,191). Diese lässt sich kombinieren mit Luxol-Fast-Blue (5,32,90,191), wodurch sich Neurofilamente sowie fibrilläre Strukturen des Axons (Bodian) darstellen und gleichzeitig Kernstrukturen hervorheben und Myelinscheiden (Luxol-Fast-Blue) markieren lassen (119,191). Eine klare Darstellung von Axon und Myelinscheide an Paraffinschnitten wurde am besten mit Hilfe von immunhistologischen Färbungen für Axone (mit z.B. Neurofilament-Antikörper) und Myelinscheiden-Bestandteile (mit z.B. Anti-S100 Antikörper) erreicht (5,87,191,124). Es hat sich allerdings erwiesen, dass die Färbung an Paraffinschnitten von peripherem Nervengewebe einige Nachteile beherbergt, da zwar eine Topologie aber keine Darstellung des Feinaufbaus möglich ist. Wie bereits erwähnt, ist das nicht so sehr eine Folge der Färbung als vielmehr der Art der Einbettung. Die Erfahrungen haben gezeigt, dass für eine spezifische Beurteilung der Myelinscheide, Färbungen an Epon®-Semidünnschnitten wesentlich geeigneter sind (88).

2.5.2 Färbungen von Kunstharz-Semidünnschnitten

Die Eponschnittfärbung bietet die Möglichkeit genaue Aussagen über die Population von groß- und kleinkalibrigen myelinisierten Nervenfasern zu treffen und erlaubt durch ihre konstante Schnittdicke eine Bewertung der Menge an Myelin und dessen relativer Dicke in Bezug auf das Axonkaliber. Diese Methode erlaubt dem Untersucher zusätzlich aus dem gleichen Material Ultradünnschnitte zu erstellen, falls ultrastrukturelle Informationen benötigt werden, ohne dass eine erneute Einbettung nötig ist (2,88,92).

Bei der Färbung ist zu beachten, dass es sich bei der vorliegenden Probe um nicht-hydrophiles Material handelt. Für eine schnelle, kontrastreiche Färbung, ohne das Epon vorher entfernen zu müssen, werden Farbstoffe mit einem stark alkalischen pH benötigt, da saure Medien nicht in das Harz eindringen können. So reduziert sich das Spektrum der anwendbaren Färbungen auf die basischen Farbstoffe (14,15). Zu diesen zählen z. B. Azur II, basisches Fuchsin, Safranin O und Toluidinblau O. Ihre Lösungen weisen einen pH zwischen 9,5 und 11 auf.

Als routinediagnostische Übersichtsfärbung hat sich bei Semidünnschnitten die Anfärbung mit Toluidinblau durchgesetzt (14,92,104,119,170). Sie eignet sich besonders für primär osmiumfixiertes oder mit Glutaraldehyd-Osmiumtetroxid doppeltfixiertes Gewebe. Durch diese Technik werden neben den basophilen zusätzlich alle osmiophilen Strukturen intensiv dargestellt. Hierzu gehören insbesondere Lipoprotein enthaltende Bestandteile wie Markscheiden oder auch Erythrozyten (14). Darüber hinaus lassen sich mittels dieser Methode bindegewebige Bestandteile, Schwann-Zellen und andere Zellen mit ihren Zellkernen, sowie die Myelinscheide in verschiedenen Blauschattierungen anfärben. Die metachromatischen Strukturen wie Mastzellgranula und Bestandteile des Endoneuriums stellen sich in rotvioletten Farbtönen dar. Das Axon bleibt bei dieser Technik annähernd ungefärbt.

Für diese Färbung eignet sich eine Gegenfärbung mit basischem Fuchsin, wodurch es zu einer rötlichen Anfärbung der azidophilen Strukturen der Faseranteile der Zwischenzellsubstanz kommt (14,15). Darüber hinaus hat sich als weitere Übersichtsfärbung die Methode mit Methylenblau-Azur II bewährt (150). Sie präsentiert sich farblich ähnlich der Toluidinblau-Färbung und kann ebenso mit Fuchsin oder besser noch mit Safranin kombiniert werden (14,92).

Ein wichtiger diagnostischer Indikator für pathologische Vorgänge im PNS ist die Myelinscheide. Hieraus ergibt sich ein hohes Interesse daran, diese gezielt hervorzuheben. Durch die oben erwähnten Techniken wird eine intensive Anfärbung der Myelinscheide zwar gewährleistet, allerdings kann durch die zusätzliche Einfärbung des umliegenden Gewebes, eine

genauere Beurteilung der Myelinsubstanz erheblich erschwert werden. Um dies zu umgehen wurden Versuche mit myelinspezifischer Immunohistochemie gemacht (157,190). Da diese Verfahrenstechnik mit einem erheblichen technischen Aufwand verbunden ist und es zu keiner einheitlichen Darstellung führt, ist ihr Einsatz sowohl für die Routinediagnostik als auch für experimentelle Studien sehr eingeschränkt (92).

Der Einsatz von myelinspezifischen Diaminobenzidinhydrogenperoxiden (DAB) erbrachte dagegen eine schnelle und spezifische lichtmikroskopische Darstellung der Myelinscheide. Diese wird hierbei in einem tiefen Dunkelbraun angefärbt, ohne dass dabei andere histochemisch vom Myelin abweichende Strukturen zu Verwechslungsmöglichkeiten führen. Der Hintergrund bleibt, neben höchstens blass dargestellten Blutgefäßen, dabei nahezu ungefärbt.

Ähnlich wie bei der Färbung mit DAB präsentieren sich mit Paraphenyldiamin behandelte Nervenquerschnitte. Auch bei dieser Methode hebt sich die Myelinscheide als dunkelbrauner Ring von einem blassen, nahezu ungefärbten Hintergrund ab (4,172,175). Mit diesen Techniken ist sowohl eine gute Grundlage für die allgemeine lichtmikroskopische Beurteilung, als auch für die morphometrische, quantitative Bildanalyse von Veränderungen myelinisierter Nervenfasern geschaffen worden.

Die quantitative Erfassung von nicht-myelinisierten Fasern bleibt im Wesentlichen der Elektronenmikroskopie vorbehalten. Nur die Anwendung der Bodiantchnik an Semidünnschnitten lässt eine praktikable Detektion von unmyelinisierten Axonen in der Lichtmikroskopie zu (32). Hierbei handelt es sich, wie oben erwähnt, um eine histochemische Methode. Durch diese auf die Neurofilamente beschränkende Färbung wird zwar eine numerische Erkennung von axonalen Verlusten ermöglicht (32), quantitative Aussagen sind dahingegen nicht möglich. Um die ursprünglich für Paraffinschnitte entwickelte Technik auf Eponschnitte anwenden zu können sind zwei Faktoren zu beachten: die Unterlassung einer Osmiumtetroxid-Postfixierung und das Entfernen des Epons vor der Inkubation mit der Färbelösung (95,98). Danach wird nach der üblichen Methode mit Bodian gefärbt und nach Bedarf mit Luxol gegengefärbt. Lichtmikroskopisch stellen sich die nicht-myelinisierten Fasern dann als schmale dunkelbraune Spots dar, die sich clusterartig um einen Schwann-Zell-Kern anordnen.

Durch die Gegenfärbung mit Luxol kommt es zwar zu einer Anfärbung von Myelinscheiden, welche aber mit Zunahme des Durchmessers immer blasser und unregulärer wird. Dies kann allerdings auch die Folge einer Myelinauflösung aufgrund schlechter vorheriger Osmierung sein (32). Myelinisierte Fasern mit einem geringen Durchmesser zeigen eine klare Blaufärbung ihrer

Myelinscheide. Dies hat den Vorteil, dass sich kleinkalibrige myelinisierte Fasern somit gut von großen nicht-myelinisierten Fasern unterscheiden lassen. Des Weiteren kommt es nur zu einer blassen Hintergrundfärbung, Schwann-Zell-Profile sowie Kollagenpockets bleiben ungefärbt (32).

Da nicht-myelinisierte Fasern in viele Kleinfaser-Neuropathien involviert sind (10,72), ist diese Methode eine hilfreiche Erweiterung der Routinepraxis indem sie zumindest einen groben lichtmikroskopischen Überblick gewährleistet. Hierdurch kann eine gezielte Auswahl von Bereichen besonderen Interesses für die Elektronenmikroskopie vorgenommen werden (32).

Mit Hilfe der modernen immunohistochemischen Technik ist es inzwischen möglich, Zielstrukturen pathologischer Vorgänge auf molekularer Ebene darzustellen. Da diese Methoden aber nicht zur Erweiterung des morphometrischen Analysespektrums führen werden sie im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht weiter besprochen.

3 MORPHOMETRIE IN DER HISTOPATHOLOGIE

Der Begriff Morphometrie lässt sich von den griechischen Wörtern μορφή (Gestalt) sowie μέτρον (Maß) herleiten und bezeichnet die Wissenschaft, die sich mit Messen von Strukturen beschäftigt.

3.1 Allgemeine Gesichtspunkte der Morphometrie

Das allgemeine Ziel der Morphometrie besteht darin, bestimmte Strukturelemente mittels Parameter wie Anzahl, Länge, Fläche, Oberfläche, Durchmesser sowie Volumen zu vermessen. Synonyme zu Morphometrie sind quantitative Stereologie (171), Stereometrie (135) und quantitative Mikroskopie. Die Morphometrie basiert auf stereologischen Axiomen, die aus Gesetzen der geometrischen Wahrscheinlichkeit und integralen Geometrie hergeleitet und durch sie begründet werden. Anwendung findet die Morphometrie auf makroskopischer, lichtmikroskopischer und elektronenmikroskopischer Ebene, z.B. im Bereich der Neurologie (121,161,180), zur Erfassung morphologischer Parameter des endokrinen Systems (76) und zur Ermittlung quantitativer Nierenveränderungen (81,111).

Mit Hilfe der Licht- und Elektronenmikroskopie können Zellen, Gewebe und Zellkompartimente zweidimensional vermessen und über die ermittelten Daten Aussagen über die dreidimensionalen

Parameter dieser Strukturen getroffen werden (179). Das hierfür angewandte Verfahren wird unter dem Begriff Stereologie zusammengefasst und ermöglicht qualitativ getroffene Aussagen zu quantifizieren und zu objektivieren.

Die Stereologie ist ein indirektes Messverfahren, d.h. mit Hilfe direkt gemessener 1- und 2-dimensionaler Strukturparameter können im Folgenden die entsprechenden 2- und 3-dimensionalen Daten errechnet werden (111). Hierfür werden die Basisparameter durch Zählung von Trefferpunkten (P), Durchstosspunkten (I), Anzahl von Partikelanschnitten (N) und Gesichtsfeldern (n) sowie die Messung von Abständen zwischen Testlinien oder Testpunkten ermittelt. Mit Hilfe dieser Basisdaten lassen sich die morphometrischen Hauptparameter wie Volumendichte $V_v(x/B)$ und Flächendichte $A_A(x/B)$ bestimmen. Diese geben jeweils das Volumen (V) bzw. die Anschnittsfläche (A) eines Strukturelementes (x) in einer Bezugsfläche A(B) bzw. in einem Bezugsvolumen V(B) an. Von diesen Hauptparametern lassen sich wiederum kombinierte Parameter wie die numerische Flächendichte $N_A(x/B)$ und die numerische Volumendichte $N_v(x/B)$, die die Anzahl der Partikel (x) in einer Bezugsfläche A(B) bzw. Bezugsvolumen V(B) angeben, ableiten (111).

3.2 Morphometrische Methoden

3.2.1 Axiom von DELESSE

Dem französischen Geologen DELESSE (1847) gelang als erstem die Beschreibung einer praktisch durchführbaren, quantitativen-stereologischen Methode. An einem Gestein mit verschiedenen makroskopisch abgrenzbaren Mineralschichten bestimmte er die unterschiedlichen Volumenanteile. Durch Übertragung der unterschiedlichen Schichtgrenzen auf ein durchsichtiges Papier und ein anschließendes Ausschneiden und Wiegen der selbigen, konnte er Rückschlüsse auf deren Volumina ziehen (31). Mitte des 19. Jahrhunderts formulierte er daraus das DELESS'sche Prinzip, welches besagt, dass das Verhältnis des Volumens V_v einer einzelnen Komponente eines Objektes sich zum Volumen des gesamten Objektes wie die Anschnittsfläche A_A der Komponente zur Gesamtanschnittsfläche des Objektes verhält (178).

$$V_v = A_A$$

Dieses Prinzip findet in der Medizin allerdings nur bei isotropen Organen, d.h. Organen die überall die gleiche Zellenverteilung aufweisen, Anwendung. Bei nichtisotropen Organen kann die Aussage Volumendichte gleich Flächendichte nicht getroffen werden.

3.2.2 Axiom von ROSIWAL

Wenige Jahre später (1898) formulierte ROSIWAL sein Prinzip zur Bestimmung der Volumendichte eines Objektes. Verwendet man ein Testraster mit parallelen, äquidistanten Linien und legt dieses Raster über die Fläche eines orthogonalen Anschnittes eines Kubus (wie z. B. einen licht- bzw. elektronenmikroskopischen Schnitt), so lässt sich nachweisen, dass die Volumendichte mit der Gesamtlänge der Testlinien über den Anschnittsflächen der Strukturelemente x , bezogen auf die Gesamtlänge der Testlinien über der Bezugsfläche identisch ist (131).

$$V_{V(x/B)} = \frac{\sum L_{(x)}}{\sum L_{(b)}}$$

3.2.3 Axiom von THOMSEN und GLAGOLEFF und das Punktzählverfahren

THOMSEN und GLAGOLEFF modifizierten diese Aussage (1930,1933) von ROSIWAL, indem sie ein quadratisches Testpunktraster über den orthogonalen Anschnitt legten. Jeder Testpunkt entspricht einem Flächenwert d^2 , so kommt das Zählen der Punkte des Testrasters über den Anschnittflächen des Strukturelementes x (Trefferpunkte) der groben Planimetrie der Strukturanschnittsflächen gleich. Das Verhältnis: „Trefferpunkte über Anschnittsflächen des Strukturelementes x zu Trefferpunkten über der Bezugsfläche“ kann bei einer ausreichend großen Anzahl von Messungen dem Verhältnis: „Anschnittsfläche des Strukturelementes x /Bezugsfläche“ gleichgesetzt werden (73,166).

$$\frac{\sum P_{(x)}}{\sum P_{(B)}} = \frac{A_{(x)}}{A_{(B)}} = A_{A(x/B)}$$

Aus dem Axiom von Delesse folgt:

$$V_{V(x/B)} = \frac{\sum P_{(x)}}{\sum P_{(b)}}$$

Somit kann durch das Zählen von Trefferpunkten - auch Punktzählverfahren oder Treffermethode genannt - auf die Volumendichte geschlossen werden. Dieses Verfahren stellt die Basis der geometrischen Morphometrie dar (111).

Die geometrische, bzw. planimetrische Morphometrie ist eine Methode, mit deren Hilfe sich einfache Parameter wie Strecken, Flächen und Umfänge schnell bestimmen lassen. Seit der Histologie automatische Bildanalysegeräte zur Verfügung stehen, hat dieses Verfahren an Bedeutung gewonnen. Die wichtigsten planimetrischen Parameter sind: Länge, Fläche und Umfang von Strukturanschnitten, Formfaktoren, mittlere Wandbreite von Hohlorganen, mittlerer Durchmesser, mittlerer Radius und mittlere Dicke von Strukturelementen (21).

3.3 Bildanalytische Verfahren der Morphometrie

Für eine höhere Präzision und einen geringeren technischen sowie zeitlichen Arbeitsaufwand stehen der Morphometrie inzwischen semi- und vollautomatische Bildanalyseysteme zur Verfügung. KIRSCH (1957) hat im Rahmen der Bildanalyse als erster die Computertechnik eingesetzt (89), welche dann weitergeführt und verfeinert wurde (58,106,111,127,152). Für die digitale Bildanalyse werden Bilder in Rasterpunkte und homogene Bildelemente zerlegt. Die Auflösungsqualität unterliegt daher der Bildpunktanzahl des Bildschirms, wobei sich mit steigender Pixelanzahl die Qualität der Bildauflösung erhöht (21).

Die Möglichkeit Bilder in Kleinsteinheiten zu zerlegen bildet die Grundlage für die digitale Bildanalyse und das dafür notwendige Image Processing. Dieses wird zur Optimierung des Erscheinungsbildes für den menschlichen Betrachter und zur Vorbereitung der Bilder für anschließende Messungen von Merkmalen und Strukturen benötigt.

Hierfür stehen unterschiedliche Techniken der Bildbearbeitung zur Verfügung. Der Ausgangspunkt der meisten Techniken stellt die Modifizierung des Grauwertbildes zu einem Binärbild dar. Das Binärbild basiert auf einer reinen JA-NEIN-Information und besteht aus einer Gruppe von Pixel mit selektierten Gemeinsamkeiten. Jeder Pixel kann beispielsweise einen unterschiedlichen Grauwert aufweisen. Wird nun mit Hilfe einer Grauwertskala eine bestimmte Helligkeitsschwelle festgelegt, bekommt jedes Pixel, welches diese Schwelle erreicht oder

überschreitet den Wert 1, jedes andere wird mit 0 gleichgesetzt. Das Ziel der Binärisierung ist es bestimmte Merkmale zu separieren um Zählungen und Messungen durchführen zu können (136). Bei der Selektion bestimmter Pixel bedient man sich eines so genannten *Lokalen Operators*. Dieser besteht aus einer Bildpunktmatrix, welche über ein Bild gelegt wird und dieses nach definierten Bildpunkten (z.B. dem hellsten Pixel) durchrastert.

Um aussagekräftige Daten zu erhalten ist der entscheidende Schritt der digitalen Bildanalyse die Segmentierung eines Bildes (182). Der Selektionsprozess konzentriert sich dabei auf das gesamte Bild und mit Hilfe eines *Globalen Operator* kann nach bestimmten strukturellen Elementen in einem Bild gesucht werden.

Mit dieser Technik steht der diagnostischen Pathologie eine Methode zur Seite mit der zusätzliche Informationen aus einem histologischen Präparat gewonnen und subjektive Eindrücke überprüft und objektiviert werden können.

3.4 Einsatz der Morphometrie im Bereich des PNS

In den letzten 20 Jahren ist die Morphometrie zu einer essentiellen Auswertungsmethode zur Identifizierung peripherer Neuropathien herangewachsen. Sie ist zu einem wertvollen Werkzeug der Erkennung von pathologischen Veränderungen, Entwicklungen, Alterung und Regenerationsprozessen des peripheren Nervens geworden und hat durch neue computergestützte Analyseverfahren erheblich an Effizienz und Genauigkeit gewonnen (22,130,172,).

Ein häufiges Ziel neuromorphologischer Studien, die sich mit physiologischen, experimentellen oder pathologischen Gegebenheiten beschäftigen, ist die Ermittlung der Größe von myelinisierten Nervenfasern (69). Diese Größe kann durch unterschiedliche geometrische Parameter, z.B. den Durchmesser (maximaler Durchmesser, minimaler Durchmesser), den Umfang sowie die Fläche einer Nervenfaser, dargestellt werden. Bei qualitativ hochwertigen histologischen Schnitten lassen sich diese Messgrößen auch auf das Axon anwenden und machen es somit möglich Aussagen über die Myelinscheidendicke zu treffen. Aus den gemessenen Parametern können nun durch einfache mathematische Kalkulationen weitere Daten, wie die Flächenverhältnisse von Myelinscheide und Axon, berechnet werden (69). Der absolute Faserdurchmesser (D) wird laut ZIMMERMANN (192) durch $D = d + 2m$ dargestellt, wobei d den Axondurchmesser und m die Myelinscheidendicke bezeichnet.

Anhand dieser Parameter kann auf struktureller Ebene auf diverse pathologische und physiologische Vorgänge geschlossen werden. Die Berechnung des Faserdurchmessers und der

Myelinscheidendicke machen es beispielsweise möglich, funktionelle Aussagen über die elektrische Leitungsgeschwindigkeit einer Faser bzw. eines Faserbündels zu treffen (125). In zahlreichen Studien konnten enge Wechselwirkungen zwischen Axondurchmesser und der Dynamik des Aktionspotentials nachgewiesen (67) und somit das Axonkaliber als wichtigster Parameter der Leitungsgeschwindigkeit dargestellt werden (20,62,82,105,132,139).

Weitere Erkenntnisse über die bioelektrischen Eigenschaften eines peripheren Nervens liefert die Myelinscheidendicke. Sie wirkt als Isolator und nimmt Einfluss auf den Ionenaustausch und daraus resultierende Spannungs- und Strömungsverläufe (25,66).

Die Myelinscheide wird quantitativ meist als relative Myelinscheidendicke dargestellt, die sich aus dem Verhältnis von Axondurchmesser zu absolutem Faserdurchmesser ergibt. Dieser Wert wird, seit seiner Einführung durch BEAR und SCHMITT (1937), als G-Ratio ($G\text{-ratio} = d/D$) bezeichnet (7) und ist als Indikator der saltatorischen Reizleitung von großer Relevanz (132). Den Zusammenhang von Myelinscheidendicke und Fasergröße betreffend gab es zunächst kontroverse Ansichten. So wurde die Wechselbeziehung zwischen Myelinscheidendicke und Axondurchmesser von einigen Autoren als direkt linear, (61,64,65), von anderen wiederum als parabelförmig verlaufend (11,80) beschrieben. Einige Autoren gingen davon aus, dass kleine Fasern von einer relativ dickeren Myelinscheide umgeben sind, also eine kleinere G-Ratio aufweisen (86,160,174). Andere wiederum behaupteten, dass kleine Fasern mit einer relativ schmalen Myelinscheide versehen und daher mit einer großen G-Ratio assoziiert sind (9,62). Neuere Studien haben jedoch eindeutig aufgezeigt, dass sich Axon und Myelinscheide asynchron entwickeln (43,145,146). Das Axon erreicht seine maximale Dicke zu einem früheren Zeitpunkt als die Myelinscheide, was im Laufe der Nervenentwicklung eine signifikante Verschiebung des Verhältnisses von Axondurchmesser zu Myelinscheidendicke hervorruft. Dieses Wissen über die physiologische Entwicklung von Axon und Myelinscheide ist wichtig zur Vermeidung von Fehlinterpretationen und für die Erkennung oder den Ausschluss von entwicklungsbedingten Störungen der Myelinscheide wie z.B. nicht-progressive Myelinscheidenwachstumsstörungen und progressive Neuropathien mit Hypomyelinisierung (43,145,146).

Gerade in den letzten Jahren gab es ein wachsendes Interesse an der Entwicklung neuer Methoden zur morphoquantitativen Analyse von Nervenquerschnitten. Während man sich anfangs auf manuelle (36) bzw. semi-automatische Methoden (48) stützte, wird heute eher die vollautomatische Analyse histologischer Schnitte favorisiert.

So haben z.B. DUNCAN (1934) sowie FERNAND und YOUNG (1951) (36,54) noch manuell die Durchmesser zweier Nervenfasern vermessen und deren Mittelwert als Fasergrößenwert

genommen. Der Arbeitsaufwand der manuellen Methode stand in starker Abhängigkeit von der Dichte und Größe der Faserpopulation eines Nervenquerschnittes. Aus diesem Grund wurden in großen experimentellen Forschungsarbeiten zu wenige Nervenprofile ausgemessen, um eine Aussage über das gesamt vorhandene Material treffen zu können. Bei der manuellen Methodik wirkt sich außerdem die unvermeidbare Voreingenommenheit des menschlichen Betrachters auf die Auswahl der zu messenden Faserprofile aus (130). Durch Einführung eines semi-automatischen Systems, konnte sowohl die Anzahl der Messungen um ein vielfaches gesteigert als auch der Arbeits- und Zeitaufwand erheblich reduziert werden (37). Bei der semi-automatischen Bildanalyse wird mit einem hochauflösenden Digitalisiertablett, einem damit verbundenen Auswertungsrechner und einer Ergebnisanzeigeinheit gearbeitet. Hierbei wird die auszuwertende Struktur mit einem Fadenkreuzcursor umfahren und vermessen, oder durch Einspielen des Fadenkreuzcursors in ein Mikroskop direkt beim Betrachten gemessen. Die hierbei ermittelten Daten können nun von der entsprechenden Software des Rechners ausgewertet und gespeichert werden. Der schwierigste Schritt zur Bildanalyse, nämlich die Objektsegmentierung, verbleibt hier in der Hand des menschlichen Beobachters (21,53). Wie sich am Beispiel des Nervus opticus erwiesen hat, ist auch dieses semi-automatisierte Verfahren nur begrenzt einsetzbar für große Faserpopulationen (93). Es müssen auch bei adäquatem Analyseschema und trotz eines vernünftigen Zeitkostenfaktors noch zu viele Arbeitsschritte interaktiv durchgeführt werden.

Aus dieser Notwendigkeit heraus wurden in den 80er Jahren automatisierte Bildanalyssysteme eingeführt und somit die Effizienz durch die Reduktion des manuellen Arbeitsaufwands optimiert. Im besten Fall findet eine völlig selbständige Bildverarbeitung, vom Segmentieren bis hin zum Vermessen des Objektes, statt. Dieses Bildanalyseverfahren resultiert in einer zuverlässigen Ermittlung der absoluten Faseranzahl von myelinisierten Axonen, Verteilung von Myelinscheidendicken und -flächen sowie Faserdurchmessern, -flächen und Faserumfängen (130).

Trotz zahlreicher technischer Hilfsmittel verbleibt bei allen morphometrischen Untersuchungen ein wichtiger Faktor in der Hand des Untersuchers. Es ist die Wahl eines geeigneten und repräsentativen, beziehungsweise sachlichen und vorurteilsfreien Auswahlschemas (69). In der heutigen Zeit wurde mehr und mehr erkannt, dass die Durchführung einer unvoreingenommenen bzw. vorurteilsfreien morpho-quantitativen Datenermittlung von allgemein geltender Relevanz ist, weshalb Verfahren, die sich mit den Grundlagen der Fehlervermeidung beschäftigen, unter den Wissenschaftlern ein immer größer werdendes Interesse hervorrufen (69,103,137). In der

englischen Literatur wird in diesem Zusammenhang das Wort *bias* verwendet, welches direkt übersetzt für Vorurteil steht, hier aber im Sinne von möglicherweise auftretenden Untersuchungsfehlern durch Anwendung eines ungeeigneten Probenauswahl- und -beurteilungsverfahrens und/oder Auswahl eines nicht-repräsentativen Untersuchungsmaterials zu deuten ist.

Bei einer Sampling-Strategie für myelinisierte Nervenfasern müssen daher einige Grundprinzipien beachtet werden. Für eine vergleichende Studie dürfen nur Proben von Tieren einer Spezies, Rasse, evtl. Zuchtlinie, eines Geschlechtes und Alters verwendet werden (69). Den Altersfaktor betreffend konnte innerhalb einer Studie an peripheren Nervenfasern von Ratten nachgewiesen werden, dass durchaus altersbezogene Größenveränderungen existieren. Insbesondere wurde eine rapide Zunahme der durchschnittlichen Axongröße in den ersten drei Monaten beobachtet (60).

Bei einer Auswertung peripherer Nervenfasern ist kein gesamter *whole-trunk*-Querschnitt erforderlich, sondern ein Teilschnitt (perpendikulär zur Nervenhauptachse) kann ausreichend für eine Evaluierung (71) sein. Bei der Auswahl des Teilstücks müssen allerdings die lateralen und longitudinalen Variationen der Nervenfasern (59), sowie die Axon- und Nervenstammverzweigungen bedacht werden. Unter Berücksichtigung einer lateralen Asymmetrie werden entweder nur Proben aus einer Seite des Körpers entnommen, oder man wählt die Proben für experimentelle Untersuchungen zufällig aus beiden Körperhälften aus. Um den longitudinalen Varianzen gerecht zu werden, sollten die Teilstücke immer an der gleichen standardisierten Stelle, oder ebenfalls nach dem Zufallsauswahlverfahren entlang des Nervenverlaufs, entnommen werden.

Eine weitere Fehlerquelle kann von der Heterogenität der Faserverteilung innerhalb eines Nervenquerschnittsprofils ausgehen (168). Nervenfasern unterschiedlicher Kalibergrößen können sich in einem Querschnitt variabel anordnen. So liegen große Fasern vorzugsweise axial, während die Kleinkalibrigen oft peripher im Nervenfaserbündel lokalisiert sind (69). Werden nun ausschließlich aus axialen Bereichen des Bündels Ausschnitte entnommen, kommt es zu einer Verzerrung der Messergebnisse zugunsten der großen Nervenfasern. Um dies zu vermeiden sollte sichergestellt werden, dass jeder Bereich des Nervenquerschnitts mit der gleichen Wahrscheinlichkeit getroffen wird (29,60,97). Dies kann mit einem biologisch-quantitativen und morphologisch-systematischen, zufälligen Auswahlverfahren erreicht werden. Es ist einem unabhängigen Zufallsverfahren vorzuziehen, da es die Auswahlvarianzen und damit auch die notwendige Anzahl der auszuwertenden Probenausschnitte reduziert und tendenziell eine geringere Fehlerquote erzielt (77,168). Hierbei wird randomisiert ein Startausschnittsfeld ausgewählt, um von dort in festgelegten Abständen in die nächsten auszuwertenden Felder zu

springen. Durch dieses Verfahren haben alle Strukturen die gleiche Chance getroffen zu werden und ein subjektiver Einfluss durch eine *biased* Feldauswahl durch einen Untersucher entfällt. Ein weiterer wichtiger Punkt zur Vermeidung von Fehlerquellen betrifft das direkte Messen von Nervenfasern. Die Ursache für falsche Messergebnisse kann ihren Ursprung bereits vor der eigentlichen Messung haben. Sie können durch eine nicht-plane Schnittvorlage, oder durch Schrumpfung der Nervenfaszikels hervorgerufen werden. Ersteres lässt sich durch eine gerade Ausrichtung und korrekte Orientierung des Nervenstrangs vor dem Schneiden vermeiden. Zusätzlich sollte die Probe in gestreckter Form fixiert werden (68). Die Gewebeschrumpfung während der Fixierung ist kaum zu vermeiden und liefert das Hauptproblem bei einem Vergleich von Ergebnissen unterschiedlicher Studien (69). Es hat sich gezeigt, dass es durch unterschiedliche Fixative, durch Autolyse sowie auch durch die Osmolalität von Fixierungslösungen zur Beeinflussung des Axons und seiner Umgebung kommt (115,116). Um mit diesen schwer vermeidlichen Fehlerquellen fertig zu werden ist es wichtig darauf zu achten, dass eine einheitliche Weiterverarbeitung der Nervenproben gewährleistet ist und beim Vergleich unterschiedlicher Studien diesem Faktor eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt wird (69).

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1 ZIELSETZUNG

Objekt der vorliegenden Untersuchungen ist die adäquate Gewinnung und Aufbereitung von Probenmaterial eines peripheren Nervens. Diese findet ihren Anfang bei der Entnahme der Nervenbiopsie und erstreckt sich über die Fixierung bis hin zur Schnitttechnik.

Der Einsatz verschiedener Färbetechniken soll über eine stark selektive Kontrastierung einzelner Gewebekomponenten eines Nervenquerschnittes die computergestützte morphometrische Erfassung und Auswertung erleichtern. Diesem Arbeitsschritt folgt die Erarbeitung eines sinnvollen Algorithmus der Bildverarbeitung. Hierbei soll nach einer geeigneten Lösung der Bildzusammensetzung, interaktiven Bildbearbeitung und letztendlich der Bildanalyse gesucht werden.

Dabei gilt es insbesondere abzuklären in wie weit es möglich ist, quantitativ messbare Veränderungen zu verifizieren und zu konkretisieren. Dafür sollen nicht nur Teilbereiche eines Nervenquerschnitts, sondern das Gesamtbild von Nervenfaserbündeln einer qualitativen und quantitativen Analyse unterzogen werden.

Anhand der ermittelten Daten wird die Repräsentativität der Einzelprobe, bezogen auf die Faserheterogenität innerhalb eines Nervens, überprüft. Aus diesen Lerndatensätzen können später Normwerte einer gesunden Basispopulation differenziert und zum Vergleich mit potentiell erkrankten Tieren herangezogen werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Untersuchungsmaterial

Das Untersuchungskollektiv erstreckt sich auf das laufende Sektions- und Einsendungsmaterial des Instituts für Tierpathologie über die Jahre 2001 bis 2002. Der Großteil der Überweisungen stammte dabei aus den Universitäts-Tierkliniken der LMU. Es wurde nicht vorselektiertes Autopsiematerial unterschiedlicher Spezies, Rassen, Altersgruppen, Todeszeitpunkte und Krankheitsbilder sowie unterschiedlichen Geschlechts ausgewählt. Insgesamt wurden im Rahmen dieser Doktorarbeit Nervenproben von 38 Tieren untersucht.

Die Verteilung der einzelnen Tierarten ist der Tabelle 1 zu entnehmen.

Tab. 1: Autopsiematerial in chronologischer Reihenfolge

Tier-Nr:	Tierart	Rasse	Alter/ Jahre	Krankheitsbild
1	Pferd	Warmblut	8 Jahre	Abmagerung, Anämie
2 (N. acc.)	Pferd	Vollblut (Araber)	2,5 Monate	Colitis X
2 (N. fib. com.)	Pferd	Vollblut (Araber)	2,5 Monate	Colitis X
3	Pferd	Warmblut	9 Jahre	unbekannt
4	Pferd	Fohlen	Abort im 9. Mon.	Sectio
5	Pferd	Fohlen	Abort im 11. Mon.	Abort
6	Pferd	Warmblut	12 Jahre	Podotrochlose
7	Pferd	Kaltblut	12 Jahre	Colitis X
8	Pferd	Vollblut	18 Jahre	Cushing
10	Katze	EHK	1 Jahr	Desorientierung, Lähmung
11	Katze	EHK	2,5 Wochen	unbekannt
12	Katze	EHK	unbekannt	/
13	Hund	Retriever-Mischling	2,5 Jahre	Idiopathische Epilepsie
14	Hund	Labrador-Mischling	11 Jahre	unbekannt
15	Hund	Mischling	16 Jahre	Hodentumor
16	Hund	Schäfer-Mischling	7 Jahre	Knochentumor
17	Hund	Dogge	6 Jahre	Lähmung der Hintergliedmaße
18	Esel		Abort im 10. Mon.	Abort
19	Hund	Mischling	6 Jahre	Vit.-D-Intoxikation
20	Maus			gesund
21	Hund	DSH	4 Monate	Achalsie
22	Hund	Mischling	9 Jahre	Epilepsie
23	Hund	Jack Russel Terrier	7 Jahre	/
24	Hund	Bernadiner	2 Tage	/
25	Katze	Hauskatze	5 Monate	Hypothermie
26	Hund	Wolfshund	3 Tage	Streckkrämpfe
27	Pferd	Warmblut	Abort im 6. Mon.	Abort
28	Pferd	Quarter Horse	10 Jahre	Malignes Lyphom
29	Hund	Chihuahua	8 Wochen	Diarrhoe, Opisthotonus
30	Pferd	Traber	3 Wochen	Ataxie, Festliegen
31	Hund	Yorkschie Terrier	3 Monate	Hypoglykämie, Fettleber-Syndrom
32	Hund	Rhodesian Ridgeback	3 Jahre	Eitrige Meningitis
33	Pferd	Traber	19 Jahre	Luftsackmykose
34	Katze	EHK	7 Wochen	Apathie
35	Katze	EHK	15 Jahre	Durchfall
36	Hund	Terrier-Mix	11 Monate	Narkosezwischenfall
37	Pferd	Warmblut	Abort 320. Tag	Abort
38	Katze	EHK	3 Jahre	Lyphom

2.2 Aufbereitung des Untersuchungsmaterials

Für die folgenden Untersuchungszwecke wurde der N. fibularis communis (N. fib. com) für die Spezies Hund und Katze und ein Hautast des N. accessorius (N. acc.) für das Pferd als Nerv der Wahl ausgewählt. Zur Gegenüberstellung wurde einem Pferd zusätzlich der N. fib. com. entnommen.

Zur Entnahme des N. fib. com. wurden die Tiere speziesübergreifend in Seitenlage verbracht und ein Schnitt über dem Fibulaköpfchen gesetzt (74). Der Nerv zieht hier unter der Faszie nach proximokaudal und liegt dabei über dem Musculus gastrocnemius (110). Zur Entnahme des Ramus ventralis des N. accessorius beim Pferd konnte man sich etwa eine Hand breit hinter den Ganaschen orientieren und zwei Finger breit oberhalb der Drosselrinne einen zu ihr parallelen Schnitt setzen (123). Es wurde dabei ein ca. 5 cm langes Teilstück des entsprechenden Nervens im Sinne eines whole Trunks entnommen.

Für sämtliche Manipulationen am Nervengewebe diente ein Besteck aus der Augenchirurgie.

Um ein Austrocknen zu verhindern, wurde der Nerv nach der Entnahme umgehend in eine mit kardioplegischer HTK-Lösung (Custodiol®, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH) angefeuchtete Gaze gewickelt und zur weiteren Bearbeitung unverzüglich ins Labor verbracht. Mit Hilfe einer Kopflupe (PEAK Head Lupe) konnte die Feinpräparation vorgenommen werden. Hierfür wurde ein Nervenende mit einer Augenpinzette fixiert und das den Nerv schlauchartig umgebende epineurale Fettgewebe mit einer zweiten Pinzette gegriffen und abgezogen. Anschließend wurde mit Hilfe einer Mikro-Schere das bindegewebige Epineurium eingeschnitten und durch sanften Zug abgelöst. Es war darauf zu achten das darunter liegende Perineurium der einzelnen Nervenfaserbündel nicht zu beschädigen. Danach wurden die einzelnen Nervenfaserbündel voneinander separiert. Durch schwenken der Probe in Glycinpuffer konnte das Bindegewebe kollagenolytisch aufgelockert und somit das Ablösen des Fett- und Bindegewebes sowie die Trennung der Faszikel erleichtert werden. Nach dem Schwenken in Glycinpuffer musste die Probe allerdings gut in Waschlösung ausgewaschen werden, um eine fortschreitende Auflösung des Gewebes zu vermeiden.

Zur Fixierung wurden die einzelnen Faszikel in 2,5%iges Glutaraldehyd für 1-2 Stunden, bei Raumtemperatur, übergeführt. Für die Fixierungszeit galt die Regel, je älter das Tier, desto kürzer verblieb die Biopsie im Fixativ. Nach diesem Arbeitsschritt wurde die Probe in eine Waschlösung verbracht und für 24 Stunden im Kühlschrank stehen gelassen. Stellte man die Probe in ihrer Waschlösung auf einen Rüttler, konnte diese Zeit 4 Stunden verkürzt werden.

Fixierungslösung

2,5% Glutaraldehyd

Glutaraldehyd 25% (Serva GmbH, Nr. 23115)	10 ml
ad Sörensen-Phosphatpuffer	100 ml

Waschlösung

0, 2 m gepufferte D (+)-Saccharose:

D (+)-Saccharose (AppliChem, Nr. A1125)	6,84 g
ad Sörensen-Phosphatpuffer	100 ml

Fixierungsprotokoll:

Schritt	Lösung	Dauer	Arbeitsvorgang	Inkubationsbedingungen
1	2,5%iges Glutaraldehyd	1-2 Stunden	fixieren	Zimmertemperatur
2	Waschlösung	24 Stunden	waschen	Kühlschrank
2	oder	4 Stunden	waschen auf dem Rüttler	Zimmertemperatur

Nach der Fixierung erfolgte das Zuschneiden der Probe. Hierfür wurde ein 2 bis 5 mm langes Stück an einem Ende abgesetzt und verworfen. Von dieser neuen Anschnittstelle ausgehend wurden mit Hilfe einer Rasierklinge die Nervenfaserbündel, quer zum Faserverlauf, in 3 mm lange Teilstücke zerlegt und in die Waschlösung verbracht. Die so entstandenen Teilstücke wurden mit Osmiumtetroxid für 2 Stunden nachfixiert, dreimal mit Sörensen-Phosphatpuffer gespült und anschließend in einer aufsteigenden Acetonreihe dehydriert. Danach folgte eine einstündige Infiltration des Gewebes mit einer Glycidäther 100-Mischung (Epon) und Aceton sowie zwei weitere Infiltrationen mit der Glycidäther 100-Mischung für je eine halbe Stunde bei Raumtemperatur. Die Proben wurden dann längs in Flacheinbettungsformen verbracht, mit Glycidäther aufgefüllt und für 48 Stunden bei 60° C auspolymerisiert.

Einbettungsprotkoll:

Schritt	Lösung	Konzentration	Dauer	Inkubationsbedingungen
1	Osmium	1 %	2 Std.	Kühlschrank mit Deckel
2	Waschlösung	nach Protokoll	3x spülen	
3	Aceton	50 %	3x spülen	
4	Aceton	70 %	10 Min.	Kühlschrank mit Deckel
5	Aceton	70 %	10 Min.	Kühlschrank mit Deckel
6	Aceton	90 %	10 Min.	Kühlschrank mit Deckel
7	Aceton	90 %	10 Min.	Kühlschrank mit Deckel
8	Aceton	100 %	20 Min.	Kühlschrank mit Deckel
9	Aceton	100 %	20 Min.	Kühlschrank mit Deckel
10	Aceton	100 %	20 Min.	Zimmertemperatur mit Deckel
11	Aceton 100% / Glycidäther-Mischung	1:1	1 Std.	Zimmertemperatur ohne Deckel
12	Glycidäther-Mischung	Pur	30 Min.	Zimmertemperatur ohne Deckel
13	Glycidäther-Mischung	Pur	30 Min.	Zimmertemperatur ohne Deckel

Herstellungsprotokolle für die Lösungen der Epoxidharzeinbettung:

1 %iges Osmium

Saccharose (AppliChem, Nr. A1125)	0,45 g
Aqua bidest.	1,0 ml
0,1 m HCL (Merck, Nr. 1.09060.1000)	2,0 ml
Veronalacetat-Puffer	2,0 ml
2%iges Osmium	5,0 ml

Veronalacetat-Puffer (ph-Wert 10,3)

5,5-Diäthylbarbitursäure Natriumsalz (Merck, Nr. 6318)	1,47 g
Natriumacetat (Merck, Nr. 6267)	0,97 g
Aqua bidest.	50 ml

2 %iges Osmium Tetroxid

Osmiumtetroxid (Plano W. Plannet GmbH)	1 g
Aqua bidest.	50 ml

Glycidäther-Mischung

Lösung A:	Glycidäther 100 (Serva, Nr. 21045)	38,82 g
	2-Dodeceny succinic acid-4- anhydrid (Serva, Nr. 10755)	5,3 g
Lösung B:	Glycidäther 100 (Serva, Nr. 21045)	61,80 g
	Methylnacidanhydrid (Serva, Nr. 29452)	56,34 g

Mischverhältnis:

Lösung A	41,20 g
Lösung B	75,00 g
2,4,6-Trisdimethylaminomethylphenol (Serva, Nr. 36975)	1,5 ml

Nach der Aushärtung wurden die Eponblöckchen mit Hilfe einer Fräse (Fa. Cambridge Instruments GmbH, Nussloch; Reichert-Jung TM 60) getrimmt und anschließend Semidünnschnitte mit einer Dicke von 1 µm mit einem Ultra-Mikrotom (Cambridge Instruments GmbH; Ultracut Reichert-Jung) im rechten Winkel zum Nervenfaserverlauf angefertigt.

2.3 Färbeversuche zur selektiven Darstellung der Myelinscheide

Sämtliche Nervenproben für die Färbungen entstammen dem oben genannten Untersuchungsmaterial. Es handelt sich hierbei um stichprobenartig zufällig ausgewähltes Probenmaterial von 4 unterschiedlichen Tierspezies; eine fünfte (Huhn) wurde nur zum Vergleich mit einbezogen. Es wurden von jeder Probe und für jede der zu testenden Färbungen 10 aufeinander folgende Semi-Dünnschnitte hergestellt.

Tab. 2: Untersuchungskollektiv Färbeversuch

Tier-Nr.	Tierspezies	Färbung
39	Huhn	Azur II; Perjodsäure; Woelke-Schröder; Diaminobenzidine; p-Phenylendiamin;
38	Katze	Azur II; Perjodsäure; Woelke-Schröder; Diaminobenzidine; p-Phenylendiamin;
20	Maus	Azur II; Perjodsäure; Woelke-Schröder; Diaminobenzidine; p-Phenylendiamin;
16	Hund	Azur II; Perjodsäure; Woelke-Schröder; Diaminobenzidine; p-Phenylendiamin;
3	Pferd	Azur II; Perjodsäure; Woelke-Schröder; Diaminobenzidine; p-Phenylendiamin;

2.3.1 Azurblau II-Safranin-Färbung

Die Färbung mit Azurblau II-Safranin (AS-Färbung) wird in der hiesigen Fakultät routinemäßig als Übersichtsfärbung von Nervenbiopsien angewendet und bedarf keiner weiteren Vorbehandlung der Semidünnschnitte.

a) Herstellung der Lösungen:

Borax-di-Natriumtetraborat

Borax-di Natriumtetraborat (Na₂B₄O₇ Merck, Darmstadt, Nr.6306) 1 g
Aqua dest. 100 ml

Azur II

Azur II (Merck, Darmstadt, Nr 9211) 1 g
Konzentriertes Formalin 2-3 Tropfen

Das Borax wird in Aqua dest. gelöst, Azur II hinzu gegeben und ca. 2 Stunden gerührt. Anschließend werden die 2-3 Tropfen Formalin hinzugefügt und die Lösung vor Gebrauch filtriert.

Safranin O

Safranin O (Chroma 1B 463) 1 g
Di-Natriumtetraborat wasserfrei z. A. (Na₂CO₃Merck 6306) 100 ml
Aqua dest. 100 ml
Saccharose (Merck 7653) 4 g
Konzentriertes Formalin 1-2 Tropfen

Das Borax wird in Aqua dest. gelöst, Safranin und Saccharose hinzugeben und gut gerührt. Die Lösung wird für mindestens 12 Stunden stehen gelassen. Danach werden die 2-3 Tropfen Formalin zugegeben und die Lösung vor Gebrauch filtriert.

b) Färbeprotokoll:

Schritt	Lösung	Dauer	Arbeitsvorgang	Inkubationsbedingungen
1	Azurblau II	20-25 Sek	färben	Zimmertemperatur
2	Aqua dest.		waschen	
3	Safranin	15 Sekunden	färben	Zimmertemperatur
4	Aqua dest.		waschen	

Die Färbung wurde auf der Wärmeplatte bei ca. 80° C durchgeführt

2.3.2 Perjodsäure-Schiff-Reaktion

Die PAS-Reaktion wird in der Regel als histochemische Reaktion an Paraffin-Schnitten angewendet. Für eine Färbung an Eponeingebetten Proben, muss zuerst, mittels Natronlauge, das Harz entfernt werden. Durch das Verfahren mit Hilfe der PAS-Reaktion werden Polysaccharide, Muko- und Glykoproteine, Glykolipide, ungesättigte Fette und Phospholipide erfasst.

a) Herstellung der Lösungen

Natronlauge in Äthanol

Natronlauge, NaOH	3-4 Pellets
Absoluter Alkohol, Äthanol	überschichten

Die Lösung stehen lassen und erst verwenden, wenn diese sich braun verfärbt hat.

Perjodsäure 1%

Perjodsäure (H ₅ JO ₆ , Merck 524)	3 g
Aqua dest.	300 ml

SO₂-haltige Spülflüssigkeit

0,1 n Salzsäure (HCl Merck, 1.09060.1000)	40 ml
Leitungswasser	800 ml
Kaliumdisulfid-lsg. 10% (Merck 5057)	40 ml

Schiffsche Reagenz

Für 600 ml	
Parasanilin (basisches Fuchsin)(Merck 4041)	3 g
Siedendes Wasser	600 ml

Das Schiffsche Reagenz 5 Minuten stehen lassen und in regelmäßigen Abständen aufschütteln, dann Abkühlen lassen auf ca. 50 °C und in eine Flasche mit Schliffkolben filtrieren und mit 0,1 n Salzsäure (HCl Merck, 1.09060.1000) 60 ml versetzen. Die Lösung weiter Abkühlen lassen auf ca. 25° C und sie dann mit 3 g Kaliummetabisulfit (Kaliumdisulfit) (Merck 5057) versetzen. Bei ca. 24° C wird die Mischung stehen gelassen, bis sie sich entfärbt. Danach wird diese verschlossen im Kühlschrank aufbewahrt.

b) Färbeprotokoll:

Schritt	Lösung	Dauer	Arbeitsvorgang	Inkubationsbedingungen
1	NaOH-Aethanol-Gemisch	30 Minuten	entfernen des Harzes	Zimmertemperatur
2	Überführen in Wasser durch sinkende Alkoholreihe			
3	1%ige Perjodsäure	3 Minuten	oxidieren	Zimmertemperatur
4	Leitungswasser	5 Minuten	spülen	
5	Aqua dest.		4 x kurz spülen	
6	Schiff'sches Reagenz	15 Minuten	färben	Zimmertemperatur
7	Natriumbisulfatlösung		kurz spülen	Zimmertemperatur
8	Leitungswasser	15 Minuten	spülen	
9	Eindeckeln der Schnitte			

2.3.3 Woelke-Spielmeyer-Schröder

Da auch diese Färbung normalerweise an entparaffinierten Schnitten durchgeführt wird, bedurfte es wieder einer Vorbehandlung der Semidünnschnitte mit Natronlauge, um das Epoxidharz heraus zu lösen (siehe *Färbeprotokoll* PAS-Färbung).

*a) Herstellung der Lösungen:***2,5%ge Eisenalaun-Lösung**

Ammoniumeisen-III-Sulfat-Dodecahydrat (Merck Nr. 3776)	2,5 g
Aqua dest.	250 ml

Gesättigte Hämatoxilinstammlösung

Hämatoxilin kristallin (Merck 4302)	20 ml
Äthanol	200 ml

Gesättigte Lithiumcarbonat-Lösung

Lithiumcarbonat (Merck 5671)	6,2 g
Aqua dest.	400 ml

Schröder'sche Hämatoxilinlösung

Hämatoxilinstammlösung	3 ml
Aqua dest.	100 ml
Lithiumcarbonatlösung	3 ml

b) Färbeprotokoll:

Schritt	Lösung	Dauer	Arbeitsvorgang	Inkubationsbedingungen
1	Natronlauge-Aethanol-Gemisch	30 Minuten	entfernen des Harzes	Zimmertemperatur
2	Aethanol 100%		spülen	
3	Aqua dest		spülen	
4	2,5%ige Eisenalaun-Lösung	12 Stunden	beizen	Wasserbad bei 25° C
5	Aqua dest.		2 x kräftig spülen	
6	Schröder'sche Hämatoxilin-Lsg.	7 Stunden	färben	Wasserbad bei 25° C
7	Es folgte eine aufsteigende Alkoholareihe und die Einschließung über Xylol in Eukit ®			

2.3.4 Diaminobenzidin

Für die Färbung mit Diaminobenzidin (DAB) mussten die Semidünnschnitte auf mit Gelatine bzw. 3-Amino-propyl-3-ethoxysilan (TES) beschichtete, Objektträger verbracht und auf der Wärmeplatte getrocknet werden. Danach wurde das Epoxidharz mit äthanolischer Natronlauge aus dem Schnitt gelöst (siehe *Färbeprotokoll* PAS-Färbung).

a) Herstellung der Lösungen:

DAB 0,05%

DAB 0,05 g
Aqua dest. wässrige Lösung

Die Lösung wurde 1-2 Tage vor Gebrauch angesetzt. 4-5 Pellets NaOH wurden in einer gut verschließbaren Färbeküvette mit wasserfreiem Äthanol überschichtet. Wenn sich die Lösung braun verfärbt ist sie anwendbar.

0,01 %ges Wasserstoffperoxid

Wasserstoffperoxid (Merck 7298) gebrauchsfertig

b) Färbeprotokoll:

Schritt	Lösung	Dauer	Arbeitsvorgang	Inkubationsbedingungen
1	Natronlauge-Aethanol-Gemisch	30 Minuten	entfernen des Harzes	Zimmertemperatur
2	Aethanol 100%		spülen	
3	Aqua dest		spülen	
4	0,05%ige DAB-Lösung	20 Minuten	färben	Zimmertemperatur
5	Aufsteigende Alkoholreihe zu je	2 x 3 Minuten	dehydrieren	Zimmertemperatur
6	Einstellen in Xylol			Zimmertemperatur
7	Eindeckeln			

Schritt vier wurde jeweils mit und ohne Wasserstoffperoxid durchgeführt.

2.3.5 Paraphenyldiamin

Paraphenyldiamin(pP) wird normalerweise nur zur Intensivierung des Osmiumkontrastes verwendet (148), dem dann die gewünschte Färbung folgt. In der vorliegenden Arbeit wurde Paraphenyldiamin ausschließlich als alleiniges Färbemittel angewendet. Hierfür wurden die Semidünnschnitte auf TES-beschichtete Objektträger verbracht und luftgetrocknet.

*a) Herstellung der Lösungen:***1 % Paraphenyldiamin**

1,4-p-Phenyldiamin (Merck, Darmstadt, Nr. 807246)	2 g
100 %iger Alkohol	100 ml
96 %iger Alkohol	100 ml

Lösung ca. 3 Tage bei Tageslicht stehen lassen, bis die Lösung dunkelbraun ist. Diese bleibt, in einem dunklen Gefäß im Kühlschrank aufbewahrt, ca. 7 Tage gebrauchsfähig.

Alkoholische Spülflüssigkeit

100%ger Alkohol	100 ml
96%ger Alkohol	100 ml

b) Färbeprotokoll:

Schritt	Lösung	Dauer	Arbeitsvorgang	Inkubationsbedingungen
1	1%iges p-Phenylendiamin	30 min	färben	Zimmertemperatur
2	Alkoholische Spülflüssigkeit		kräftig spülen	
3	Eindeckeln			

Der Versuch wurde, bei identischer Vorgehensweise, mit Inkubationszeiten des 1%igen p-Paraphenylens von 5, 10, 20 und 30 Minuten durchgeführt. In einer zweiten Versuchsreihe wurden die für 30 Minuten inkubierten Semidünnschnitte zusätzlich mit einer AS-Färbung (siehe oben) gegen gefärbt .

2.4 Qualitätskontrolle und Selektion der Semidünnschnitte für die Morphometrie

Die nach Kapitel 2.2 hergestellten Semidünnschnitte wurden gemäß oben beschriebener Technik mit Paraphenylendiamin gefärbt und einer AS-Färbung gegenübergestellt. Es folgte eine erste Selektion anhand der AS-gefärbten Semidünnschnitte. Hierbei wurde das Hauptaugenmerk auf technisch sowie autolytisch bedingte Qualitätsverluste und pathologische Veränderungen gerichtet. Es wurden sämtliche Präparate mit Quetschartefakten, unvollständigen Faszikeln (Abb. 6), multiplen Faszikeln, Autolyseartefakten, pathologisch veränderten Fasern sowie raumfordernden Gewebestrukturen (Renault-Körperchen) als inadäquat befunden und aussortiert (Tab. 5).

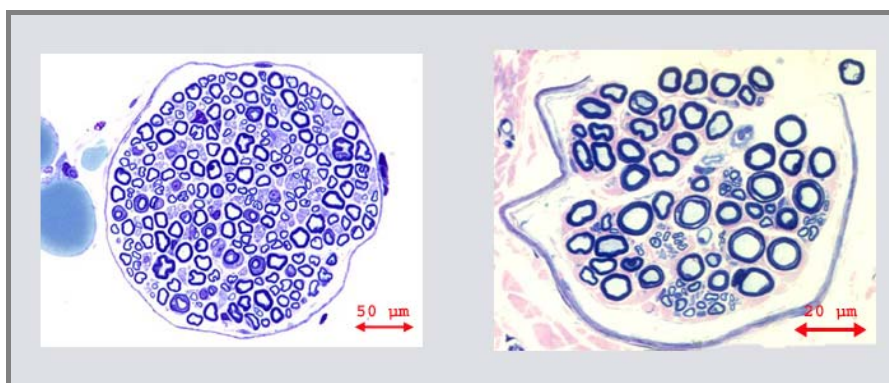


Abb. 6:
Links: vollständiges Nerven-
faszikel;
Rechts: Faszikel mit
aufgebrochenem Perineurium

Den beschriebenen Selektionskriterien wurde darüber hinaus, entsprechend dem Stärkegrades ihres Auftretens, eine Wertigkeit wie folgt zugeordnet: 0 = keine, 1 = geringfügig, 2 = mittelgradig, 3= hochgradig, Ø = zu wenig Material.

Für den Ausschluss von Präparaten aufgrund zu wenig Materials waren feinpräparatorisch-, aber auch fixations- und einbettungsbedingte Ursachen verantwortlich.

Bei sämtlichen als inadäquat befundenen Schnitten handelte es sich um Präparate, an welchen eine korrekte Vermessung und Auswertung nicht möglich gewesen wäre. Sie gingen nicht weiter in die Probenaufbereitung für die Morphometrie mit ein.

Alle weiteren, als adäquat eingestuften Präparate wurden als paraphenylendiamin-gefärbte Schnitte einer zweiten Selektion unterzogen. Dabei galt es die Intensität der Färbung zu beurteilen, sowie minimale pathologische Veränderungen als marginal oder inadäquat einzuteilen. Hierbei wurden solche Fälle als marginal eingestuft, bei welchen die zu messenden Strukturen nicht in solchen Maßen betroffen waren, dass mit einer Verzerrung der Messergebnisse zu rechnen war. Auch hier wurden alle als inadäquat beurteilten Präparate von den folgenden Untersuchungen ausgeschlossen.

Nach Durchlaufen der Qualitätskontrolle wurden von allen als adäquat und marginal eingestuften Proben erneut Semidünnschnitte erstellt und mit Paraphenylen gefärbt.

Von 3 Proben (Tier 1,3 und 6) wurden Serienschritte angefertigt, d.h. 15 aufeinander folgende Schnitte im Abstand von maximal 5 μ m.

2.5 Bildverarbeitung und morphometrische Auswertung

2.5.1 Bildverarbeitung

Die als adäquat und marginal eingestuften mit Paraphenylendiamin gefärbten Nervenquerschnitte zeigten eine für ein durchschnittliches Mikroskopfeld zu große Ausdehnung. Zur Behebung dieser Problematik wurde eine Methode zum Aneinandersetzen von Bildfeldern angewendet wodurch ein Kachelbild des Faszikels bei einer guten optischen Auflösung zu erhalten war. An einem Zeiss Axiovert 100-Mikroskop wurden die Schnitte mit einem 100x Objektiv Plan Neofluar (Zeiss, Jena), einem programmgesteuerten, automatischen Scanning-Tisch und einer gekühlten CCD Kamera (CH250 Photometrics LTD, Tucson Arizona) mit einer Bildgröße von 512 x 512 Bildpunkten aufgenommen. Da die Faszikelquerschnitte unterschiedliche Ausmaße haben, folgte die Zusammensetzung der Bilder in Kacheln von je nach Schnittgröße 3x3 bis 9x9 Feldern. Das hierfür benötigte Programm für die Zeiss LSM410 Auswertungssoftware wurde als Makro am Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit (Mannweiler, GSF) erstellt. Die in unterschiedlicher Größe aufgenommenen Kachelbilder wurden für die folgende

Auswertungsroutine auf Kachelbilder mit der einheitlichen Größe von 1024 x 1024 Bildpunkten umgerechnet. Für die Berechnung von Strecken und Flächen wurden die in Tabelle 3 angegebenen Umrechnungsfaktoren herangezogen.

Tab. 3: Pixelgröße der Kachelbilder bei einer Anzahl von 1024 x 1024 Bildpunkten

Kachelbildgröße	Abstand der Pixel in μm	Fläche der Pixel in μm^2
3 x 3	0,201	0,0404
4 x 4	0,268	0,0718
5 x 5	0,335	0,1122
6 x 6	0,402	0,1616
7 x 7	0,469	0,2166
8 x 8	0,536	0,2872
9 x 9	0,603	0,3636

Nach der Bilderfassung folgte eine interaktive Bearbeitung des Gesamtbildes am Bildschirm (Abb. 7). Der erste Bearbeitungsschritt war das Einstellen eines Grauschwellenwerts. Dieser wurde so ausgewählt, dass auch die Myelinscheide kleinkalibriger Nervenfasern noch gut ringförmig dargestellt wurde. Danach wurde interaktiv, mittels eines Zeichenwerkzeugs, durch Umfahren des Perineuriums die Faszikelfläche umgrenzt. Anschließend wurden über eine Bildbereinigungsfunktion sämtliche Partikel die eindeutig keine Nervenfaser darstellten gelöscht. Der nächste wichtige Schritt war die Trennung (Segmentierung) von aneinander liegenden Fasern, hierfür wurden mit einem so genannten Schneidetool, wiederum interaktiv, die zusammenhängenden Myelinscheiden voneinander getrennt. Nach dieser Prozedur konnten von der Bearbeitungssoftware die Myelinscheiden und die Axone detektiert werden.

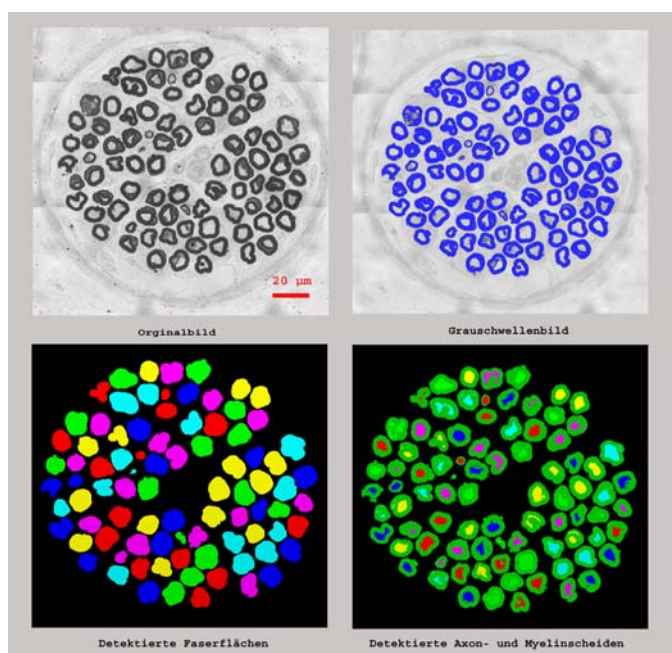


Abb. 7:
Schritte der digitalen Bildbearbeitung.
Oben links: Originalbild
Oben rechts: einstellen der Grauschwelle
Unten links: Detektion der einzelnen Faserflächen
Unten rechts: Segmentierung von Axon- und Myelinscheidenflächen

Sämtliche interaktiven Bearbeitungsschritte erfolgten mit der LEICA Software (Bensheim) und der hierfür programmierten QWIN Software (Routine Nervsm.q5r, Gais, GSF).

2.5.2 Morphometrische Auswertung

Der Bildverarbeitung schloss sich nun die Extraktion der Merkmale (Tab. 4) und deren Vermessung an (Abb. 8), welche mit der Software IDL (Creaso, Gilching) und einer dafür entwickelten Software MT_O_P pro (Rodnacker, GSF) durchgeführt wurde. Bei der Vermessung wurden erstmals globale Maße wie Gesamtfläche des Faszikels sowie Anzahl und Größe der myelinisierten Faserquerschnitte ermittelt. Zur Fasergröße gehörten die Parameter Fläche, Umfang, Durchmesser und Ausdehnung der einzelnen Nervenfasern. Zusätzlich wurde die Axonfläche, die Myelinscheidenfläche und -dicke separat vermessen. Des Weiteren wurden unter dem Überbegriff Formfaktor die Rundheit, Krümmung und Konvexität der einzelnen Nervenfasern erfasst. Zuletzt wurde versucht die Verteilung der Fasern im Bündel, die Nachbarschaft und Anordnung einzelner Fasern zueinander sowie eventuell vorhandene Clusterbildungen zu ermitteln. Es wurde jeweils der gesamte Faszikelquerschnitt mit seinen darin enthaltenen Fasern ausgewertet. Das dabei erhaltene Zahlenmaterial wurde der Statistiksoftware BMDP und SAS (Heidelberg) zugeführt (Jütting, GSF) und statistisch ausgewertet.

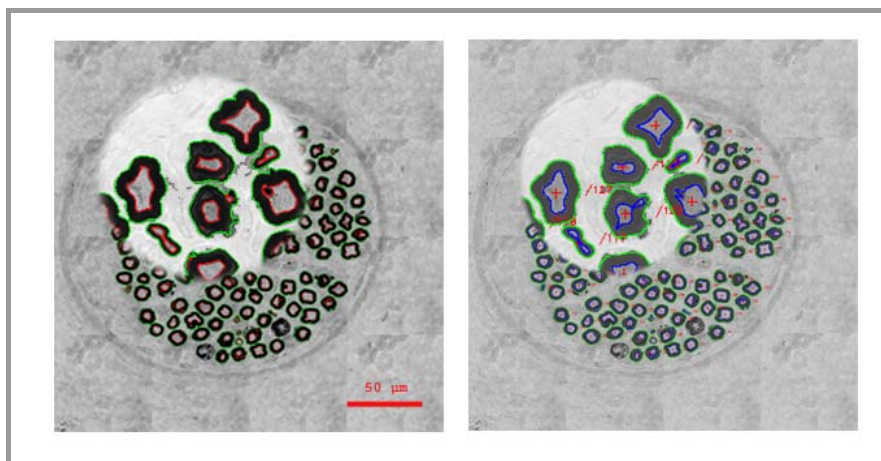


Abb. 8:
Arbeitsschritt „Vermessung
der Nervenfasern“
(Ausschnittebene vergrößert)

Das zu untersuchende Zahlenmaterial wurde drei Untersuchungsgruppen zugeteilt. Die Erste Gruppe beinhaltet die Ergebnisse der in Serie geschnittenen Proben von Tier 3/1/6, die zweite Gruppe bestand aus einem Faszikelvergleich innerhalb eines Individuums und einem Vergleich der Daten von Tier zu Tier (1-8). In der dritten Gruppe wurde ein Vergleich zwischen dem am

Bein entnommenen N. fibularis communis und dem am Hals liegenden N. accessorius von Tier 2 angesetzt.

Tab. 4: Merkmale

Merkmal	Zeichen	Merkmal	Zeichen
Anzahl der Fasern	N	Durchmesser Faser	df
Faszikelfläche		Durchmesser Axon	da
Faserfläche	af	Maximale Ausdehnung der Faser	mextf
Axonfläche	aa	Maximale Ausdehnung des Axons	mexta
Faserradius aus größten einbeschreibbarem Kreis	radf	Faserradius aus dem flächenäquivalenten Kreis	radareaf
Axonradius aus größten einbeschreibbarem Kreis	rada	Axonradius aus dem flächenäquivalenten Kreis	radareaa
Mittlerer Myelinscheidenradius	radm	Exceedingrate	exc
Mittlere Myelinscheidendicke	mydick	Entropie	ent
Minimale Myelinscheidendicke	mymin	Faserumfang	Pf
		Axonumfang	Pa

2.5.2.1 Faszikelfläche

Die Faserbündelfläche wird von dem die Nervenfasern umschließenden Perineurium eingegrenzt. Dieses wurde anfänglich als äußere Begrenzung zur Vermessung der Bündelfläche herangezogen. Es zeigten sich allerdings technisch bedingt unterschiedlich große Spalten zwischen den Bindegewebslagen des Perineurium und den ersten daran angrenzenden Nervenfasern. Um diesen Artefakt zu umgehen, wurden als Vermessungsgrundlage die marginal liegenden Nervenfasern herangezogen und mit Hilfe eines dafür entwickelten Programms (GSF Rodenacker) eine Maske aufgelegt um die Referenzfläche neu zu vermessen.

2.5.2.2 Faser- und Axonfläche

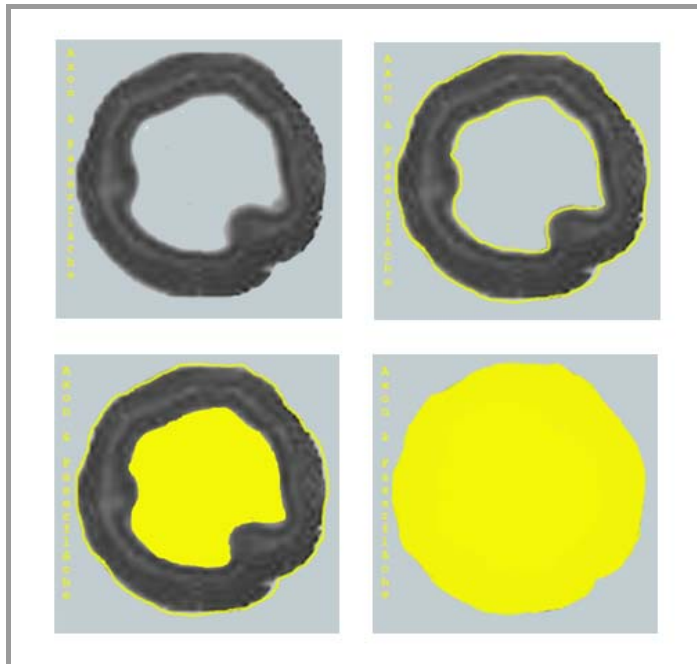


Abb. 9:
Schematische
Darstellung der
vermessenen Axon-
und Faserfläche

Die Faserfläche af und Axonfläche aa (Abb. 9) wurden in Pixeln vermessen und nach den oben angegebenen Umrechnungsfaktoren (Tab. 3) in Bezug auf die Kachelbildgröße auf ihre tatsächlichen Größen in μm^2 zurückgerechnet.

2.5.2.3 Faser- und Axonradius

Da bei keiner Faser von einem korrekten Kreis ausgegangen werden konnte, wurde der Faserradius ($radf$), bzw. Axonradius ($rada$) über den größtmöglichen einbeschreibbaren und geschlossenen Kreis der sich in die Faser, respektive ins Axon legen lässt, ermittelt (Abb. 10). Als weitere Möglichkeit den Radius zu berechnen, wurden die Parameter $mextf$ und $mexta$ berechnet. Diese bezeichnen die maximale Ausdehnung der Faser bzw. des Axons, und somit den maximalen Durchmesser. Daraus ergibt sich für den

$$\text{maximalen Faserradius} \quad rad_ext_f = \frac{m_ext_f}{2}$$

$$\text{maximalen Axonradius} \quad rad_ext_a = \frac{m_ext_a}{2}$$

Als dritte Variante zur Bestimmung des Faserradius wurde aus der vermessenen Faser- und Axonfläche mittels der geometrischen Formel der Radius ($radareaf$, $radareaa$) errechnet. Hieraus ergibt sich

Faserradius	$radareaf = \sqrt{\frac{af}{\pi}}$
Axonradius	$radareaa = \sqrt{\frac{aa}{\pi}}$

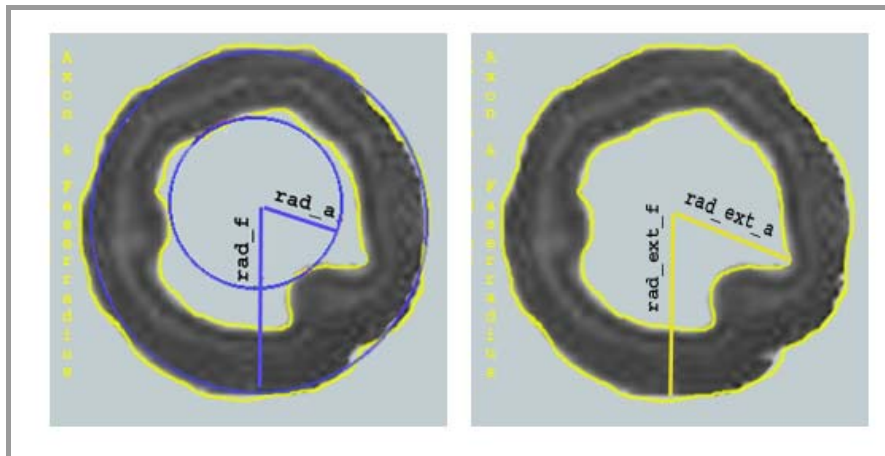


Abb. 10:
Links: Faser- und Axonradius
ermittelt aus dem größten
einbeschreibbaren Kreis;
Rechts: Maximaler Axon- und
faserradius

2.5.2.4 Faser- und Axondurchmesser

Auch hier gibt es entsprechend der Radien drei unterschiedliche Durchmesser. Der maximale Durchmesser ($dextf$ und $dexta$) ergibt sich aus der maximalen Ausdehnung der Faser beziehungsweise des Axons. Des Weiteren können über duplizieren der Radien $radf$ und $rada$, sowie $radareaa$ und $radareaf$ zwei weitere Durchmesser ($dradf$ und $drada$, $dareaf$ und $dareaa$) errechnet werden.

2.5.2.5 Myelinscheidenparameter

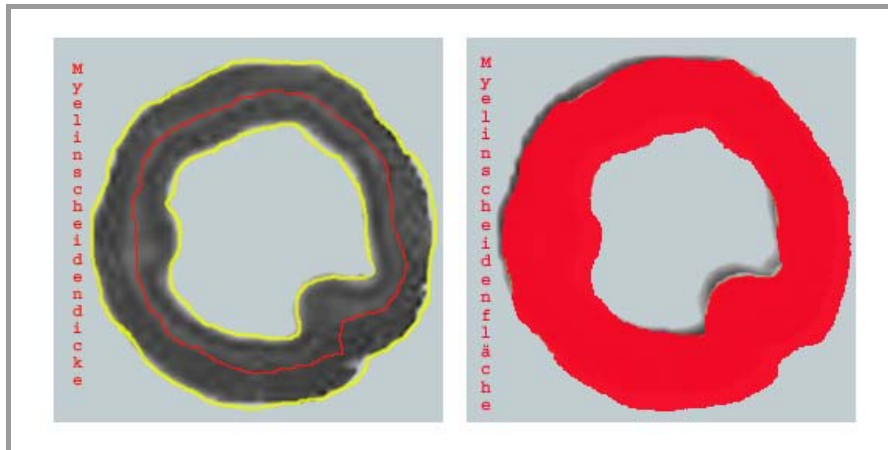


Abb. 11:
Links: Ermittlung der Medianlinie
für den Parameter mittlere
Myelinscheidendicke (*mydick*);
Rechts: Myelinscheidenfläche

Der Wert der Myelinscheidendicke (*mydick*) wird über den duplizierten Parameter *radm* ermittelt. Dieser gibt den mittleren Radius der Myelinscheide an (Abb. 11). Dieser wird über eine zentral verlaufende Medianlinie (Abb. 11/ links) in Form einer mittleren Distanz berechnet. Von jedem Punkt der Medianlinie wird der Rand zum Abstand bestimmt und deren Mittelwerte berechnet (halbe Myelinscheidendick = *radm*). Des Weiteren kann über das Merkmal *mymin* die dünnste Stelle der Myelinschicht evaluiert und vermessen werden.

Die Myelinscheidenfläche wird, äquivalent zur Axon- und Faserflächeberechnung, über die Pixelanzahl und dem entsprechenden Umrechnungsfaktor (Tab. 3) berechnet.

2.5.2.6 Zirkularität

Die Zirkularität stellt einen Formfaktor (P^2A) dar, anhand dessen die Rundheit der Faser und des Axons geprüft werden können. Dieser Faktor wird aus dem Umfang und der Fläche eines dazu äquivalenten Kreises der Faser, bzw. des Axon berechnet.

Hieraus ergibt sich für den Formfaktor
$$P^2A = \frac{P^2}{4\pi * A}$$

Dabei steht der Wert 1 für einen Kreis. Je weiter sich dieser Wert von 1 entfernt, desto mehr weicht die Form der Faser von der eines Kreises ab.

2.5.2.7 Exceedingrate

Zur Bestimmung der Fasergrößenverteilung wird die Exceedingrate *exc* herangezogen. Sie gibt an, wie hoch der prozentuale Anteil an Fasern mit einem Durchmesser über 7µm ist.

2.5.2.8 G-Ratio

Die G-Ratio, welche ein Maß für die Dicke der Myelinscheide in Relation zum Axondurchmesser ist, wurde über das Verhältnis von Axondurchmesser (*dareaa*) zu Gesamtfaserdurchmesser (*dareaf*) ermittelt. Sie stellt eine Fasergrößenverteilung dar, die auf zwei Verhältniszahlen basiert. Hier ist darauf zu achten, dass nicht die einzelnen Verhältniswerte sondern die tatsächlichen Axon- bzw. Faserdurchmesser summiert werden und dann erst die Ratio ermittelt wird (26).

$$R = \frac{\sum_1^N \gamma_i}{\sum_1^N \chi_i} = \frac{\text{absolute Summe der Axondurchmesser}}{\text{absolute Summe der Faserdurchmesser}}$$

$$\hat{R} = \frac{\sum_1^n \gamma_i}{\sum_1^n x_i} = \frac{\bar{\gamma}}{\bar{\chi}}$$

Die G-Ratio pro Pferd wurde, wie in der oben angegebenen Formel gezeigt durch summieren der jeweiligen Durchmesser und folgendes Dividieren errechnet.

Die dazugehörige Streuung ergibt sich wie folgt (177):

$$s(\hat{R}) = \frac{\sqrt{1-f}}{\sqrt{n\bar{X}}} \sqrt{\frac{\sum y_i^2 - 2\hat{R}\sum y_i x_i + \hat{R}^2 \sum x_i^2}{n-1}}$$

2.5.2.9 Entropie

Ein weiterer Parameter zur Beschreibung der Faserflächenverteilung stellt die Entropie dar. Sie gibt den Grad der Unordnung der Flächenverteilung an. Hieraus ergibt sich, je höher die Entropie ist, desto größer ist die Heterogenität der Faserflächen innerhalb eines Faszikelquerschnittes. Die Ermittlung der Entropie wurde in 3 Intervallstufen durchgeführt. Entropie 1 steht für eine Intervallstufe von 1µm, Entropie 2 für 2 µm und Entropie 3 für eine Stufengröße von 3µm.

2.6 Statistische Methoden

Die ermittelten Parameter wurden, wie in folgendem Kapitel näher beschrieben, einer univariaten Varianzanalyse (t-Test) unterzogen, mittels derer die Signifikanz der Merkmale überprüft und durch den p-Wert beschrieben wurden. Hierbei wurde die Signifikanz auf dem 95% Niveau getestet ($p < 0,005$).

Letztendlich wurden die Parameter mit der schrittweise linearen Diskriminanzanalyse einem multivariaten Analyseverfahren unterzogen. Dabei wird in einem ersten Analyseschritt das Merkmal mit dem niedrigsten p-Wert, d.h. mit der höchsten univariaten Signifikanz, ermittelt. Im folgenden Schritt wird dann anhand dieses Merkmals ein zweites Merkmal gesucht, welches mit dem ersten, das Klassifikationsergebnis verbessern soll. Hierfür werden die Mittelwerte (MW), Streuungen (SD) und Variationskoeffizienten (CV) aller berechneten Merkmale pro Faserschnitt ermittelt und die 96 Faserschnitte der gesunden Klasse (ausgeschlossen N. fib. com) mit den 14 des kranken Tieres verglichen.

Als weiteres Statistisches Verfahren wurde eine Korrelation (nach Pearson) von Merkmalen durchgeführt. Hierbei wird die Abhängigkeit zweier Parameter zueinander ermittelt und über einen Wert $r = x$ „ausgedrückt und mittels einer Regressionsgeraden dargestellt.

Für die Korrelation nach Pearson gilt:

$$r_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\left(\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2\right) \left(\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2\right)}}$$

$r_{xy} = 1$: Perfekter positiver Zusammenhang: Alle Punkte liegen auf einer ansteigenden Geraden

$r_{xy} = -1$: Perfekter negativer Zusammenhang: Alle Punkte liegen auf einer absteigenden Geraden

$r_{xy} = 0$: Überhaupt kein linearer Zusammenhang: Alle Punkte „streuen wild“.

3 ERGEBNISSE

3.1 Ergebnisse der Färbeversuche zur selektiven Darstellung der Myelinscheide

3.1.1 Azurblau II-Safranin-Färbung

Durch die Färbung mit Azurblau II kombiniert mit basischem Safranin O wurde eine gute Übersichtsfärbung erreicht. Durch sie lassen sich sämtliche Gewebebestandteile des Nervenfaserschnitts wie Extrazellulärmatrix, Bindegewebs- und Mastzellen, Myelinscheiden, Blutzellen, sowie Zellkerne, in unterschiedlich intensiven Blau- und Lilatönen darstellen (Abb. 12). Nur das Fettgewebe wird in einem petrolgrün und das Axon bis auf einige axoplasmatische Organellen gar nicht angefärbt. In Folge können die verschiedenen Gewebekomponenten morphologisch gut voneinander unterschieden werden.

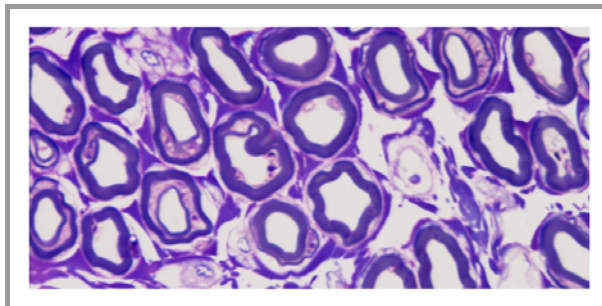


Abb. 12:
Azurblau II-
Safranin-Färbung
(Objektiv 100 x)

Es zeigte sich bei fast allen Präparaten eine ähnliche und gleichmäßige Anfärbung. Ausschließlich bei den Präparaten von Tier 38 kam es zu einer unregelmäßigen Anfärbung. Hier stellten sich, als Ausdruck einer Unterfixierung, periphere Schnittanteile dunkler als die zentralen Areale dar. Außerdem traten bei einem Präparat (Nr. 16) Hyperfixationsphänomene in Form einer gefleckten Myelinscheide, die so genannte Leopardentüpfelung (186), besonders deutlich hervor.

3.1.2 Perjodsäure-Schiff-Reaktion

Nachdem das Epoxidharz mit Hilfe von NaOH herausgelöst worden war ließen sich die Schnitte mit Hilfe der Perjod-Schiff-Reaktion gut anfärben. Es zeigte sich ein in unterschiedlicher Intensität gefärbtes, rosa schattiertes Bild. Dabei tritt die Myelinscheide mit einem starken Rosa

aus dem Bild hervor, während sich Blutgefäße schwach rosa und sonstige bindegewebliche Bestandteile ebenfalls nur schwach rosa oder gar nicht anfärbten.

Auch bei diesem Verfahren färbten sich fast alle Präparate ähnlich gut an. Die Unregelmäßigkeiten des im vorigen Kapitel bereits erwähnten Präparates 38, zeigten sich hier weniger stark ausgeprägt. Die Leopardentüpfelung wiederum des Präparates 16, war auch bei diesem Verfahren deutlich zu erkennen.

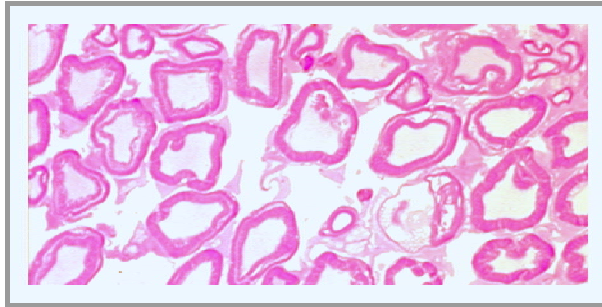


Abb. 13:
PAS-Färbung
(Objektiv 100 x)

3.1.3 Woelcke-Spielmeyer-Schröder

Diese Färbemethode findet üblicherweise als Markscheidenfärbung an Paraffinschnitten Anwendung und erzielt dabei eine starke, dunkelbraune Färbung des Myelins. Um diese Färbung an Semidünnschnitten umzusetzen, muss ein konsequentes Entfernen des Epoxidharzes gewährleistet sein. Es zeigte sich bei der lichtmikroskopischen Beurteilung sämtlicher Querschnitte ein unregelmäßiges Bild, bei dem sich die Myelinscheide teils deutlich dunkelbraun, teils in einem leicht verwaschenen Mittelbraun darstellte. Zusätzlich kam es zur Anfärbung von bindegewebigen Komponenten und Gefäßen in ebenfalls unterschiedlichen Brauntönen, und lieferte somit einen starken Hintergrund.

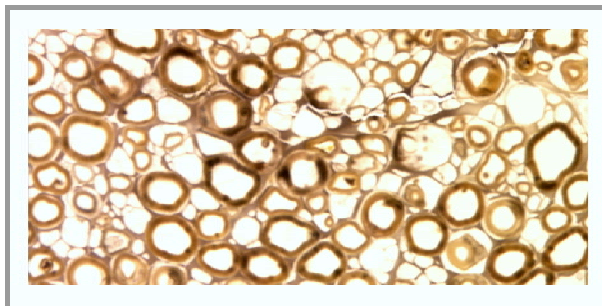


Abb. 14:
Woelcke-Spielmeyer-
Schröder-Färbung
(Objektiv 100 x)

3.1.4 Diaminobezidin

Das Ergebnis der durchgeführten Färbung war bei allen Präparaten eine sehr intensiv dunkelbraun angefärbte Myelinscheide. Allerdings kam es hier auch zu einer starken Anfärbung des umliegenden Gewebes. Bei dem Kontrollversuch ohne Wasserstoffperoxid kam es zu keinerlei Anfärbung der Schnitte.

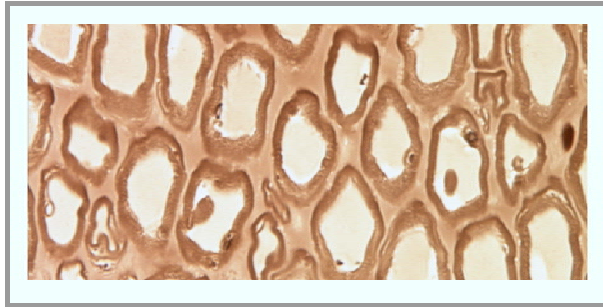


Abb. 15:
DAB-Färbung
(Objektiv 100 x)

Bezüglich der Gleichmäßigkeit der Anfärbung, zeigte sich bei dieser Technik ein ähnliches Bild wie in den beiden vorherigen Färbeprotokollen. Der größte Teil der Präparate ließen sich gut und intensiv anfärben. Das unter- und überfixierte Präparat verhielten sich entsprechend der Azurblau II-Färbung.

3.1.5 Paraphenyldiamin

Die Färbung mittels Paraphenyldiamin bewirkte bei allen Proben eine klare dunkelbraune Färbung der Myelinscheide, wobei gleichzeitig andere Gewebskomponenten nahezu ungefärbt blieben.

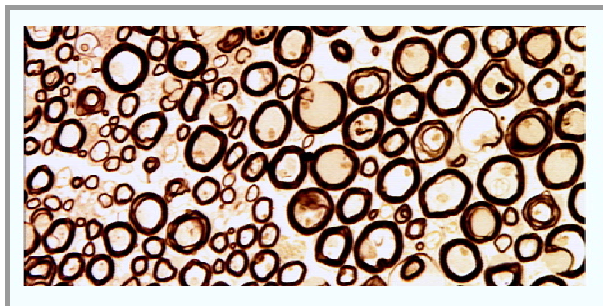


Abb. 16:
Paraphenyldiamin-
Färbung bei 30 Minuten
(Objektiv 100 x)

Es färbten sich 30 der 40 Präparate bei dieser Färbung in vergleichbar guter Qualität an. Die in der Azurblau II-Färbung beschriebenen Hypofixationsphänomene der randständigen dunklen und

zentral blassen Areale, waren bei dieser Technik ebenso stark ausgeprägt. Die gefleckte Myelinscheide wiederum war bei dieser Färbung nicht zu erkennen, sie stellte sich in derselben regelmäßigen tiefen Braunfärbung wie die der übrigen Schnitte dar.

Das beste Färbeergebnis wurde hier bei einer Inkubationszeit von 30 Minuten erreicht. Jede längere Einwirkungsdauer brachte keine intensivere Färbung, kürzere Inkubationszeiten stellten sich dagegen lichtmikroskopisch sehr blass dar.

Außerdem erwies sich, dass es bei einer Schnittdicke von unter 1 μm trotz Inkubation von 30 Minuten zu einer unzureichenden Anfärbung des Präparates kam. Bei allen Versuchen, bei denen das gleiche Präparat eine Schnittdicke von 1 μm aufwies, stellte sich dagegen, unter selben Inkubationsbedingungen, das gleichmäßige und gut reproduzierbare Färbeergebnis ein.

Eine zusätzliche Gegenfärbung mit Azurblau II-Safranin (Abb. 17) brachte keine weitere Verbesserung in Bezug auf die selektive Darstellung der Myelinscheide, da es dabei wiederum zur Anfärbung der anderen Gewebskomponenten kam. Die Myelinscheiden wurden in einem olivgrünen Ton, die restlichen Bestandteile in Blauschattierungen dargestellt.

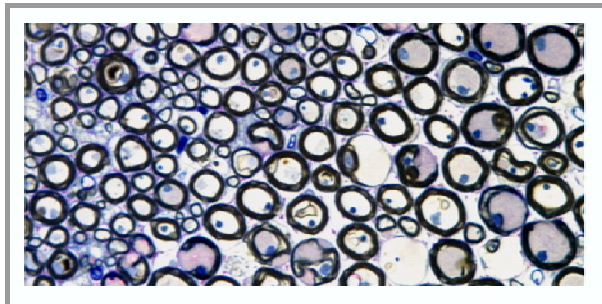


Abb. 17:
Paraphenyldiamin-Färbung
gegengefärbt mit Azurblau II-Safranin
(Objektiv 100 x)

3.2 Ergebnisse der Qualitätskontrolle

Die computergestützte morphometrische Auswertung ist auf ein qualitativ hochwertiges, technisch gut aufbereitetes Probenmaterial angewiesen. Speziell für die digitalen Bildaufnahmen müssen die Nervenfaszikelquerschnitte vollständig und artefaktfrei vorliegen. Auch bei fehlerfreiem Entnehmen der Probe und einem korrekten und atraumatischen technischen Prozedere, konnte die Qualität des Querschnittes erst bei der lichtmikroskopischen Kontrolle beurteilt werden. Hierbei hat sich gezeigt, dass über die Hälfte der Proben aufgrund eines der in Tabelle 5 aufgezeigten Mängel bereits im Vorfeld ausschieden.

Tab. 5: Qualitätskontrolle

Tier-Nr.	Quetsch-artefakte	Autolyse-artefakte	pathologische Veränderungen	unvollständiges Faszikel	multiple Faszikel	Gesamtbeurteilung	
						adäquat	inadäquat
19	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø		X
20	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø		X
38	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø		X
3	0	0	0	nein	nein	X	
16	0	0	0	nein	nein	X	
4	1	0	0	nein	nein	X	
15	0	0	0	nein	nein	X	
2	1	0	0	nein	nein	X	
2	0	0	0	nein	nein	X	
10	3	0	0	nein	nein		X
11	0	0	0	ja	nein		X
12	3	0	0	ja	nein		X
13	0	0	0	ja	nein		X
14	0	0	0	nein	ja		X
7	1	0	0	nein	ja	X	
5	0	0	0	nein	ja	X	
17	0	0	0	nein	ja	X	
18	0	3	0	nein	ja	X	
1	0	0	0	nein	ja	X	
8	0	0	0	nein	nein	X	
21	0	0	0	nein	nein	X	
22	0	0	3	nein	nein		X
23	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø		X
24	0	0	0	nein	nein	X	
25	0	0	0	nein	nein	X	
26	0	0	0	nein	nein	X	
27	0	0	3	nein	nein		X
28	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø		X
29	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø		X
30	0	0	0	nein	nein	X	
31	1	3	0	ja	nein		X
32	0	0	3	nein	nein		X
33	3	0	0	nein	ja		X
34	3	0	0	nein	ja		X
35	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø		X
36	2	0	0	nein	ja		X
37	0	3	0	nein	ja		X
6	2	1	0	nein	nein	X	

0 = keine; 1 = geringgradig; 2 = mittelgradig; 3 = hochgradig; Ø = zu wenig Material

Gemäß der Tabelle 5 wurden 7 Präparate aufgrund zu wenigen Materials, 3 aufgrund pathologischer Veränderungen sowie 8 Präparate wegen sowohl Quetschartefakten, Autolyse als auch unvollständiger bzw. multipler Faszikel ausgesondert. Bei 2 Proben waren ausschließlich

unvollständige Faszikel und bei 1 Probe nur multiple Faszikel Ursache für die Beurteilung als inadäquat.

In der zweiten Qualitätskontrolle, in der es galt die Färbung mit Paraphenyldiamin zu beurteilen, stellte sich diese als sehr zuverlässig dar und es wurden keine weiteren Präparate mehr verworfen (Tab. 6). Daraus ergab sich eine Eignung folgender Präparate für die morphometrische Auswertung:

Tab. 6: In die morphometrische Auswertung eingegangene Tiere

Tier-Nr:	Tierart	Rasse	Alter/ Jahre
1	Pferd	Warmblut	8 Jahre
2	Pferd (N. fib. com.)	Vollblut (Araber)	2,5 Monate
2	Pferd (N. acc.)	Vollblut (Araber)	2,5 Monate
3	Pferd	Warmblut	9 Jahre
4	Pferd	Fohlen	Abort im 9. Monat
5	Pferd	Fohlen	Abort im 11. Monat
6	Pferd	Warmblut	12 Jahre
7	Pferd	Kaltblut	12Jahre
8	Pferd	Vollblut	18 Jahre
15	Hund	Mischling	16 Jahre
16	Hund	Schäfer-Mix	7 Jahre
17	Hund	Dogge	6 Jahre
18	Esel		Abort im 10. Monat
21	Hund	DSH	4 Mon
24	Hund	Bernadiner	2 Tage
25	Katze	EHK	5 Mon
26	Hund	Wolfshund	3 Tage
30	Pferd	Traber	3 Wochen

3.3 Ergebnisse der Bildverarbeitung und morphometrische Auswertung

Die vollständige Auflistung der Messwerte und kalkulierten Daten der angegebenen Parameter sind den Tabellen 12 bis 29 im Anhang zu entnehmen.

Im Laufe der nun folgenden Arbeitsprozesse traten bei den Präparaten der Hunden und Katzen Komplikationen sowohl bei der Bilderstellung als auch Bildanalyse auf. Die großen Faszikel, sowie die sehr dicht beieinander liegenden Nervenfasern bereiteten Probleme bei der Kachelbilderstellung, beziehungsweise bei der späteren Segmentierung der einzelnen Fasern (siehe IV Kapitel 4), aufgrund dessen sie nicht in die letztendlich morphometrische Auswertung mit einbezogen wurden

3.3.1 Ergebnisse der morphometrischen Auswertung

3.3.1.1 Referenzfläche, Faseranzahl und Faserdichte

Die einzelnen Faszikel wiesen in ihrem Querschnitt sehr unterschiedliche Grundflächen von 9.443 bis 148.798 μm^2 auf. Bei einem Bündelvergleich innerhalb der einzelnen Individuen zeigten sich bei diesen sehr stark voneinander abweichende Referenzflächen (Abb. 18).

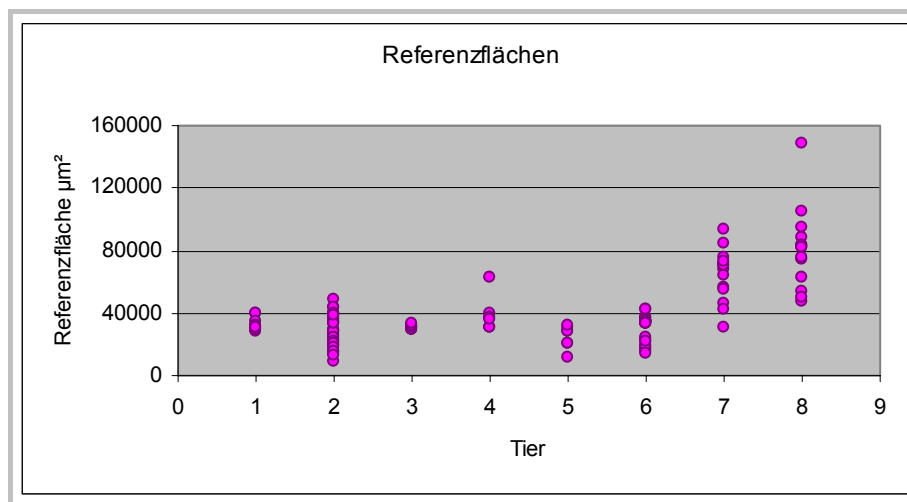


Abb. 18:
Faszikelfläche pro
Tier und Schnitt

Bei Tier 8 wurden Flächenabweichungen zwischen den unterschiedlichen Nervenfasersfaszikeln von bis zu 100.000 μm^2 gemessen. Selbst bei dem Vergleich von unterschiedlichen Teilstücken desselben Bündels waren immer noch Schwankungen bis 45.000 μm^2 (Tier 7) zu erkennen. Ausschließlich die in Serie geschnittenen Präparate zeigten sich, wie in Abb. 19 zu sehen, in Bezug auf ihre Referenzfläche sehr homogen mit einer maximalen Schwankungsbreite von 4.026 μm^2 zwischen den Faszikelanschnitten.

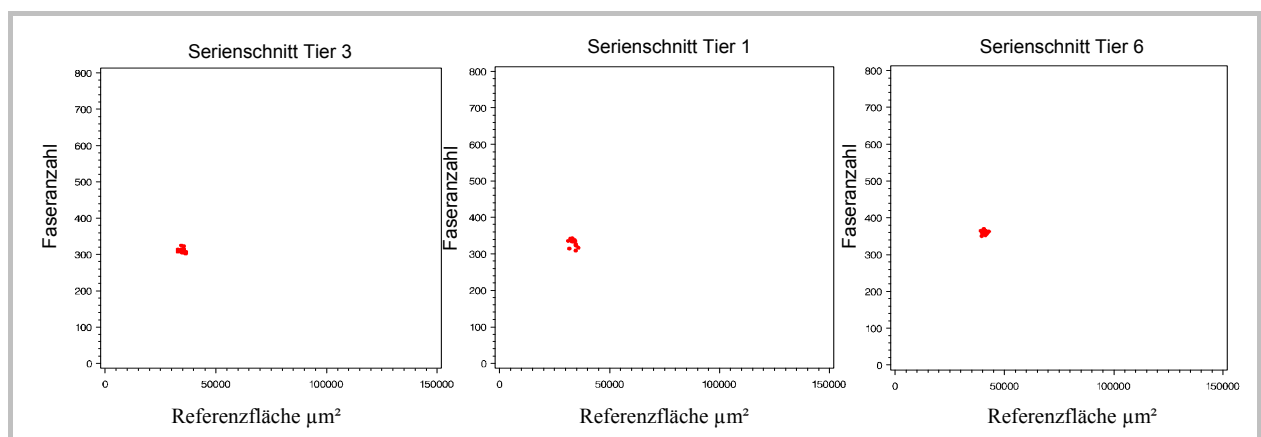


Abb. 19: Anzahl an Nervenfasern in den Serienschnitten pro Faszikelfläche

Bezüglich der Gesamtfaseranzahlen pro Faszikelquerschnitt fanden sich ähnlich starke Unterschiede wie bei den Referenzflächen (Abb. 20). Die Anzahl erstreckte sich von 55 bis 729 messbare myelinisierte Nervenfasern pro Querschnitt innerhalb der verglichenen Tiere. Auch hier kam es zu starken Abweichungen bei dem Vergleich einzelnen Faszikelquerschnitte innerhalb eines Individuums. Bei Tier 7 wurden Faseranzahldifferenzen innerhalb des longitudinalen Verlaufs eines Faszikels von bis zu 300 Fasern ermittelt, bei einem maximalen Abstand von 1,5 cm. Bezüglich der Heterogenität der Faseranzahl verhielten sich *N. accessorius* (MW = 335, SD \pm 100,14) und *N. fibularis communis* (MW 330, SD \pm 90,91) im intraindividuellen Vergleich (Tier 2).

Wie beim Flächenvergleich wiesen die Serienschritte der Nerven von Tiere 1, 3 und 6 auch hier keine nennenswerten Abweichungen auf.

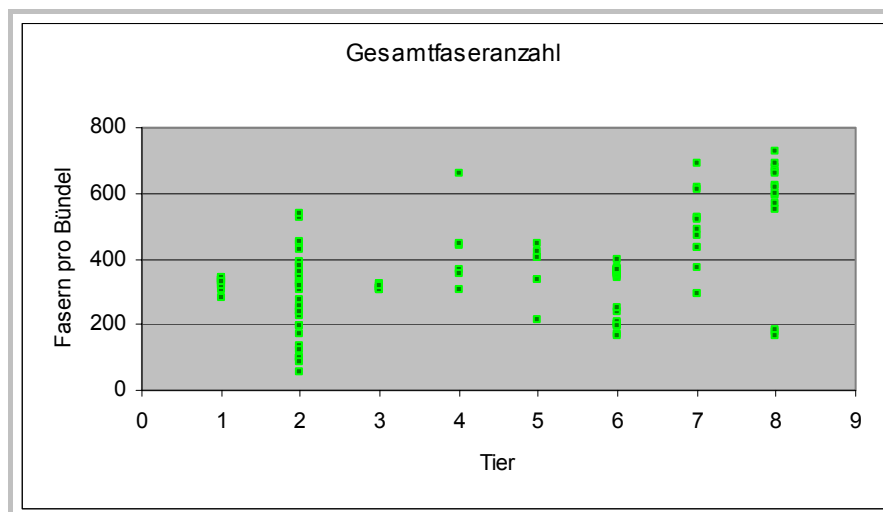


Abb. 20:
Faseranzahl pro
Schnitt und Tier

Aus den ermittelten Werten der Grundfläche und der darin enthaltenen Nervenfasernzahl ergaben sich nervenübergreifende Faserdichten der myelinisierten Fasern von 3.351 bis 17.812 pro mm² (Abb. 21). Auch bei diesem Parameter zeigten sich starke Variationen zwischen den Tieren und innerhalb der Individuen im longitudinalen (innerhalb eines Faszikels) und vertikalen (zwischen den unterschiedlichen Faszikeln) Vergleich.

Wie auf Abbildung 21 zu erkennen zeigte das Tier 5 die höchste Faserdichte mit knapp 18.000 Fasern pro mm². Die geringste Dichte mit 3.350 Fasern pro mm² wurde in einigen Faszikeln bei Tier 8 ermittelt.

Alle anderen Vergleichstiere wiesen eine Faserdichte von 5.000 bis 13.500 Fasern pro mm² auf. Der *N. fibularis communis* von Pferd 2 zeigte mit 8.000 und 13.000 myelinisierten Fasern pro mm² ein sehr ähnliches Faserdichtespektrum wie der *N. accessorius* der übrigen Tiere.

Sämtliche Einzelwerte bezüglich Faszikelfläche, Faseranzahl und Faserdichte sind der Tabelle 12 im Anhang zu entnehmen.

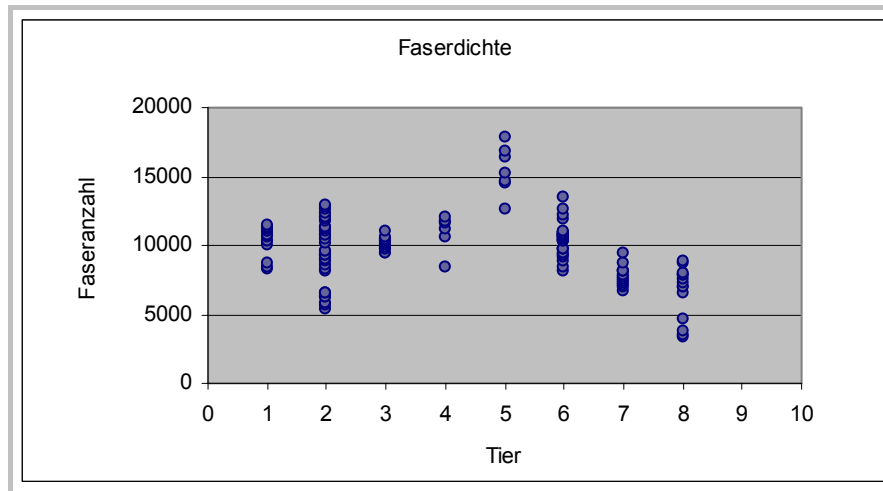


Abb. 21:
Faserdichte pro Schnitt
und Tier in mm^2

3.3.1.2 Faser- und Axonflächen

Die Faserflächenwerte bewegten sich in einer Spanne von 3,6 bis $687 \mu\text{m}^2$. Bei einem Vergleich der Flächenwerte aller Versuchstiere konnte eine relativ einheitliche Verteilungskurve festgestellt werden, die sich mit einer deutlichen Spitze bei Flächen zwischen 15 bis $35 \mu\text{m}^2$ darstellt.

Wie durch die Abbildung 22 erläutert, kam es bei Tier 2, 7 und 8 zu Abweichungen von dem sonst relativ einheitlichen Verteilungsmuster. Bei einer Überprüfung der Flächenverhältnisse von jedem einzelnen Querschnitt dieser Tiere, stellten sich bei Tier 7 zwar alle Schnitte mit dem gleichen Verteilungsmuster aber mit einem geringeren Prozentsatz an kleinen Fasern gegenüber den restlichen Vergleichstieren dar. Das kranke Vergleichstier zeigte im Gegensatz dazu bei den fünf Querschnitten der Faszikel a und b ein völlig diffuses Faserflächenverteilungsmuster mit einem extrem niedrigen Prozentsatz an kleinen Nervenfasern. Zusätzlich stellte sich bei diesen Schnitten heraus, dass sie im Vergleich zu den anderen Faszikeln eine hohe Anzahl an Fasern besaßen, die Flächen über $200 \mu\text{m}^2$ besaßen (Abb. 23/blau). Die übrigen Faszikel (c-f) enthielten wie bei Tier 7 im Gegensatz zu den übrigen Tieren zwar einen geringeren Anteil an kleinkalibrigen Fasern, wiesen aber ein einheitliches Verteilungsmuster auf (Abb. 23/schwarz).

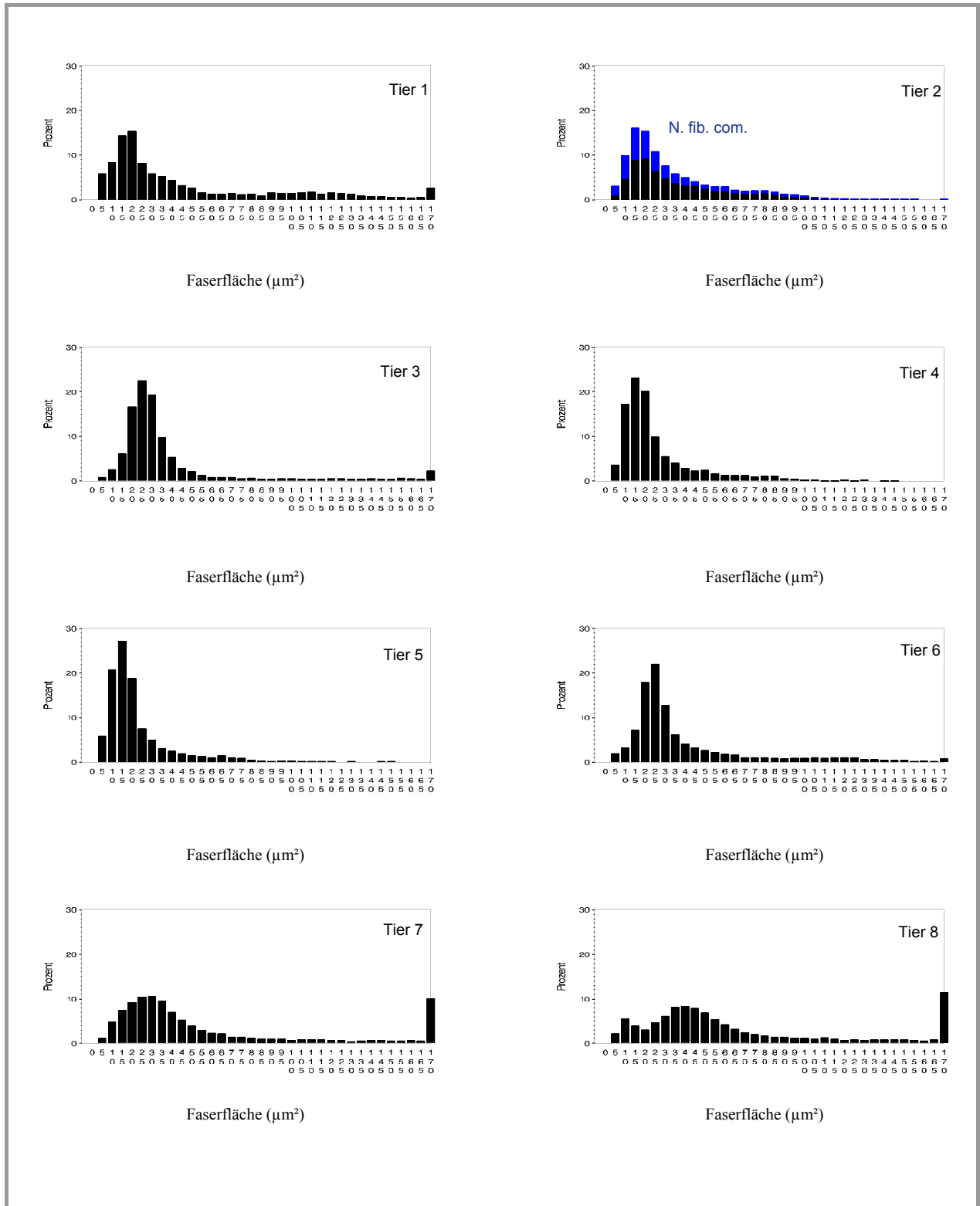


Abb. 22: Faserflächenhistogramme der Mittelwerte pro Tier

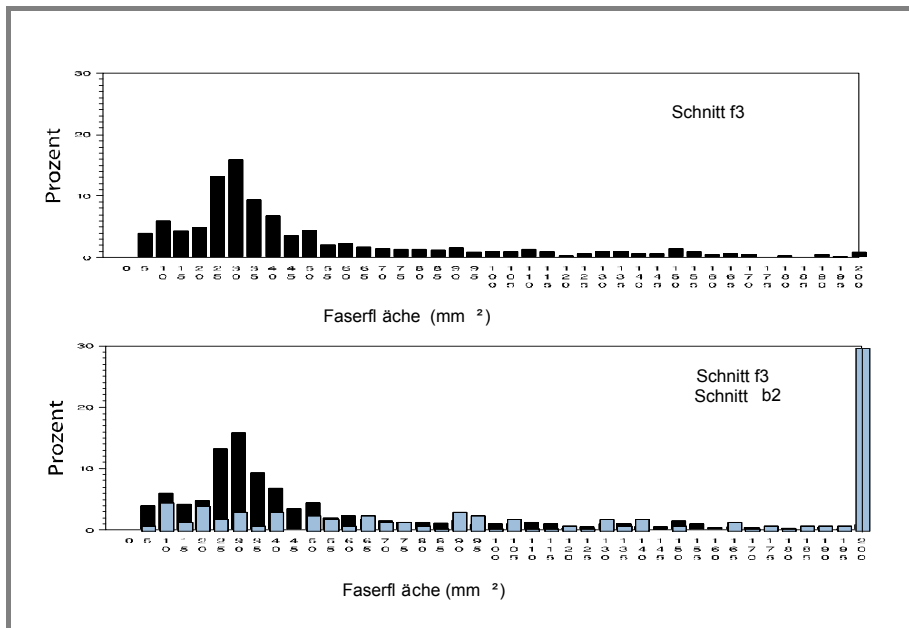


Abb. 23:
 prozentuale Faserflächenverteilung
 innerhalb der Faserpopulation bei
 Tier 8
 Schnitt b2 (blau) und f3 (schwarz)

Die Proben des N. accessorius der Faszikel d1 und e1 von Tier 2 wiesen ein sehr uneinheitliches Verteilungsmuster der Flächengrößen ohne ein signifikantes Peak auf. Bei den Querschnitten der Faszikel d2/e2/h1/h3/h4 war eine deutliche Rechtsverschiebung der Spitze in einen Größenbereich von 60 – 100 μm^2 zu verzeichnen (Abb. 24).

In Abbildung 22 wird die Faserflächenverteilung des N. fibularis communis (blau) der des N. accessorius (schwarz) gegenübergestellt. Hierbei zeigt sich für die beiden unterschiedlichen Nerven ein vergleichbares Faserflächenverteilungsmuster.

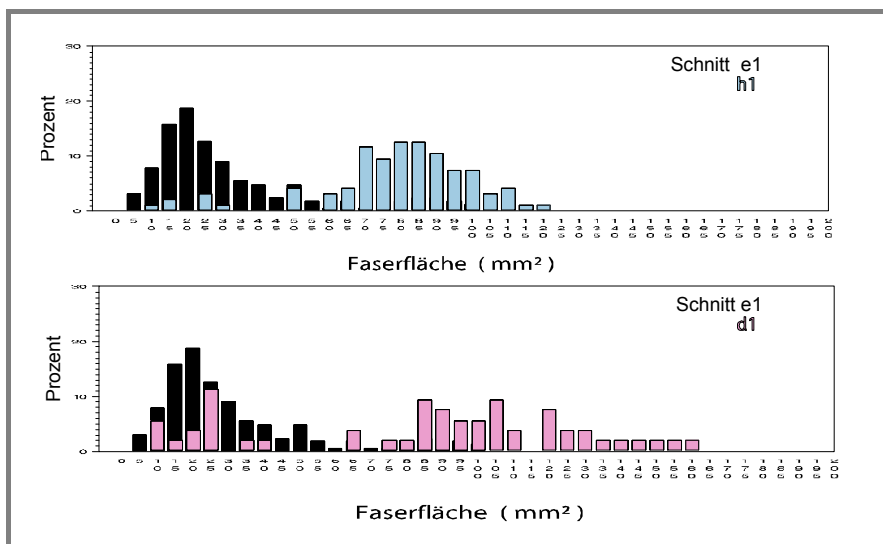


Abb. 24:
 Prozentuale Faserflächenverteilung
 der Faserpopulation.
 N. acc. von drei unterschiedlichen
 Faszikel von Pferd 2 im Vergleich.

Die Faserflächen, verglichen von Tier zu Tier, zeigten starke Abweichungen in ihren Messwerten ($p < 0,0001$). Dies traf auch auf den faszikelübergreifend vertikalen Vergleich der Faszikel eines

Individuums zu ($p < 0,05$). Hier traten hohe Standardabweichung (SD) bis zu $\pm 63 \mu\text{m}^2$ bei den gesunden Tieren und von $\pm 70,3 \mu\text{m}^2$ bei dem kranken Tier 8 auf.

Bei dem Vergleich von *N. fibularis communis* und *N. accessorius* innerhalb von Pferd 2 war dies nicht der Fall. Hier waren keine bemerkenswerten Unterschiede ($p = 0,2$) feststellbar, was auf eine vergleichbare Faserflächenkomposition schließen lässt.

Die in Serie geschnittenen Faszikel wiesen, ohne bestimmte Fasergruppen auszuschließen, in Bezug auf die Faserflächen eine große Ähnlichkeit auf. Alle Faszikelquerschnitte dieser Versuchsgruppe zeigten sich innerhalb des Individuums ohne merkliche Unterschiede (Tier 3 $p = 0,99$; Tier 1 $p = 0,99$; Tier 7 $p = 0,97$). Hieraus ergab sich, dass über eine Strecke von mindestens $100 \mu\text{m}$ im longitudinalen Verlauf eines Faszikels, keine signifikanten Abweichungen der Gesamtfaserflächen feststellbar sind.

Tab. 7: p-Werte bei einem faszikelübergreifendem Vergleich der Faserflächen

Tier	Faszikel	N	f-Wert	p-Wert
1	a	3	3,42	0,06
5	a	4	3,31	0,19
2	b	3	0,83	0,44
8	b	3	1,63	0,27
8	f	3	1,19	0,28

Auch bei der Gegenüberstellung der einzelnen Faszikel eines Individuums im longitudinalen Verlauf zeigte sich, bei den in Tabelle 7 angegebenen Tieren und Faszikeln, für die Gesamtfaserfläche ein durchaus vergleichbares Ergebnis. Es kam hier zu weitaus geringeren Abweichungen der Gesamtfaserflächen als bei dem vertikalen, faszikelübergreifenden Vergleich.

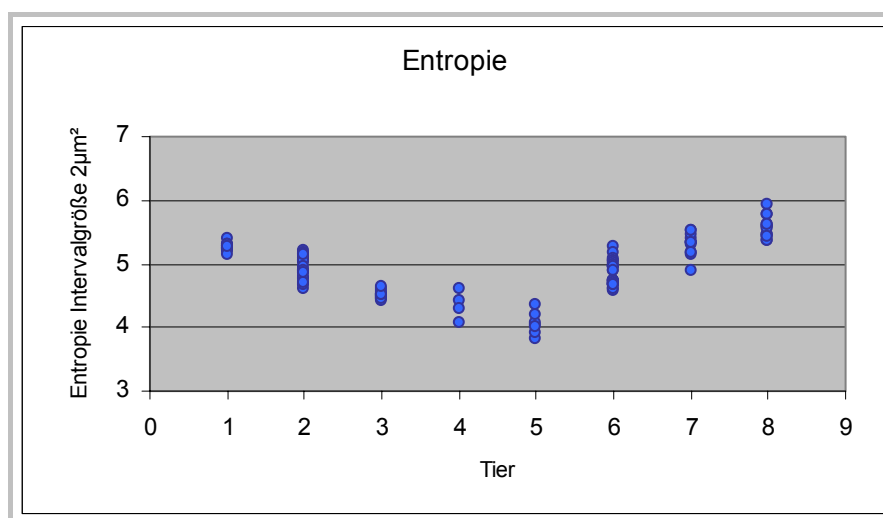


Abb. 25:
Entropie pro
Schnitt und Tier

Einen weiteren Parameter zur Bestimmung der Faserflächenverhältnisse stellt die Entropie dar (Abb. 25). Sie ist ein Maß für die Unordnung und steigt mit der Heterogenität der Faserflächen an. Sie wurde in drei Intervallstufen im Abstand von 1, 2 und 3 μm^2 gemessen. Die hier angegebenen Werte beziehen sich auf die Intervallgröße von 2 μm^2 Abstand, da es hier zu interessanten Ergebnissen kam. Die mit Abstand niedrigsten Entropien (3,9 bis 4,6) zeigten beide Fohlen (Tier 4 und 5), während die adulten gesunden Tiere bei einer Entropie zwischen 4,4 und 5,5 lagen. Bei diesem Parameter kam es damit zum ersten Mal zu einem erkennbaren Unterschied zwischen den Altersgruppen, jedoch waren Überlappungen der Werte vorhanden. Innerhalb der in Serie geschnittenen Proben stellte sich ein sehr einheitliches Bild dar und zeigte eine maximale Abweichung SD von 0,2. Das kranke Tier 8 zeigte mit 5,5 bis 6 den höchsten Wert.

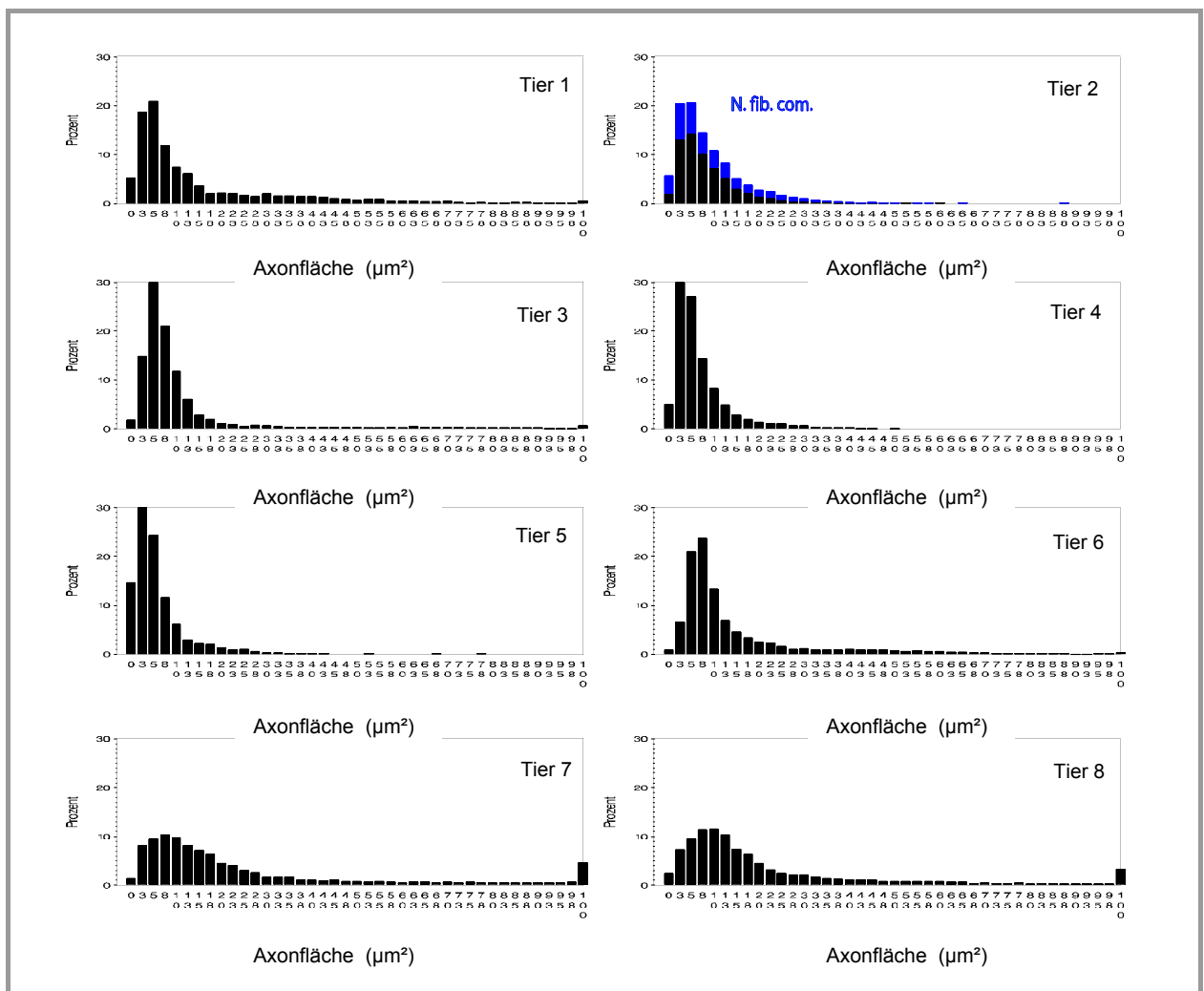


Abb. 26: Axonflächenhistogramme der Mittelwerte pro Tier in μm^2

Die Axonfläche betreffend ergaben sich Werte von 0,2 bis 394 μm^2 , (Abb. 26), die im Sinne einer unimodalen Verteilung einen Peak bei 5 μm^2 aufwies. Die Mittelwerte und

Standardabweichung lagen bei der gesunden Population bei $13,8 \mu\text{m}^2 \pm 6 \mu\text{m}^2$. Das Kranke Tier wies eine mittlere Axonfläche von $28,7 \mu\text{m}^2$ mit einer SD von $\pm 18,4 \mu\text{m}$ auf². Die vollständigen Messwerte sind der Tabelle 15 auf Seite 120 des Anhangs zu entnehmen.

Bei der Gegenüberstellung der Parameter von Faser- und Axonflächen der Serienschritte ergab sich eine einheitliche Verteilungskurve. In Abbildung 27 wurden die Axonflächen nach ihrer Faserfläche in 3 Klassen eingeteilt. Innerhalb Gruppe 1 wurden Fasern mit einer Fläche von $5 \mu\text{m}^2$ bis $30 \mu\text{m}^2$ als kleinkalibrige Fasern zusammengefasst. Mittelgroße Fasern, mit Flächen von $30 \mu\text{m}^2$ bis $70 \mu\text{m}^2$ wurden zur Gruppe 2 und die großkalibrigen Fasern bis $150 \mu\text{m}^2$ zur Gruppe 3 gezählt. Durch diese Korrelation wird am Beispiel der Serienschritte klar gezeigt dass es im Bereich der Kleinfaserpopulationen, bedingt durch Segmentierungsartefakte (IV Kapitel 2) leicht zu einer numerischen Verfälschung kommen kann

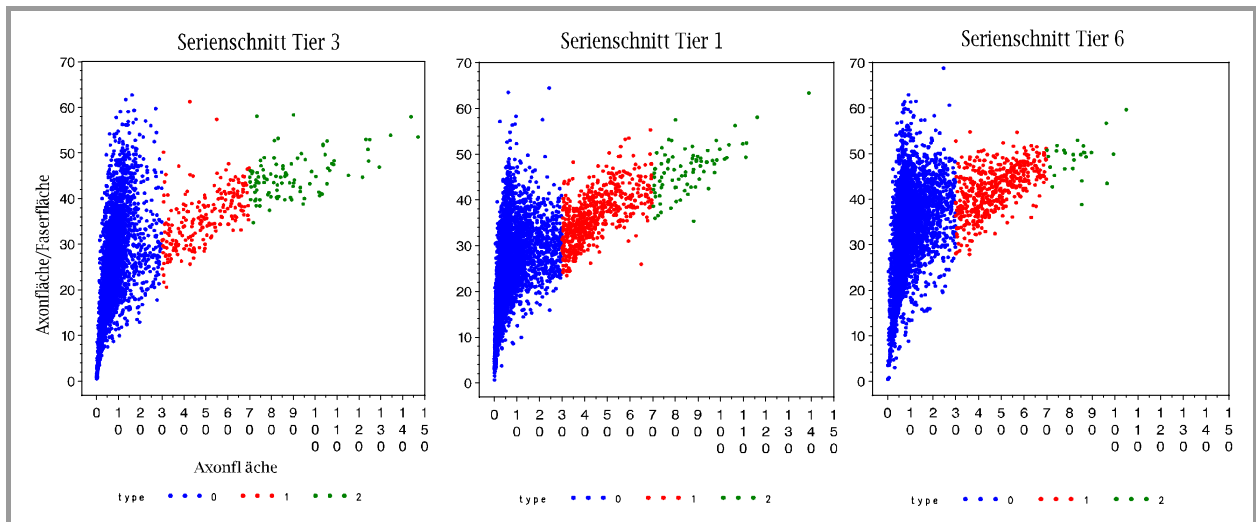


Abb. 27: Vergleich von Axon- und Faserfläche am Beispiel der Serienschritte

3.3.1.3 Faser- und Axonradius

Zur Bestimmung des Faser- und Axonradius wurden die drei möglichen, auf Seite 42 beschriebenen Vermessungsvarianten durchgeführt und verglichen. Es zeigte sich, dass der aus der Fläche errechnete Radius (*radareaf*, *radareaa*) einen Mittelwert zwischen dem maximalen (*radextf*, *radexta*) und dem durch den größten einbeschreibbaren Kreis darstellbaren Radius (*radf*, *rada*) ergab (Abb. 28).

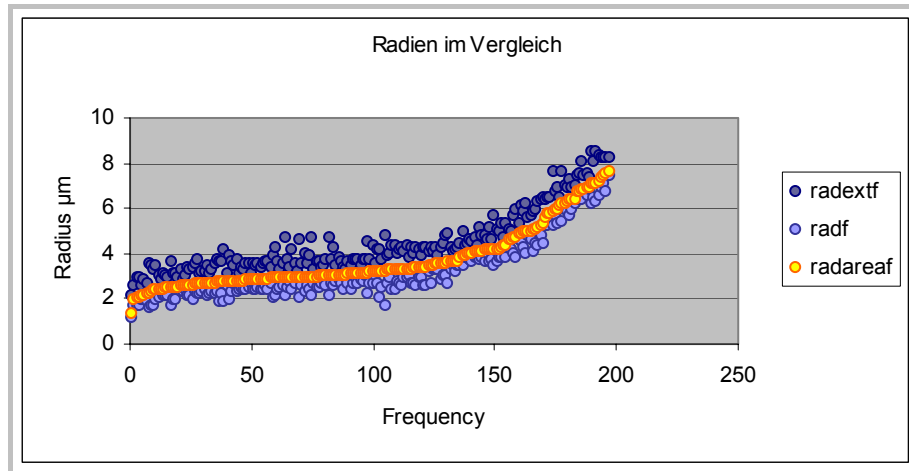


Abb .28:
Vergleich der drei Radien am
Beispiel von Tier 6

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der drei Radien werden, stellvertretend für die übrigen Tiere, für Pferd 6 in Tabelle 8 aufgeführt.

Tab. 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der unterschiedlichen Radiusparameter

Variable	MW μm	SD μm
radf	3,0	0,50
rada	1,5	0,37
radarea	3,5	0,53
radareaa	1,9	0,45
radextf	4,4	0,61
radexta	2,8	0,60

Für alle weiteren Berechnungen wurden *radareaf* und *radareaa* als Radiusparameter herangezogen.

3.3.1.4 Faser- und Axondurchmesser

Auch für den Durchmesser galten hier die aus der Fläche berechneten Faser- und Axondurchmesser *dareaf* und *dareaa* als zuverlässigste Werte. Die unten angegebenen Werte beziehen sich ausschließlich auf *dareaf* und *dareaa*, da diese auch für alle weiteren Berechnungen von durchmesserabhängigen Parametern herangezogen wurden. Die vollständigen Werte, inklusive der Parameter *drad* und *dmext*, finden sich in der Tabelle 17 im Anhang auf Seite 127.

Die Faserdurchmesser der myelinisierten Fasern lagen zwischen 2 und 30 μm (Abb. 29). Für die Mittelwerte pro Tier ergaben sich Durchmesser von 5,01 bis 8,83 μm . Die Verteilung der Durchmesser zeigte eine weitgehend bimodale Verteilungskurve mit einer prägnanten Spitze bei

4 bis 6 μm und einem schwächeren Peak im Bereich der größeren Fasern mit 10 bis 12 μm . Diese Ergebnisse entsprechen einer an Pferdenerven durchgeführten Studie von WHEELER (1989), in welcher Referenzbereiche für den N. palmaris lateralis von 6,2 – 9,13 angegeben und ebenfalls bimodale Verteilungskurven mit einem Peak bei 4 – 6 μm und einem weiteren bei 9 – 13 beschrieben werden (185).

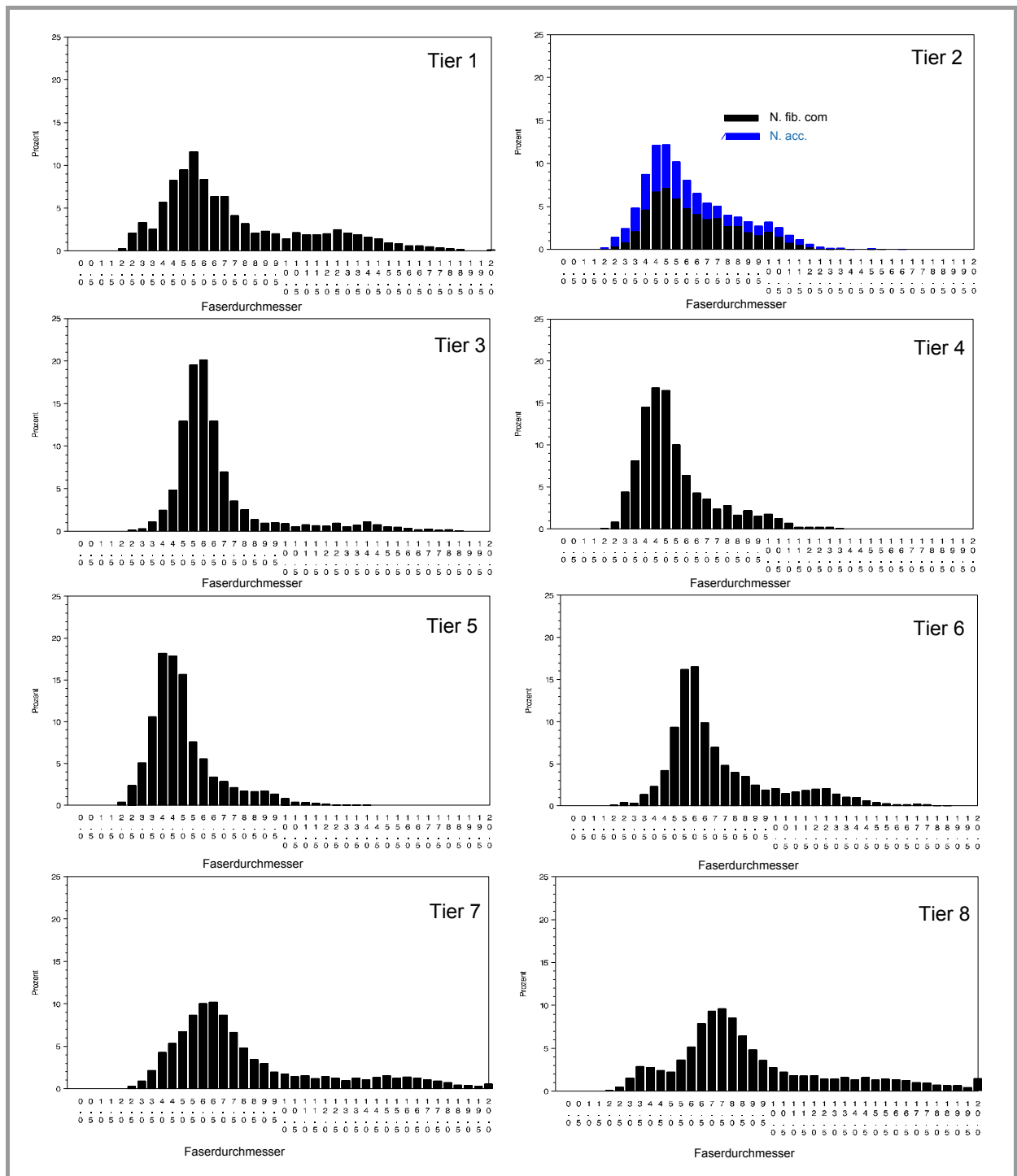


Abb. 29: Faserdurchmesserhistogramme pro Tier in μm

Zur Unterscheidung von großen und kleinen myelinisierten Fasern wurde eine Grenze bei einem Gesamtfaserdurchmesser von 7 μm gezogen. Für die Ermittlung der Größenverteilung wurde die Exceedingrate benutzt. Diese bringt den Prozentsatz an großen Fasern mit einem Durchmesser von über 7 μm zum Ausdruck. Auch hier kam es zu altersassoziierten Unterschieden: die beiden Fohlen, Tier 4 und 5, wiesen den geringsten Anteil von 11 bis 22% an Fasern mit über 7 μm Durchmesser auf. Bei den Serienschnitten von Tier 1, 3 und 6 lag der Prozentsatz an großen Fasern bei 19 bis 38%. Für die Tiere 1, 6 und 7 wurde eine Exceedingrate von 30 bis 50% ermittelt. Die Probe des N. accessorius von Tier 2 zeigte weitere Auffälligkeiten in ihrer Durchmesserverteilung. Hier wurde ersichtlich, dass 7 von 18 Querschnitten eine Exceedingrate von über 70% aufwiesen.

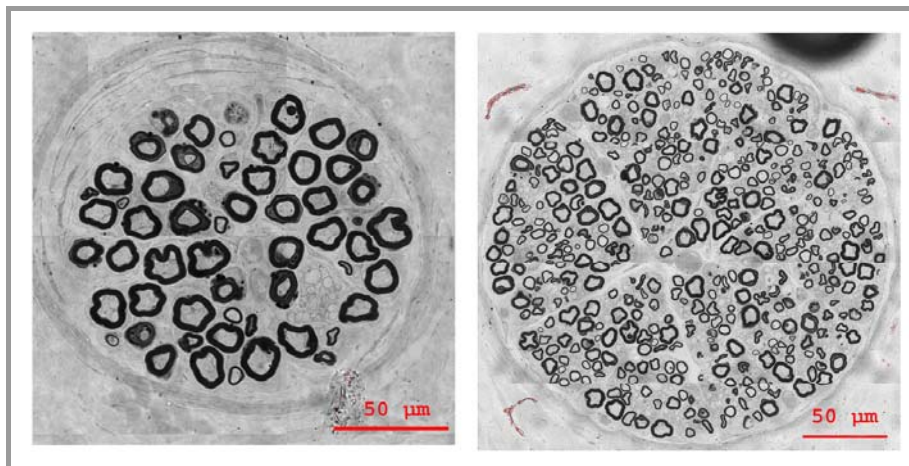


Abb. 30:
Vergleich 2er Faszikel von Tier 2

Bei einer Überprüfung dieser Schnitte wurde ersichtlich, dass es sich hier um Faszikel mit einer, im Gegensatz zu den übrigen Querschnitten, sehr kleinen Referenzfläche und fast ausschließlich großen Nervenfasern handelt (Abb. 30/links). Diese Faszikelquerschnitte wurden als nicht repräsentativ befunden und aus dem Probenkollektiv ausgeschlossen. Der am Bein entnommene Nervus fibularis communis desselben Tieres, zeigte mit Werten von 25 bis 41 % keine sonderliche Abweichung von den anderen adulten Tieren. Bezüglich des kranken Tieres 8 konnten hier die höchsten Exceedingraten ermittelt werden. Bei dieser Probe betrug der Prozentsatz an großen Fasern 60 bis 90%.

Allgemein lässt sich sagen, dass, wie auch bei den Faserflächen, eine starke Heterogenität der Faserdurchmesserverteilung in den Querschnitten vorherrscht. Der faszikelübergreifende Vergleich der Faserdurchmesser ergab pro Individuum ohne Ausnahme p-Werte von $p < 0,0001$ und brachte eine starke intraindividuelle Abweichung zwischen den Faszikeln hervor. Bei dem longitudinalen Vergleich innerhalb eines Faszikels konnte bei einem Schnittabstand von

mindestens 0,3 cm bis maximal 1,2 cm in einigen Fällen kein signifikanter Unterschied mehr gefunden werden (Tab. 9).

Tab. 9: signifikante p-Werte des Parameters *radareaf* des faszikelübergreifenden Vergleichs pro Individuum

Tier	Faszikel	N	f-Wert	n-Wert
1	a	3	1,81	0,08
6	e	2	1,17	0,41
2 N. fib. com.	a	3	2,93	0,05
2 N. fib. com.	q	3	0,4	0,67
2 N. fib.com.	h	3	1,03	0,65
2 N. acc.	a	3	1,91	0,15
2 N. acc.	b	3	1,15	0,32
7	a	2	0,4	0,67
8	b	3	1,02	0,36
8	f	3	1,57	0,21

Im intraindividuellen Vergleich der Nn. accessorius und fibularis communis von Pferd 2 ließ sich keine signifikanter Unterschied feststellen ($p = 0,89$). Hieraus ergibt sich, dass diese beiden Nerven auch in ihrer Faserkaliberverteilung durchaus vergleichbar sind.

Auch die in Serie geschnittenen Proben des N. accessorius zeigten sich wie zu erwarten ohne jeden signifikanten Unterschied (Tier 3: $p = 0,99$, Tier 1: $p = 0,98$, Tier 6: $p = 0,99$).

Bei dem Vergleich der Parameter Exceedingrate und Faseranzahl (Abb. 31) konnte dargestellt werden, dass Faszikelquerschnitte mit einer Faseranzahl unter 150 und einer Exceedingrate über 65%, wie es für einige Schnitte von Pferd 2 der Fall war, sich stark von der „Norm“ abheben.

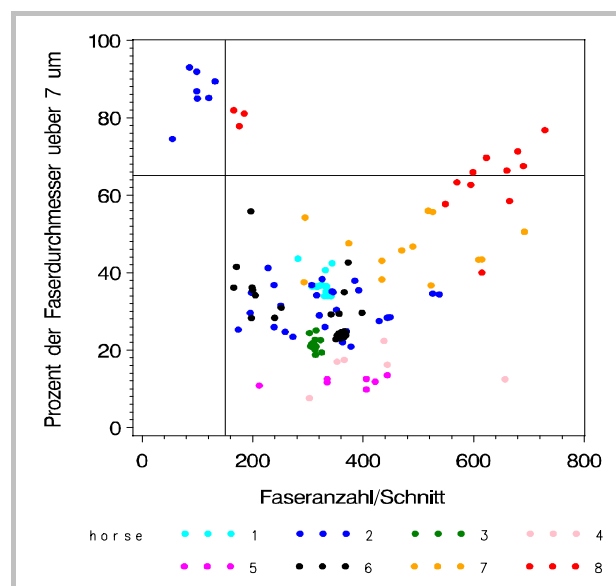


Abb. 31:
Darstellung der Exceedingrate
aufgetragen gegen die
Gesamtfaseranzahl pro Schnitt

Des Weiteren konnte mit dieser Darstellungsweise gezeigt werden, dass die Nervenfaszikel von Tier 8 überwiegend eine überdurchschnittlich hohe Anzahl an großkalibrigen Fasern besaßen

(Abb. 31). Durch die Präsenz von fast ausschließlich großen Fasern verlieren diese Faszikel an Repräsentativität, da hier davon ausgegangen werden kann, dass nicht alle Fasertypen vertreten sind. Alle Faszikel, die bei dieser Darstellungsweise eine Faseranzahl von unter 150 und eine Exceedingrate von über 65% aufwiesen, wurden dementsprechend für die folgenden Berechnungen und Analysen nicht mehr berücksichtigt.

Messwerte der Faser- und Axondurchmesser mit ihren Mittelwerten und Standardabweichungen pro Querschnitt, sind den Tabellen 16, 17 und 18 des Anhangs zu entnehmen.

3.3.1.5 G-Ratio

Bei der Berechnung der G-Ratio lagen die Werte pro Querschnitt bei allen Tieren zwischen 0,40 und 0,66 (Abb. 32) mit einer Standardabweichung von $\pm 0,02$. Die Gesamt-G-Ratio pro Pferd zeigte sich im Bereich von 0,47 bis 0,63 mit einer geringeren SD von $\pm 0,05$ (Tab. 10). Die Nervenfasern mit der höchsten G-Ratio, also den dünnsten Myelinscheiden, zeigten sich bei Tier 7. Das Fohlen, Tier 5, wies mit seiner niedrigsten G-Ratio den höchsten Myelinisierungsgrad, im Vergleich zu dem übrigen Untersuchungskollektiv, auf.

Beim Nervenvergleich von Tier 2 ist zu bemerken, dass die G-Ratio des N. fibularis communis mit seinen Werten (0,42 bis 0,56) geringfügig unter denen lag, die der N. accessorius (0,47 bis 0,58) aufwies. Selbst die im kranken Tier 8 ermittelten Werte der von 0,47 bis 0,59, waren mit dem übrigen Untersuchungskollektiv vergleichbar.

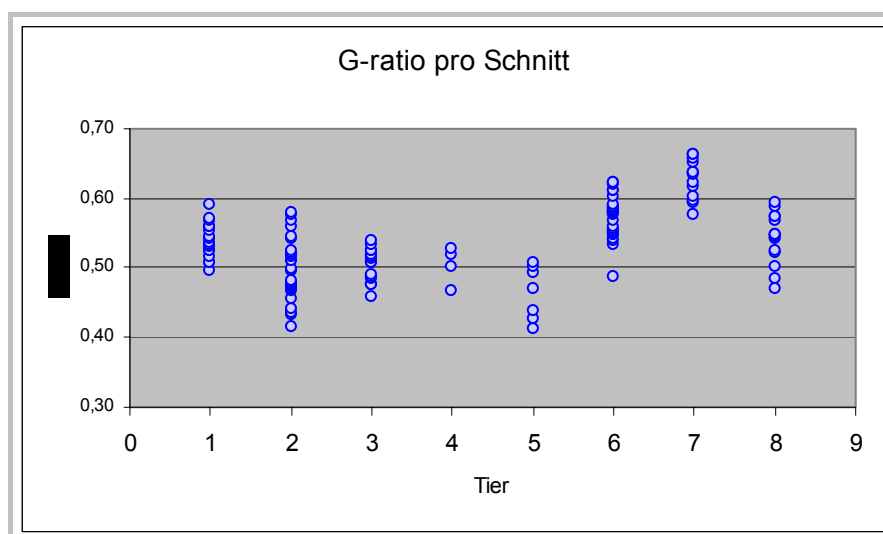


Abb. 32:
G-Ratio- pro Querschnitt
und Tier

Die hier angegebenen Werte der G-Ratio beruhen auf den aus der Fläche berechneten Durchmessern *dareaf* und *dareaa* von Gesamtfaser bzw. Axon. Es wurden, der Vollständigkeit halber, die entsprechenden G-Ratio-Werte von dem maximalen Durchmesser, wie auch dem Durchmesser des am größten einbeschreibbaren Kreises ermittelt (Tab. 10).

Tab. 10: Standardabweichung und Mittelwerte der G-Ratio ermittelt, aus *dareaf* und *dareaa* pro Tier

Tier	Ort	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
1	N.acc.	0,54	0,03	0,53	0,54
2	N.fib.com.	0,48	0,03	0,47	0,48
2	N.acc.	0,52	0,04	0,51	0,53
3	N.acc.	0,50	0,03	0,50	0,51
4	N.acc.	0,51	0,05	0,50	0,52
5	N.acc.	0,47	0,05	0,46	0,48
6	N.acc.	0,57	0,02	0,57	0,58
7	N.acc.	0,63	0,02	0,62	0,63
8	N.acc.	0,53	0,03	0,53	0,54

Trug man nun die G-Ratio gegen den Faserdurchmesser auf, ließ sich eine geringfügig, proportional zum Durchmesser ansteigende Gerade verzeichnen. Das heißt, dass sich die Myelinscheide in Relation zum Faserdurchmesser bei großen Fasern schmaler präsentiert als bei kleinkalibrigen Fasern.

Während sich bei der einfachen Darstellung der G-Ratio pro Querschnitt das kranke Pferd nicht von den übrigen abhob, wurde bei dem Vergleich mit dem Durchmesser eine Abweichung dieses Tieres vom übrigen Untersuchungskollektiv ersichtlich (Abb. 33).

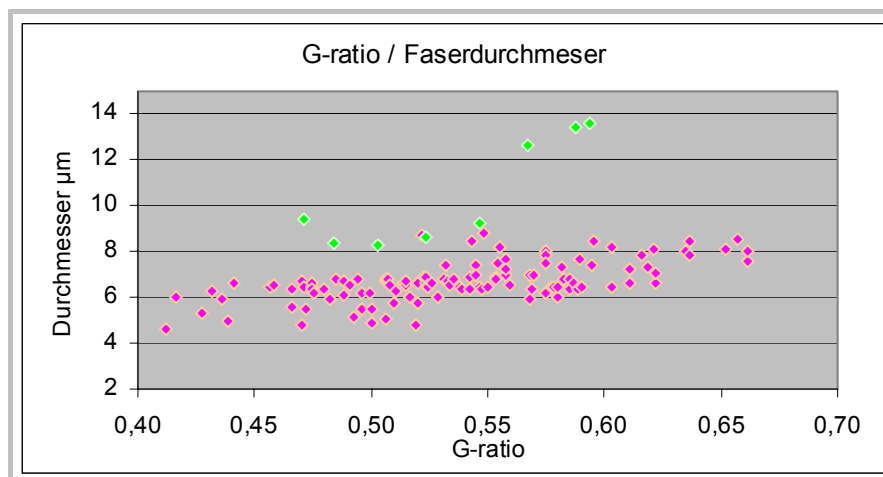


Abb. 33:
G-Ratio aufgetragen gegen
Faserdurchmesser pro
grün = krankes Tier 8;
pink = gesunde Tiere

Die vollständigen Tabellen der G-Ratio pro Querschnitt sind der Tabelle 22 auf Seite 138 des Anhangs zu entnehmen.

3.3.1.6 Myelinscheidendicke

Die Ermittlung der Myelinscheidendicke erfolgte in zwei Vermessungsvarianten. In Ersterer wurde der Durchmesser in Form eines mittleren, bzw. gemittelten, und duplizierten Radius wiedergegeben (*mydick*), im zweiten Fall wurde über die Vermessung der dünnsten Stelle der Myelinschicht der minimale Durchmesser (*mymin*) errechnet. Im Folgenden werden erst die Ergebnisse des mittleren Myelinscheidendurchmessers besprochen, dem folgen die Auswertungen des minimalen Durchmessers.

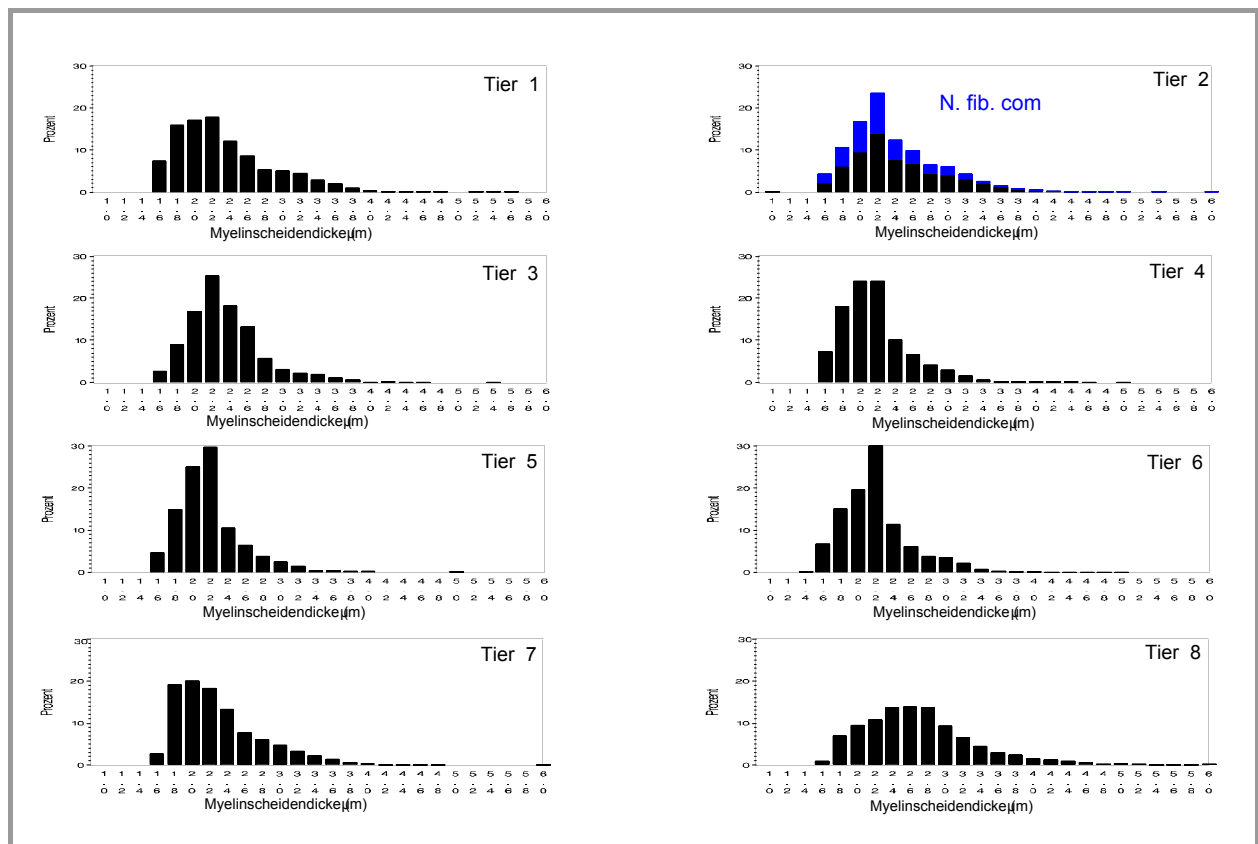


Abb. 34: Verteilungshistogramme der Myelinscheidendicke „mydick“ pro Tier

Bei der Vermessung der Myelinscheidendicke wurden Werte von 1 bis 10 μm ermittelt. Wie auf Abbildung 34 dargestellt zeigte sich für diesen Parameter eine regelmäßige Verteilung mit einem Peak zwischen 1,8 und 2,4 μm . In diesem Bereich lagen über 60% der Fasern. Im Gegensatz zu den Axon- und Gesamtfaserparametern verhält sich die Myelinscheidendicke bei allen Vergleichstieren recht ähnlich. Ausschließlich Tier 8 wich in seinen einzelnen Faszikeln von der Verteilungsnorm geringfügig ab und zeigen eine flachere Kurve mit einem höheren Anteil an Fasern mit dicken Myelinscheiden. Bei diesem Tier lagen lediglich 43 % der Myelinscheiden bei einer Dicke von 1,8 bis 2,4 μm . Außerdem zeigte Tier 2 eine auffällige Differenz zwischen dem N. fibularis communis und dem N. accessorius. Hierbei erwiesen sich die Fasern einiger Faszikel

des N. accessorius, im Vergleich zum N. fibularis communis, als stärker myelinisiert. In der oben beschriebenen Verteilungskurve befanden sich bei dieser Probe nur 38% der Myelinscheiden. Bei dem Auftragen der Myelinscheidendicke gegen die Faserfläche pro Schnitt, bestätigte sich das abweichende Bild von Tier 8. Hier ließ sich demonstrieren, dass fast alle Nervenfaszikel dieses Tieres, überdurchschnittlich große Fasern mit einem hohen Myelinisierungsgrad enthalten. Eine weitere Auffälligkeit zeigte sich bei zwei Querschnitten von Tier 6, welche mit Mittelwerten der Faserflächen von unter $50 \mu\text{m}^2$ und Myelinscheidendicken unter $2 \mu\text{m}$, damit die kleinsten und am schwächsten myelinisierten Fasern präsentierten (Abb. 35).

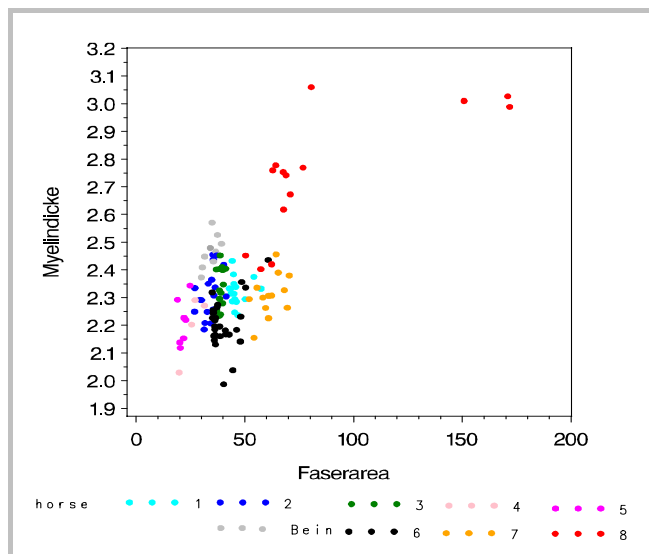


Abb. 35:
Myelinscheidendicke (*mydick*)
aufgetragen gegen die
Faserfläche μm^2

Wie bereits oben erwähnt wurde ein weiterer Parameter zur Wiedergabe der Myelinscheidendicke vermessen. Hierbei handelte es sich um die dünnste Stelle der Myelinschicht, die als Merkmal herangezogen und mit *mymin* bezeichnet wurde. Die Vermessung wurde nur bei Tier 6 durchgeführt und aufgrund der Ergebnisse für das übrige Untersuchungskollektiv nicht weiter in Betracht gezogen.

Im Gegensatz zur mittleren Myelinscheidendicke (*mydick*) präsentierte sich die minimale Myelinscheidendicke (*mymin*) in seinen Histogrammen ohne die sonst merkmalübergreifende, gleichmäßige Verteilungskurve. Es ergaben sich für die dünnste Stelle der Myelinschicht Werte von $0,6$ bis $3,75 \mu\text{m}$. Wie in der unten dargestellten Abbildung (Abb. 36) ersichtlich sind zwei Peaks ausgebildet. Danach wiesen gut 30 % der Myelinscheiden eine Dicke von $0,8 \mu\text{m}$, und bis zu 25 % eine Dicke von $1,4 \mu\text{m}$ auf. Bei einer Überprüfung der Messergebnisse stellte sich heraus, dass es aufgrund von Falschdetektionen zu einer Fehlinterpretation der Myelinscheidendurchmesser kam, indem aufgeblätterte Myelinscheidenlamellen fälschlicherweise als einzelne Myelinscheiden mit extrem kleinem Durchmesser detektiert wurden.

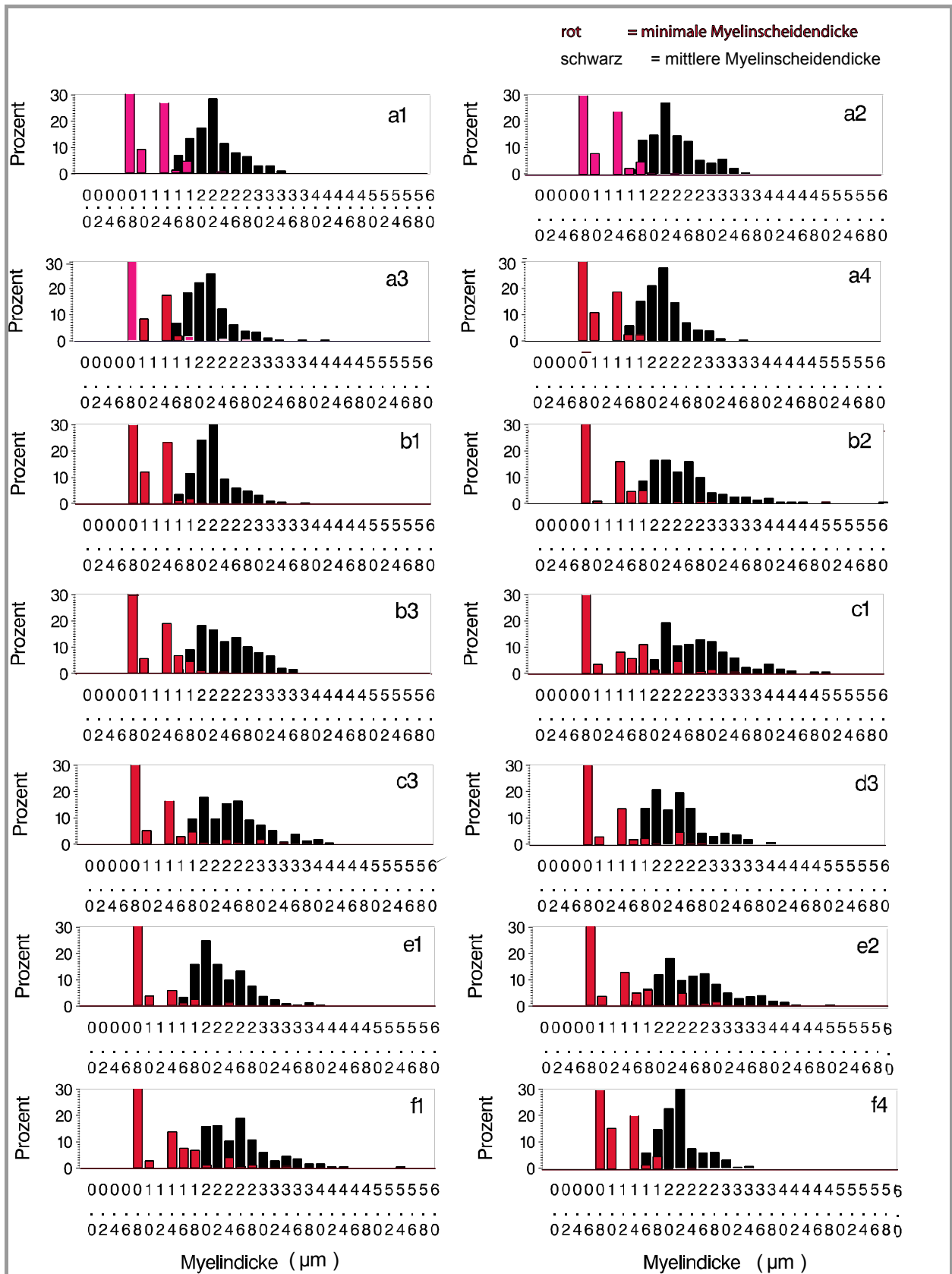


Abb. 36: Minimale Myelinscheidendicke (mymin) im Vergleich mit der mittleren Myelinscheidendicke (mydick) pro Schnitt am Beispiel von Tier 6

3.3.1.7 Zirkularität

Der mit $p2a$ bezeichnete Parameter spiegelt die Zirkularität einer Nervenfaser wieder. Hierbei wird der Wert 1 mit einem Kreis gleich gestellt, d. h. umso weiter sich der Wert von 1 entfernt, desto „unrunder“ ist eine Nervenfaser. Für die Zirkularität der gesamten Nervenfaser steht die Bezeichnung $p2a$, für die des Axons ergibt sich die Bezeichnung $p2aa$. Es ergab sich bei allen Vergleichstieren immer ein niedrigerer Gesamtfaser- als Axonwert. Das heißt, dass das Axon immer eine stärkere Zirkularitätseinbuße zeigte als die Gesamtfaser. Bei einem Vergleich der Mittelwerte pro Tier wurde ein $p2a$ von 1,55 (SD \pm 0,42) und ein $p2aa$ von 2,68 (SD \pm 1,7) nicht überschritten (Tab. 11).

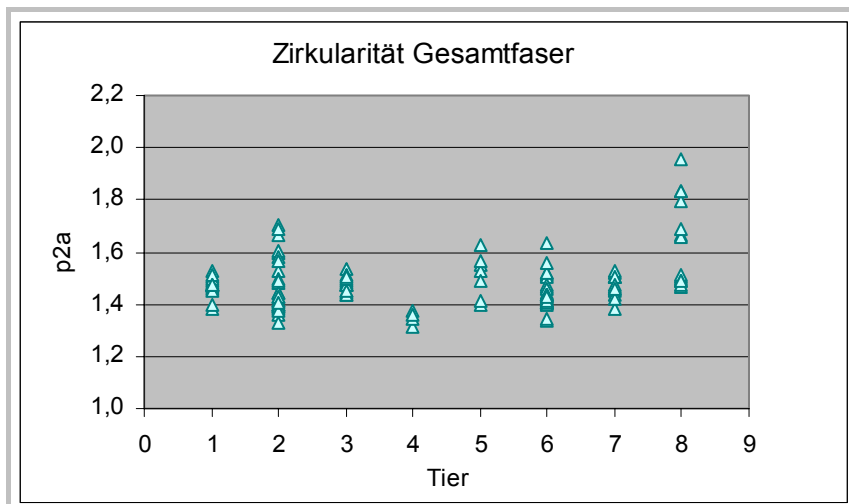


Abb. 37:
Zirkularität der
Gesamtfaser pro
Faszikel und Tier

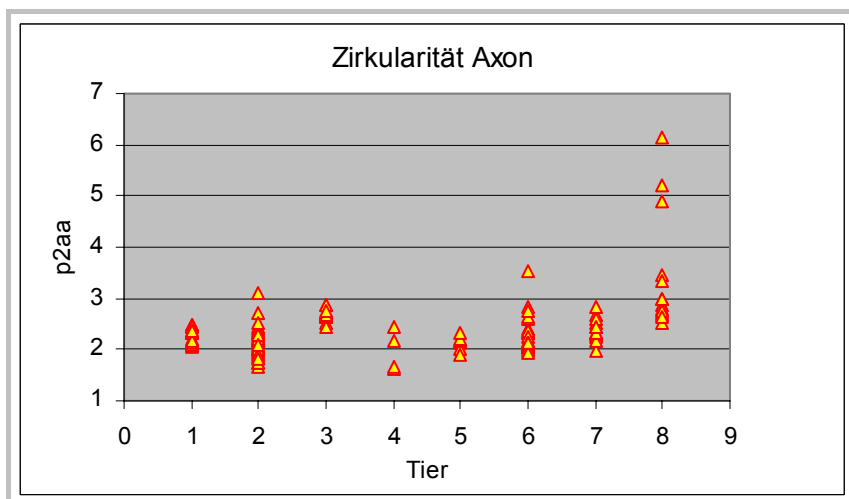


Abb. 38:
Zirkularität des
Axons pro Faszikel
und Tier

Dies galt allerdings nicht für Tier 8. Die Zirkularität betreffend war dieses kranke Pferd lichtmikroskopisch unauffällig, nach der Berechnung von $p2a$ (MW 1,65, SD \pm 1,03) und $p2aa$ (MW 3,04, SD \pm 3,03) konnte aber ein eindeutiger Zirkularitätsverlust verzeichnet werden.

Bei der Betrachtung des N. accessorius (MW $p2a$ 1,55 SD \pm 0,42, $p2aa$ 2,22 SD \pm 1,22) und N. fibularis communis (MW $p2a$ 1,43 SD \pm 0,31, $p2aa$ 2,12 SD \pm 1,19) von Tier 2 war hinsichtlich der Zirkularität der Gesamtfaser und des Axons kein Unterschied feststellbar.

Tab. 11: Zirkularität der Nervenfasern pro Tier

Tier	Nerv	Variable	Anzahl N	Durchschnitt	SD	Minimum	Maximum
1	N. acc.	p2aa	1606	2,23	1,25	1,08	17,16
		p2a	1622	1,44	0,33	1,14	6,49
2	N. fib. com.	p2aa	5088	2,12	1,19	1,03	12,78
		p2a	5280	1,43	0,31	1,11	6,46
2	N. acc.	p2aa	3174	2,22	1,22	1,03	14,22
		p2a	3695	1,55	0,42	1,08	6,39
3	N. acc.	p2aa	311	2,68	1,27	1,03	8,21
		p2a	311	1,51	0,33	1,11	3,75
4	N. acc.	p2aa	1864	1,91	1,34	1,03	18,50
		p2a	1906	1,35	0,29	1,09	7,38
5	N. acc.	p2aa	2212	2,12	0,99	1,03	9,41
		p2a	2562	1,51	0,35	1,11	5,14
6	N. acc.	p2aa	3869	2,35	1,54	1,08	17,93
		p2a	4035	1,46	0,31	1,12	5,19
7	N. acc.	p2aa	6155	2,37	1,70	1,06	17,14
		p2a	6273	1,47	0,37	1,11	7,87
8	N. acc.	p2aa	7302	3,04	3,03	1,05	41,56
		p2a	7502	1,65	1,03	1,10	28,47

Bei einem Auftragen der Zirkularität gegen die Exceedingrate konnte erneut ein Abweichen des erkrankten Tieres 8 visualisiert werden (Abb. 39). Hier stand das erkrankte Tier mit einer hohen Exceedingrate von über 50% in fast allen Faszikeln und einem $p2a$ bis 2, über den restlichen Vergleichstieren. Dies zeigte, neben den bereits aufgeführten Abweichungen für das Pferd 8, dass die Axone der überwiegenden Faszikel eine starke Formveränderung aufwiesen.

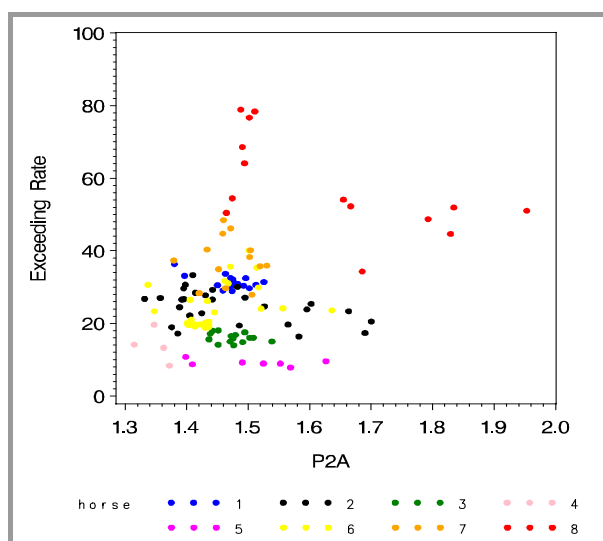


Abb. 39:
Exceedingrate aufgetragen
gegen den Zirkularitätsfaktor
(P2A)

3.3.2 Multivariate Analysen

Nach oben besprochener univariater Varianzanalyse, wurden die Werte, mittels schrittweiser Diskriminanzanalyse, einem multivariaten Analyseverfahren unterzogen. Als Merkmal mit dem niedrigsten p-Wert wurde der Variationskoeffizient von $p2a$ ermittelt, ihm folgte der Mittelwert der mittleren Myelinscheidendicke $mydick$. Aufgrund der geringen Anzahl der Schnitte des kranken Pferdes konnte kein drittes Merkmal ausgewählt werden, da, der Regel entsprechend, nur etwa. ein Fünftel der Anzahl der niedrigsten Klassenbesetzung (in diesem Fall das kranke Tier mit 14 Faszikelquerschnitten) als Merkmal verwendet werden darf. In dem vorliegenden Fall reduzierte sich dies auf zwei Merkmale.

Als Ergebnis erhält man die Klassifikationsfunktion

$$multi = 168,3 * mydick (MW) + 0,53 * p2a(CV) - 437,4$$

Ein Faserquerschnitt mit einem Wert unter Null wird der Klasse „gesund“ zugeordnet, erreicht ein Schnitt einen Wert von über Null wird es als „verändert“ (krank) eingeordnet. Im vorliegenden Fall wurden alle Faserschnitte, die bereits im Vorfeld als gesund befundet wurden, korrekt unter Null eingestuft. Die des kranken Pferdes dagegen ordneten sich alle, bis auf einen Faszikelquerschnitt, über Null ein. Anhand dieser Analysemethode war es möglich, das kranke Tier eindeutig von dem übrigen Untersuchungspool zu separieren.

Das hierfür als relevant befundene Merkmal $mydick$ gehört zu den schwieriger ermittelbaren Merkmalen, da die Trennung von Axon und Myelinscheide vorausgehen muss. Dasselbe Verfahren wurde daher erneut mit unter geringerem Aufwand ermittelten Parametern durchgeführt. Dazu zählen sämtliche Parameter, die sich aus der Gesamtfaser ablesen lassen wie Fläche, Durchmesser und Radius sowie Umfang, Zirkularität und Exceedingrate.

Im Anschluss erfolgte eine Korrelationsanalyse nach Pearson. Hier konnten einige erwartete Zusammenhänge, aber auch überraschende Korrelationen aufgezeigt werden.

Zu den unerwarteten Ergebnissen gehörte die hohe Korrelation der Mittelwerte der Myelinscheidenfläche $myarea$ mit dem Zirkularitätsfaktor des Axons $p2aa$ (gesund: $r = 0,38$, krank: $r = 0,93$). Weniger erstaunlich dagegen ist die Korrelation von Myelinscheidenfläche und Gesamtfaserfläche (gesund: $0,95$, krank: $0,99$). Zu vermerken bleibt, dass die Korrelationen des kranken Tieres häufig höher lagen als die der gesunden Population, da nur eine Vergleichsprobe

vorlag und somit eine biologische Varianz nicht berücksichtigt werden konnte. Die vollständigen Ergebnisse dieser Analyse sind den Tabellen 24 und 25 des Anhangs zu entnehmen.

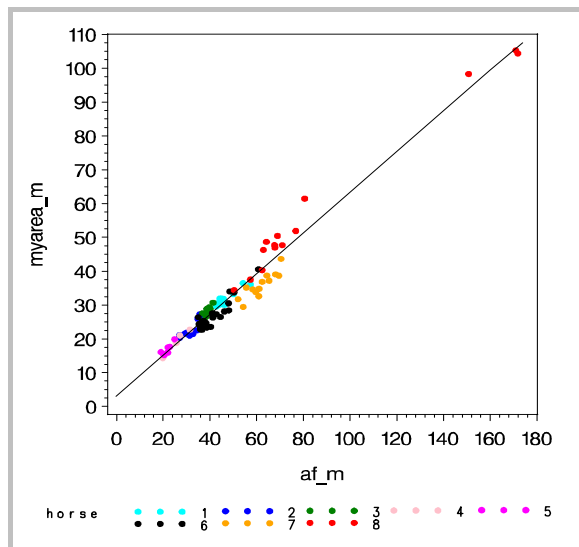


Abb. 40:
Korrelation von
Myelinscheidenfläche (myarea)
und Zirularitätsfaktor (p2aa)

IV DISKUSSION

Das periphere Nervensystem ist ein sich über den ganzen Körper erstreckendes Fasernetzwerk. Es besteht aus Zytoplasmafortsätzen, deren Zellkörper im Rückenmark, in den spinalen sowie peripheren Ganglien und Plexus liegen (47). Die einzelnen Fasern finden sich Bündeln zusammen, deren Anzahl, Größe und Gestalt sich auf unterschiedliche Art präsentieren. Diese morphologischen Parameter bieten sich für eine quantitative Charakterisierung, Klassifizierung, sowie Bestätigung bereits „subjektiv“ diagnostizierter Veränderungen im peripheren Nervensystem geradezu an. Die Diagnose peripherer Neuropathien ist ein Produkt aus klinisch-pathologischer Zusammenarbeit, mit einem hohen Wissen über elektrophysiologische Daten und bildgebende Verfahren (119). Die quantitative Verifizierung von pathologischen, aber auch physiologischen Veränderungen an Nervenfasern mit Hilfe der computergestützten Morphometrie stellt hierbei einen kleinen, allerdings sehr präzisen Baustein dar.

1 BEURTEILUNG DER REPRÄSENTATIVITÄT UND SELEKTION EINZELNER PARAMETER

Frühere Versuche myelinisierte Nervenfasern zu zählen und nach Größe zu sortieren endeten in der Regel mit sehr unterschiedlichen Ergebnissen. Eine erwähnenswerte Ausnahme stellt hier die Arbeit von ERLANGER und GASSER aus dem Jahr 1933 dar (51). Diese konnten erstmals durch den Vergleich funktioneller und morphometrischer Daten eine Beziehung zwischen Nervenleitgeschwindigkeit und dem mittleren Axondurchmesser darstellen. Letztlich praktikabel wurde die Morphometrie erst durch die Einführung von modernen Fixiermedien, Schnitttechniken und statistischen Denkansätzen sowie der Computertechnik mit ihrer Bildverarbeitung. Diese ermöglicht Anzahl, Größe und Form der Fasern und ihre subzellulären Komponenten in Nervenquerschnitten mit einer großen Präzision und Zuverlässigkeit zu bestimmen (40,192).

Die Anwendung morphometrischer Lösungsansätze zur Erfassung pathologischer, aber auch physiologischer Variablen in peripheren Nerven hat sich mittlerweile weitgehend durchgesetzt (41). Es existiert eine große Anzahl morphologischer Indikatoren, mit deren Hilfe periphere Neuropathien diagnostiziert werden können. In vielen Fällen bewegen sich die Veränderungen

aber in einem Bereich, der vom Untersucher nur durch morphometrische Hilfsmittel erkannt werden kann (147). Hierbei bedient er sich traditionellerweise der Erfassung von Anzahl und Dichte myelinisierter Nervenfasern sowie deren Form und Durchmesser- und Dichte-Verteilung (42,47,120,125). Des Weiteren lassen Faszikelfläche, Faserfläche, Axon- und Myelinscheidenfläche, sowie die G-Ratio Aussagen über adaptive und pathologische Nervenveränderungen zu (42,47,120).

In der vorliegenden Arbeit wurden diese Parameter auf ihre Anwendbarkeit auf equine Nerven überprüft und ergänzt. Tierübergreifend lassen sich über die Geometrie des Nervens Aussagen zu Krankheitszuständen und neurobiologischen Vorgängen, und vor allem deren funktionellen Konsequenzen treffen.

Bei Querschnitten vollständiger Nervenfaszikel, wie sie in dieser Studie vorlagen, kann eine Bestimmung der gesamten Faszikelfläche als Referenzfläche vorgenommen werden. An ihr lassen sich zunächst interstitielle Läsionen, wie beispielsweise Entzündungen, durch die Zunahme der Faszikelfläche erkennen. Darüber hinaus können auch Stoffwechselstörungen, wie die diabetischen Neuropathien (75) zu einer vergrößerten extrazellulären Matrix führen (177) und über das Merkmal Referenzfläche detektiert werden. Diese kann des Weiteren als Indikator für kongenitale Unterentwicklungen (117), Hypertrophien (39) oder Ödeme (109) herangezogen werden. Wie eine Studie an Ratten gezeigt hat, kann sich auch eine akute Ischämie über eine zunehmende Faszikelfläche äußern (42). Die Zuverlässigkeit der Faszikelfläche ist mit Vorsicht zu beurteilen, da durch die mit der Fixierung einhergehende Gewebeschrumpfung ein artifizielles Bild wiedergegeben werden kann. So werden beispielsweise bei mit Glutaraldehyd fixierten Nervenproben, im Gegensatz zu Gefrierschnitten, eine Reduktion der Faszikelquerschnittsfläche von bis zu 10% beschrieben (46). Auch bei Nivellierung dieses Fehlers mittels der weiter unten beschriebenen Vorgehensweise gibt es einen weiteren Faktor, der die Aussagekraft der Faszikelfläche in Frage stellen könnte. Hierbei handelt es sich um die intra- und interindividuellen Größenvariabilitäten einzelner Faserbündel die bei dem N. accessorius und N. fibularis communis des Pferdes von 10.000 bis 150.000 μm^2 betragen kann. Hinsichtlich dieser Faktoren bietet die Vermessung der reinen Faszikelfläche gegenüber der optischen Betrachtungsweise keinen erheblichen Vorteil.

Die Faszikelfläche sollte vielmehr in Verbindung mit der darin enthaltenen Nervenfasernzahl bzw. Faserdichte beurteilt werden (138). Vergangene Studien ergaben, dass eine positive Korrelation zwischen der Faszikelfläche und den darin enthaltenen myelinisierten Fasern besteht (138).

Gehört die Faserdichtenbestimmung pro mm² zu den Standardmessungen, so wird die absolute Faseranzahl zwar von einigen Autoren als Merkmal favorisiert (8), aber sie ist weitaus schwieriger zu ermitteln (104).

Die Anzahl der Fasern pro Faszikel oder pro mm² kann sich altersbedingt und in Folge pathologischer Ursachen verändern. So kommt es mit zunehmendem Alter zu einer natürlichen Abnahme der Faserdichte, die beim Menschen bis zu 70% betragen kann. Dabei ist zu berücksichtigen, dass durch eine gleichzeitige Zunahme der endoneuralen Bestandteile die Faseranzahl passiv beeinflusst wird (84). Was die Faseranzahl bei juvenilen Individuen betrifft, ist man geteilter Meinung. Die Einen proklamieren eine ansteigende Faseranzahl in den ersten Lebensjahren (84), Andere wiederum können diese nicht bestätigen (56). Bei den pathologischen Veränderungen, die Faseranzahl und -dichte betreffen, ist man da einheitlicherer Meinung. Die meisten Neuropathien sind von einer primären Schädigung der Axone in Form einer axonalen Degeneration geprägt (176). Diese degenerativen Vorgänge finden in einer Verminderung der Faseranzahl bzw. Faserdichte Ausdruck. Neuere Studien zeigen darüber hinaus, dass es auch beispielsweise bei inflammatorischen Vaskulopathien, zu einer Reduktion der Nervenfaserdichte von bis zu 84% kommen kann (17,134).

Eine Zunahme der Axone ist dahingegen bei regenerativen Prozessen zu vermerken. Hier kommt es im Rahmen des so genannten axonalen Sprouting, bei dem es vom proximalen Stumpf einer durchtrennten Nervenfasern zum Aussprossen multipler kleiner myelinisierter Axone kommt (Regenerationscluster) (104), zu einem Anstieg der Nervenfasernanzahl (42,176). Funktionellerweise steht die Faserdichte und somit die Anzahl der Axone in enger Beziehung mit der Amplitude des Elektrogramms (28).

Eng gekoppelt an die Faszikelfläche unterliegt die Faseranzahl entsprechend starken individuellen Schwankungen und ist bezüglich der Homogenität und Stabilität mit Vorbehalt zu beurteilen. Anders die Faserdichte, welche als Quotient von Faseranzahl zu Faszikelfläche eine sicherere Aussage zulässt. Allerdings bleibt auch dieser Parameter nicht unbelastet von der oben beschriebenen fixationsbedingten Gewebeschrumpfung. So zeigte eine Studie am N. suralis des Menschen, dass es bei in Glutaraldehyd fixiertem Nervengewebe, gegenüber anderen Fixativen, zu einer Faserdichtenzunahme von 25% (120) kommen kann.

Für die Subklassifizierung von Faseranzahlveränderungen wird der Durchmesser der Faser herangezogen. Die meisten Neuropathien, die mit einem Faseruntergang einhergehen, werden zunächst an einem Verlust großer (über 7 µm Dicke), myelinisierter Axone sichtbar (104,119). Dieser tritt bei Traumen wie auch bei faserselektiven Schädigungen, beispielsweise im Falle

einer spinocerebellären Degeneration, aus. Bei Neuropathien wie der Amyloidose, Fabry's disease oder auch Tangier disease kommt es zum Untergang von Kleinfaserpopulationen unter 3 μm Durchmesser. Hier kann über die Detektion bestimmter Fasergrößenpopulationen die betroffene funktionelle Gruppe identifiziert werden (Abb. 42).

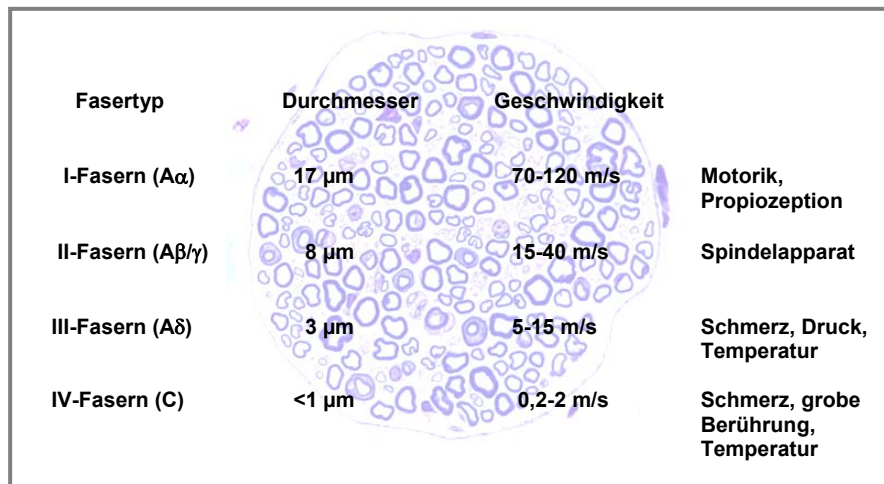


Abb. 41:
Fasertypen

In der vorliegenden Arbeit wurden drei Methoden zur Ermittlung des Faserdurchmessers gegenübergestellt. Es erwies sich der errechnete Durchmesser aus einem rekonstruierten Kreis, der die gleiche Pixelanzahl aufweist wie die Faserfläche, als das Verfahren der Wahl. Bei einer Überprüfung der Messergebnisse mittels einer Korrelation von Nervenfaserverfläche und Durchmesser wurde dieser mit dem höchsten Wert $r = 0,99$ bestätigt.

Bei der Befundung von Nervenbiopsien liegt die Trennlinie für die Zuordnung einer Groß- und Kleinfaserneuropathie bei 7 μm (104). Diese wurde daher in der vorliegenden Arbeit implementiert, um eine Exceedingrate zu ermitteln.

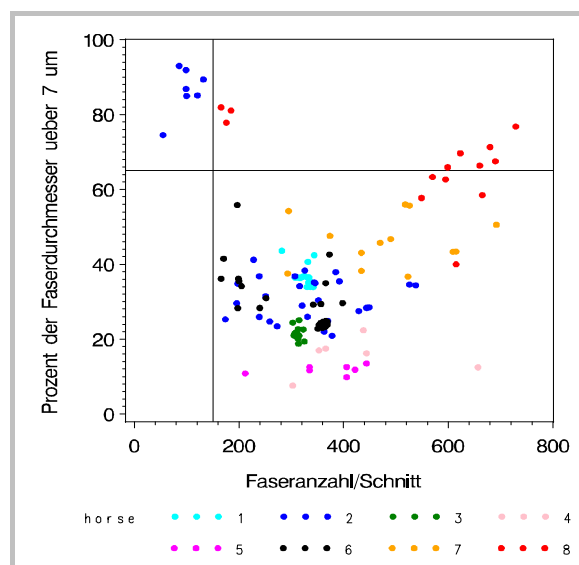


Abb. 42:
Exceedingrate pro Faseranzahl und Schnitt:
Sie gibt den Prozentsatz an Fasern mit einem
durchmesser über 7 μm wieder

Darüber hinaus wurde diesem Merkmal die Gesamtfaseranzahl pro Faszikel gegenübergestellt, wodurch sich ein Verlust oder Anstieg großer, oder kleiner myelinisierter Axone ermitteln lässt. In diesem Sinne würde eine Riesenaxonopathie zunächst über den Anstieg der Exceedingrate auffallen und anschließend im Durchmesserhistogramm bestätigt werden können. Für die vorliegende Studie wurden Exceedingrate und Faserdichte der Faszikel ebenfalls herangezogen um die Repräsentativität der in den Faszikeln enthaltenen Faserpopulationen (siehe Kapitel 3) zu überprüfen (Abb. 42). Die Bestimmung der Exceedingrate ist ein gut geeignetes Verfahren für den intra- und auch interindividuellen Vergleich von Faserkaliberpopulationen.

Ein weiterer, unter Umständen für die Diagnostik wichtiger Parameter ist die Zirkularität (Index of Circularity = IC) der Nervenfasern. Betrachtet man einen Nervenquerschnitt, werden sich myelinisierte Axone selten als vollendete Kreise darstellen. So sind zum einen physiologischerweise zirkuläre Defizite an den paranodalen Regionen zu finden, welche sich in einer typischen Kleeblattform präsentieren. Aber auch internodale Bereiche sind, im Querschnitt betrachtet, häufig nicht rund. Zirkularitätseinbußen nichtpathologischer Herkunft können einerseits durch eine fixationsbedingte Schrumpfung des Gewebes oder durch das nachfolgende histologische Procedere verursacht werden. So beschreibt DYCK beispielsweise einen engen Zusammenhang zwischen dem Zirkularitätsverlust und der Osmolarität des Fixativs. Dabei wird für in hyperosmolaren Fixativen inkubierte Nervenfaszikel ein weitaus niedriger Zirkularitätsindex (wobei der Wert 1 für einen Kreis steht), als für in isosmolar fixierten Proben, beispielsweise mit 0,025 M Cacodylate gepuffertem 2,5%igem Glutaraldehyd, beschrieben (47). Des Weiteren kann ein Ansteigen des Zirkularitätsfaktors ein Indikator für eine von der Horizontalen abweichenden Schnittführung sein (13). Hierbei stellen sich alle Fasern mit ihren Axonen regelmäßig in einer elliptoiden Form dar.

Mitunter steht die Zirkularität myelinisierter Fasern auch in Abhängigkeit zur Axongröße. So weisen kleine myelinisierte Fasern altersunabhängig eine unregelmäßigere Form auf. Der fortschreitende Alterungsprozess spiegelt sich dagegen kaliberunabhängig durch einen allgemeinen Zirkularitätsverlust wider (23,52). In den zuvor genannten Fällen, aber auch in den meisten pathologischen Situationen wie einer axonalen Atrophie sowie De- und Remyelinisierungsprozessen, wird die irreguläre Gestalt durch Faltungen der Myelinscheide verursacht.

Um derartige Formcharakteristika zu erfassen, wurden in dieser Arbeit axonale- und Gesamtfaserindizes für die Zirkularität differenziert. Hierbei stellte sich heraus, dass sich der Zirkularitätsverlust in seinen Mittelwerten pro Tier für das Axons (MW von 1,91 bis 3,04)

deutlicher manifestierte als für die Gesamtfaser (MW von 1,35 bis 1,65). Dabei ist zu vermerken, dass sich die axonale Zirkularität anhand der Myelinscheideninnenseite bemisst und daher nicht wirklich ein axonales Merkmal darstellt, sie dennoch eine Beurteilung der Faser- bzw. Axonzirkularität zulässt. So ist der axonale Zirkularitätsfaktor einerseits ein Indikator für Veränderungen an der inneren Oberfläche der Myelinscheide, wie beispielsweise „inner-myelin-loops“, als auch für Veränderungen am Axon, wie im Falle einer für axonale Schrumpfung (104). Wie sich hier gezeigt hat unterliegt der Zirkularitätsfaktor der Myelinscheide weniger starken Schwankungen und ist daher auch der zuverlässigere Formindikator, allerdings ist der axonale Index für die Formbeurteilung der sensitivere Wert, auch wenn ihm eine höhere Fehlerquelle obliegt. Den tatsächlichen Index für axonale Formveränderungen könnte man über eine direkte Axonfärbung erstellen, dies würde aber aufgrund Fixativ bedingter irregulärer, nicht konzentrischer Schrumpfung des Axons keinen Vorteil bringen (47).

Um Störungen der Myelinscheidenentwicklung (122) oder ein Missverhältnis zwischen Myelinscheidenwachstum und Axonkaliber erkennen zu können, ist es wichtig über die Grundkenntnisse der Entwicklungsbiologie von Axon und Myelinscheide zu verfügen (146). Auf diesem Wissen basiert die Erkennung von Neuropathien, die mit Entmarkungs- oder Remyelinisierungsprozessen einhergehen (27,78,143). Quantitativ erfassbare, physiologische und pathologische Veränderungen der Myelinscheide beziehen sich auf Prozesse, die mit einer Veränderung der Myelinscheidendicke bzw. des Verhältnisses zwischen Myelinscheidendicke und Axondurchmesser verbunden sind. Frühe Beobachtungen, die eine 1:1 Beziehung zwischen Axon und Myelinscheide beschreiben, gehen auf DONALDSON und HOKE (1905) zurück (34). Weitere Untersuchungen haben in den letzten Jahren eine Vielfalt unterschiedlicher Relationen hervorgebracht. Zur Darstellung des Verhältnisses wird das Plotten der Myelinscheide gegen den Axondurchmesser als favorisierte Methode beschrieben (136). Die Mehrheit der Untersucher haben einerseits herausgefunden, dass eine direkt rektile Korrelation zwischen Myelindicke und Axondurchmesser besteht (38,149,189), andererseits aber kleinkalibrige Fasern eine, in Relation gesehen, größere Myelindicke besitzen (136,174,160,162). Im Kontrast dazu wurde von BUCHTHAL und ROSENFALCK herausgefunden, dass die Myelinscheidendicke mit der Fasergröße zunimmt (20). Heute führt man diese Kontroversen einerseits auf die unterschiedlichen Präparations- und Messverfahren zurück (183,187,188), andererseits weiß man, dass die Myelinscheidendicke sowohl mit dem Axonkaliber, als auch der Länge des Internodiums in Beziehung stehen (63). In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass sich die Myelinscheide in Relation zum Faserdurchmesser bei großen Fasern schmaler präsentierte.

Zur Bestimmung der Myelinscheidendicke erwies sich in dieser Arbeit der mittlere Myelinscheidendurchmesser als am besten geeignet. Er präsentierte sich, im Gegensatz zum minimalen Durchmesser, in seinen Werten sehr stabil mit einer regelmäßigen Verteilungskurve in den Histogrammen. Dahingegen war der minimale Myelinscheidendurchmesser, der theoretisch am sichersten die Dicke der Myelinschicht repräsentiert (Abb.49), von Fehldetektionen dominiert und daher unpraktikabel (siehe unten).

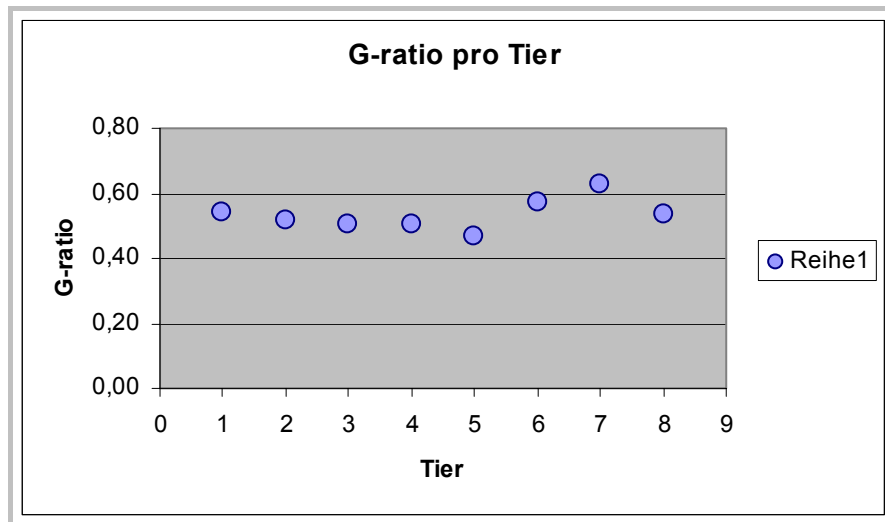


Abb. 43:
G-Ratio pro
Pferd

Die isolierte Betrachtung der Myelinscheiden unterliegt großen Variablen, weswegen sich der Quotient aus Axon- und Faserdurchmesser, genannt G-Ratio, für die Beurteilung des Myelinisierungsgrades durchgesetzt hat (33,88,130,185). Hier zeigt sich eine abnormale dünne Myelinscheide in einer hohen G-Ratio ($>0,7$). Eine pathologisch verdickte Myelinschicht wird dagegen über eine niedrige G-Ratio ($<0,4$) wiedergegeben (88). Dabei wird angenommen, dass eine G-Ratio von 0,6 bis 0,7 den optimalen Wert für eine hohe Leitungsgeschwindigkeit des betreffenden Nervens darstellt (84). Als Referenzwerte für den Menschen gelten 0,38-0,95 (130). Die Werte der Gesamt-G-Ratio pro Tier für die Spezies Pferd liegen laut WHEELER und PLUMMER (1989) in einem Bereich von 0,6 bis 0,73. In dieser Arbeit zeigte sich für die G-Ratio dieser Spezies eine höhere Spanne die sich von 0,47 bis 0,63 erstreckt (Abb. 43). Es bleibt auch positiv zu vermerken, dass dieser Parameter nicht nur Prozesse der De- und Remyelinisierung widerspiegelt, sondern auch Axonopathien, weshalb beispielsweise eine Riesenaxonopathie über eine hohe G-Ratio detektiert werden kann (107). Folglich erstreckt sich die Aussagekraft dieses Parameters über die Myelinscheidenbeurteilung hinweg und lässt mitunter auch eine Bewertung des Axons und seines Durchmessers zu.

Vergleicht man die oben genannten Parameter mittels Diskriminanzanalyse, wie in dieser Arbeit geschehen, so zeigen sich für das Pferd die Merkmale Mittelwert der mittleren Myelinscheidendicke und der Variationskoeffizient des Faserzirkularitätsfaktors als zuverlässige Indikatoren um den erkrankten Nerv von den gesunden abzugrenzen (Abb. 44). Über eine Klassifikationsfunktion wurden die Messwerte dieser Parameter eines jeden Faszikelquerschnitts in dem in Abbildung 44 ersichtlichen Koordinatensystem aufgetragen. Hierbei ordnen sich die als gesund befundenen Proben ausschließlich mit Klassifikationswerten unter Null ein, dahingegen weisen alle Schnitte des kranken Tieres, bis auf einen, Werte über Null auf.

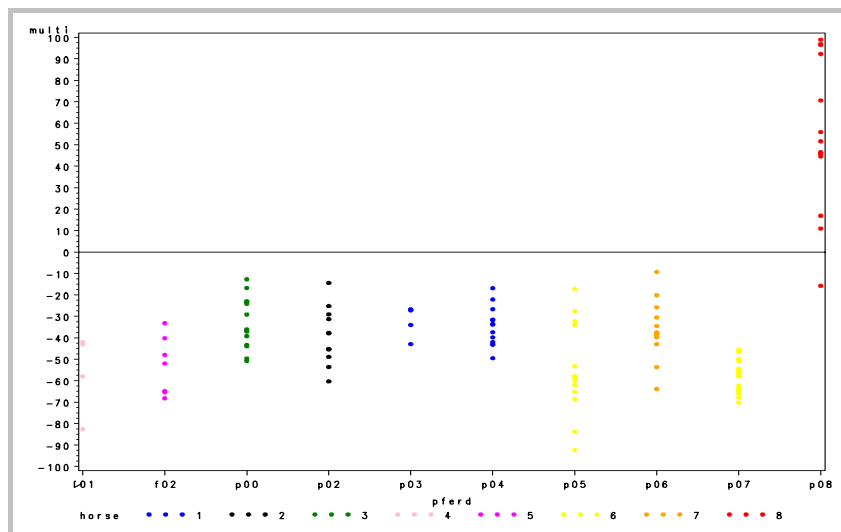


Abb. 44:
„multi“- Klassifikation:
Pferd 1-7: gesund;
Pferd 8 krank

Da die Methode mit nur einer veränderten Probe durchgeführt wurde, gilt es diese mit einem größeren Pool an erkrankten Individuen zu überprüfen.

2 RELEVANTE UNTERSUCHUNGSPARAMETER AM EQUINEN PERIPHEREN NERVEN

Bei der in dieser Arbeit durchgeführten Vermessung einzelner Nervenfaszikel konnte mit Hilfe einer eigens entwickelten Software (IDL Creaso, Gilching; Routine MT_O_P Rodenacker, GSF) eine große Anzahl an Merkmalen erfasst werden. Diese kann man in zwei Klassen unterteilen. Zur ersten Klasse zählen diejenigen Parameter, welche mit einem geringen Aufwand erfasst und vermessen werden können. Dazu gehören Parameter, die kein Separieren von Axon und Myelinscheide benötigen und sich auf die Gesamtfaser bzw. den Nervenfaszikel konzentrieren. Sie werden im Folgenden als *einfache* Merkmale bezeichnet. In der zweiten Klasse finden sich

die aufwendigen Parameter wieder, die eine Trennung von Axon und Gesamtfaser, respektive Myelinscheide voraussetzen.

Zu den *einfachen* Parametern werden die Faszikelfläche, die darin enthaltene Nervenfasernanzahl und Faserdichte, sowie einzelne Fasern betreffende Faserflächen, -durchmesser, -radien, -umfänge sowie die Zirkularität zugeordnet. Des Weiteren können hieraus die Parameter Exceedingrate und Entropie ermittelt werden.

Für eine korrekte Vermessung dieser Parameter muss dem Auftreten technischer Artefakte und der damit verbundenen Verzerrung der Ergebnisse entgegengewirkt werden (104). Das trifft insbesondere auf die Faszikelfläche zu. Bei der Fixierung der Präparate kommt es auf Grund der Dehydrierung zur Schrumpfung der wasserreichen Bestandteile des Nervenfaszikels. Diese kann sich, abhängig von dem Fixativ und der vorliegenden Gewebeprobe, als ein mehr oder weniger breiter Spalt zwischen der innersten Perineurallage und den vom Endoneurium umgebenen marginal liegenden Axonen präsentieren.

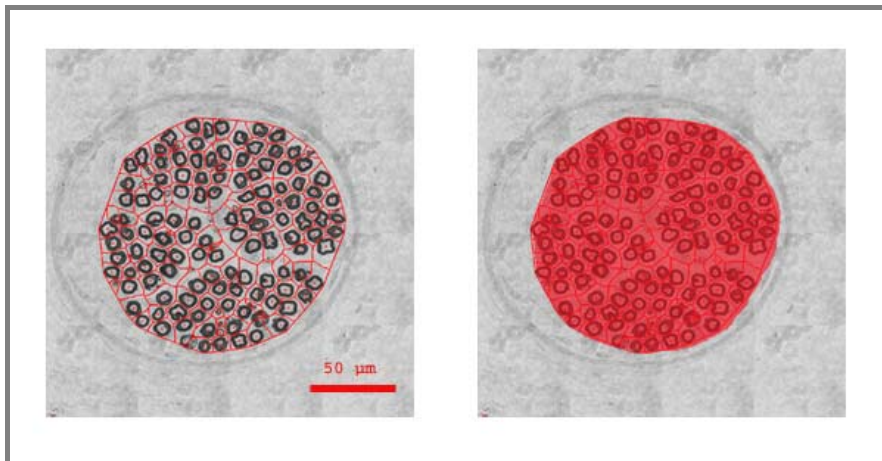


Abb. 45:
Erfassung der Referenzfläche mit
Hilfe einer neuen Faszikelgrenze

Für eine repräsentative Vermessung von Faszikelfläche und Faserdichte wird generell empfohlen laboreigene, auf einer standardisierten Technik basierende Normwerte zu erstellen (104). Um den Fehler zu verkleinern, hat sich in dieser Arbeit das Erstellen einer Grenzlinie um die „marginal liegenden Axone“ bewährt. Zu ihrer Erfassung wird eine digitale Maske über die Faszikelfläche gelegt, mit deren Hilfe eine scheinbare Faszikelgrenze gezogen werden kann. Die von ihr umgrenzte Fläche weist deutlich weniger Variationen auf und eignet sich daher wesentlich besser als Referenzfläche (Abb. 45).

Eine weitere Fehlerquelle ist die falschpositive Erfassung anderer signalgebender Strukturen als Nervenfasern. Sie können einerseits durch Färbeartefakte entstehen, andererseits auch so genannte

Segmentierungsartefakte der Bearbeitungssoftware darstellen. Letztere entstehen insbesondere wenn Myelinscheidenspalten, die beiderseits von kompaktem Myelin begrenzt sind, als Axon fehldetektiert werden (Abb. 46).

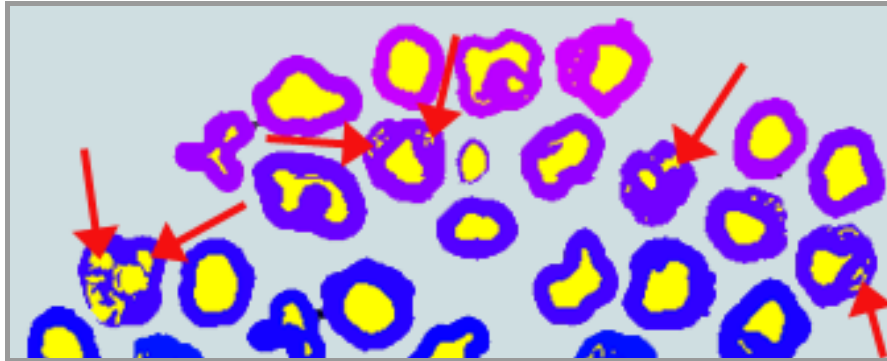


Abb. 46:
Falschdetektion sämtlicher
signalgebender Ereignisse als Axon

Diese falschpositive Faserdetektion betrifft somit im Wesentlichen das Kleinstfasersegment und gibt hier eine höhere Anzahl an Fasern vor, als tatsächlich vorhanden sind. Um diesen Fehler zu umgehen, hat sich in dieser Arbeit bewährt einen Schwellenwert zu setzen, der Fasern unter einer Größe von 5 Pixel, respektive einem Durchmesser unter $2\ \mu\text{m}$ eliminiert.

Um andererseits eine durch Färbeartefakte verursachte Fehldetektion zu verhindern, bleibt lediglich die interaktive Bildbereinigung, mit welcher sämtliche signalgebenden Strukturen, die keine Nervenfasern sind, gelöscht werden, sofern keine artefaktfreien Schnitte herzustellen sind.

Aus der Ermittlung der Faserfläche kann die Berechnung des Faserdurchmessers erfolgen. Dafür hat sich als Berechnungsgrundlage ein aus der Gesamtfaserfläche rekonstruierter Kreis bewährt (48,119,172). Diesem Berechnungsverfahren wurden die Vermessung des maximalen Durchmessers (Abb. 47/links) und die Vermessung eines Durchmessers des größtmöglichen, in die Faser einbeschreibbaren Kreises (Abb. 47/rechts) gegenübergestellt.

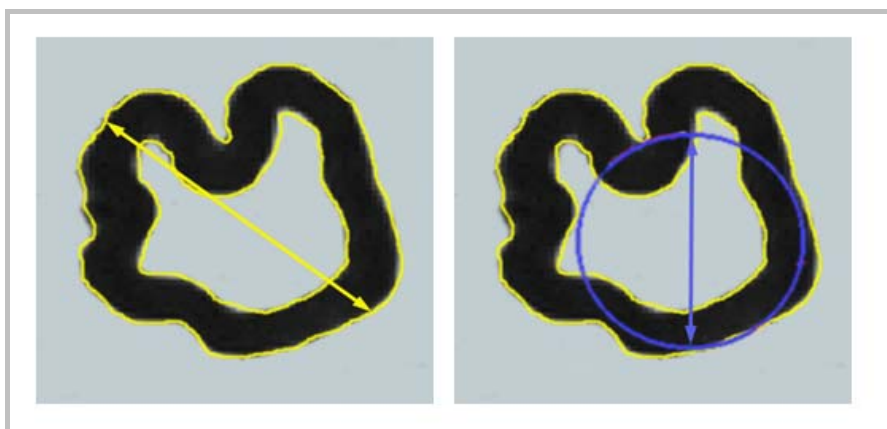


Abb. 47:
Links: maximaler
Faserdurchmesser;
Rechts: Faserdurchmesser des am
größten einbeschreibbaren
Kreises

Auf Basis des errechneten Durchmessers, können aus den einfachen Parametern leicht weitere sinngebende Merkmale ermittelt werden. Hierzu gehören die Exceedingrate, die den Prozentsatz an Fasern mit einem Durchmesser von über 7 μm widerspiegelt, sowie die, das Maß der Faserflächenheterogenität eines Faszikels wiedergebende, Entropie.

Auch der Faktor der Zirkularität P^2/A , der in der Literatur Index of Circularity (IC) bezeichnet wird (42), zählt zu den berechneten Parametern und wird aus dem Verhältnis von Faserumfang P zur Faserfläche A ermittelt (23,130).

Die Ermittlung der zur *zweiten* Klasse gehörenden Merkmale fordert dahingegen einen weitaus größeren Aufwand. Bei ihnen handelt es sich um Axonfläche, -durchmesser, -umfang, sowie die Myelinscheidenfläche und -dicke. Auch die Axonzirkularität und G-Ratio gehören dazu.

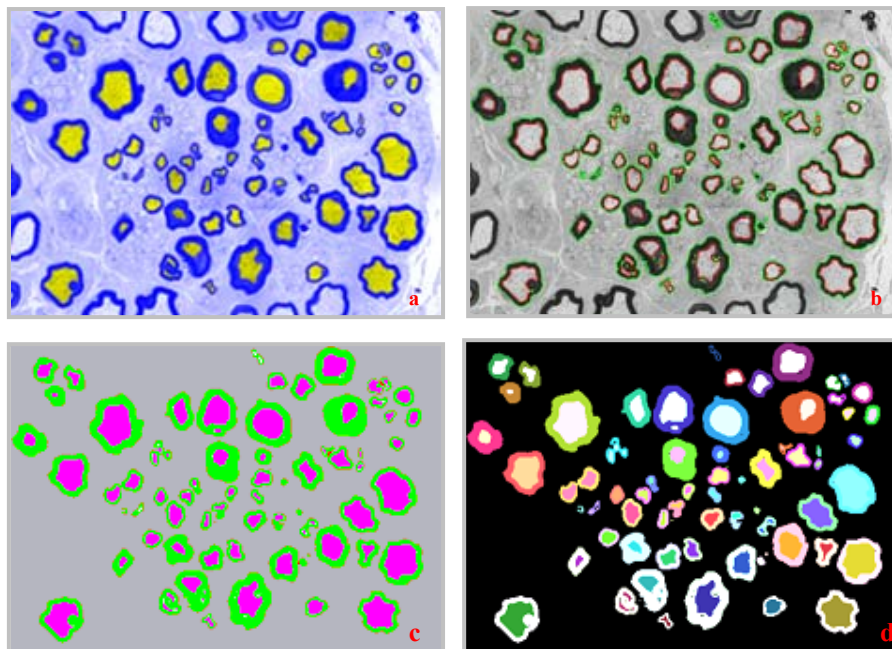


Abb. 48:
Trennung und Vermessung von
Axon- und
Myelinscheidenflächen.
(a) Vermessung Axonfläche
(b) Detektion Axon und
Myelinscheide
(c) Vermessung Myelinscheide
(d) Segmentierung der Fasern

Grundlage für die Erhebung dieser Merkmale ist eine bildanalytische Trennung von Axon und Myelinscheide. Diese wurde in der vorliegenden Arbeit durch die Software IDL (Creaso, Gilching) und die eigens dafür entwickelte Routine MT_O_P (Rodenacker, GSF) ermöglicht (Abb. 48).

Die quantitativen Charakteristika der Myelinscheide setzen sich aus den vermessenen und berechneten Parametern zusammen. Nach einer Trennung von Axon und Myelinscheide wurde die Myelinscheidenfläche in der vorliegenden Arbeit über ihre äquivalente Pixelanzahl berechnet. Für die Ermittlung der Myelinscheidendicke werden unterschiedliche Methoden vorgeschlagen (23,33,146,189). Zum Beispiel kann das dünnste kompakte Myelinscheiden-

segment für die Vermessung gewählt werden, da dieses die transversale Orientierung ohne verzerrende Krümmungen oder Windungen präsentiert (146) (Abb. 49).

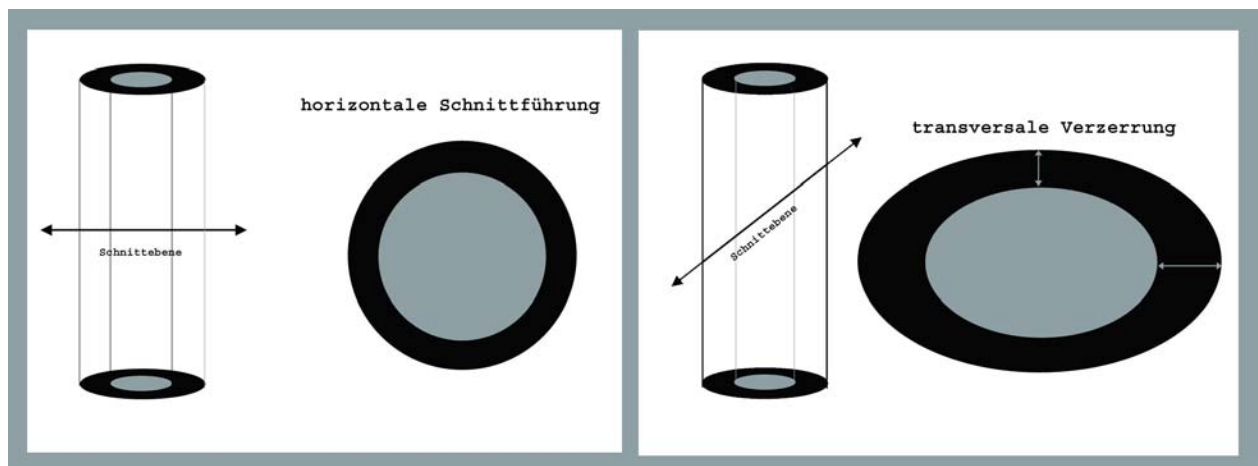


Abb. 49: Links: korrekte horizontale Schnittführung; rechts: diagonale Schnittführung mit daraus resultierender Verzerrung der Myelinscheide

Andere wiederum bestimmen die Myelinscheidendicke aus der Differenz der von ihnen ermittelten Faser- und Axondurchmesser, geteilt durch zwei (55).

Mit der in dieser Arbeit verwendeten Software wurde es möglich, die Myelinscheidendicke in Form einer mittleren Distanz zwischen dem äußersten Rand des Axons und dem innersten Rand der Endoneuralscheide wiederzugeben. Hierfür wurde von jedem Punkt der Myelinscheiden-Medianlinie (Zentrallinie) der Abstand zum jeweiligen Rand bestimmt, und dessen Mittelwert berechnet. Dem wurde der minimale Durchmesser gegenübergestellt. Wie in Abbildung 50 dargestellt, zeigten sich eine große Diskrepanz zwischen der mittleren und der minimalen Myelinscheidendicke (Abb. 50).

Da nach der Aufbereitung jeder Nervenprobe das Myelin stellenweise aufgeblättert vorliegt, kann es, entsprechend der zuvor beschriebenen Faserfehldetektion, auch zu einer Falschdetektion von Myelinscheidenlamellen mit einem fälschlicherweise extrem kleinen Durchmesser kommen (Abb. 51).

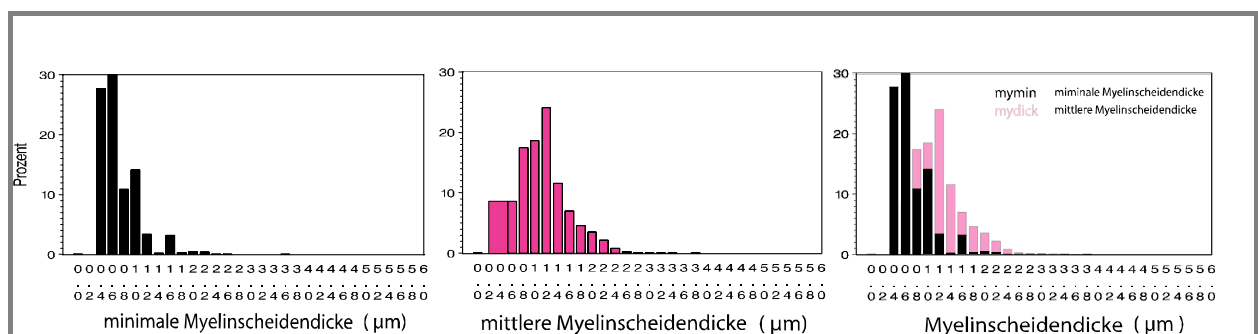


Abb. 50: Mittlere und minimale Myelinscheidendicke im Vergleich

Da dieses Merkmal entsprechend eine damit hohe Fehlerquote und ein Verzerren der Messergebnisse beherbergte, wurde es als Vermessungsgrundlage ausgeschlossen. Eine interaktive Eliminierung dieses Problems ist zwar prinzipiell möglich, allerdings für diagnostische und experimentelle Anwendungen zu zeit- und somit kostenaufwändig. Daher ist es sinnvoller sich auf die mittlere Myelinscheidendicke zu konzentrieren.

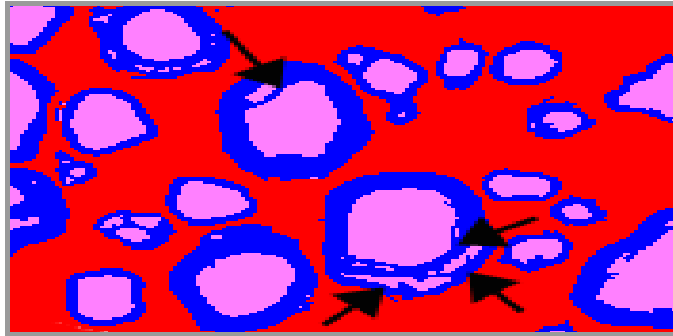


Abb. 51:
Aufgeblätterte Myelinscheidenlamellen (markiert durch schwarze Pfeile), die von der Bearbeitungssoftware mit minimalen Myelinscheidendicken falsch detektiert werden

Zu den letztendlich rein berechneten Daten der *zweiten* Klasse gehörten die G-Ratio und der Zirkularitätsfaktor des Axons.

Der das Verhältnis von Axondurchmesser zu Gesamtfaserdurchmesser bezeichnende Begriff G-Ratio (33,104), wurde von BEAR und SCHMITT 1937 eingeführt (7) und findet bis heute seine Anwendung. Für die Beurteilung der Myelinschicht ist die G-Ratio ein zuverlässigeres Merkmal als die Myelinscheidendicke, da sie keinen absoluten Messwert, sondern einen Quotienten darstellt.

Die Bestimmung der Axonzirkularität erfolgte identisch dem oben bereits erwähnten Zirkularitätsfaktor der Gesamtfaser.

3 NORMWERTE DES NERVUS ACCESSORIUS UND NERVUS FIBULARIS COMMUNIS DES PFERDES

Zur morphometrischen Auswertung von Einzelproben ist es notwendig für den jeweiligen Nerv bzw. Nervenabschnitt tierart- und altersspezifische Normwerte zu ermitteln. Die hierfür benötigte Probenmenge ergibt sich aus der Abweichung innerhalb der altersgematchten Gruppen der jeweiligen Spezies. Darüber hinaus stellt sich die Frage ob es die hohe physiologische Variationsbreite eines Individuums und Nervens zulässt, Sollwerte festzulegen.

Für die Ermittlung einer für die Standardisierung repräsentativen Probenmenge, wurden in der vorliegenden Studie verschiedene Untersuchungen durchgeführt. Zum einen wurde die Homogenität der einzelnen Nervenfaszikels im longitudinalen Verlauf überprüft, zum anderen

ein vertikaler, faszikelübergreifender Vergleich innerhalb der Faszikel eines Individuums durchgeführt. Dieser intraindividuellen Studie folgte ein interindividueller Vergleich der Faszikelquerschnitte der Pferde. Darüber hinaus wurde eine Analyse über die Vergleichbarkeit zwischen dem am Hals entnommenen N. accessorius und dem am Bein gewonnenen N. fibularis communis erstellt.

Bei der Klärung der Frage nach der longitudinalen Organisation der Faszikel innerhalb eines Nervens gab es bisher zwei kontroverse Betrachtungsweisen. Diese konzentrierten sich darauf, in wie weit eine Vermischung von Nervenfasern zwischen den Faszikeln stattfindet. Das frühere Konzept bestand aus der Annahme, dass sich die Faszikel in Form von parallel laufenden Kabeln arrangieren, in welchen die Fasern der distalen Nervenäste über die gesamte Länge getrennt verlaufen (Abb. 52/A) (83).

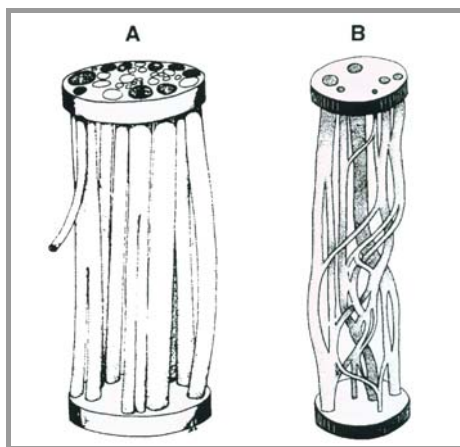


Abb. 52:
A: Kabelartige Anordnung von Nervenfaszikeln;
B: Plexiforme Anordnung von Nervenfaszikeln.

In der späteren und auch gegenteiligen Betrachtungsweise wurde aufgezeigt, dass durchaus eine beachtliche Aufspaltung, Abzweigung, wie auch eine Vereinigung zwischen Faszikeln oder Teilen von Faszikeln stattfindet (34). Diese Vermischung gibt dem Nerv ein plexiformes Erscheinungsbild (Abb. 52/B). Heute weiß man, dass die Faszikel eines Nervens sowohl kabelartige (proximal) als auch plexiforme Strukturen (distal) ausbilden (158). Für die Auswertung von distalen Teilproben bedeutet die plexiforme Anordnung, durch den damit verbundenen hohen Faseraustausch, zwar einen Nachteil bezüglich der Repräsentativität, allerdings besteht hier der entscheidende Vorteil eines größeren Fasertypenspektrums.

Geht man davon aus, dass innerhalb eines Nervens unter den Faszikeln ein Faseraustausch stattfindet, reicht es nicht aus pro Faszikel nur eine Schnittebene auszuwählen. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit bei einem Vergleich von Faszikelquerschnitten eines Nervenbündels dargestellt werden. So zeigten sich bei einem Abstand der Schnittpunkte von 0,3 cm in den

überwiegenden Parametern zunehmend unterschiedliche Messergebnisse und ab einem Abstand von 1,5 cm traten hier ausschließlich signifikante ($p < 0,05$ bis $p < 0,0001$) Unterschiede auf. Anders war es bei den Faszikelquerschnitten die eine Kurzdistanz von 5 μm aufwiesen. Hier wurden lediglich für die Parameter Myelinscheidendicke und maximaler Axondurchmesser signifikante Abweichungen erkennbar ($p < 0,05$). Dabei ist der maximale Axondurchmesser zu vernachlässigen, da für eine Beurteilung des Axons hier der weitaus zuverlässigere aus der Axonfläche berechnete Durchmesser herangezogen werden sollte. Bezüglich der Abweichung innerhalb der Myelinscheidendurchmesser, konnte diese in den entsprechenden Histogrammen durch eine regelmäßige Verteilungskurve der einzelnen Querschnitte relativiert werden. Es ergibt sich aus dieser Studie, dass für den N. accessorius des Pferdes mittels eines Querschnittes quantitative Aussagen über eine Strecke von mindestens 100 μm im longitudinalen Verlauf möglich sind. Darüber hinaus sollten für eine fundierte Beurteilung der Merkmale eines Faszikel mittels morphometrischer Analyse mindestens drei, besser fünf Schnittebenen mit einem Abstand von höchstens 0,3 cm gewählt werden.

Aufgrund der starken Unterschiedlichkeit der Faszikel innerhalb eines Nervens und zwischen den Individuen, kann keine allgemeingültige Aussage über die Parameter anhand eines Nervenbündels gemacht werden. Vorhergehende Studien raten allgemein zu einer Auswertung von mindestens drei Faszikeln eines Nervens (47). Wie sich bei der vorliegenden Arbeit zeigte, reicht jene Vorgabe für den N. accessorius des Pferdes nicht aus. Dies ließ sich eindeutig für das Tier zwei, einem jungen Pferd ohne periphere Nervenerkrankung, demonstrieren. Sein Faszikelkollektiv mit 8 Faserbündeln enthielt erwartungsgemäß stark voneinander abweichende Faszikelflächen und Faseranzahlen.

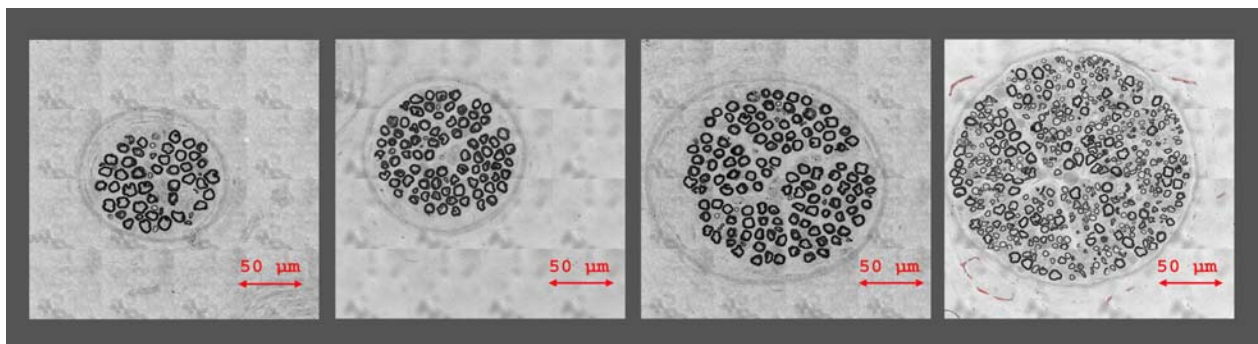


Abb. 53: Unterschiedliche Faszikelquerschnitte innerhalb eines Nervens (N. acc. Pferd 2)

Zudem wurden hier aber bei einzelnen Faszikeln eine unterdurchschnittlich kleine Referenzfläche mit überdurchschnittlich vielen großkalibrigen Nervenfasern festgestellt (Abb. 53). Hieraus ließ sich schließen, dass aufgrund des einseitigen Faserdurchmesser-Spektrums in

diesen Faszikeln, keine gute Durchmischung der Fasertypen vorlag. Aus diesem Grund wurden 4 Faszikel als nicht repräsentativ angesehen und von der Auswertung ausgeschlossen.

Daraus folgt, dass es nicht ausreicht nur drei Faszikel auszuwerten, sondern besser 4 bis 5 und es auch notwendig ist, dass sie bestimmte Anforderungskriterien erfüllen. Diese wurden mit einer Faseranzahl von mindestens 150 und einem Prozentsatz an Fasern mit einem Durchmesser über $7\ \mu\text{m}$ von unter 65 % festgelegt.

Die Messwerte der auf diese Weise ausgewählten Faszikelquerschnitte unterschiedlicher Tiere zeigten, wie zu erwarten, in fast allen Parametern hohe Abweichungen voneinander ($p < 0,0001$). Dennoch konnte ein ähnliches Verhalten sämtlicher Flächenparameter, wie Faser-, Axon- und Myelinscheidenfläche, in den Verteilungshistogrammen gefunden werden, die einen diagnostischen Nutzen der Morphometrie erwarten lassen. Darüber hinaus lassen sich die, für die Diagnostik peripherer Neuropathien wertvollen Durchmesserparameter der Gesamtfaser, des Axons und der Myelinscheide aufgrund ihrer Verteilungskurven vergleichen. Als numerischer Wert liefert die aus Axon- und Faserdurchmesser berechnete G-Ratio hier einen, durch die geringfügige Standardabweichung ($\pm 0,05$), starken Bezugswert.

Zusätzlich wurde die Vergleichbarkeit der Nerven N. accessorius und N. fibularis communis überprüft. Üblicherweise wird bei Hund und Katze der N. fib. com. (153) als Nerv der Wahl entnommen, da dieser ein gemischter Nerv ist, der von seinem anatomischen Verlauf her chirurgisch leicht zugänglich ist. Hinzu kommt, dass dieser Nerv groß genug ist um eine Teilbiopsie durchführen zu können, wodurch die Traumatisierung und damit Entnahmeproblematik so gering wie möglich gehalten werden können. Für das Pferd kommt eine Biopsie an den Gliedmaßen nicht in Frage, da eine Dysfunktion, d. h. ein Verlust der Sensorik und postoperative Komplikationen in diesem Bereich nicht zu vertreten wären. Somit wird im Allgemeinen auf den am Hals verlaufenden Ramus ventralis des N. accessorius zurückgegriffen (70), nach dessen Entnahme mit keinerlei klinischer Beeinträchtigung zu rechnen ist.

In der Gegenüberstellung dieser beiden Nerven fanden sich in den Messwerten ähnlich hohe Signifikanzen wie bei dem faszikelübergreifenden Vergleich. In seinen Flächen- und Durchmesserhistogrammen, sowie auch in der G-Ratio fügt sich der N. fibularis communis allerdings in die Verteilungsmuster des N. accessorius ohne bemerkenswerte Abweichungen ein. So wiesen beispielsweise beide Nerven eine ähnliche, wie auch in der Literatur beschriebene (185) für das Pferd typische, bimodale Durchmesserverteilungskurve mit einer hohen Spitze bei Werten von $4 - 6\ \mu\text{m}$ und einem schwächeren Peak bei Faserdurchmessern von $10 - 12\ \mu\text{m}$ auf. Darüber hinaus liegen die in dieser Studie ermittelten Mittelwerte der Durchmesser pro Tier für

den N. accessorius (MW von 5,36 mit SD \pm 1,85 bis MW 8,83 mit SD 3,95) im Bereich der in der Literatur angegebenen Referenzwerte des N. palmaris lateralis. Daraus lässt sich schließen, dass der am Hals entnommene Anteil des N. accessorius als Repräsentant eines am Bein entnommenen N. fibularis communis bzw. N. palmaris lateralis (185) den diagnostischen Ansprüchen gerecht wird.

4 FEHLERQUELLEN UND PROBLEME

Die hier durchgeführte Studie zu Entwicklung und Einsatz eines computergestützten Diagnostikverfahrens zur Aufdeckung morphologischer Veränderungen peripherer Nerven konnte durch die Verfügbarkeit von reichhaltigem Nervenmaterial unter optimalen Bedingungen erfolgen. Dem entgegen können sich in praxi bestimmte Probleme ergeben, welche zu einer Verfälschung von Messergebnissen führen kann. Dies betrifft im Einzelnen die Auffindung und Aufbereitung der Nerven sowie die nachfolgenden interaktiven Bearbeitungsschritte der digitalen Bildanalyse.

a) Auffindung des Seitenastes des N. accessorius

Für die Feststellung von systemischen Neuropathien beim Pferd wird der Ramus ventralis des N. accessorius für Histologie, wie auch Morphometrie empfohlen (70). Da dieser Nerv variabel verläuft, ist es nötig anatomische Fixpunkte heranzuziehen. Es hat sich als zuverlässig herausgestellt einen Hautschnitt ca. 7 cm hinter den Ganaschen und 2 bis 3 cm oberhalb der Drosselrinne -Angaben bezogen auf ein 500 kg schweres Pferd- zu setzen. Hier liegt der Ramus ventralis, in Begleitung eines Seitenastes der Arteria carotis communis. In dieser Gegend kann es zu Verwechslungen mit dem in direkter Nachbarschaft, etwas weiter caudal liegenden zweiten Zervikalnerven kommen. Dies kann aufgrund der anderen Faserkomposition als die des spinalen Hirnnervenanteils zu einer Fehlinterpretation der Ergebnisse führen.

Ein unmittelbar mit der Entnahme behafteter, ebenfalls die morphometrische Auswertung beeinflussender Faktor ist die Menge des zu entnehmenden, beziehungsweise vorliegenden Nervenmaterials. Handelt es sich um eine Nervenbiopsie, ist es von großer Bedeutung das diagnostische Verfahren mit dem höchsten zu erwartenden Informationsgehalt zu wählen. Dies stellt nach wie vor die Histologie (104). Des Weiteren sollte genügend Material vorhanden sein

um ein Einzelfaserteasing durchführen zu können (104). Erst wenn diese beiden Verfahren gewährleistet sind, darf das übrige Material für morphometrische Messungen verwendet werden um keine Gefährdung der Diagnose zu provozieren.

b) Aufbereitung des Probenmaterials

Ein weiteres Problem stellt die Auftrennung des Nervens in seine einzelnen Faszikel dar. Diese ist die Voraussetzung für die Gewinnung messbar großer Proben und die synchrone Durchdringung der Probe durch das Fixativ. Wird bei der Trennung der Nervenfaserbündel das Perineurium beschädigt, können einzelne Fasern für die Messung verloren gehen. Des Weiteren können hierdurch unterschiedliche Eindringtiefen des Fixativs entstehen und später Färbe- und Einbettungsartefakte nach sich ziehen (siehe unten). Für eine schonende Präparation und Vermeidung einer Traumatisierung des Perineuriums muss das Nervenmaterial zudem vor Austrocknung geschützt werden. Die Trennbarkeit der Faszikel kann durch den Einsatz von Glycinpuffern erleichtert werden. Wie Studien an Nerven gezeigt haben, bringt der Einsatz von Kollagenasen diesbezüglich keine weitere Verbesserung (101).

Eine zusätzliche Fehlerquelle für die morphometrische Auswertung kann in der transversalen Schnittebene der Faszikelquerschnitte liegen. Kommt es bei der Schnittführung zur Abweichung von der Horizontalen führt dies zu einer verzerrten Darstellung von Axon und Myelinscheide und somit zu falschen Messergebnissen (Abb. 49). So kommt es durch nicht akkurat im rechten Winkel geschnittenen Faszikel, zu einer elliptoiden Darstellung von Faser und Axon und somit zu einem ansteigen der Zirkularitätsindizes. Eine prozedurbedingte Formveränderung kann, im Gegensatz zu einer Formveränderung pathologischer Herkunft, einerseits über den die Gesamte Population übergreifenden Anstieg der Zirkularitätswerte festgestellt, andererseits durch eine lichtmikroskopische Beurteilung, bei der sich alle Fasern und deren Axone gleichmäßig ellipsenartig präsentieren, überprüft werden.

c) Digitale Bildbearbeitung

Die Schritte der Bilderfassung und der interaktiven Bearbeitung der Faszikelquerschnitte erwiesen sich für den N. fibularis communis der Hunde und Katzen aufgrund sehr großer Faszikel mit, im Vergleich zum Pferd, dichter gepackten Nervenfasern als sehr schwierig. Die Digitalisierung vollständiger Faszikelquerschnitte zeigte sich als äußerst unpraktikabel, da eine hohe Anzahl an Kachelbildern nötig war und deren Datengröße die Bearbeitung erschwerte bzw. unmöglich machte. Aufgrund der Dichte können einzelne Fasern kaum detektiert werden, daher kommt es zu einer starken Verminderung des Automatisierungsgrades und ohne eine

entsprechend hohe interaktive Leistung ist die Bildbearbeitung dieser Faszikel nicht zu bewältigen.

Die Bildbearbeitung der Faszikelquerschnitte des N. accessorius des Pferdes gestaltete sich wesentlich unproblematischer, da sie von Bündelfläche und Dichte ihrer Fasern ein automatisches Segmentieren zulassen und der Gesamtaufwand der interaktiven Bildbearbeitung sich in einem zu bewältigendem Rahmen hält.

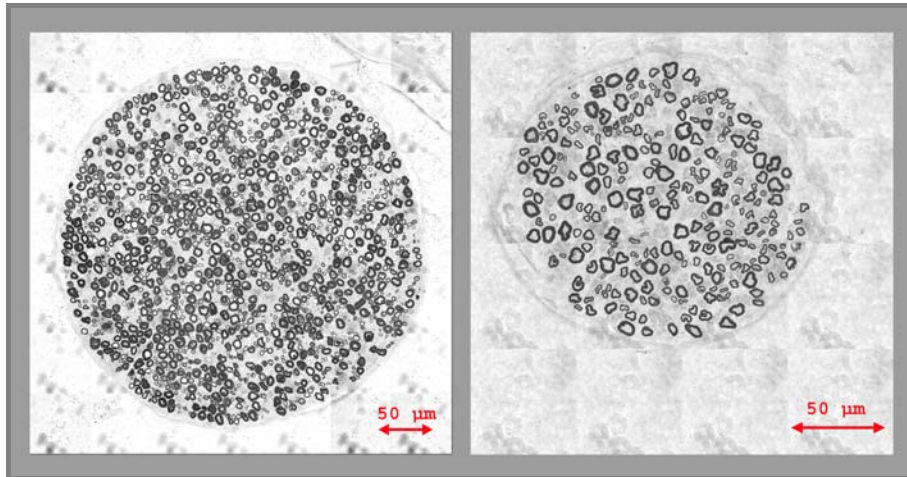


Abb. 54:
Links: dicht gepackter Faszikel des N. fig. com. eines Hundes;
Rechts: Faszikelquerschnitt des N. acc. eines Pferdes

5 MORPHOMETRIE-GEEIGNETE FÄRBETECHNIKEN AN MYELINISIERTEN NERVENFASERN

Bei der Ermittlung einer für die computergestützte Morphometrie geeigneten Färbetechnik wurde in der vorliegenden Studie das Hauptaugenmerk auf eine selektive Anfärbbarkeit der Myelinscheide gelegt. Aber auch die Reproduzierbarkeit und Praktikabilität, sowie Arbeitsschutz und Gesamtaufwand sind hierbei von Relevanz.

Unter Berücksichtigung all dieser Punkte und entsprechend der Empfehlung einiger Studien (47,172), hat sich die Paraphenyldiaminfärbung, als die Technik der Wahl erwiesen. Sie bietet eine zuverlässige, qualitativ hochwertige und gut reproduzierbare Anfärbung der Myelinscheide und ist gleichzeitig mit einem geringen Arbeits- und Kostenaufwand verbunden.

Der Vorteil des Paraphenyldiamins liegt, im Gegensatz zu anderen Färbungen, in der rein selektiven Anfärbung osmiophiler Strukturen, ohne dabei andere basophile Komponenten als die der Myelinscheide zu zeigen (14). Als osmiophile Bausteine dienen hier die in hohen Anteilen vorhandenen Lipide der Myelinscheide (154) und sichern so ihre selektive Darstellung. Darüber

hinaus gewährleistet der gesteigerte Osmiumkontrast eine erhöhte Detaillierbarkeit und erleichtert damit die optische Trennung von Axon und Myelinscheide.

Auf Basis der eindeutigen Ergebnisse der vorausgeschickten Färbeversuche wurde Paraphenyldiamin für die anschließende Bildanalyse als alleiniges Färbemittel eingesetzt. Da sie allerdings in ihrer diagnostischen Aussagekraft ausschließlich auf Myelinscheiden- und Axonparameter beschränkt bleibt, ist für eine qualitative Beurteilung von histologischen Schnitten eine weitere Färbung unerlässlich. Hierfür hat sich in der vorliegenden Arbeit eine mit, der in der Literatur beschriebenen, Toluidinblau (22,33) vergleichbare Azurblau II-Safranin Färbung für die Differenzierbarkeit sämtlicher Nervenbestandteile als zuverlässig erwiesen. Hierbei kommt es durch die Gegenfärbung mit Safranin O zu einer zusätzlichen Darstellung von basophilen Bestandteilen, was diese Färbetechnik als Übersichtsfärbung für die histologische Diagnose sehr wertvoll macht. Zudem dient diese Färbung auch in der Morphometrie in der Vorauswahl als wichtige Qualitätskontrolle. Die Azurblau II-Safranin-Färbung ist eine schnelle, kostengünstige und gut reproduzierbare Methode, um einen Überblick über vielfältige pathologische Vorgänge zu bekommen.

Bezüglich der Qualität der Färbung zeigte sich für Paraphenyldiamin und Azurblau II ein unterschiedlich starker Einfluss des Fixierungsgrades auf die Anfärbbarkeit der Präparate. Während sich für Azurblau II sowohl Unter- wie auch Überfixierung in der Qualität der Färbung negativ widerspiegeln, zeigt sich für die Paraphenyldiaminfärbung lediglich eine negative Auswirkung bei einer Unterfixierung. In diesem Falle stellen sich beide Verfahren gleichermaßen mit einem blassen, besonders in zentralen Bereichen aufgehellten Bild dar. Darüber hinaus kommt es bei der Azurblau II-Färbung, anders als bei Paraphenyldiamin, im Falle der Überfixierung zu einer typisch gefleckten Myelinscheide (Leopardentüpfelung) (186). Bei einer qualitativen Beurteilung eines Präparates kann dieser Färbeartefakt unter Umständen zu Irritationen führen.

Bei dem Verfahren mit Paraphenyldiamin ist darauf zu achten, dass eine Schnittdicke von mindestens 1 µm eingehalten wird. Es hat sich gezeigt, dass ein Unterschreiten dieser Dicke sich in einem blässeren Färbeergebnis auswirkt und somit einen negativ Einfluss auf die Erstellung des Grauschwellenwertes des einnimmt.

In Bezug auf den Arbeitsschutz ist hier außerdem anzumerken, dass bei dem Umgang mit dem in Pulverform vorliegenden Paraphenyldiamin strenge Sicherheitsvorschriften (Mundschutz und Brille) einzuhalten sind.

Die Färbeversuche mittels Perjodsäure-Schiff-Reaktion und Diaminobenzidinen, sowie das Verfahren nach Woelke-Schröder führten zu keinem befriedigenden Ergebnis. Sie zeigten sich für den Einsatz in der Morphometrie als ungeeignet. Weder in Qualität, noch in der Reproduzierbarkeit und insbesondere in der Selektivität in Bezug auf die Myelinscheide, konnten diese Färbungen überzeugen. Es kommt bei diesen Verfahren einerseits zu einer Anfärbung von zu vielen Gewebskomponenten in kaum differenzierbaren Farbtönen (Woelke-Schröder, DAB), andererseits, wie im Falle der PAS-Färbung, zwar zu einer guten Anfärbung der Myelinscheide aber ohne die für die Morphometrie notwendige Kontrastbildung zum Hintergrund. Auch einer Prüfung in Bezug auf Praktikabilität und Arbeitsschutz können diese Verfahren durch einen hohen Zeitaufwand (PAS, Woelke-Schröder, DAB), beziehungsweise die Exposition des Laborpersonals gegenüber kanzerogener Chemikalien (DAB), nicht standhalten.

6 MORPHOMETRIE AM PERIPHEREN NERVEN DES PFERDES – RESÜMEE UND AUSBLICK

Die für diese Studie eigens modifizierte Software erlaubt morphoquantitative Merkmale von equinen peripheren Nerven in vielen Details zu erfassen und auszuwerten. Die auf diese Weise ermittelten Daten, können sowohl in klinischen und leistungsphysiologischen Bereichen, wie auch experimentellen Nervenstudien ihre Einsatzmöglichkeit finden.

Die visuelle histopathologische Befundung und Interpretation peripherer Nervenquerschnitte basiert auf Erkennungsaspekten (pattern recognition). Sie führt über die Sinneswahrnehmung zu einer Objekt- und Strukturerkennung, aus welcher letztlich die Bedeutungsanalyse (Falldiagnose) resultiert. Sie ist ein für die Diagnose peripherer Nervenveränderungen unerlässliches Verfahren und findet in der Morphometrie eine Unterstützung für die Verifizierung von Verdachtsmomenten und von Bildinhalten, die dem Auge vorenthalten bleiben. So ist es dem menschlichen Betrachter beispielsweise nur möglich Größenverhältnisse von Myelinscheide und Axon objektiv zu erfassen, wenn ein „Normalbild“ gegenwärtig ist und die vorliegenden Größenunterschiede ausreichend deutlich sind. Mittels der morphoquantitativen Analyse ist es möglich kleinste Diskrepanzen und Verschiebungen der Größenverhältnisse aufzudecken. Insbesondere bei langsam fortschreitenden, degenerativen Prozessen, die für das menschliche Auge schlecht differenzierbar sind, finden die bildanalytisch ermittelten Daten eine gute Einsatzmöglichkeit. So können über die Erstellung von Faserdichteprofilen und die Bestimmung von Myelinscheiden- und Axonverhältnissen mit diesen Prozessen einhergehende Faserverluste

und Demyelinisierungsvorgänge aufgezeigt und quantifiziert werden. Die Morphometrie liefert hiermit nicht nur Informationen über tatsächlich vorhandene Strukturen, sondern auch Informationen über bereits verloren gegangene Objekte.

Die Grundlagen für die Erkennung pathomorphologischer Prozesse equiner peripherer Nerven liefern die physiologischen Befunde gesunder Tiere. So sind beispielsweise alle Elemente peripherer Nerven in ihren quantitativen Aspekten altersbedingter Veränderungen unterlegen (57), welche es mittels morphometrischer Daten zu erfassen gilt, um diese als umfangreiche Kontrolldaten sowohl für wissenschaftliche, als auch experimentelle Studien, bereitzustellen.

Die Auswertungsmöglichkeiten der hier erfassten Daten wurden bei Weitem nicht ausgeschöpft. Über die bereits erwähnten Merkmale hinaus, können beispielsweise Faseranordnungen und nachbarschaftlichen Beziehungen zwischen den Fasern oder Fasergruppen beschrieben werden. Dadurch lassen sich auch Aufzweigungen und Clusterbildungen innerhalb eines Faszikels detektieren und visualisieren.

Hierbei kommen weitere Verfahren wie die Dellaunay Triangulation und Voronoi Polygone (129) zur Anwendung. Ziel der Nachfolgestudien ist es Rückschlüsse auf mit De- und Regenerationsprozesse sowie interfaszikuläre Verteilungsmuster geschädigter Fasern zu ziehen, um Einblicke in die Gruppierung funktioneller Nerveneinheiten und die somatotopische Organisation von Fasertypen innerhalb eines Faszikels zu gewinnen.

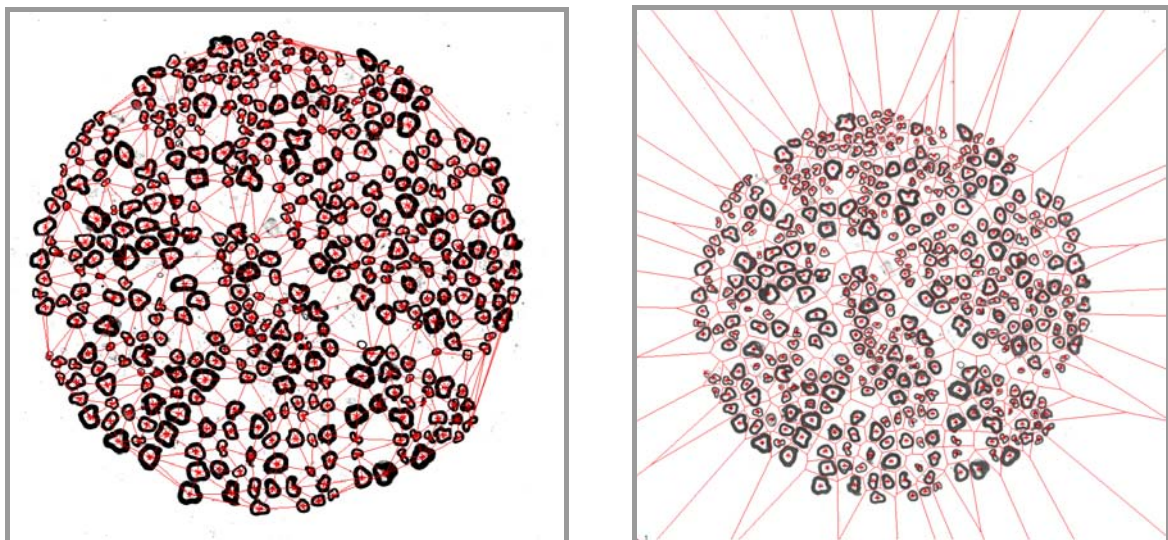


Abb. 55: Links: Dellaunay Triangulation; rechts: Voronoi Polygone

V ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchung von Nervenbiopsien hat sich als sinnvoll ergänzende Methode für die Diagnostik von Neuropathien in der Veterinärmedizin etabliert. In Kombination mit klinischen und elektrophysiologischen Messungen stellt sie ein wertvolles Werkzeug für die Beurteilung morphologischer Veränderungen dar. Neben der Licht- und Elektronenmikroskopie, sowie dem Erstellen und Beurteilen von Nervenzupfpräparaten, ist die Morphometrie ein weiteres geeignetes Verfahren zur Erfassung pathologischer und physiologischer Variablen in Nervenfasern. Dabei hat sich für die quantitative Evaluierung von Merkmalen in den letzten Jahren die computergestützte morphoquantitative Bildanalyse und Datenerfassung durchgesetzt.

Voraussetzung für die computergestützte Morphometrie ist ein korrekt aufbereitetes und gefärbtes Nervenmaterial, das ein Maximum an Bildqualität zulässt. Ziel des ersten Teils dieser Arbeit war es somit eine für die Bildanalyseeinheit optimale Färbung der Myelinscheide zu finden, um deren Detektion und Trennung von Axon und umgebendem Bindegewebe zu gewährleisten. Hierfür wurden fünf unterschiedliche Färbetechniken an 50 Nervenquerschnitten aus fünf Einzelproben eingesetzt, verglichen und auf ihre Eignung überprüft. Hier hat sich die Färbung von Semidünnschnitten mittels Paraphenyldiamin bei einer Inkubationszeit von 30 Minuten für die selektive Darstellung der Myelinscheide gegenüber allen anderen Verfahren durchgesetzt.

Für die Erarbeitung und Anwendung eines sinnvollen Algorithmus der Bildanalyse wurden des Weiteren Faszikelquerschnitte von 36 peripheren Nerven untersucht. Von diesen konnten 136 Nervenquerschnitte der Spezies Pferd aus 46 unterschiedlichen Faszikeln vollständig bildanalytisch erfasst und ausgewertet werden. Für die Bereiche Bilderfassung, Bildbearbeitung sowie Merkmalsvermessung kamen drei eigens modifizierte Bildanalyseprogramme zum Einsatz. Folgende Parameter konnten zuverlässig, mit einem zu bewältigenden interaktiven Aufwand, erfasst werden: Referenzfläche, Nervenfasernzahl, Axon-/Myelinscheiden-/Faserflächen und – Umfänge, Myelinscheidendicke. Aus diesen Daten ließen sich des Weiteren die Merkmale Faserdichte, Axon-/Faserdurchmesser, Axon-/Faserzirkularität, g-Ratio, Exceedingrate und Entropie der Faserflächen errechnen. Damit konnten die in der Literatur aufgeführten Parameter um zwei aussagekräftige Merkmale, die mittlere Myelinscheidendicke und die Exceedingrate, die einen Faserpopulationsparameter darstellt, ergänzt werden. Letztere ist insbesondere geeignet

Verschiebungen innerhalb der Faserkaliber eines Nervens zu erkennen und damit fasergrößen-selektive Neuropathien aufzudecken.

Für einen interindividuellen Vergleich des equinen N. accessorius haben sich sowohl Durchmesser- wie auch Flächenverteilungen von Axon und Myelinscheide als geeignet erwiesen. Durch die Darstellung dieser Messwerte in Histogrammen werden dem Untersucher bereits geringe Abweichungen visuell zugänglich gemacht.

Des Weiteren wurde die Vergleichbarkeit des N. accessorius und N. fibularis communis beim Pferd untersucht. Wie auch im N. fibularis communis sind im leichter zugänglichen N. accessorius sämtliche Faserarten und damit funktionelle Subtypen in ausreichender Anzahl vertreten, wodurch er zur Erfassung von Polyneuropathien geeignet erscheint.

Hinsichtlich der Repräsentativität von Nerventeilproben hat sich zur Erstellung einer Datenbank die Auswertung von fünf Faszikeln pro Nerv je Individuum als sinnvoll erwiesen. Hieraus sollten für eine longitudinale Beurteilung von einzelnen Nervenfaszikeln fünf Schnittebenen mit einem Abstand von 0,3 cm erfasst werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das hier angewandte morphometrische Verfahren für die Erkennung quantitativer Veränderungen im diagnostischen wie auch experimentellen Sinne seine Berechtigung findet. In der Implementierung ist dieses jedoch nicht gänzlich ohne Limitationen durch beispielsweise Fehldetektionen möglich.

VI SUMMARY

MORPHOMETRIC EVALUATION OF PERIPHERAL NERVE SAMPLES

To date, the inspection of nerve biopsies is a widely used diagnostic procedure for assessment of peripheral neuropathies in veterinary neurology. In addition to clinical and electrophysiological evaluations, detection of morphological abnormalities proved to be a useful tool for the identification of PNS disorders. In this context, light and electron microscopy, and nerve fiber teasing should be accomplished by computed morphometrical analyses in order to identify quantitative alterations within the nerve fascicles. The latter is only possible if tissue samples underwent an adequate histotechnical processing. It was, therefore, one major aim of this study to establish a staining protocol which allows an automatic distinction of the myelin sheath from the axon and other surrounding tissue components. In turn, five different stainings had been applied on 50 nerve cross sections and, afterwards, classified on base of their quality and reproducibility. From all stainings incubation in paraphenyldiamin over a period of 30 minutes resulted in the best and most selective staining of the myelin substance, suitable for digital image analysis.

In a second step, assessment of quantitative nerve characteristics had been performed on 136 specimens out of 46 equine nerve fascicles. Image processing was supported by three modified computer programs which allowed a direct measurement of the reference area, nerve fiber counts, areas and perimeters of whole fibers, axons, and myelin sheaths, and myelin sheath thickness. Other parameters, such as fiber density, axon and whole fiber diameters and circularity, g-ratio, exceeding rate, and entropy of fiber areas, were calculated. By assessment of mean myelin thickness and the exceeding rate, current morphometrical protocols were accomplished by two complementary factors with a high diagnostic value. The latter one is especially useful in the detection of fiber size selective neuropathies.

Both, diameter distribution and distribution of fiber and axon areas per fascicle turned out to be the most reliable parameters between different horses. They can be visualized easily in histograms which is helpful for the investigators.

Since biopsies should not be taken from the fibular nerve in the horse, it was a further task of this study to evaluate the representative fiber content of the accessory nerve in comparison to the N. fibularis com.. A striking similarity between these two nerves could be demonstrated, thereby,

proving the suitability of accessory nerve biopsies in assessment of equine peripheral polyneuropathies.

Any attempts to build up a database from peripheral nerve samples of horses should be based on procession of at least five fascicles per nerve and animal. Moreover, five cross sections of each fascicle with distance of 0.3 cm should be screened.

In conclusion, peripheral nerve morphometry is a good method to obtain quantitative data of histological samples. Nevertheless several technical limitations have to be taken into consideration such as false positive detection of nerve fibers that, if unresolved, will compromise the diagnostic value.

VII LITERATURVERZEICHNIS

1

ALBERTS B, BRAY D, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WATSON JD (1994): Molecular biology of the cell. Garland Publishing Inc, New York.

2

ANTHONY D (1996): Peripheral Nerve Biopsies. Arch Pathol Lab Med 120: 26-34.

3

ARGOV Z, STEINER I, SOFFER D (1989): The yield of sural nerve biopsy in the evaluation of peripheral neuropathies. Acta Neurol Scand 79: 243-245.

4

ASBURY AK, JOHNSON PC (1978): Pathology of Peripheral Nerve. WB Saunders Co, Philadelphia.

5

BANCROFT JP, GAMBLE M (2002): Theory and practice of histological techniques. Churchill Livingstone, London.

6

BEAMISH NG, STOLINSKI C, THOMAS PK, ET AL. (1991): Freeze fracture observation on normal and abnormal human perineurial tight junctions: alteration in diabetic polyneuropathies. Acta Neuropathol 81: 269-279.

7

BEAR RS, SCHMITT FO (1937): Optical properties of axon sheaths of crustacean nerves. J Cell Comp Physiol 9: 275-288.

8

BEHSE F (1990): Morphometric studies on the human sural nerve. Acta Neurol Scand 82: 1-38.

9

BEHSE F, BUCHTHAL F (1977): Peroneal muscular atrophy (PMA) and related disorders. II. Histological findings in sural nerves. Brain 100: 67-85.

10

BEHSE F, BUCHTHAL F, CARLSEN F, KNAPPEIS GG (1975): Unmyelinated fibers and Schwann cells of sural nerve in neuropathy. Brain 98: 493-510.

11

BERTHOLD CH (1978): Morphology of normal peripheral axons. In: Waxman SG (ed): Physiology and pathology of axons. Raven Press, New York.

12

BERTHOLD C-H (1978): Physiology and Pathobiology of Axons. S.G.Waxmann.Raven Press, New York.

13

BLIGHT AR, DECRESCITO V (1986): Morphometric analysis of experimental spinal cord injury intensity of survival myelinated axons. Neuroscience 19: 321-341.

14

BÖCK P (1984): Der Semidünnschnitt. J. F. Bergmann Verlag, München.

15

BÖCK P (1989): Romeis Mikroskopische Technik. Urban und Schwarzenberg, München.

16

BODIAN D (1936): A new method for staining nerve fibers and nerve endings in mounted paraffin sections. *Anat Rec* 65: 89-97.

17

BOSBOOM WM, VAN DEN BERG LH, FRANSSSEN H, ET AL. (2001): Diagnostic value of sural nerve demyelination in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Brain* 124(Pt12): 2427-38.

18

BOYD IA, DAVEY MR (1968): Composition of peripheral nerves. Edingburgh: Churchill Livingstone.

19

BRIMIJOIN S, CAPEK P, DYCK PJ (1973): Axonal transport of dopamine β -hydroxylase in human sural nerves in vitro. *Science* 180: 1295.

20

BUCHTHAL F, ROSENFALCK A (1966): Evoked action potentials and conduction velocity in human sensory nerves. *Brain Res* 3: 1-119.

21

BURGER G, OBERHOLZER M, GÖSSNER W (1988): Morphometrie der Zyto- und Histopathologie. Springer-Verlag, Berlin.

22

CAVALLARI V, MAIORANA M C, SCIMONE S, MAIORANA A (1989): Computer-Assisted Morphometry of the Peripheral Nervous System. *Path Res Pract* 185:803-806.

23

CEBALLOS D, CUARDAS J, VERDÚ E, NAVARRO X (1999): Morphometric and ultrastructural changes with ageing in mouse peripheral nerve. *J Anat* 195: 563-576.

24

CELIO MR (1976): The Schmidt-Lanterman incisures of the myelin sheath of Mauthner axons: places of longitudinal growth of myelin? *Brain Res* 108: 221-223.

25

CHIU SY, LOW PA (1984): Voltage clamp of mammalian myelinated fibers. Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EJ, Bunge R (eds). *Peripheral neuropathy*, Vol.1. Saunders, Philadelphia.

26

COCHRAN WG (1909): Sampling techniques. John Wiley & Sons, New York.

27

COOPER BJ, DUNCAN I, CUMMINGS J, LAHUNTA A (1984): Defective Schwann cell function in canine inherited hypertrophic neuropathy. *Acta Neuropathol (Berl)* 63: 51-56.

28

CROS DP, SIAO P (2001): Electromyography and other neurophysiologic approaches in peripheral neuropathy. Massachusetts General Hospital, Boston, MA USA.

29

CRUZ-ORIVE LM, WEIBEL ER (1981): Sampling designs for stereology. *J Microsc* 122: 235-257.

30

DAY-ALLEN R (1987): The microtubule as an intracellular engine. *Sci Am* 256: 26-33.

31

DELESSE MA (1847): Procéde mécanique pour déterminer la composition des roches. *CR Acad Sci (Paris)* 25: 544.

32

DEPREZ M, CEUTERICK-DE GROOTE C, FUMAL A, REZNIK M, MARTIN J J (1999): A new combined Bodian-Luxol technique for staining unmyelinated axons in semithin, resin-embedded peripheral nerve: a comparison with electron microscopy. *Acta Neuropathol* 98: 323-329.

33

DOLAPCHIEVA S, EGGERS R, KÜHNEL W (2000): Automatic image analysis of the postnatal growth of axons and myelin sheath in the tibial and peroneal nerves of rabbits. *Ann Anat* 182: 133-142.

34

DONALDSON HH, HOKE GW (1905): On the areas of the axis cylinder and medullary sheath as seen in cross sections of the spinal nerves of vertebrates. *J Comp Neurol* 15: 1.

35

DOUGLAS AC, CRAIN BJ (1996): Peripheral nerve biopsies. *Arch Pathol Lab Med* 120: 26-34.

36

DUNCAN D (1934): A relation between axon diameter and myelination determined by measurement. *J Comp Neurol* 60: 437-471.

37

DUNN FR, O'LEARY DP, KUMLEY WE (1975): Quantitative analysis of micrographs by computer graphics. *J Microsc* 105: 205-213.

38

DYCK PJ (1966): Histologic measurements and fine structure of biopsied sural nerve: normal and in peroneal muscular atrophy, hypertrophic neuropathy and congenital sensory neuropathy. *Mayo Clin Proc* 41: 742.

39

DYCK PJ, BEAHR OH, MILLER RH (1965): Peripheral nerves in hereditary neural atrophies: Number and diameters of myelinated fibers. 6th International Congress of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, Vienna, Austria.

40

DYCK PJ, KARNES J (1981): Computer imaging for morphometry of neuro columns and fiber tracts in neurobiology and pathology. *Trends in Neurosciences* 4: 138-141.

41

DYCK PJ, KARNES J, LAIS A, ET AL. (1984): Pathologic alterations of the peripheral nervous system of humans. In Dyck PJ, Thomas PK, et al. (eds). *Peripheral Neuropathy*, 2nd edition, Philadelphia: W.B. Saunders pp 760-870.

42

DYCK PJ, KARNES J, LAIS A, ET AL. (1984): Spatial Pattern of Nerve Fiber Abnormality Indicative of Pathologic Mechanisms. *Am J Pathol* 117: 225-238.

43

DYCK PJ, LAMBERT EH, SANDERS K, O'BRIEN PC (1971): Severe hypomyelination and marked abnormality of conduction in Dejerine-Sottas hypertrophic neuropathy: myelin thickness and compound action potential of sural nerve in vitro. *Mayo Clin Proc* 46: 432-436.

44

DYCK PJ, LOFGREN EP (1966): Method of fascicular biopsy of human peripheral nerve for electrophysiologic and histologic study. *Mayo Clin Proc* 46: 400-433.

45

DYCK PJ, LOFGREN EP (1968): Choice of nerve, method, symptoms, and usefulness. *Med Clin North Am* 52: 885-893.

46

DYCK PJ, LOW PA, SPARKS MF, HEXUM LA, KARNES JL (1980): Effect of serum hyperosmolality of healthy human sural nerve. *J Neuropathol Exp Neurol* 39: 285-295.

47

DYCK PJ, THOMAS PK, LAMBERT EH, BUNGE R (1984): *Peripheral Neuropathy Volume 1* Saunders, Philadelphia.

48

DYCK PJ, KARNES JL (1981): Morphometry of neuron columns and fiber tracts in neurobiology and pathology using computer imaging. *Trends Neurosci* 4: 138-141.

49

ELFVIN LG (1961): Ultrastructure of the nodes of Ranvier in cat sympathetic nerve fibers. *J Ultrastruct Res* 5: 347.

50

ELFVIN LG (1963): Ultrastructure of the plasmamembrane and myelinsheath of peripheral nerve fibers after fixation by freeze-drying. *J Ultrastruct Res* 8: 463.

51

ERLANGER J, GASSER HS (1933): *Electrical Signs of Nervous Activity*. Philadelphia, University of Pennsylvania Press.

52

EVERDÚ E, CEBALLOS D, VILCHES JJ, NAVARRO X (2000): Influence of aging on peripheral nerve function and regeneration. *Journal of the Peripheral Nervous System* 5: 191-208.

53

EWART D P, KUZON JR. W M, FISH J S, ET AL (1989): Nerve fibre morphometry: a comparison of techniques. *Journal of Neuroscience Methods* 29: 143-150.

54

FERNAND VS, YOUNG JZ (1951): The size of the fibres of muscle nerves. *Proc R Soc* 139: 299-304.

55

FERNÁNDEZ E, CUENCA N, DEJUAN J (1991): A useful programme in BASIC for axonal morphometry with introduction of new cytoskeletal parameters. *Journal of Neuroscience Methods* 39: 271-289.

56

FERRIER G, DENEFF JF, RODRIGUEZ J, GUZZETTA F (1985): Morphometric studies of normal sural nerves in children. *Muscle and Nerve* 8: 697-704.

57

FIOLA RF (1984): Peripheral Morphometry for Daily Practice. Third International Symposium on Morphometry in Morphological Diagnosis, Delft, The Netherlands, September 13-15.

58

FISHER C (1971): The new Quantimet 720. *Microscope* 19: 1.

59

FRAHER JP (1992): Myelin-axon relationships in the rat phrenic nerve: longitudinal variation and lateral asymmetry. *J Comp Neurol* 323: 551-557.

60

FRAHER JP, O'LEARY, MORAN MA, COLE M, KING RH, THOMAS PK (1990): Relative growth and maturation of axon size and myelin thickness on the tibial nerve of the rat. I. Normal animals. *Acta Neuropathol* 79: 364-374.

61

FRIEDE RL (1972): Control of myelin formation by axon caliber (With a model of the control mechanism). *J Comp Neurol* 144: 233-252.

62

FRIEDE RL, BEUCHE W (1985): A new approach toward analysing peripheral nerve fiber population. I. Variance in sheath thickness corresponds to different geometric proportions of the internodes. *J Neuropathol Exp Neurol* 44: 60-72.

63

FRIEDE RL, BISCHHAUSEN R (1982): How are sheath dimensions affected by axon caliber and internode length? *Brain Res* 235: 335-350.

64

FRIEDE RL, SAMORAJSKI T (1967): Relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibers of vagus and sciatic nerves of mice. *J Comp Neurol* 130: 223-232.

65

FRIEDE RL, SAMORAJSKI T (1968): Myelin formation in the sciatic nerve of rat. A quantitative electron microscopic, histochemical and radioautographic study. *J Neuropathol Exp Neurol* 27: 546-570.

66

FUNCH PG, FABER DS (1984): Measurement of myelin sheath resistance: implications for axonal conduction and pathophysiology. *Science* 225: 538-540.

67

GASSER HS, GRUNDFEST H (1939): Axon diameters in relation to the spike dimensions and the conduction velocity in mammalian A fibers. *Am J Physiol* 127: 393-414.

68

GENUA S, TOS P, GUGLIELMONE R, BATTISTON B, GIACOBINI-ROBECCHI MG (2000b): Morphological analysis of peripheral nerve regenerated by means of vein grafts filled with fresh skeletal muscle. *Anat Embryol* 201: 475-482.

69

GENUA S, TOS P, GUGLIELMONE R, BATTISTON B, GIACOBINI-ROBECCHI MG (2001): Methodological issues in size estimation of myelinated nerve fibers in peripheral nerves. *Anat Embryol* 204:1-10.

70

GERBER V, STRAUB R, FATZER R, HERMANN, HAHN C, HOFMEISTER S, STEFFEN F, HERHOLZ C (1998): Die Diagnostik der EMND (Equine Motorische Nervenzell-Degeneration)-3 Fälle. *Pferdeheilkunde* 14 (1): 3-10.

71

GEUNA S (2000): Appreciating the difference between design-based and model-based sampling strategies in quantitative morphology of the nervous system. *J Comp Neurol* 427: 333-339.

72

GIBBELS E, KENTENICH M (1990): Unmyelinated fibers in sural nerve biopsies of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Acta Neuropathol* 80: 439-447.

73

GLAGOLEFF AA (1933): On the geometrical methods of quantitative analysis of the rocks. *Trans Inst Econ Min Moscow* 59: 1.

74

GÖDDE T (1999): Persönliche Mitteilung.

75

GOEBEL HH (1990): Hereditary metabolic neuropathies. *Zentralbl. Allg. Pathol. Pathol Anat* 136: 503-515.

76

GOSH S, BARTKE A, GRASSO P, REICHERT LE, RUSSEL LD (1992): Structural response of the hamster sertoli cell to hypophysectomy: A correlative morphometric and endocrine study. *Anat Rec* 234: 513-529.

77

GUNDERSEN HJG, JENSEN EB (1987): The efficiency of systematic sampling in stereology and in precision. *J Microsc* 147: 229-263.

78

GUZZETTA F, FERRIERE G, LYON G (1982): Congenital hypomyelination polyneuropathies starting later in life. *Brain* 105: 395-416.

79

HEES H (1992): Nervensystem. In Sinowatz F, Hees H (Hrsg.): *Histologie*. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln.

80

HILDEBRAND C, HAHN R (1978): Relation between myelin sheath thickness and axon size in spinal cord white matter of some vertebrate species. *J Neurol Sci* 38: 421-434.

81

HIROSE K, OSTERBY R, NOZAWA M, GUNDERSEN HJG (1982): Development of glomerula lesions in experimental long-term diabetes in the rat. *Kidney Int* 21: 689-695.

82

HOFFMANN PN (1995): The synthesis, axonal transport, and phosphorylation of neurofilaments determine axonal caliber in myelinated nerve fibres. *Neuroscientist* 1: 76-84.

83

JABALEY ME, WALLACE WH, HECKLER FR (1980): Internal topography of nerves of the forearm and hand: a current view. *J Hand Surg* 5: 1-18.

84

JACOBS JM, LOVE S (1985): Qualitative and quantitative morphology of human sural nerve at different ages. *Brain* 108: 897-924.

85

JESSEN KR, MIRSKY R (1997): Schwann cell development: the biology of Schwann cell precursors and early Schwann cells. *J Anat* 191: 501-505.

86

KAAR GF, FRAHER JP (1985): The development of alpha and gamma motoneuron fibres in the rat. I. A comparative ultrastructural study of their central and peripheral axon growth. *J Anat* 141: 77-88.

87

KATO T, KATAGIRI T, HIRANO A, KAWANAMI T, SHIKAMA Y, KURITA K, SASAKI H, ARAI S (1991): Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in spinal spheroids in motor neuron disease. *Acta Neuropathol* 82: 302-305.

88

KING RHM (1999): Atlas of peripheral nerve pathology. Arnold, London.

89

Kirsch RA (1957): Processing pictorial information with digital computers. *Trans INS Elec Engrs* 57: 878.

90

KLÜVER H, BARRERA E (1953): A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 12: 400-403.

91

KRAMMER EB, ZENKER W (1975): Effekt von Zinkionen auf Struktur und Verteilung der Neurotubuli. *Acta Neuropathol (Berl)* 31: 59-69.

92

KRUEGER S K, PHILLIPS D E, JOHNSON R K (1998): Diaminobenzidine as a Myelin Stain in Semithin Plastic Sections. *Biotechnic & Histochemistry Vol 7 2*: 105-109.

93

KUPFER C, CHUMBLEY L, DOWNER L (1967): Quantitative histology of optic nerve, optical tract and lateral geniculate nucleus of man. *J Anat* 101: 393-401.

94

KYLE G. BRAUND, Nerve and Muscle Biopsy Techniques *PVN Review* 2 (1): 35-56.

95

LANE BP, EUROPA DL (1965): Differential staining of ultrathin section of Epon-embedded tissues for light microscopy. *J Histochem Cytochem* 13: 579-582.

96

LANTERMAN AJ (1877) Über den feineren Bau der markhaltigen Nervenfasern. *Arch Mikrosk Anat Entwicklungsmech* 13: 1-8.

97

LARSEN JO (1998): Stereology of nerve cross sections. *J Neurosci Methods* 85: 107-118.

98

LARSON L-I (1986): Plastic embedding technique. In: Larsson L-I (ed) Immunocytochemistry: theory and practice. CRC Press, Boca Raton pp 61-67.

99

LI K, KYLE RA, DYCK PJ, HUNTER GC, ET AL. (1992): Immunohistochemical characterization in amyloid neuropathy. *Am J Pathol* 141: 217-226.

100

LORENZ K (1973): Die Rückseite des Spiegels. Versuch einer Naturgeschichte menschlichen Erkennens. Piper, München.

101

MATIASEK K (2004): Persönliche Mitteilung.

102

MAYER P (1891): Über das Färben mit Hämatoxylin. *Mitt Zool Stat Neapel* 10: 170-186.

103

MAYHEW TM, GUNDERSEN HJG (1996): A decade of the disector for stereological counting of particles in 3D spaces. *J Anat* 188: 1-15.

104

MIDRONI G, BILBAO J (1995): Biopsy Diagnosis of Peripheral Neuropathy. Butterworth-Heinemann, Boston.

105

MINEWEGEN P, FRIEDE RL (1984): Conduction velocity varies with osmotically induced changes of the area of the axon's profile. *Brain Res* 297: 105-113.

106

MOSS VA (1982): Computer-linked planimeters. Some hints and algorithms. *Proc Roy Microsc Soc* 16: 20.

107

NAFE R, TROLLMANN R, SCHLOTE W (2001): The giant axonal neuropathy-clinical and histological aspects, differential diagnosis and a new case. *Clin Neurolpathol* 20(5): 200-11.

108

NEUNDORFER B, GRAHAM F, ENGELHARTDT A, ET AL. (1990): Postoperative effects and value of sural nerve biopsies: a retrospective study. *Eur Neurol* 30: 350-352.

109

NICHOLS PC, DYCK PJ, MILLER DR (1968): Experimental hypertrophic neuropathy: Change in fascicular area and fiber spectrum after acute crush injury. *Mayo Clin Proc* 43:297-305.

110

NICKEL R, SCHUMMER A, SEIFERLE E (1992): Nervensystem. In: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Band IV. Parey, Berlin.

111

OBERHOLZER M (1983): Morphometrie in der klinischen Pathologie. Springer-Verlag, Berlin.

112

OCHOA J (1975): Microscopic anatomy of unmyelinated nerve fibres. In: Peripheral Neuropathy, Vol. I, edited by P.J. Dyck, P.K. Thomas, and E.H. Lambert Saunders, Philadelphia.

113

OCHOA J (1976): The unmyelinated nerve fiber. In: Landon DN (Hrsg.): The peripheral nerve. Chapman and Hall, London.

114

OH SJ (1990): Diagnostic usefulness and limitations of the sural nerve biopsy. *Yonsei Med J* 31: 1-26.

115

OHNISHI A, OFFORD K, DYCK PJ (1974a): Studies to improve fixation of human nerves. Part 1. Effect of duration of glutaraldehyde fixation on peripheral nerve morphometry. *J Neurol Sci* 23: 223-226.

116

OHNISHI A, OFFORD K, DYCK PJ (1974b): Studies to improve fixation of human nerves. Part 2. Effect of time elapsed between death and glutaraldehyde fixation on relationship of axonal area to number of myelin lamellae. *J Neurol Sci* 23: 387-390.

117

OHTA M, ELLEFSON RD, LAMBERT EH, DYCK PJ (1973): Hereditary sensory neuropathy, type II: Clinical electrophysiologic, histologic and biochemical studies of a Quebec kindship. *Arch Neurol* 29: 23-27.

118

OLSSON Y (1990): Microenvironment of the peripheral nervous system under normal and pathological conditions. *Crit Rev Neurobiol* 5: 265-311.

119

ORITZ-HILDAGO C, WELLER R O (1992): Peripheral nervous system. In Sternberg SS (Hrsg): *Histology for Pathologists*. Raven Press, New York Chapter 7.

120

OUVRIER RA, MCLEOD JG, CONCHIN T (1987): Morphometric Studies of Sural Nerve in Childhood Muscle and Nerve 10: 47-53.

121

PAKKENBERG B, GUNDERSEN HJG (1988): Total number of neurons and glia cells in human brain nuclei estimated by the disector and the fractionator. *J Microsc* 150: 1-20.

122

PALIX C, COIGNET J (1978): Un cas de polyneuropathie peripherique neo-natale par amyelinisation. *Pediatric* 33: 201-207.

123

RANNER W (1999): Persönliche Mitteilung.

124

RANSON SW (1911): Non-medullated nerve fibers in the spinal nerves. *Am J Anat* 12: 67-87.

125

REXED B (1944): Contribution to the knowledge of postnatal development of the peripheral nervous system in man. *Acta Psychiatr Neurol Suppl* 33: 1-206.

126

RICHARDSON KC, JARETT L, FINK EH (1960): Embedding in epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy. *Stain Technol* 35: 313-325.

127

RINK M (1970): Automatische morphometrische Bildanalyse mit Hilfe eines elektronischen Digitalrechners. Diss Techn Univ, Clausthal (BRD).

128

ROBERTSON JD (1958): The ultrastructure of Schmidt-Lanterman clefts and related shearing defects of the myelin sheath. *J Biophys Biochem Cytol* 4: 39-42.

129

RODENACKER K (2004): Persönliche Mitteilung.

130

ROMERO E, CUISENAIRE O, DENEFF J F, DELBEKE J, MACQ B, VERAART C (2000): Automatic morphometry of nerve histological sections. *Journal of Neuroscience Methods* 97: 111-122.

131

ROSIWAL A (1898): Über geometrische Gesteinsanalysen. *Verh. K. K. Geol. Reichsanst., Wien*.

132

RUSHTON WAH (1951): A theory of the effects of fibre size in medullated nerve. *J Physiol* 115: 101-122.

133

RUSS J C (1995): *The image processing Handbook*. CRC Press, Boca Raton.

134

SAID G, LACROIX C, LOZERON P, ROBERT A, PLANTE V, ADAMS D (2003): Inflammatory vasculopathy in multifocal diabetic neuropathy. *Brain* 126(Pt2): 376-85.

135

SALTYKOV SA (1979): *Stereometric metallography*. 1st edn. State Publishing House for Metals Sciences, Moscow, 1945. *Stereometrische Metallographie* VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig.

136

SANDERS FK (1948): The thickness of the myelin sheath of normal and regenerating peripheral nerve fibers. *Proc R Soc Lond (Biol)* 135: 323.

137

SAPER CB (1999): Unbiased stereolog: three-dimensional measurement in microscopy. *Trends Neurosci* 22: 94-96.

138

SAXOD R, TORCH S, VILA A, LAURENT A, STOEGBNER P (1985): The density of myelinated fibres is related to the fascicle diameter in human superficial peroneal nerve. Statistical study of 41 normal samples. *J Neurol Sci* 71(1): 49-64.

139

SCHALOW G, ZACH GA, WARZOK R (1995): Classification of human peripheral nerve fibre groups by conduction velocity and nerve fibre diameter is preserved following spinal cord injury. *J Auton Nerv Syst* 8: 125-150.

140

SCHEITHAUER BW, WOODRUFF JM, ERLANDSON RA (1997): The normal peripheral nerve system. In: *Tumors of peripheral nerve system*. Washington: AM Reg of Path AFIP.

141

SCHMIDT WJ (1936): Doppelbrechung und Feinbau der Markscheide der Nervenfasern. *Z Zellforsch* 23: 657.

142

SCHMITT FO, CLARK CL (1935): X-ray diffraction studies on nerve. *Radiology* 25: 131.

143

SCHRÖDER JM (1984): Zur Morphologie hereditärer Polyneuropathien. In: W. Mortier (ed) *Moderne Diagnostik und Therapie bei Kindern*. Grosse, Berlin pp 14-22.

144

SCHRÖDER JM (1999): *Pathologie des Nervensystems VIII. Pathologie peripherer Nerven*. Springer-Verlag, Berlin.

145

SCHRÖDER JM, BOHL J (1978): Altered ratio between myelin thickness in sural nerves of children. Canal N (ed) *Peripheral neuropathies*. Elsevier, Amsterdam.

146

SCHRÖDER JM, BOHL J, VON BARDELEBEN U (1988): Change of the ratio between myelin thickness and axon diameter in human developing sural, femoral, ulnar, facial and trochlear nerves. *Acta Neuropathol* 76: 471-483.

147

SCHRÖDER M (1998): Recommendations for the examination of peripheral nerve biopsies. *Virchows Arch* 432: 199-205.

148

SCHULTZE WH (1972): Über das Paraphenylendiamin in der histologischen Färbetechnik und über eine neue Schnellfärbemethode der Nervenmarkscheide am Gefrierschnitt. *Zentralbl. Pathol.* 36: 639-640.

149

SCHWARZACHER HG (1954): Markscheidendicke und Achsenzylinderdurchmesser in peripheren menschlichen Nerven. *Acta Anat* 21: 26.

150

SEIBOLD S (1996): Verlauf und histomorphologisches Erscheinungsbild des N. laryngeus recurrens, seine altersabhängigen Metamorphosen und pathologischen Veränderungen bei groß- und kleinwüchsigen Hunden. Institut für Tierpathologie der Universität München.

151

Silver ML (1942): Colloidal factors controlling silver staining. *Anatomical Record* 82: 507-529.

152

SIMON H, KUNZE KD, VOSS K, HERRMANN WR (1975): *Automatische Bildverarbeitung in Medizin und Biologie*. Steinkopf, Dresden.

153

SLATTER DH (1985): *Textbook of Small Animal Surgery*. Saunders, Philadelphia.

154

SNIPES RL (1977): Identification of lipids for intestinal absorption studies in resin-embedded tissue. *Microsc Acta* 79: 127-130.

155

SOBUE G, YASUDA T, MITSUMA T, ROSS AH, PLEASURE D (1988): Expression of nerve growth factor receptor in human neuropathies. *Ann Neurol* 24: 64-72.

156

STERNBERG N, QUARTERS RH, ITOYAMA Y, WEBSTER H (1979): Myelin associated glycoprotein demonstrated immunohistochemically in myelin and myelin forming cells of developing rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 1510-1514.

157

STERNBERGER NH (1984): Patterns of oligodendrocyte function seen by immunocytochemistry. *Adv Neurochem* 5: 125-173.

158

STEWART JD (2003): Peripheral nerve fascicles: anatomy and clinical relevance. *Muscle and Nerve* 28: 525-541.

159

SUNDERLAND S (1978): *Nerves and nerve injuries*. Edinburgh: Churchill Livingstone, London.

160

SUNDERLAND S, ROCHE A (1958): Axon-myelin relationship in peripheral nerve fibres. *Acta Anat* 33: 1-37.

161

TAUNDRUP T, BREANDGAARD H (1992): The number and mean volume of neurons in the cerebral cortex of rats intoxicated with acrylamid. *Neuropath Appl Neurobiol* 18: 250-258.

162

THOMAS PK (1955): Growth changes in the myelin sheath of peripheral nerve fibres in fishes. *Proc R Soc Lond (Biol.)* 143: 380.

163

THOMAS PK, LANDON DP, KING RHM (1984): Disease of peripheral nerves In: Adams JH, Corsellis JAN, Duchen LW, eds. *Greengield's neuropathology*, 4th ed London: Edward Arnold 779-806.

164

THOMAS PK, OCHOA J (1984): Microscopic anatomy of peripheral nerve fibers. In: *Microscopic Anatomy of Peripheral Nerve Fibers*. In: Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH, Bunge RP *Peripheral Neuropathy* Volume 1. Saunders, Philadelphia.

165

THOMAS PK, OLSSON Y (1984): Microscopic anatomy and function of the connective tissue components of peripheral nerve. In: Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH, Bunge RP (Hrsg.). Saunders, Philadelphia.

166

THOMSON E (1930): Quantitative microscopic analysis. *J Geol* 38: 193.

167

TOGHI H, TSUKAGOSHI H, TOYOKURA Y (1977): Quantitative changes with aging in sural nerves. *Acta Neuropathol* 38: 213-220.

168

TORCH S, STOEBER P, USSON Y, D'AUBIGNY GD, SAXOD R (1989): There is no simple adequate sampling scheme for estimating the myelinated fibre size distribution in human peripheral nerve: a statistical ultrastructural study. *J Neurosci Methods* 27: 149-164.

169

TRAPP B, QUARTES R, SUZUKI K (1984): Immunocytochemical studies of quaking mice support a role for myelin associated glycoprotein in forming and maintaining the periaxonal space and periaxonal cytoplasmic collar of myelinating Schwann cells. *J Cell Biol* 99: 594-609.

170

TRUMP BF, SMUCKLER EA, BENDITT EP (1961): A method for epoxy sections for light microscopy. *J Ultrastruct Res* 5: 343-348.

171

UNDERWOOD EE (1970): Quantitative stereology. Addison-Westley, Reading, Massachusetts.

172

VITA G, SANTORO M, TROMBETTA G, LEONARDI L, MESSINA C (1992): A computer-assisted automatic method for myelinated nerve fibre morphometry. *Acta Neurol Scand* 85: 18-22.

173

VITA G, SERRA S, DATTOLA R (1989): Peripheral neuropathy in amyotrophic chorea-acanthocytosis. *Ann Neurol* 26: 583-587.

174

VIZOSO AD (1951): Observation on the mode of growth of motor fibres in rabbits during postnatal development. *J Comp Neurol* 95: 429-461.

175

WANG JF, SCHRÖDER JM (2000): Comparative morphometric evaluation of peripheral nerves and muscle fibers in myotonic dystrophy. *Acta Neuropathol* 99:39-47.

176

WARZOK R, CERVÓS-NAVARRO J (1990): Morphologische Diagnostik von Krankheiten des peripheren Nervensystems. *Zentralbl. allg. Pathol. Anat.* 136: 493-502.

177

WARZOK R, WATTIG B, RUDEL J, ET AL. (1987): Morphologie der diabetischen Neuropathie. *Zentralbl. Allg. Pathol. Pathol. Anat.* 133: 119-126.

178

WEIBEL ER (1979): Practical methods biological morphometry. Academic Press, London.

179

WEIBEL ER (1979): Stereological methods. Vol I: Practical methods for biological morphometry. Academic Press, London.

180

WEIS S, HAUG H, BUDKA H (1993): Neuronal damage in the cerebral cortex of AIDS brains: a morphometric study. *Acta Neuropathol* 85: 185-189.

181

WELLER RO, CERVÓS-NAVARRO J (1977): The pathology of peripheral nerves. Butterworths, London.

182

WELLS WA, RAINER RO, MEMOLI VA (1992): Basics principles of image processing. *AJCP* 98: 493-501.

183

WENDELL-SCHMITH CP, WILLIAMS PL (1959): The use of teased preparations and frozen sections in quantitative studies of mammalian peripheral nerve. *Q J Microsc Sci* 100: 499.

184

WENDENHEIM KM, CAMPBELL WG (1986): Perineural cell tumor immunocytochemical and ultrastructural characteristics. Relationship to other perineural tumors with a review of the literature. *Virchows Arch (A)* 408:375-383.

185

WHEELER SJ, PLUMMER JM (1989): Age-related changes in the fibre composition of equine peripheral nerve. *Journal of Neurological Sciences* 90: 53-66.

186

WIEZCOREK L (2002): Nervenzupfpräparation (Nerve Fiber Teasing) in der Diagnostik peripherer Neuropathien beim Tier –Methodik und Interpretation-. Diss vet med LMU, München.

187

WILLIAMS PL (1959): Sections of fresh mammalian nerve trunks for quantitative studies: a rapid freezing technique. *Q J Microsc Sci* 100: 425.

188

WILLIAMS PL, WENDELL-SMITH CP (1960): The use of fixed and stained sections in quantitative studies of peripheral nerve. *Q J Microsc Sci* 101: 43.

189

WILLIAMS PL, WENDELL-SMITH CP (1971): Some additional parametric variations between peripheral nerve fibre populations. *J Anat* 109: 505-526.

190

WU E, RAINE CS (1992): Multiple sclerosis. Interactions between oligodendrocytes and hypertrophic astrocytes and their occurrence in other nonmyelinating conditions. *Lab Invest* 67: 88-99.

191

YAO D, KOMOLY S, ZHANG Q, WEBSTER H (1994): Myelinated Axons demonstrated in the CNS and PNS by Anti-Neurofilament Immunoreactivity and Luxol Fast Blue Counterstaining. *Brain-Pathology* 4: 97-100.

192

ZIMMERMANN IR, KARNES JL, O'BRIAN PC, DYCK PJ (1980): Imaging system for nerve and fiber tract morphometry: Components, approaches, performance and results. *J Neuropathol Exp Neurol* 39: 409-419.

Tab. 12: Faszikelflächen Faseranzahl und -dichte pro Schnitt

Tier	Schnitt	Faszikelfläche in μm^2	Faseranzahl	Faserdichte/ mm^2
1	p03a2	39381	344	8735
1	p03a3	39387	332	8429
1	p03a6	29061	330	11356
1	p03b1	34324	282	8216
1	p041	29593	340	11489
1	p0410	31265	322	10299
1	p0411	31255	336	10750
1	p0412	31088	334	10744
1	p0413	30663	325	10599
1	p0415	31693	317	10002
1	p042	30011	308	10263
1	p043	28600	315	11014
1	p044	29976	333	11109
1	p045	30443	336	11037
1	p046	29387	333	11332
1	p047	30347	342	11270
1	p049	30823	332	10771
2	p01a1	34118	344	10083
2	p01a2	40270	385	9561
2	p01a3	33288	392	11776
2	p01b3	27974	251	8973
2	p01c3	25908	239	9225
2	p01d3	28231	228	8076
2	p01e1	36165	326	9014
2	p01e2	34726	307	8841
2	p01f1	43928	526	11974
2	p01f2	48931	538	10995
2	p01g1	29214	331	11330
2	p01g2	27026	321	11877
2	p01g3	27695	352	12710
2	p01h1	22853	196	8577
2	p01h2	21490	198	9214
2	p01h3	37078	346	9332
2	p02a1	39603	444	11211
2	p02a2	43148	449	10406
2	p02a3	39877	429	10758
2	p02b1	38431	370	9628
2	p02b2	33656	363	10786
2	p02b3	33460	378	11297
2	p02c1	14048	174	12386
2	p02d1	9443	55	5825
2	p02d2	24764	132	5330
2	p02e1	15390	100	6498
2	p02e2	19282	121	6275
2	p02f1	19045	239	12549
2	p02f3	38019	316	8312
2	p02g2	21557	259	12015
2	p02g3	21071	273	12956
2	p02h1	17539	99	5645
2	p02h3	15746	99	6287
2	p02h4	13171	86	6530
3	p001	29385	325	11060
3	p002	29902	306	10234
3	p003	29759	314	10552
3	p004	29904	310	10366
3	p005	30459	315	10342
3	p006	30610	311	10160
3	p007	31058	323	10400
3	p008	30748	303	9854

Tier	Schnitt	Flächen in μm^2	Faseranzahl	Faserdichte/ mm^2
3	p009	31652	307	9699
3	p00a	30997	313	10098
3	p00b	31032	309	9958
3	p00c	31230	308	9862
3	p00d	32329	313	9682
3	p00e	32294	305	9445
3	p00f	33411	315	9428
4	f011	31065	366	11782
4	f012	39250	438	11159
4	f013	30329	353	11639
4	f014	62498	657	10512
4	f015	36869	444	12043
4	f016	36130	303	8386
5	f02a1	20506	335	16337
5	f02a2	30345	444	14632
5	f02a3	11902	212	17812
5	f02a4	19901	335	16834
5	f02d1	27667	422	15253
5	f02d2	28049	406	14475
5	f02d3	32142	406	12631
6	p05a1	23660	199	8411
6	p05a2	42387	373	8800
6	p05a3	36841	357	9690
6	p05a4	37616	366	9730
6	p05b1	35233	342	9707
6	p05b2	21800	200	9174
6	p05b3	24322	197	8100
6	p05c1	18310	171	9339
6	p05c3	16182	205	12668
6	p05d3	15754	166	10537
6	p05e1	19828	240	12104
6	p05e2	14687	198	13481
6	p05f1	21132	252	11925
6	p05f4	42026	398	9470
6	p0701	34421	353	10255
6	p0702	34798	358	10288
6	p0703	34934	362	10362
6	p0704	34265	351	10244
6	p0705	34299	369	10758
6	p0706	34563	369	10676
6	p0707	34158	366	10715
6	p0708	33938	357	10519
6	p0709	33794	361	10682
6	p0710	34338	360	10484
6	p0711	34226	361	10548
6	p0712	33699	364	10802
6	p0713	33266	365	10972
6	p0714	33495	366	10927
6	p0715	33609	365	10860
7	p06a2	75248	615	8173
7	p06a4	69835	609	8721
7	p06b1	71133	470	6607
7	p06b2	64360	523	8126
7	p06b3	56354	434	7701
7	p06c1	55340	434	7842
7	p06c3	46454	374	8051
7	p06c4	92910	692	7448
7	p06d1	42634	295	6919
7	p06d3	31204	293	9390

Tier	Schnitt	Flächen in μm^2	Faseranzahl	Faserdichte/ mm^2
7	p06f2	69953	526	7519
7	p06f4	73390	518	7058
8	p08a1	148798	680	4570
8	p08a2	62806	549	8741
8	p08b1	46757	176	3764
8	p08b2	53735	185	3443
8	p08b3	49544	166	3351
8	p08c1	88875	690	7764
8	p08c2	104863	729	6952
8	p08d1	82476	570	6911
8	p08d3	74716	665	8900
8	p08e1	82618	660	7989
8	p08e2	94552	623	6589
8	p08f1	75843	595	7845
8	p08f2	83218	599	7198
8	p08f3	82124	615	7489

Tab. 13: Faserfläche pro Schnitt

Tier	Schnitt	Anzahl	Mittelwert	SD	Minimum μm^2	Mximum μm^2
1	p03a2	344	57,47	57,80	4,31	309,42
1	p03a3	332	50,16	48,84	3,88	266,47
1	p03a6	330	45,04	46,15	3,66	274,44
1	p03b1	282	54,23	49,51	7,04	245,21
1	p04s1	340	42,95	42,66	3,95	212,74
1	p04s10	322	46,06	43,27	4,31	225,46
1	p04s11	336	43,82	42,97	3,88	204,41
1	p04s12	334	44,32	43,05	3,66	207,72
1	p04s13	325	45,51	44,56	4,17	250,38
1	p04s15	317	46,77	44,43	4,02	223,09
1	p04s2	308	46,20	43,84	4,09	210,23
1	p04s3	315	45,43	42,82	3,66	208,72
1	p04s4	333	45,11	44,45	3,66	219,42
1	p04s5	336	44,38	43,10	3,95	197,80
1	p04s6	333	44,97	43,91	3,66	211,81
1	p04s7	342	43,57	43,46	4,09	205,99
1	p04s9	332	45,87	44,92	3,66	249,59
2	p01a1	344	33,22	20,15	3,66	100,05
2	p01a2	385	37,48	24,00	4,31	116,21
2	p01a3	392	34,14	20,15	5,24	94,66
2	p01b3	251	35,63	24,76	6,68	112,76
2	p01c3	239	35,84	22,41	9,05	99,69
2	p01d3	228	41,48	26,34	9,84	113,41
2	p01e1	326	39,32	25,82	4,96	122,24
2	p01e2	307	40,36	25,54	5,53	131,65
2	p01f1	526	34,99	24,35	4,09	142,64
2	p01f2	538	35,43	25,01	3,95	191,63
2	p01g1	331	30,01	19,12	3,66	104,14
2	p01g2	321	30,55	21,01	3,66	113,70
2	p01g3	352	31,60	21,76	6,97	174,17
2	p01h1	196	35,55	25,69	5,89	143,07
2	p01h2	198	36,69	25,38	4,96	119,66
2	p01h3	346	37,15	28,20	4,02	171,23
2	p02a1	444	34,82	29,44	3,88	153,85
2	p02a2	449	35,59	32,68	3,73	208,65
2	p02a3	429	34,37	25,89	3,88	116,21
2	p02b1	370	31,72	22,99	4,38	126,27
2	p02b2	363	27,03	20,16	3,81	122,03
2	p02b3	378	26,94	21,36	3,66	125,76
2	p02c1	174	31,34	23,19	3,66	101,85
2	p02d1	55	83,49	43,58	7,40	161,82
2	p02d2	132	81,99	27,01	5,67	127,34
2	p02e1	100	74,58	30,52	10,99	159,31
2	p02e2	121	77,09	31,31	6,18	140,99
2	p02f1	239	32,77	25,56	4,31	107,88
2	p02f3	316	36,54	29,77	4,45	146,81
2	p02g2	259	29,39	22,80	3,95	112,40
2	p02g3	273	30,14	23,96	4,09	130,50
2	p02h1	99	77,62	22,72	9,05	120,45
2	p02h3	99	71,51	26,91	5,53	120,81
2	P02h4	86	75,84	21,79	3,73	117,00
3	p00s1	325	36,96	34,16	5,82	248,37
3	p00s2	306	37,17	34,89	3,73	274,80
3	p00s3	314	38,37	36,21	8,40	258,06
3	p00s4	310	38,20	36,28	4,17	244,56
3	p00s5	315	38,68	37,11	4,96	249,66
3	p00s6	311	38,46	37,16	7,61	232,64
3	p00s7	323	39,61	37,82	4,88	243,77
3	p00s8	303	39,88	37,65	5,46	237,74
3	p00s9	307	39,04	35,16	5,39	226,89
3	p00sa	313	38,37	35,93	4,09	245,49
3	p00sb	309	38,31	36,76	8,55	251,17
3	p00sc	308	39,76	38,79	4,09	275,73

Tier	Schnitt	Anzahl	Mittelwert	SD	Minimum μm^2	Mximum μm^2
3	n00sd	313	40,14	38,36	6,25	272,28
3	p00se	305	38,81	35,28	8,76	255,62
3	p00sf	315	41,36	36,29	4,38	251,81
4	f01a1	366	27,17	22,08	3,81	127,85
4	f01a2	438	31,48	23,54	4,02	146,59
4	f01a3	353	27,51	21,62	3,66	131,51
4	f01a4	657	19,89	14,19	4,45	81,66
4	f01a5	444	25,60	17,48	4,81	112,55
4	f01a6	303	18,16	12,62	3,73	77,35
5	f02a1	335	22,11	20,24	4,67	150,76
5	f02a2	444	24,89	19,86	4,24	120,59
5	f02a3	212	19,08	16,64	3,66	79,08
5	f02a4	335	20,17	16,17	3,95	97,90
5	f02d1	422	21,95	14,60	4,45	81,09
5	f02d2	406	20,42	13,58	3,88	90,64
5	f02d3	406	22,87	16,23	3,73	128,35
6	p05a1	199	48,15	39,83	5,82	181,07
6	p05a2	373	50,38	41,81	4,02	249,09
6	p05a3	357	41,28	35,25	4,38	225,53
6	p05a4	366	46,27	37,93	4,17	214,90
6	p05b1	342	38,49	28,48	4,60	170,37
6	p05b2	200	48,01	40,77	4,40	191,66
6	p05b3	197	60,86	53,02	4,67	271,42
6	p05c1	171	48,60	35,01	3,66	156,39
6	p05c3	205	42,88	35,91	3,88	169,56
6	p05d3	166	44,79	35,73	3,95	172,31
6	p05e1	240	40,33	37,56	3,81	223,58
6	p05e2	198	35,24	30,80	3,66	140,07
6	p05f1	252	41,15	33,54	3,88	165,24
6	p05f4	398	38,68	30,15	5,89	188,11
6	n07s1	353	36,39	28,03	4,09	172,59
6	p07s10	360	36,49	29,47	4,67	162,47
6	p07s11	361	37,55	29,99	4,88	166,99
6	p07s12	364	36,27	28,79	3,73	151,40
6	p07s13	365	35,60	28,54	4,45	169,65
6	p07s14	366	35,62	27,97	4,24	157,29
6	p07s15	365	35,29	28,51	4,60	175,54
6	p07s2	358	36,00	28,01	4,96	157,94
6	p07s3	362	36,33	29,84	6,90	177,19
6	p07s4	351	36,60	30,34	5,24	219,93
6	p07s5	369	36,62	30,63	3,88	199,02
6	p07s6	369	36,35	30,62	5,31	221,86
6	p07s7	366	37,25	31,02	6,68	194,07
6	p07s8	357	35,91	30,14	3,95	175,97
6	p07s9	361	36,11	29,83	5,24	166,56
7	p06a1	490	60,93	61,96	5,84	342,96
7	p06a2	615	58,35	61,11	5,72	347,79
7	p06a4	609	59,58	64,23	5,61	411,30
7	p06b1	470	62,41	61,41	6,06	372,14
7	p06b2	523	52,06	55,17	5,95	349,13
7	p06b3	434	54,30	52,60	4,94	276,97
7	p06c1	434	65,41	72,33	5,39	436,78
7	p06c3	374	61,01	58,33	5,95	274,50
7	p06c4	692	64,39	64,06	6,40	313,19
7	p06d1	295	70,48	78,12	5,24	436,76
7	p06d3	293	55,62	61,48	4,74	295,91
7	p06f2	526	68,17	67,05	5,72	354,07
7	p06f4	518	69,61	68,14	5,27	318,72
8	p08a1	680	80,59	66,76	5,84	457,52
8	p08a2	549	62,39	57,56	3,82	331,85
8	p08b1	176	150,78	112,37	5,72	459,11
8	p08b2	185	170,96	132,66	5,27	618,81
8	p08b3	166	171,82	126,70	6,17	687,94
8	p08c1	690	67,68	53,67	6,14	280,71
8	p08c2	729	76,79	60,54	4,69	324,99
8	p08d1	570	67,83	67,40	4,04	515,36
8	p08d3	665	57,37	53,95	3,93	311,20

Tier	Schnitt	Anzahl	Mittelwert	SD	Minimum μm^2	Maximum μm^2
8	p08e1	660	62,89	54,65	3,88	351,81
8	p08e2	623	68,95	65,72	4,36	476,89
8	p08f1	595	64,21	54,60	3,72	376,05
8	p08f2	599	70,98	61,38	6,14	297,19
8	p08f3	615	50,42	43,26	4,38	266,20

Tab. 14: Faserflächen pro Tier

Tier	Nerv	Anzahl	Mittelwert	Std. Dev.	Minimum μm^2	Maximum μm^2
1	N. acc.	5561	46,53	45,52	3,66	309,42
2	N. fib. com.	5280	35,39	23,92	3,66	191,63
2	N. acc.	4386	39,23	31,28	3,66	208,65
3	N. acc.	4677	38,87	36,51	3,73	275,73
4	N. acc.	2561	24,75	19,30	3,66	146,59
5	N. acc.	2560	21,91	16,96	3,66	150,76
6	N. acc.	9091	39,46	33,01	3,66	271,42
7	N. acc.	6273	61,68	63,69	4,74	436,78
8	N. acc.	7502	73,50	70,37	3,72	687,94

Tab. 15: Axonfläche pro Tier

Tier	Nerv	Anzahl	Mittelwert	SD	Minimum μm^2	Maximum μm^2
1	N. acc.	1606	16,57	20,89	0,22	161,39
2	N. fib. com./N. acc.	8262	9,12	7,80	0,14	88,42
3	N. acc.	311	11,44	16,42	0,22	123,25
4	N. acc.	1864	6,82	6,04	0,22	49,13
5	N. acc.	2212	5,73	6,04	0,14	78,14
6	N. acc.	3869	16,23	17,23	0,08	147,18
7	N. acc.	6155	26,39	30,91	0,22	274,61
8	N. acc.	7302	23,27	29,28	0,22	394,81

Tab. 16: Faserdurchmesser pro Schnitt

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert μm	SD	Minimum μm	Maximum μm
1	p03a2	dradf	344	6,78	3,65	1,29	18,95
		dextf	344	18,54	8,09	5,36	44,03
		dareaf	344	7,68	3,78	2,34	19,85
1	p03a3	dradf	332	6,27	3,24	1,61	17,44
		dextf	332	17,57	7,37	5,28	41,60
		dareaf	332	7,23	3,41	2,22	18,42
1	p03a6	dradf	330	5,70	3,16	1,52	15,76
		dextf	330	17,09	7,66	6,11	55,46
		dareaf	330	6,78	3,38	2,16	18,70
1	p03b1	dradf	282	6,36	2,87	2,05	16,67
		dextf	282	19,83	8,07	7,19	45,99
		dareaf	282	7,66	3,22	2,99	17,67
1	n04s1	dradf	341	5,64	3,11	1,61	15,69
		dextf	341	16,60	7,23	5,09	35,98
		dareaf	341	6,62	3,27	2,14	16,46
1	p04s10	dradf	323	5,83	3,04	1,52	16,46
		dextf	323	17,48	7,15	6,06	36,53
		dareaf	323	6,95	3,21	2,12	16,95
1	p04s11	dradf	336	5,67	3,06	1,61	14,94
		dextf	336	17,10	7,19	5,77	36,24
		dareaf	336	6,73	3,25	2,22	16,14
1	p04s12	dradf	334	5,67	3,06	1,61	15,66
		dextf	334	17,05	7,23	5,52	36,31
		dareaf	334	6,77	3,26	2,16	16,27
1	p04s13	dradf	326	5,79	3,08	1,52	15,47
		dextf	326	17,25	7,35	5,99	55,93
		dareaf	326	6,86	3,28	2,12	17,86
1	p04s15	dradf	317	5,93	3,11	1,52	15,92
		dextf	317	17,43	7,00	6,54	37,98
		dareaf	317	7,00	3,25	2,26	16,86
1	p04s2	dradf	308	5,87	3,10	1,83	15,47
		dextf	308	17,41	7,30	6,27	40,82
		dareaf	308	6,93	3,29	2,28	16,36
1	p04s3	dradf	315	5,83	3,10	1,52	15,69
		dextf	315	17,41	7,14	5,47	40,74
		dareaf	315	6,89	3,23	2,16	16,31
1	p04s4	dradf	333	5,79	3,17	1,07	15,69
		dextf	333	17,07	7,20	6,45	37,12
		dareaf	333	6,82	3,31	2,16	16,72
1	p04s5	dradf	337	5,74	3,05	1,52	15,16
		dextf	337	16,96	7,18	5,80	36,34
		dareaf	337	6,77	3,26	2,14	15,87
1	p04s6	dradf	334	5,80	3,11	1,52	15,16
		dextf	334	17,00	7,18	5,28	36,44
		dareaf	334	6,80	3,30	2,14	16,43
1	p04s7	dradf	342	5,70	3,13	1,61	15,69
		dextf	342	16,82	7,13	5,99	35,70
		dareaf	342	6,70	3,26	2,28	16,20
1	p04s9	dradf	332	5,81	3,09	1,61	17,19
		dextf	332	17,38	7,43	5,80	39,10
		dareaf	332	6,89	3,31	2,16	17,83
2	p01a1	dradf	344	5,38	1,75	1,61	9,87
		dextf	344	15,02	4,26	5,99	32,06
		dareaf	344	6,22	1,91	2,16	11,29
2	p01a2	dradf	385	5,58	1,84	2,05	10,17
		dextf	385	16,23	4,99	7,19	33,85
		dareaf	385	6,58	2,10	2,34	12,17
2	p01a3	dradf	392	5,52	1,77	1,61	9,85
		dextf	392	15,20	4,09	7,47	25,35
		dareaf	392	6,32	1,88	2,58	10,98
2	p01b3	dradf	251	5,36	1,90	2,27	10,72
		dextf	251	15,93	5,13	7,97	31,57
		dareaf	251	6,39	2,15	2,92	11,99
2	p01c3	dradf	239	5,39	1,92	2,27	10,61
		dextf	239	15,98	4,43	8,47	26,85
		dareaf	239	6,45	2,03	3,40	11,27

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert μm	SD	Minimum μm	Maximum μm
2	p01c3	dradf	239	5,39	1,92	2,27	10,61
		dextf	239	15,98	4,43	8,47	26,85
		dareaf	239	6,45	2,03	3,40	11,27
2	p01d3	dradf	228	5,78	1,97	2,27	11,11
		dextf	228	17,40	5,35	8,47	36,45
		dareaf	228	6,93	2,19	3,54	12,02
2	p01e1	dradf	326	5,60	1,89	2,05	11,38
		dextf	326	16,96	5,32	7,80	39,89
		dareaf	326	6,73	2,19	2,51	12,48
2	p01e2	dradf	307	5,76	1,82	2,27	11,15
		dextf	307	16,84	5,13	7,19	38,84
		dareaf	307	6,85	2,11	2,65	12,95
2	p01f1	dradf	526	5,33	2,06	1,29	12,33
		dextf	526	15,81	5,05	6,45	40,71
		dareaf	526	6,30	2,20	2,28	13,48
2	p01f2	dradf	538	5,45	2,07	1,61	11,92
		dextf	538	15,72	5,06	6,72	48,32
		dareaf	538	6,35	2,20	2,24	15,62
2	p01q1	dradf	331	5,00	1,68	1,83	9,63
		dextf	331	14,70	4,14	5,80	34,90
		dareaf	331	5,91	1,81	2,16	11,52
2	p01q2	dradf	321	4,68	1,83	1,29	9,63
		dextf	321	15,80	4,98	6,99	38,36
		dareaf	321	5,90	2,03	2,16	12,03
2	p01q3	dradf	352	4,84	1,69	2,05	10,00
		dextf	352	15,84	4,86	7,73	39,70
		dareaf	352	6,03	1,98	2,98	14,90
2	p01h1	dradf	196	5,31	2,05	2,05	12,67
		dextf	196	15,52	4,73	7,68	29,28
		dareaf	196	6,36	2,19	2,74	13,50
2	p01h2	dradf	198	5,32	2,01	1,83	10,39
		dextf	198	15,92	5,14	6,52	38,89
		dareaf	198	6,47	2,21	2,51	12,35
2	p01h3	dradf	346	5,35	2,06	1,61	11,42
		dextf	346	16,28	5,76	5,36	43,43
		dareaf	346	6,46	2,36	2,26	14,77
2	p02a1	dradf	444	4,97	2,27	1,29	11,37
		dextf	444	16,32	5,91	5,52	40,36
		dareaf	444	6,16	2,52	2,22	14,00
2	p02a2	dradf	449	4,97	2,41	1,29	12,63
		dextf	449	16,38	6,48	5,47	44,21
		dareaf	449	6,17	2,70	2,18	16,30
2	p02a3	dradf	429	5,35	2,13	1,52	11,15
		dextf	429	15,30	5,02	6,11	28,85
		dareaf	429	6,22	2,27	2,22	12,17
2	p02b1	dradf	370	4,72	1,99	1,61	11,70
		dextf	370	16,42	4,62	6,25	31,11
		dareaf	370	6,02	2,04	2,36	12,68
2	p02b2	dradf	363	4,29	1,80	1,29	12,01
		dextf	363	15,15	4,87	5,28	30,48
		dareaf	363	5,52	1,99	2,20	12,47
2	p02b3	dradf	378	4,45	1,98	1,29	12,13
		dextf	378	14,53	4,62	4,61	27,81
		dareaf	378	5,50	2,03	2,16	12,66
2	p02c1	dradf	174	5,18	1,98	1,61	10,61
		dextf	174	14,40	4,68	6,25	26,28
		dareaf	174	5,94	2,15	2,16	11,39
2	p02f1	dradf	239	5,29	2,29	1,61	10,92
		dextf	239	14,64	4,77	5,60	29,17
		dareaf	239	6,04	2,30	2,34	11,72
2	p02f3	dradf	317	5,26	2,44	1,61	12,37
		dextf	317	15,79	5,90	5,52	34,52
		dareaf	317	6,30	2,60	2,14	13,68
2	p02q2	dradf	259	4,75	2,03	1,52	10,94
		dextf	259	14,66	4,78	6,25	30,13
		dareaf	259	5,74	2,13	2,24	11,97
2	p02q3	dradf	273	4,88	2,04	1,29	10,72
		dextf	273	14,57	5,08	5,28	36,17
		dareaf	273	5,79	2,21	2,28	12,89

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert μm	SD	Minimum μm	Maximum μm
3	p00s1	dradf	325	5,24	2,17	1,83	15,90
		dextf	325	16,53	5,24	6,47	40,63
		dareaf	325	6,45	2,33	2,72	17,79
3	p00s2	dradf	306	5,17	2,26	1,29	17,44
		dextf	306	16,92	5,53	5,09	40,91
		dareaf	306	6,46	2,38	2,18	18,71
3	p00s3	dradf	314	5,31	2,26	1,83	16,67
		dextf	314	16,96	5,48	9,16	40,86
		dareaf	314	6,57	2,39	3,27	18,13
3	p00s4	dradf	310	5,25	2,23	2,05	15,92
		dextf	310	17,12	5,96	5,09	58,92
		dareaf	310	6,54	2,43	2,30	17,65
3	p00s5	dradf	315	5,31	2,34	1,61	16,60
		dextf	315	17,19	5,69	8,11	41,91
		dareaf	315	6,57	2,46	2,51	17,83
3	p00s6	dradf	311	5,19	2,32	2,36	16,21
		dextf	311	17,29	5,75	7,68	41,74
		dareaf	311	6,55	2,48	3,11	17,21
3	p00s7	dradf	323	5,33	2,25	1,83	16,16
		dextf	323	17,20	5,77	7,73	40,33
		dareaf	323	6,65	2,50	2,49	17,62
3	p00s8	dradf	303	5,47	2,32	1,61	16,06
		dextf	303	17,18	5,74	6,87	43,63
		dareaf	303	6,69	2,47	2,64	17,40
3	p00s9	dradf	307	5,44	2,20	2,05	15,16
		dextf	307	17,11	5,53	8,37	42,51
		dareaf	307	6,65	2,36	2,62	17,00
3	p00sa	dradf	313	5,34	2,27	1,83	15,92
		dextf	313	16,94	5,66	6,99	41,44
		dareaf	313	6,56	2,42	2,28	17,68
3	p00sb	dradf	309	5,29	2,31	2,27	16,67
		dextf	309	16,96	5,79	8,66	38,92
		dareaf	309	6,53	2,48	3,30	17,89
3	p00sc	dradf	308	5,31	2,28	2,05	16,67
		dextf	308	17,22	6,04	6,25	45,14
		dareaf	308	6,64	2,56	2,28	18,74
3	p00sd	dradf	313	5,36	2,21	1,61	16,46
		dextf	313	17,56	6,26	7,68	48,66
		dareaf	313	6,69	2,53	2,82	18,62
3	p00se	dradf	305	5,26	2,13	2,27	17,21
		dextf	305	17,50	5,84	8,84	51,03
		dareaf	305	6,62	2,37	3,34	18,05
3	p00sf	dradf	315	5,48	2,20	1,61	15,71
		dextf	315	17,85	5,87	6,99	41,96
		dareaf	315	6,84	2,44	2,36	17,91
4	f01a1	dradf	366	5,08	1,90	2,05	12,15
		dextf	366	13,04	4,35	5,28	30,48
		dareaf	366	5,54	1,98	2,20	12,76
4	f01a2	dradf	438	5,45	2,02	1,61	13,07
		dextf	438	14,25	4,55	5,92	33,66
		dareaf	438	6,00	2,04	2,26	13,67
4	f01a4	dradf	658	4,23	1,44	1,61	9,15
		dextf	658	11,83	3,80	5,36	27,21
		dareaf	658	4,78	1,57	2,12	10,20
4	f01a5	dradf	444	4,77	1,54	2,05	11,02
		dextf	444	13,40	3,72	6,54	26,31
		dareaf	444	5,46	1,66	2,48	11,97
5	f02a1	dradf	335	3,97	1,68	1,61	12,55
		dextf	335	13,51	4,47	6,78	34,52
		dareaf	335	4,97	1,86	2,44	13,86
5	f02a2	dradf	445	4,57	1,68	1,61	11,90
		dextf	445	13,41	4,39	5,28	34,04
		dareaf	445	5,32	1,84	2,14	12,39

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert μm	SD	Minimum μm	Maximum μm
5	f02a3	dradf	212	3,79	1,66	1,52	9,63
		dextf	212	12,26	4,04	6,47	27,23
		dareaf	212	4,61	1,75	2,16	10,04
5	f02a4	dradf	335	3,94	1,52	1,52	9,56
		dextf	335	12,74	4,08	5,09	30,17
		dareaf	335	4,79	1,67	2,24	11,17
5	f02d1	dradf	423	4,26	1,47	1,52	9,10
		dextf	423	12,76	3,46	5,36	22,90
		dareaf	423	5,06	1,54	2,14	10,16
5	f02d2	dradf	406	3,88	1,40	1,61	10,09
		dextf	406	12,92	3,43	4,94	26,48
		dareaf	406	4,88	1,47	2,22	10,75
5	f02d3	dradf	406	4,03	1,52	1,29	12,67
		dextf	406	13,88	3,92	6,11	27,44
		dareaf	406	5,15	1,63	2,18	12,79
6	p05a1	dradf	199	6,43	2,75	2,27	14,94
		dextf	199	17,75	5,85	6,25	33,99
		dareaf	199	7,33	2,76	2,72	15,19
6	p05a2	dradf	373	6,12	2,46	1,29	14,40
		dextf	373	19,99	7,97	6,63	53,70
		dareaf	373	7,50	2,81	2,26	17,81
6	p05a3	dradf	357	5,51	2,28	1,61	13,96
		dextf	357	17,78	6,32	7,29	46,71
		dareaf	357	6,80	2,53	2,36	16,95
6	p05a4	dradf	366	6,09	2,41	1,61	15,36
		dextf	366	18,55	6,44	6,52	49,96
		dareaf	366	7,23	2,57	2,30	16,55
6	p05b1	dradf	342	5,56	2,03	1,83	12,81
		dextf	342	16,83	5,15	6,87	36,84
		dareaf	342	6,66	2,17	2,42	14,73
6	p05b2	dradf	200	6,11	2,73	1,77	14,00
		dextf	200	18,07	6,20	6,24	38,95
		dareaf	200	7,30	2,81	2,37	15,63
6	p05b3	dradf	197	6,63	2,73	1,83	14,47
		dextf	197	22,20	8,68	7,47	61,25
		dareaf	197	8,18	3,27	2,44	18,59
6	p05c1	dradf	171	6,26	2,41	1,61	13,05
		dextf	171	18,36	5,89	6,25	34,68
		dareaf	171	7,43	2,60	2,16	14,11
6	p05c3	dradf	205	5,92	2,74	1,52	13,56
		dextf	205	16,75	6,28	5,85	40,13
		dareaf	205	6,82	2,86	2,22	14,70
6	p05d3	dradf	167	5,90	2,60	1,61	12,91
		dextf	167	17,01	5,73	6,24	34,54
		dareaf	167	7,02	2,74	2,12	14,82
6	p05e1	dradf	240	5,55	2,74	1,52	16,63
		dextf	240	16,49	5,98	6,47	38,81
		dareaf	240	6,59	2,83	2,20	16,88
6	p05e2	dradf	199	5,18	2,70	1,29	12,66
		dextf	199	15,65	5,48	5,52	35,49
		dareaf	199	6,13	2,68	2,14	13,36
6	p05f1	dradf	252	5,83	2,54	1,54	13,23
		dextf	252	16,54	5,40	5,52	32,68
		dareaf	252	6,77	2,58	2,22	14,51
6	p05f4	dradf	398	5,84	2,33	2,27	14,68
		dextf	398	15,82	4,80	7,73	34,04
		dareaf	398	6,63	2,31	2,74	15,48
6	n07s10	dradf	360	5,39	2,17	1,61	12,89
		dextf	360	16,17	4,82	6,99	32,38
		dareaf	360	6,44	2,25	2,44	14,39
6	p07s11	dradf	361	5,50	2,18	2,05	13,96
		dextf	361	16,44	5,05	6,78	35,88
		dareaf	361	6,53	2,28	2,49	14,59
6	p07s12	dradf	364	5,36	2,15	1,52	13,42
		dextf	364	16,17	4,94	6,97	33,32
		dareaf	364	6,42	2,22	2,18	13,89
6	p07s13	dradf	365	5,34	2,13	1,52	12,89
		dextf	365	16,05	4,91	8,11	33,74
		dareaf	365	6,36	2,20	2,38	14,70

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert μm	SD	Minimum μm	Maximum μm
6	n07s14	dradf	366	5,35	2,07	1,61	13,03
		dextf	366	16,15	4,96	6,78	32,45
		dareaf	366	6,37	2,19	2,32	14,16
6	p07s15	dradf	365	5,27	2,13	2,05	14,38
		dextf	365	16,08	4,95	7,19	33,80
		dareaf	365	6,33	2,22	2,42	14,95
6	p07s1	dradf	353	5,37	2,07	1,83	13,60
		dextf	353	16,34	4,81	7,45	34,34
		dareaf	353	6,46	2,16	2,28	14,83
6	p07s2	dradf	358	5,34	2,09	2,27	12,89
		dextf	358	16,21	4,77	5,52	33,15
		dareaf	358	6,41	2,18	2,51	14,18
6	p07s3	dradf	362	5,37	2,18	2,27	14,72
		dextf	362	16,17	4,93	6,97	33,22
		dareaf	362	6,41	2,28	2,96	15,02
6	p07s4	dradf	351	5,35	2,20	2,05	15,69
		dextf	351	16,19	4,92	7,58	36,92
		dareaf	351	6,44	2,27	2,58	16,74
6	p07s5	dradf	369	5,39	2,24	1,61	14,40
		dextf	369	16,01	5,00	6,27	35,45
		dareaf	369	6,42	2,33	2,22	15,92
6	p07s6	dradf	369	5,39	2,23	2,27	14,94
		dextf	369	15,98	4,95	6,27	37,54
		dareaf	369	6,40	2,30	2,60	16,81
6	p07s7	dradf	366	5,42	2,24	2,05	14,16
		dextf	366	16,35	5,10	7,68	41,55
		dareaf	366	6,49	2,31	2,92	15,72
6	p07s8	dradf	357	5,31	2,16	2,05	13,92
		dextf	357	16,06	5,23	6,63	40,37
		dareaf	357	6,36	2,32	2,24	14,97
6	p07s9	dradf	361	5,31	2,15	2,27	12,98
		dextf	361	16,14	4,99	7,73	39,13
		dareaf	361	6,39	2,27	2,58	14,57
7	n06a1	dradf	490	7,15	3,53	2,01	19,99
		dextf	490	19,26	8,18	6,99	60,18
		dareaf	490	7,99	3,72	2,73	20,90
7	p06a2	dradf	615	6,80	3,43	2,28	20,24
		dextf	615	19,44	8,28	6,63	54,83
		dareaf	615	7,81	3,66	2,70	21,05
7	p06a4	dradf	609	6,85	3,62	1,90	21,60
		dextf	609	19,54	8,43	7,25	52,06
		dareaf	609	7,86	3,77	2,67	22,89
7	p06b1	dradf	470	6,94	3,41	2,01	18,81
		dextf	470	20,92	8,34	7,25	55,74
		dareaf	470	8,13	3,66	2,78	21,77
7	p06b2	dradf	523	6,39	3,43	1,61	19,90
		dextf	523	18,51	7,32	6,99	53,01
		dareaf	523	7,37	3,47	2,75	21,09
7	p06b3	dradf	434	6,67	3,33	2,01	18,09
		dextf	434	18,85	6,91	6,63	47,46
		dareaf	434	7,61	3,35	2,51	18,78
7	p06c1	dradf	434	7,00	3,98	1,34	21,21
		dextf	434	20,68	9,34	7,25	55,04
		dareaf	434	8,12	4,18	2,62	23,59
7	p06c3	dradf	374	7,09	3,46	1,90	18,00
		dextf	374	19,74	7,72	7,49	45,13
		dareaf	374	8,06	3,57	2,75	18,70
7	p06c4	dradf	692	7,21	3,69	2,41	18,49
		dextf	692	20,67	8,55	6,70	58,68
		dareaf	692	8,22	3,81	2,85	19,97
7	p06d1	dradf	295	7,16	3,93	2,05	19,74
		dextf	295	21,73	10,61	6,25	70,48
		dareaf	295	8,45	4,30	2,58	23,59
7	p06d3	dradf	293	6,55	3,76	2,05	18,73
		dextf	293	18,39	8,14	5,80	43,03
		dareaf	293	7,49	3,85	2,46	19,42

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert μm	SD	Minimum μm	Maximum μm
7	p06f2	dradf	526	7,40	3,61	2,01	19,34
		dextf	526	20,94	8,77	6,60	55,07
		dareaf	526	8,46	3,90	2,70	21,24
7	p06f4	dradf	518	7,57	3,70	2,28	18,40
		dextf	518	20,89	8,93	6,18	48,62
		dareaf	518	8,55	3,95	2,59	20,15
8	p08a1	dradf	680	8,25	3,56	1,61	18,57
		dextf	680	23,60	9,44	7,40	73,59
		dareaf	680	9,38	3,84	2,73	24,14
8	p08a2	dradf	549	7,23	3,73	1,61	19,90
		dextf	549	19,33	7,91	5,53	42,75
		dareaf	549	8,05	3,83	2,20	20,56
8	p08b1	dradf	176	11,46	5,68	1,61	21,71
		dextf	176	29,12	11,99	7,22	66,58
		dareaf	176	12,65	5,68	2,70	24,18
8	p08b2	dradf	185	11,79	5,65	2,28	22,47
		dextf	185	32,93	14,08	7,64	79,64
		dareaf	185	13,45	6,09	2,59	28,08
8	p08b3	dradf	166	12,41	5,77	1,34	21,51
		dextf	166	31,31	12,54	7,49	82,94
		dareaf	166	13,58	5,88	2,80	29,60
8	p08c1	dradf	690	7,70	3,19	1,90	18,08
		dextf	690	21,31	7,20	7,41	50,98
		dareaf	690	8,69	3,26	2,80	18,91
8	p08c2	dradf	729	8,08	3,33	2,28	19,00
		dextf	729	22,92	8,24	7,63	61,35
		dareaf	729	9,23	3,56	2,44	20,35
8	p08d1	dradf	570	7,24	3,53	0,94	19,33
		dextf	570	22,14	9,87	5,85	78,51
		dareaf	570	8,47	3,83	2,27	25,62
8	p08d3	dradf	665	7,00	3,33	0,94	18,95
		dextf	665	19,62	7,54	6,32	64,13
		dareaf	665	7,85	3,38	2,24	19,91
8	p08e1	dradf	660	7,21	3,22	1,61	20,29
		dextf	660	21,15	7,58	6,28	56,15
		dareaf	660	8,32	3,31	2,22	21,17
8	p08e2	dradf	623	7,43	3,35	1,61	21,23
		dextf	623	22,21	8,37	8,66	59,84
		dareaf	623	8,67	3,57	2,36	24,65
8	p08f1	dradf	595	7,33	3,28	1,61	21,10
		dextf	595	21,19	7,27	7,19	53,63
		dareaf	595	8,41	3,33	2,18	21,89
8	p08f2	dradf	599	7,55	3,43	1,90	17,86
		dextf	599	22,82	8,29	6,90	55,78
		dareaf	599	8,79	3,63	2,80	19,46
8	p08f3	dradf	615	6,54	2,92	1,61	17,45
		dextf	615	18,74	6,77	6,70	52,88
		dareaf	615	7,42	3,02	2,36	18,41

Tab. 17: Faserdurchmesser pro Tier

Tier	Variable	Anzahl	Mean	SD	Minimum	Maximum
1	dradf	1622	6,18	3,25	1,29	18,95
	dmextf	1622	17,95	7,73	5,28	55,46
	dareaf	1622	7,22	3,45	2,14	19,85
2	dradf	8975	5,17	2,04	1,29	12,67
	dmextf	8975	15,71	5,12	4,61	48,32
	dareaf	8975	6,20	2,21	2,14	16,30
3	dradf	311	5,19	2,32	2,36	16,21
	dmextf	311	17,29	5,75	7,68	41,74
	dareaf	311	6,55	2,48	3,11	17,21
4	dradf	1906	4,80	1,77	1,61	13,07
	dmextf	1906	12,98	4,18	5,28	33,66
	dareaf	1906	5,36	1,85	2,12	13,67
5	dradf	2562	4,10	1,57	1,29	12,67
	dmextf	2562	13,13	3,99	4,94	34,52
	dareaf	2562	5,01	1,69	2,14	13,86
6	dradf	4035	5,85	2,49	1,29	16,63
	dmextf	4035	17,53	6,32	5,52	61,25
	dareaf	4035	6,95	2,66	2,12	18,59
7	dradf	6273	6,99	3,61	1,34	21,60
	dmextf	6273	19,97	8,47	5,80	70,48
	dareaf	6273	8,01	3,79	2,46	23,59
8	dradf	7502	7,75	3,77	0,94	22,47
	dmextf	7502	22,10	8,99	5,53	82,94
	dradarea	7502	8,83	3,95	2,18	29,60

Tab. 18: Axondurchmesser pro Schnitt

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert	SD	Minimum μm	Maximum μm
1	p03a2	Drada	342	3,71	2,28	0,54	11,37
		Dexta	342	12,48	6,49	1,93	38,51
		dareaa	342	4,54	2,60	0,60	14,34
1	p03a3	Drada	332	3,13	1,94	0,54	12,13
		Dexta	332	11,77	5,84	2,21	32,80
		dareaa	332	4,03	2,29	0,60	13,49
1	p03a6	Drada	326	2,64	1,86	0,54	10,31
		Dexta	326	10,78	5,92	1,93	47,48
		dareaa	326	3,46	2,22	0,52	12,62
1	p03b1	Drada	280	3,27	1,73	0,76	9,95
		Dexta	280	12,84	6,14	2,40	36,74
		dareaa	280	4,28	2,11	0,80	12,57
1	p04s1	Drada	330	2,80	1,95	0,54	10,63
		Dexta	330	10,41	5,48	1,20	28,20
		dareaa	330	3,54	2,23	0,52	11,92
1	p04s10	Drada	323	2,89	1,87	0,54	10,39
		Dexta	323	11,48	5,40	1,69	31,22
		dareaa	323	3,78	2,15	0,68	11,90
1	p04s11	Drada	332	2,78	1,84	0,54	10,39
		Dexta	332	10,93	5,42	2,21	28,90
		dareaa	332	3,61	2,15	0,74	10,96
1	p04s12	Drada	331	2,77	1,86	0,54	10,61
		Dexta	331	11,13	5,50	2,27	27,59
		dareaa	331	3,64	2,16	0,68	11,50
1	p04s13	Drada	319	2,96	1,91	0,54	9,85
		Dexta	319	11,57	5,75	1,93	47,81
		dareaa	319	3,84	2,21	0,52	11,27
1	p04s15	Drada	317	3,07	2,00	0,54	10,39
		Dexta	317	11,95	5,46	1,93	32,80
		dareaa	317	3,99	2,24	0,43	12,17
1	p04s2	Drada	286	3,14	1,99	0,54	10,17
		Dexta	286	12,21	5,84	1,61	34,86
		dareaa	286	4,09	2,30	0,43	11,83
1	p04s3	Drada	306	2,92	1,95	0,54	10,39
		Dexta	306	11,50	5,82	1,93	33,09
		dareaa	306	3,79	2,25	0,60	11,44
1	p04s4	Drada	327	2,82	1,96	0,54	10,94
		Dexta	327	10,92	5,60	1,69	31,87
		dareaa	327	3,65	2,27	0,43	13,31
1	p04s5	Drada	326	2,65	1,82	0,54	9,15
		Dexta	326	10,23	5,44	1,61	29,19
		dareaa	326	3,40	2,15	0,52	10,94
1	p04s6	Drada	326	2,72	1,89	0,54	9,28
		Dexta	326	10,44	5,58	1,93	28,08
		dareaa	326	3,49	2,20	0,52	11,14
1	p04s7	Drada	335	2,71	1,87	0,54	8,88
		Dexta	335	10,43	5,30	1,69	25,98
		dareaa	335	3,47	2,19	0,60	10,53
1	p04s9	Drada	328	2,79	1,89	0,54	9,78
		Dexta	328	11,23	5,78	1,52	29,57
		dareaa	328	3,64	2,20	0,52	10,66
2	p01a1	Drada	342	2,58	0,91	0,54	5,49
		Dexta	342	8,76	2,77	1,52	24,99
		dareaa	342	3,12	1,01	0,60	6,33
2	p01a2	Drada	384	2,33	0,98	0,54	5,62
		Dexta	384	8,71	3,32	2,40	18,72
		dareaa	384	2,91	1,13	0,68	6,68
2	p01a3	Drada	389	2,43	0,97	0,54	4,95
		Dexta	389	8,41	2,64	1,69	20,26
		dareaa	389	2,95	1,07	0,60	5,54
2	p01b3	Drada	250	2,75	1,06	1,07	6,34
		Dexta	250	10,16	3,45	3,12	20,93
		dareaa	250	3,47	1,21	1,09	7,26

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert	SD	Minimum μm	Maximum μm
2	p01c3	Drada	236	2,63	1,09	0,76	6,06
		Dexta	236	10,34	2,98	4,32	20,23
		dareaa	236	3,39	1,19	1,35	6,63
2	p01d3	Drada	227	3,00	1,11	1,07	6,60
		Dexta	227	11,48	3,83	5,05	28,84
		dareaa	227	3,87	1,29	1,48	7,53
2	p01e1	Drada	318	2,51	1,02	0,54	6,06
		Dexta	318	9,81	3,94	2,68	32,71
		dareaa	318	3,20	1,21	0,60	7,54
2	p01e2	Drada	302	2,83	1,06	0,54	6,06
		Dexta	302	10,65	3,98	1,69	32,16
		dareaa	302	3,60	1,21	0,52	8,19
2	p01f1	Drada	474	2,11	0,96	0,54	5,62
		Dexta	474	8,83	3,63	2,21	32,40
		dareaa	474	2,75	1,11	0,52	6,46
2	p01f2	Drada	512	2,45	1,02	0,54	6,12
		Dexta	512	9,29	3,24	2,40	39,22
		dareaa	512	3,07	1,13	0,60	8,69
2	p01g1	Drada	311	2,20	0,80	0,54	5,09
		Dexta	311	8,85	3,03	1,20	27,46
		dareaa	311	2,87	0,93	0,52	6,08
2	p01g2	Drada	288	1,81	0,80	0,54	4,82
		Dexta	288	9,65	4,25	1,93	34,32
		dareaa	288	2,61	1,04	0,52	6,96
2	p01g3	Drada	335	1,83	0,74	0,54	4,55
		Dexta	335	9,12	3,34	1,93	30,36
		dareaa	335	2,53	0,93	0,52	7,53
2	p01h1	Drada	194	2,34	1,01	0,54	6,25
		Dexta	194	9,39	2,92	3,86	19,49
		dareaa	194	3,06	1,12	0,80	6,88
2	p01h2	Drada	195	2,25	0,95	0,54	5,62
		Dexta	195	9,49	3,45	1,69	32,80
		dareaa	195	2,98	1,10	0,68	7,22
2	p01h3	Drada	331	2,35	1,01	0,76	6,60
		Dexta	331	9,67	3,59	3,60	34,25
		dareaa	331	3,09	1,17	1,05	7,72
2	p02a1	Drada	373	2,47	1,45	0,54	6,82
		Dexta	373	10,40	4,72	1,20	33,84
		dareaa	373	3,24	1,71	0,52	8,02
2	p02a2	Drada	352	2,46	1,51	0,54	8,21
		Dexta	352	10,09	5,06	1,20	31,38
		dareaa	352	3,21	1,79	0,52	10,61
2	p02a3	Drada	408	3,05	1,41	0,54	6,82
		Dexta	408	10,35	3,98	1,52	24,99
		dareaa	408	3,67	1,56	0,43	7,89
2	p02b1	Drada	353	2,38	1,37	0,54	8,12
		Dexta	353	10,31	4,16	1,69	21,53
		dareaa	353	3,16	1,56	0,52	8,38
2	p02b2	Drada	266	2,15	1,20	0,54	7,72
		Dexta	266	9,31	4,47	1,20	20,88
		dareaa	266	2,85	1,47	0,43	8,60
2	p02b3	Drada	307	2,24	1,27	0,54	6,16
		Dexta	307	9,27	3,96	1,20	20,52
		dareaa	307	2,91	1,42	0,52	6,88
2	p02c1	Drada	164	2,94	1,24	0,54	6,60
		Dexta	164	9,58	3,44	1,93	18,72
		dareaa	164	3,47	1,39	0,60	7,18
2	p02f1	Drada	218	3,10	1,52	0,54	6,82
		Dexta	218	9,76	3,53	2,40	21,90
		dareaa	218	3,64	1,60	0,74	7,48
2	p02f3	Drada	280	2,59	1,37	0,54	7,13
		Dexta	280	10,43	4,40	1,52	23,93
		dareaa	280	3,37	1,57	0,52	9,10

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert	SD	Minimum μm	Maximum μm
2	p02g2	Drada	220	2,42	1,25	0,54	5,93
		Dexta	220	9,55	3,91	1,93	24,36
		dareaa	220	3,11	1,41	0,68	7,09
2	p02g3	Drada	233	2,58	1,32	0,54	6,12
		Dexta	233	9,48	4,14	1,20	25,11
		dareaa	233	3,18	1,48	0,52	7,33
3	p00s1	Drada	317	2,22	1,46	0,54	10,39
		Dexta	317	10,44	4,20	1,93	33,90
		dareaa	317	3,07	1,66	0,52	13,54
3	p00s2	Drada	301	2,52	1,58	0,76	11,90
		Dexta	301	11,83	4,69	3,12	33,58
		dareaa	301	3,50	1,79	1,05	13,69
3	p00s3	Drada	313	2,43	1,61	0,76	11,52
		Dexta	313	11,34	4,70	4,94	36,58
		dareaa	313	3,34	1,77	1,28	12,62
3	p00s4	Drada	306	2,35	1,56	0,54	11,15
		Dexta	306	11,27	5,05	2,40	51,20
		dareaa	306	3,23	1,78	0,74	12,58
3	p00s5	Drada	310	2,19	1,60	0,54	11,38
		Dexta	310	10,52	5,13	1,52	36,15
		dareaa	310	3,02	1,86	0,43	13,09
3	p00s6	Drada	311	2,42	1,55	0,54	10,48
		Dexta	311	11,61	4,75	1,20	34,76
		dareaa	311	3,37	1,80	0,52	12,53
3	p00s7	Drada	322	2,26	1,50	0,54	10,58
		Dexta	322	10,88	4,66	2,27	31,07
		dareaa	322	3,16	1,77	0,60	11,77
3	p00s8	Drada	299	2,40	1,47	0,54	9,85
		Dexta	299	11,13	4,59	2,73	35,09
		dareaa	299	3,28	1,72	0,80	11,31
3	p00s9	Drada	306	2,51	1,54	0,54	9,63
		Dexta	306	11,37	4,57	2,40	32,27
		dareaa	306	3,42	1,75	0,80	11,61
3	p00sa	Drada	309	2,55	1,53	0,54	9,37
		Dexta	309	11,31	4,33	1,93	29,52
		dareaa	309	3,46	1,72	0,68	11,38
3	p00sb	Drada	309	2,58	1,53	0,76	11,15
		Dexta	309	11,41	4,47	2,68	30,06
		dareaa	309	3,49	1,70	0,74	11,75
3	p00sc	Drada	305	2,50	1,49	0,54	10,26
		Dexta	305	11,67	4,95	1,69	38,15
		dareaa	305	3,49	1,83	0,68	12,84
3	p00sd	Drada	310	2,43	1,39	0,54	10,72
		Dexta	310	11,63	4,81	2,73	32,16
		dareaa	310	3,40	1,70	0,74	12,45
3	p00se	Drada	305	2,47	1,34	0,54	9,91
		Dexta	305	11,86	4,73	2,68	33,81
		dareaa	305	3,44	1,61	0,74	12,12
3	p00sf	Drada	311	2,41	1,36	0,76	9,10
		Dexta	311	11,65	4,47	4,58	31,13
		dareaa	311	3,34	1,60	1,17	11,47
4	f01a1	Drada	352	2,06	0,81	0,54	6,06
		Dexta	352	7,80	3,77	1,20	23,20
		dareaa	352	2,62	1,12	0,52	7,52
4	f01a2	Drada	417	2,59	0,97	0,54	6,47
		Dexta	417	9,15	3,90	2,27	26,39
		dareaa	417	3,20	1,21	0,60	7,91
4	f01a4	Drada	651	2,12	0,84	0,54	5,09
		Dexta	651	6,91	2,88	1,93	21,82
		dareaa	651	2,49	0,97	0,68	6,37
4	f01a5	Drada	444	2,30	0,94	0,54	6,82
		Dexta	444	7,64	2,69	1,20	18,44
		dareaa	444	2,73	1,06	0,52	7,42

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert	SD	Minimum μm	Maximum μm
5	f02a1	Drada	278	1,76	1,16	0,54	8,48
		Dexta	278	7,45	3,88	1,61	28,37
		dareaa	278	2,28	1,36	0,52	9,98
5	f02a2	Drada	385	1,89	1,07	0,54	6,16
		Dexta	385	7,38	3,53	1,52	26,02
		dareaa	385	2,38	1,26	0,43	7,27
5	f02a3	Drada	137	1,62	0,97	0,54	5,09
		Dexta	137	6,66	3,76	1,20	16,65
		dareaa	137	2,08	1,23	0,52	5,61
5	f02a4	Drada	305	1,79	0,94	0,54	5,31
		Dexta	305	7,62	3,32	1,93	20,97
		dareaa	305	2,31	1,11	0,52	6,38
5	f02d1	Drada	399	2,07	0,97	0,54	5,71
		Dexta	399	7,74	2,97	1,20	17,29
		dareaa	399	2,60	1,12	0,52	6,26
5	f02d2	Drada	368	1,90	0,91	0,54	5,09
		Dexta	368	8,11	2,93	1,52	18,48
		dareaa	368	2,50	1,04	0,43	5,93
5	f02d3	Drada	340	1,96	1,00	0,54	6,60
		Dexta	340	8,36	3,26	1,20	20,90
		dareaa	340	2,58	1,13	0,52	8,19
6	p05a1	Drada	197	3,72	1,84	0,54	9,63
		Dexta	197	12,65	5,28	3,90	30,72
		dareaa	197	4,57	2,12	1,09	11,46
6	p05a2	Drada	367	3,17	1,71	1,07	9,63
		Dexta	367	13,12	5,85	3,90	40,09
		dareaa	367	4,20	1,98	1,51	12,26
6	p05a3	Drada	346	3,03	1,58	0,76	10,17
		Dexta	346	12,63	5,16	4,08	34,19
		dareaa	346	4,03	1,85	1,39	11,77
6	p05a4	Drada	363	3,49	1,64	1,07	9,85
		Dexta	363	13,03	5,44	4,42	42,83
		dareaa	363	4,44	1,89	1,39	11,83
6	p05b1	Drada	330	3,05	1,41	1,07	9,06
		Dexta	330	11,85	4,32	4,79	32,52
		dareaa	330	3,96	1,60	1,76	10,65
6	p05b2	Drada	196	3,28	1,89	0,80	10,23
		Dexta	196	12,63	5,12	2,70	30,23
		dareaa	196	4,29	2,08	0,94	11,03
6	p05b3	Drada	189	3,46	1,73	0,76	9,50
		Dexta	189	14,76	7,36	4,32	57,10
		dareaa	189	4,65	2,29	1,05	12,53
6	p05c1	Drada	161	3,04	1,66	0,57	8,53
		Dexta	161	11,99	4,73	2,44	29,35
		dareaa	161	4,03	1,86	0,64	9,31
6	p05c3	Drada	186	3,25	1,78	0,40	8,53
		Dexta	186	12,21	5,47	1,14	33,98
		dareaa	186	4,21	2,03	0,45	10,22
6	p05d3	Drada	160	3,39	1,72	0,40	9,18
		Dexta	160	12,77	4,81	1,66	29,37
		dareaa	160	4,48	1,99	0,60	10,33
6	p05e1	Drada	217	3,21	1,87	0,40	11,44
		Dexta	217	13,10	5,50	1,27	37,25
		dareaa	217	4,33	2,19	0,32	13,69
6	p05e2	Drada	153	2,51	1,71	0,40	7,86
		Dexta	153	10,26	4,59	1,80	25,56
		dareaa	153	3,29	1,86	0,51	8,79
6	p05f1	Drada	243	2,98	1,66	0,40	8,76
		Dexta	243	10,95	4,44	1,27	26,54
		dareaa	243	3,80	1,86	0,39	9,83
6	p05f4	Drada	395	3,30	1,64	1,07	10,61
		Dexta	395	11,08	4,07	2,40	29,52
		dareaa	395	4,06	1,78	0,96	11,86

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert	SD	Minimum μm	Maximum μm
6	p07s1	Drada	349	2,84	1,47	0,76	9,63
		Dexta	349	11,17	3,89	3,60	27,23
		dareaa	349	3,74	1,60	0,91	10,51
6	p07s10	Drada	355	2,96	1,52	1,07	8,65
		Dexta	355	11,22	3,94	2,40	26,29
		dareaa	355	3,82	1,67	1,00	9,67
6	p07s11	Drada	355	2,84	1,51	0,76	9,59
		Dexta	355	10,96	4,09	2,89	30,17
		dareaa	355	3,66	1,68	1,05	9,96
6	p07s12	Drada	357	2,87	1,46	0,76	9,10
		Dexta	357	11,08	3,98	4,19	25,75
		dareaa	357	3,72	1,63	1,13	9,49
6	p07s13	Drada	360	2,65	1,43	0,54	8,74
		Dexta	360	10,46	3,89	1,20	25,47
		dareaa	360	3,44	1,58	0,52	9,61
6	p07s14	Drada	358	2,72	1,44	0,54	8,34
		Dexta	358	10,57	3,87	2,73	25,10
		dareaa	358	3,50	1,61	0,68	9,98
6	p07s15	Drada	357	2,64	1,43	1,07	8,34
		Dexta	357	10,53	3,85	3,43	25,41
		dareaa	357	3,43	1,57	1,13	9,14
6	p07s2	Drada	353	2,87	1,42	1,07	8,34
		Dexta	353	11,15	3,66	2,89	26,14
		dareaa	353	3,73	1,55	1,13	10,32
6	p07s3	Drada	358	2,86	1,55	0,54	9,85
		Dexta	358	11,06	3,87	2,89	25,69
		dareaa	358	3,71	1,67	1,13	10,55
6	p07s4	Drada	342	3,00	1,60	1,07	10,39
		Dexta	342	11,53	3,94	4,58	27,42
		dareaa	342	3,91	1,70	1,68	11,07
6	p07s5	Drada	363	2,70	1,49	0,76	10,39
		Dexta	363	10,59	3,84	2,68	26,80
		dareaa	363	3,51	1,65	0,96	11,25
6	p07s6	Drada	366	2,85	1,53	0,54	10,17
		Dexta	366	10,78	3,88	1,69	27,38
		dareaa	366	3,64	1,65	0,60	11,09
6	p07s7	Drada	360	2,71	1,54	0,76	10,13
		Dexta	360	10,82	4,12	2,68	36,04
		dareaa	360	3,56	1,68	0,96	10,48
6	p07s8	Drada	353	2,90	1,54	0,54	9,63
		Dexta	353	10,95	4,31	2,73	34,48
		dareaa	353	3,71	1,73	0,52	11,57
6	p07s9	Drada	354	2,90	1,47	0,54	8,88
		Dexta	354	11,26	3,97	1,61	31,31
		dareaa	354	3,77	1,63	0,52	10,47
7	p06a1	Drada	487	4,51	2,51	0,67	15,97
		Dexta	487	14,16	7,47	1,90	54,00
		dareaa	487	5,30	2,85	0,65	16,49
7	p06a2	Drada	614	3,89	2,19	0,67	13,73
		Dexta	614	13,70	7,49	2,12	49,29
		dareaa	614	4,81	2,66	0,65	15,10
7	p06a4	Drada	604	4,06	2,35	0,67	14,21
		Dexta	604	14,19	7,76	2,76	43,95
		dareaa	604	5,02	2,80	0,85	17,94
7	p06b1	Drada	463	3,90	2,15	0,67	11,44
		Dexta	463	15,02	7,33	2,42	44,65
		dareaa	463	5,07	2,70	0,65	15,38
7	p06b2	Drada	512	3,49	2,26	0,67	12,82
		Dexta	512	12,93	6,66	2,42	42,93
		dareaa	512	4,43	2,62	0,85	15,33
7	p06b3	Drada	433	4,10	2,18	0,67	12,98
		Dexta	433	14,07	6,30	2,42	40,96
		dareaa	433	5,04	2,52	0,85	13,66

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl	Mittelwert	SD	Minimum μm	Maximum μm
7	p06c1	Drada	364	4,51	2,77	0,67	16,64
		Dexta	364	16,19	8,55	2,76	47,70
		dareaa	364	5,68	3,25	1,07	18,70
7	p06c3	Drada	370	4,19	2,24	0,67	10,72
		Dexta	370	14,29	7,18	2,76	38,67
		dareaa	370	5,14	2,69	0,85	14,46
7	p06c4	Drada	686	4,07	2,51	0,80	13,31
		Dexta	686	14,33	7,86	2,90	51,56
		dareaa	686	4,98	2,86	0,91	14,10
7	p06d1	Drada	294	3,90	2,42	0,54	11,15
		Dexta	294	15,14	9,04	2,89	57,70
		dareaa	294	5,03	3,00	1,13	15,66
7	p06d3	Drada	292	3,41	2,35	0,54	11,37
		Dexta	292	12,67	7,30	1,93	37,97
		dareaa	292	4,32	2,74	0,52	13,00
7	p06f2	Drada	521	4,42	2,33	0,67	13,00
		Dexta	521	15,14	8,11	2,42	49,46
		dareaa	521	5,42	2,84	0,76	15,87
7	p06f4	Drada	515	4,56	2,30	0,94	12,98
		Dexta	515	15,55	8,13	2,99	41,14
		dareaa	515	5,63	2,82	1,13	13,80
8	p08a1	Drada	648	3,31	1,58	0,94	8,83
		Dexta	648	14,56	8,13	2,81	68,99
		dareaa	648	4,52	2,26	0,75	14,87
8	p08a2	Drada	542	3,70	2,10	0,67	13,27
		Dexta	542	13,22	7,05	1,50	35,52
		dareaa	542	4,66	2,60	0,53	14,41
8	p08b1	Drada	169	5,51	3,18	0,67	12,98
		Dexta	169	21,38	11,36	2,12	57,20
		dareaa	169	7,35	3,95	0,65	15,14
8	p08b2	Drada	181	5,94	3,68	0,67	19,25
		Dexta	181	24,35	13,17	2,12	68,76
		dareaa	181	8,02	4,61	0,65	22,43
8	p08b3	Drada	162	5,81	3,35	1,34	17,67
		Dexta	162	23,91	12,89	2,99	74,81
		dareaa	162	8,21	4,54	1,25	21,72
8	p08c1	Drada	686	3,58	1,63	0,80	14,45
		Dexta	686	13,34	6,61	2,54	41,81
		dareaa	686	4,55	2,18	0,79	14,86
8	p08c2	Drada	723	3,99	1,91	0,80	12,17
		Dexta	723	14,91	7,80	2,28	57,45
		dareaa	723	5,06	2,52	0,79	14,62
8	p08d1	Drada	546	3,34	1,52	0,80	12,45
		Dexta	546	15,33	9,31	3,31	75,10
		dareaa	546	4,71	2,32	0,79	16,11
8	p08d3	Drada	655	3,59	1,79	0,67	11,48
		Dexta	655	12,95	6,64	2,12	56,55
		dareaa	655	4,55	2,22	0,65	14,23
8	p08e1	Drada	626	3,15	1,51	0,80	10,23
		Dexta	626	13,13	6,99	2,28	50,36
		dareaa	626	4,21	2,13	0,79	13,74
8	p08e2	Drada	586	3,30	1,35	0,80	11,37
		Dexta	586	14,78	7,58	2,90	55,98
		dareaa	586	4,59	1,99	0,64	15,04
8	p08f1	Drada	580	2,99	1,27	0,80	9,84
		Dexta	580	13,18	6,57	2,28	39,98
		dareaa	580	4,13	1,80	0,79	11,70
8	p08f2	Drada	587	3,66	1,81	0,80	12,17
		Dexta	587	15,08	8,10	2,28	51,57
		dareaa	587	4,87	2,54	0,79	14,64
8	p08f3	Drada	611	3,18	1,51	0,67	8,71
		Dexta	611	12,18	6,47	2,42	46,91
		dareaa	611	4,06	2,01	0,76	13,42

Tab. 19: Minimale, maximale- und mittlere Myelinscheidendicke von Tier 6

Tier	Schnitt	Variable	N	Mittelwert	SD	Minimum	Maximum
6	a1	mydick	199	1,50	0,39	0,83	2,71
		mymin	199	1,03	0,32	0,80	2,41
		mymax	199	2,16	0,60	1,02	4,91
6	a2	mydick	374	1,60	0,42	0,80	2,82
		mymin	374	1,03	0,32	0,80	2,32
		mymax	374	2,49	0,77	0,80	5,22
6	a3	mydick	357	1,44	0,38	0,80	3,47
		mymin	357	0,96	0,29	0,80	2,86
		mymax	357	2,17	0,71	0,80	5,35
6	a4	mydick	366	1,45	0,35	0,84	2,89
		mymin	366	0,97	0,26	0,80	1,88
		mymax	366	2,20	0,65	1,02	5,76
6	b1	mydick	342	1,46	0,33	0,87	3,06
		mymin	342	0,99	0,27	0,80	2,10
		mymax	342	2,17	0,78	1,34	7,63
6	b2	mydick	200	1,34	0,47	0,66	3,94
		mymin	200	0,82	0,43	0,60	3,75
		mymax	200	2,15	0,68	1,01	4,15
6	b3	mydick	197	1,70	0,47	0,85	2,93
		mymin	197	1,03	0,34	0,80	2,41
		mymax	197	2,81	0,76	1,02	5,22
6	c1	mydick	170	1,54	0,47	0,73	3,16
		mymin	170	0,89	0,45	0,60	2,48
		mymax	170	2,48	0,72	1,17	5,32
6	c3	mydick	193	1,37	0,40	0,65	2,63
		mymin	193	0,84	0,40	0,60	2,48
		mymax	193	2,26	0,60	1,01	4,02
6	d3	mydick	164	1,23	0,36	0,63	2,47
		mymin	164	0,77	0,34	0,60	2,14
		mymax	164	1,91	0,53	1,01	3,75
6	e1	mydick	225	1,18	0,34	0,65	2,43
		mymin	225	0,68	0,21	0,60	1,81
		mymax	225	1,99	0,69	0,77	5,03
6	e2	mydick	180	1,50	0,45	0,69	3,14
		mymin	180	0,87	0,41	0,60	2,31
		mymax	180	2,56	0,81	1,17	5,55
6	f1	mydick	250	1,37	0,43	0,70	3,57
		mymin	250	0,87	0,41	0,60	2,61
		mymax	250	2,20	0,63	1,01	5,55
6	f4	mydick	398	1,43	0,33	0,84	2,63
		mymin	398	1,01	0,30	0,80	2,41
		mymax	398	2,08	0,61	1,02	4,46

Tab. 20: Mittlere Myelinscheidendicke pro Schnitt

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl N	Durchschnitt	SD	Minimum μm	Maximum μm
1	p03a2	mydick	344	2,33	0,57	1,54	4,63
1	p03a3	mydick	332	2,29	0,52	1,56	3,81
1	p03a6	mydick	330	2,35	0,56	1,54	4,54
1	p03b1	mydick	282	2,38	0,55	1,54	4,76
1	p04s1	mydick	341	2,33	0,59	1,55	7,25
1	p04s10	mydick	323	2,29	0,51	1,54	4,23
1	p04s11	mydick	336	2,31	0,56	1,54	5,51
1	p04s12	mydick	334	2,29	0,57	1,54	5,26
1	p04s13	mydick	326	2,25	0,50	1,54	4,00
1	p04s15	mydick	317	2,24	0,51	1,54	3,94
1	p04s2	mydick	308	2,28	0,47	1,54	3,82
1	p04s3	mydick	315	2,30	0,47	1,57	3,94
1	p04s4	mydick	333	2,31	0,54	1,54	4,24
1	p04s5	mydick	337	2,43	0,58	1,58	4,45
1	p04s6	mydick	334	2,38	0,54	1,61	4,09
1	p04s7	mydick	342	2,33	0,50	1,55	4,14
1	p04s9	mydick	332	2,34	0,55	1,55	4,06
2	p01a1	mydick	344	2,35	0,48	1,54	3,65
2	p01a2	mydick	385	2,53	0,54	1,54	4,39
2	p01a3	mydick	392	2,48	0,49	1,56	3,96
2	p01b3	mydick	251	2,26	0,45	1,57	4,23
2	p01c3	mydick	239	2,31	0,44	1,54	3,61
2	p01d3	mydick	228	2,30	0,44	1,56	3,57
2	p01e1	mydick	326	2,49	0,50	1,57	4,23
2	p01e2	mydick	307	2,42	0,49	1,54	4,70
2	p01f1	mydick	526	2,57	0,70	1,00	8,79
2	p01f2	mydick	538	2,46	0,56	1,54	4,49
2	p01g1	mydick	331	2,37	0,51	1,54	5,43
2	p01g2	mydick	321	2,41	0,61	1,56	5,12
2	p01g3	mydick	352	2,45	0,56	1,56	4,74
2	p01h1	mydick	196	2,44	0,55	1,57	4,22
2	p01h2	mydick	198	2,47	0,56	1,54	4,07
2	p01h3	mydick	346	2,45	0,53	1,55	4,31
2	p02a1	mydick	444	2,36	0,49	1,54	4,87
2	p02a2	mydick	449	2,43	0,52	1,58	5,42
2	p02a3	mydick	429	2,21	0,40	1,55	3,48
2	p02b1	mydick	370	2,21	0,36	1,55	3,87
2	p02b2	mydick	363	2,33	0,46	1,66	5,94
2	p02b3	mydick	378	2,25	0,42	1,54	5,06
2	p02c1	mydick	174	2,18	0,44	1,54	3,51
2	p02f1	mydick	239	2,25	0,44	1,56	3,85
2	p02f3	mydick	317	2,34	0,49	1,54	3,86
2	p02g2	mydick	259	2,29	0,44	1,54	5,37
2	p02g3	mydick	273	2,29	0,50	1,55	6,64
3	p00s1	mydick	325	2,40	0,44	1,54	4,04
3	p00s2	mydick	306	2,25	0,38	1,54	3,45
3	p00s3	mydick	314	2,33	0,40	1,56	3,72
3	p00s4	mydick	310	2,40	0,41	1,57	4,33
3	p00s5	mydick	315	2,45	0,44	1,56	3,90
3	p00s6	mydick	311	2,30	0,41	1,59	4,18
3	p00s7	mydick	323	2,41	0,46	1,56	4,54
3	p00s8	mydick	303	2,40	0,39	1,58	3,65
3	p00s9	mydick	307	2,32	0,38	1,61	3,65
3	p00sa	mydick	313	2,30	0,42	1,61	4,21
3	p00sb	mydick	309	2,23	0,42	1,58	4,12
3	p00sc	mydick	308	2,28	0,40	1,54	3,77
3	p00sd	mydick	313	2,35	0,42	1,54	3,93
3	p00se	mydick	305	2,24	0,36	1,54	3,88
3	p00sf	mydick	315	2,40	0,45	1,54	5,46

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl N	Durchschnitt	SD	Minimum μm	Maximum μm
4	f01a1	mydick	366	2,29	0,43	1,57	4,96
4	f01a2	mydick	438	2,27	0,50	1,54	4,99
4	f01a4	mydick	658	2,03	0,32	1,54	3,73
4	f01a5	mydick	444	2,20	0,38	1,54	4,33
5	f02a1	mydick	335	2,23	0,39	1,57	3,93
5	f02a2	mydick	445	2,34	0,39	1,54	4,51
5	f02a3	mydick	212	2,29	0,39	1,64	4,25
5	f02a4	mydick	335	2,14	0,34	1,55	3,56
5	f02d1	mydick	423	2,15	0,29	1,54	3,26
5	f02d2	mydick	406	2,12	0,34	1,55	4,94
5	f01d3	mydick	406	2,22	0,47	1,56	4,68
6	p05a1	mydick	199	2,23	0,39	1,56	3,44
6	p05a2	mydick	373	2,34	0,42	1,54	3,55
6	p05a3	mydick	357	2,17	0,38	1,54	4,20
6	p05a4	mydick	366	2,18	0,35	1,57	3,62
6	p05b1	mydick	342	2,20	0,33	1,60	3,79
6	p05b2	mydick	200	2,14	0,47	1,46	4,74
6	p05b3	mydick	197	2,44	0,47	1,58	3,66
6	p05c1	mydick	171	2,36	0,47	1,53	3,95
6	p05c3	mydick	205	2,17	0,39	1,45	3,43
6	p05d3	mydick	167	2,04	0,37	1,43	3,27
6	p05e1	mydick	240	1,99	0,35	1,45	3,97
6	p05e2	mydick	199	2,32	0,51	1,49	4,12
6	p05f1	mydick	252	2,18	0,46	1,49	5,49
6	p05f4	mydick	398	2,16	0,33	1,57	3,36
6	p07s1	mydick	353	2,17	0,36	1,54	3,91
6	p07s10	mydick	360	2,16	0,37	1,54	4,14
6	p07s11	mydick	361	2,27	0,43	1,57	4,63
6	p07s12	mydick	364	2,20	0,41	1,56	5,46
6	p07s13	mydick	365	2,24	0,42	1,56	4,45
6	p07s14	mydick	366	2,26	0,42	1,55	5,04
6	p07s15	mydick	365	2,23	0,42	1,54	4,69
6	p07s2	mydick	358	2,16	0,38	1,55	4,21
6	p07s3	mydick	362	2,19	0,42	1,54	5,33
6	p07s4	mydick	351	2,13	0,36	1,54	4,14
6	p07s5	mydick	369	2,23	0,41	1,18	4,54
6	p07s6	mydick	369	2,22	0,45	1,54	5,24
6	p07s7	mydick	366	2,27	0,51	1,55	7,58
6	p07s8	mydick	357	2,16	0,38	1,54	4,39
6	p07s9	mydick	361	2,15	0,41	1,54	4,62
7	p06a1	mydick	490	2,23	0,45	1,67	3,73
7	p06a2	mydick	615	2,30	0,48	1,67	4,36
7	p06a4	mydick	609	2,26	0,49	1,67	4,19
7	p06b1	mydick	470	2,31	0,49	1,67	4,59
7	p06b2	mydick	523	2,29	0,43	1,67	3,93
7	p06b3	mydick	434	2,15	0,41	1,67	3,65
7	p06c1	mydick	434	2,39	0,56	1,67	6,15
7	p06c3	mydick	374	2,31	0,46	1,67	4,05
7	p06c4	mydick	692	2,46	0,50	1,80	4,32
7	p06d1	mydick	295	2,38	0,57	1,55	4,79
7	p06d3	mydick	293	2,34	0,59	1,54	4,60
7	p06f2	mydick	526	2,33	0,50	1,67	4,57
7	p06f4	mydick	518	2,26	0,51	1,67	4,80
8	p08a1	mydick	680	3,06	0,80	1,80	7,10
8	p08a2	mydick	549	2,42	0,58	1,67	4,52
8	p08b1	mydick	176	3,01	0,74	1,68	5,06
8	p08b2	mydick	185	3,03	0,70	1,67	5,28
8	p08b3	mydick	166	2,99	0,68	1,67	4,82
8	p08c1	mydick	690	2,75	0,57	1,80	5,21
8	p08c2	mydick	729	2,77	0,57	1,80	4,64
8	p08d1	mydick	570	2,62	0,64	1,67	6,15
8	p08d3	mydick	665	2,40	0,56	1,67	6,57
8	p08e1	mydick	660	2,76	0,74	1,78	8,97

Tier	Schnitt	Variable	Anzahl N	Durchschnitt	SD	Minimum μm	Maximum μm
8	p08e2	mydick	623	2,74	0,83	1,76	9,72
8	p08f1	mydick	595	2,78	0,67	1,67	6,03
8	p08f2	mydick	599	2,67	0,52	1,80	4,98
8	p08f3	mydick	615	2,45	0,53	1,67	6,51

Tab. 21: Mittlere Myelinscheidendicke pro Tier

Tier	Nerv	Variable	Anzahl n	Mittelwert	SD	Minimum	Maximum
1	N. acc.	mydick	5566	2,32	0,54	1,54	7,25
2	N. fib. com.	mydick	5280	2,44	0,55	1,00	8,79
2	N. acc.	mydick	3695	2,30	0,46	1,54	6,64
3	N. acc.	mydick	4677	2,34	0,42	1,54	5,46
4	N. acc.	mydick	1906	2,18	0,42	1,54	4,99
5	N. acc.	mydick	2562	2,21	0,38	1,54	4,94
6	N. acc.	mydick	9093	2,20	0,41	1,18	7,58
7	N. acc.	mydick	6273	2,31	0,50	1,54	6,15
8	N. acc.	mydick	7502	2,71	0,68	1,67	9,72

Tab. 22: G-ratio pro Schnitt

Tier	Pferd	Schnitt	Mittelwert	SD	confu	confo	G-ratio
1	p03	a2	58,93	0,92	57,09	60,78	0,59
1	p03	a3	55,80	1,02	53,76	57,83	0,56
1	p03	a6	50,63	1,20	48,23	53,04	0,51
1	p03	b1	55,79	0,89	54,01	57,56	0,56
1	p04	s1	52,57	1,10	50,37	54,78	0,53
1	p04	s10	54,46	1,04	52,38	56,53	0,54
1	p04	s11	53,28	1,06	51,17	55,39	0,53
1	p04	s12	53,53	1,03	51,47	55,59	0,54
1	p04	s13	55,33	1,07	53,19	57,48	0,55
1	p04	s15	57,01	1,02	54,98	59,04	0,57
1	p04	s2	56,76	1,13	54,50	59,01	0,57
1	p04	s3	54,21	1,11	51,99	56,44	0,54
1	p04	s4	53,13	1,10	50,93	55,33	0,53
1	p04	s5	49,45	1,11	47,24	51,67	0,49
1	p04	s6	50,69	1,09	48,51	52,88	0,51
1	p04	s7	51,47	1,05	49,38	53,56	0,51
1	p04	s9	52,35	1,09	50,18	54,52	0,52
2	p01	a1	49,94	0,84	48,26	51,63	0,50
2	p01	a2	44,15	0,84	42,46	45,83	0,44
2	p01	a3	46,57	0,80	44,97	48,17	0,47
2	p01	b3	54,24	0,89	52,46	56,02	0,54
2	p01	c3	52,40	0,91	50,59	54,21	0,52
2	p01	d3	55,76	0,89	53,98	57,54	0,56
2	p01	e1	47,07	0,70	45,68	48,46	0,47
2	p01	e2	52,25	0,85	50,54	53,95	0,52
2	p01	f1	43,16	0,85	41,46	44,85	0,43
2	p01	f2	47,47	0,79	45,89	49,05	0,47
2	p01	q1	48,22	0,91	46,39	50,05	0,48
2	p01	g2	43,64	1,36	40,91	46,37	0,44
2	p01	g3	41,59	1,01	39,57	43,60	0,42
2	p01	h1	47,96	1,04	45,89	50,03	0,48
2	p01	h2	45,62	1,07	43,47	47,77	0,46
2	p01	h3	47,11	0,82	45,46	48,75	0,47
2	p02	a1	49,63	1,26	47,11	52,16	0,50
2	p02	a2	47,57	1,36	44,86	50,28	0,48
2	p02	a3	57,50	0,97	55,57	59,43	0,58
2	p02	b1	51,63	1,33	48,97	54,29	0,52
2	p02	b2	47,20	1,71	43,79	50,62	0,47
2	p02	b3	49,58	1,40	46,78	52,38	0,50
2	p02	c1	56,81	1,48	53,85	59,77	0,57
2	p02	f1	57,96	1,29	55,38	60,54	0,58
2	p02	f3	51,07	1,47	48,12	54,01	0,51
2	p02	g2	50,97	1,49	47,98	53,96	0,51
2	p02	g3	51,98	1,51	48,96	55,01	0,52
2	p02	h3	54,56	1,45	51,66	57,47	0,55
3	p00	s1	47,42	1,34	44,73	50,11	0,47
3	p00	s2	53,80	1,30	51,20	56,41	0,54
3	p00	s3	50,83	1,34	48,16	53,50	0,51
3	p00	s4	49,07	1,37	46,33	51,81	0,49
3	p00	s5	45,79	1,50	42,79	48,78	0,46
3	p00	s6	51,46	1,27	48,93	54,00	0,51
3	p00	s7	47,46	1,34	44,79	50,14	0,47
3	p00	s8	48,79	1,22	46,35	51,23	0,49
3	p00	s9	51,39	1,32	48,76	54,03	0,51
3	p00	sa	52,39	1,20	50,00	54,78	0,52
3	p00	sb	53,35	1,19	50,97	55,74	0,53
3	p00	sc	52,31	1,20	49,91	54,71	0,52
3	p00	sd	50,59	1,18	48,23	52,94	0,51
3	p00	se	52,01	1,12	49,76	54,25	0,52
3	p00	sf	48,51	1,18	46,14	50,88	0,49
4	f01	a1	46,63	1,17	44,29	48,98	0,47
4	f01	a2	52,87	1,10	50,67	55,08	0,53
4	f01	a4	51,95	0,66	50,64	53,27	0,52
4	f01	a5	50,04	0,93	48,19	51,89	0,50

Tier	Pferd	Schnitt	Mittelwert	SD	confu	confo	G-ratio
5	f02	a1	43,86	1,68	40,50	47,23	0,44
5	f02	a2	42,77	1,23	40,30	45,24	0,43
5	f02	a3	41,17	2,25	36,67	45,66	0,41
5	f02	a4	47,04	1,24	44,57	49,52	0,47
5	f02	d1	50,60	1,07	48,46	52,74	0,51
5	f02	d2	50,06	1,23	47,60	52,51	0,50
5	f02	d3	49,26	1,58	46,11	52,41	0,49
6	p05	a1	61,90	1,17	59,56	64,23	0,62
6	p05	a2	55,41	0,84	53,73	57,10	0,55
6	p05	a3	58,53	0,98	56,57	60,48	0,59
6	p05	a4	61,10	0,79	59,51	62,69	0,61
6	p05	b1	58,71	0,90	56,92	60,50	0,59
6	p05	b2	58,19	1,26	55,66	60,72	0,58
6	p05	b3	55,50	1,33	52,83	58,17	0,55
6	p05	c1	53,17	1,36	50,44	55,90	0,53
6	p05	c3	58,29	1,29	55,70	60,88	0,58
6	p05	d3	62,24	1,16	59,91	64,56	0,62
6	p05	e1	62,17	1,62	58,94	65,41	0,62
6	p05	e2	48,82	1,86	45,10	52,53	0,49
6	p05	f1	55,36	1,13	53,10	57,62	0,55
6	p05	f4	61,11	0,82	59,47	62,75	0,61
6	p07	s1	57,79	0,93	55,92	59,66	0,58
6	p07	s10	59,05	0,91	57,23	60,86	0,59
6	p07	s11	55,95	0,97	54,01	57,90	0,56
6	p07	s12	57,72	0,89	55,95	59,50	0,58
6	p07	s13	53,86	1,07	51,72	56,00	0,54
6	p07	s14	54,71	1,16	52,39	57,03	0,55
6	p07	s15	54,23	0,93	52,38	56,09	0,54
6	p07	s2	57,99	0,83	56,32	59,66	0,58
6	p07	s3	57,79	0,89	56,02	59,57	0,58
6	p07	s4	60,34	0,89	58,55	62,12	0,60
6	p07	s5	54,62	0,94	52,74	56,50	0,55
6	p07	s6	56,88	0,95	54,98	58,78	0,57
6	p07	s7	55,02	0,97	53,07	56,96	0,55
6	p07	s8	58,47	0,93	56,62	60,33	0,58
6	p07	s9	58,85	0,96	56,94	60,76	0,59
7	p06	a1	66,17	0,81	64,56	67,78	0,66
7	p06	a2	61,56	0,80	59,97	63,16	0,62
7	p06	a4	63,63	0,73	62,16	65,09	0,64
7	p06	b1	62,09	0,91	60,27	63,91	0,62
7	p06	b2	59,48	0,94	57,60	61,36	0,59
7	p06	b3	66,12	0,75	64,62	67,62	0,66
7	p06	c1	65,22	1,03	63,16	67,29	0,65
7	p06	c3	63,47	0,96	61,56	65,39	0,63
7	p06	c4	60,32	0,76	58,81	61,83	0,60
7	p06	d1	59,52	1,09	57,34	61,71	0,60
7	p06	d3	57,49	1,39	54,71	60,27	0,57
7	p06	f2	63,68	0,79	62,10	65,25	0,64
7	p06	f4	65,67	0,79	64,09	67,26	0,66
8	p08	a1	47,11	0,86	45,38	48,84	0,47
8	p08	a2	57,46	0,86	55,73	59,18	0,57
8	p08	b1	56,71	1,58	53,55	59,87	0,57
8	p08	b2	58,80	1,69	55,42	62,18	0,59
8	p08	b3	59,37	1,87	55,64	63,11	0,59
8	p08	c1	52,21	0,79	50,62	53,79	0,52
8	p08	c2	54,63	0,73	53,18	56,09	0,55
8	p08	d1	54,31	0,93	52,45	56,16	0,54
8	p08	d3	57,48	0,73	56,02	58,94	0,57
8	p08	e1	50,25	0,91	48,43	52,07	0,50
8	p08	e2	52,38	1,03	50,31	54,44	0,52
8	p08	f1	48,39	0,81	46,77	50,01	0,48
8	p08	f2	54,79	0,84	53,12	56,47	0,55
8	p08	f3	54,45	0,81	52,82	56,08	0,54

Tab. 23: Exceedingrate (Prozentsatz an Fasern mit einem Durchmesser 7 µm)

Tier	Schnitt	Exceedingrate %	Tier	Schnitt	Exceedingrate %
1	p03a2	42,44	4	f01a1	17,49
1	p03a3	40,66	4	f01a2	22,37
1	p03a6	33,94	4	f01a3	17,00
1	p03b1	43,62	4	f01a4	12,48
1	p04s1	34,12	4	f01a5	16,22
1	p04s10	36,65	4	f01a6	7,59
1	p04s11	35,42	5	f02a1	12,54
1	p04s12	36,53	5	f02a2	13,51
1	p04s13	36,92	5	f02a3	10,85
1	p04s15	36,28	5	f02a4	11,64
1	p04s2	36,36	5	f02d1	11,85
1	p04s3	36,51	5	f02d2	9,85
1	p04s4	35,14	5	f02d3	12,56
1	p04s5	33,93	6	p05a1	36,18
1	p04s6	36,34	6	p05a2	42,63
1	p04s7	33,92	6	p05a3	29,41
1	p04s9	36,45	6	p05a4	34,97
2	p01a1	35,17	6	p05b1	29,24
2	p01a2	37,92	6	p05b2	35,50
2	p01a3	35,46	6	p05b3	55,84
2	p01b3	31,47	6	p05c1	41,52
2	p01c3	36,82	6	p05c3	34,15
2	p01d3	41,23	6	p05d3	36,14
2	p01e1	38,34	6	p05e1	28,33
2	p01e2	36,81	6	p05e2	28,28
2	p01f1	34,60	6	p05f1	30,95
2	p01f2	34,39	6	p05f4	29,65
2	p01g1	25,98	6	p07s1	23,80
2	p01g2	28,97	6	p07s10	23,06
2	p01g3	30,40	6	p07s11	24,65
2	p01h1	29,59	6	p07s12	23,63
2	p01h2	34,85	6	p07s13	23,29
2	p01h3	34,97	6	p07s14	24,86
2	p02a1	28,38	6	p07s15	23,56
2	p02a2	28,51	6	p07s3	24,31
2	p02a3	27,51	6	p07s4	22,79
2	p02b1	24,86	6	p07s5	23,85
2	p02b2	22,04	6	p07s6	24,66
2	p02b3	20,90	6	p07s7	24,04
2	p02c1	25,29	6	p07s8	24,37
2	p02d1	74,55	6	p07s9	23,55
2	p02d2	89,39	7	p06a1	46,73
2	p02e1	85,00	7	p06a2	43,41
2	p02e2	85,12	7	p06b1	45,74
2	p02f1	25,94	7	p06b2	36,71
2	p02f3	34,18	7	p06b3	38,25
2	p02g2	24,71	7	p06c1	43,09
2	p02g3	23,44	7	p06c3	47,59
2	p02h1	91,92	7	p06c4	50,58
2	p02h3	86,87	7	p06d1	54,24
2	p02h4	93,02	7	p06d3	37,54
3	p00s1	19,38	7	p06f2	55,70
3	p00s2	21,24	7	p06f4	55,98
3	p00s3	18,79	8	p08a1	71,32
3	p00s4	20,65	8	p08a2	57,74
3	p00s5	20,95	8	p08b1	77,84
3	p00s6	21,54	8	p08b2	81,08
3	p00s7	22,60	8	p08b3	81,93
3	p00s8	24,42	8	p08c1	67,54
3	p00s9	21,17	8	p08c2	76,82
3	p00sa	20,13	8	p08d1	63,33
3	p00sb	21,36	8	p08d3	58,50
3	p00sc	21,75	8	p08e1	66,36
3	p00sd	22,68	8	p08e2	69,66
3	p00se	20,98	8	p08f1	62,69

Tab. 24: Zirkularität pro Tier

Tier	Nerv	Variable	Anzahl N	Durchschnitt	SD	Minimum	Maximum
1	N. acc.	p2aa	1606	2,23	1,25	1,08	17,16
		p2a	1622	1,44	0,33	1,14	6,49
2	N. fib. com.	p2aa	5088	2,12	1,19	1,03	12,78
		p2a	5280	1,43	0,31	1,11	6,46
2	N. acc.	p2aa	3174	2,22	1,22	1,03	14,22
		p2a	3695	1,55	0,42	1,08	6,39
3	N. acc.	p2aa	311	2,68	1,27	1,03	8,21
		p2a	311	1,51	0,33	1,11	3,75
4	N. acc.	p2aa	1864	1,91	1,34	1,03	18,50
		p2a	1906	1,35	0,29	1,09	7,38
5	N. acc.	p2aa	2212	2,12	0,99	1,03	9,41
		p2a	2562	1,51	0,35	1,11	5,14
6	N. acc.	p2aa	3869	2,35	1,54	1,08	17,93
		p2a	4035	1,46	0,31	1,12	5,19
7	N. acc.	p2aa	6155	2,37	1,70	1,06	17,14
		p2a	6273	1,47	0,37	1,11	7,87
8	N. acc.	p2aa	7302	3,04	3,03	1,05	41,56
		p2a	7502	1,65	1,03	1,10	28,47

Tab. 25: Zirkularität pro Schnitt

Tier	Nerv	Variable	Anzahl N	Durchschnitt	SD	Minimum	Maximum
1	p03a2	p2aa	342	2,04	1,42	1,11	17,16
		p2a	344	1,38	0,28	1,15	4,18
1	p03a3	p2aa	332	2,37	1,45	1,12	11,68
		p2a	332	1,40	0,22	1,16	2,99
1	p03a6	p2aa	326	2,50	1,24	1,14	8,94
		p2a	330	1,50	0,43	1,14	5,45
1	p03b1	p2aa	280	2,11	1,07	1,12	9,38
		p2a	282	1,46	0,29	1,16	3,77
1	p04s1	p2aa	330	2,07	0,87	1,03	6,10
		p2a	341	1,47	0,30	1,14	3,45
1	p04s10	p2aa	323	2,43	1,24	1,08	10,19
		p2a	323	1,48	0,29	1,17	2,87
1	p04s11	p2aa	332	2,20	1,05	1,13	9,12
		p2a	336	1,48	0,29	1,16	3,10
1	p04s12	p2aa	331	2,48	1,59	1,16	12,86
		p2a	334	1,48	0,26	1,17	2,98
1	p04s13	p2aa	319	2,31	1,23	1,13	9,80
		p2a	326	1,49	0,45	1,13	7,76
1	p04s15	p2aa	317	2,44	1,42	1,13	16,20
		p2a	317	1,48	0,32	1,15	3,86
1	p04s2	p2aa	286	2,31	1,11	1,17	8,13
		p2a	308	1,50	0,37	1,15	3,71
1	p04s3	p2aa	306	2,38	1,13	1,13	7,46

Tier	Nerv	Variable	Anzahl N	Durchschnitt	SD	Minimum	Maximum
1	p04s4	p2aa	327	2,32	1,16	1,15	10,52
		p2a	333	1,51	0,60	1,15	10,70
1	p04s5	p2aa	326	2,15	0,96	1,13	6,45
		p2a	337	1,46	0,30	1,13	3,66
1	p04s6	p2aa	326	2,13	0,92	1,08	7,08
		p2a	334	1,45	0,38	1,14	6,49
1	p04s7	p2aa	335	2,19	0,93	1,06	7,85
		p2a	342	1,47	0,37	1,14	5,14
1	p04s9	p2aa	328	2,35	1,16	1,15	10,30
		p2a	332	1,47	0,33	1,16	5,63
2	p01a1	p2aa	342	1,66	0,59	1,10	6,98
		p2a	344	1,36	0,18	1,12	2,31
2	p01a2	p2aa	384	1,94	1,00	1,13	8,90
		p2a	385	1,40	0,22	1,14	3,52
2	p01a3	p2aa	389	1,72	0,66	1,10	4,91
		p2a	392	1,33	0,16	1,12	2,45
2	p01b3	p2aa	250	1,85	0,89	1,11	9,18
		p2a	251	1,40	0,21	1,12	2,20
2	p01c3	p2aa	236	2,15	1,03	1,16	7,74
		p2a	239	1,41	0,21	1,15	2,73
2	p01d3	p2aa	227	2,03	1,12	1,14	9,07
		p2a	228	1,41	0,26	1,14	3,02
2	p01e1	p2aa	318	2,05	1,09	1,11	8,35
		p2a	326	1,48	0,42	1,13	5,75
2	p01e2	p2aa	302	1,98	1,02	1,11	9,42
		p2a	307	1,40	0,25	1,13	2,63
2	p01f1	p2aa	474	2,22	1,25	1,10	10,77
		p2a	526	1,43	0,36	1,13	4,80
2	p01f2	p2aa	512	2,02	1,01	1,10	8,11
		p2a	538	1,39	0,28	1,12	4,15
2	p01g1	p2aa	311	2,02	1,04	1,03	7,18
		p2a	331	1,39	0,29	1,13	3,36
2	p01g2	p2aa	288	3,09	1,90	1,12	12,50
		p2a	321	1,66	0,54	1,14	4,51
2	p01g3	p2aa	335	2,71	1,43	1,14	9,72
		p2a	352	1,53	0,39	1,15	6,46
2	p01h1	p2aa	194	2,15	1,33	1,17	12,78
		p2a	196	1,39	0,20	1,15	2,99
2	p01h2	p2aa	195	2,37	1,31	1,08	8,24
		p2a	198	1,44	0,26	1,11	2,52
2	p01h3	p2aa	331	2,25	1,24	1,15	8,47
		p2a	346	1,44	0,30	1,15	3,58
2	p02a1	p2aa	373	2,45	1,19	1,18	8,27
		p2a	444	1,60	0,43	1,08	3,93
2	p02a2	p2aa	352	2,33	1,39	1,08	12,59
		p2a	449	1,60	0,42	1,10	4,95
2	p02a3	p2aa	408	1,88	1,02	1,08	7,83
		p2a	429	1,42	0,33	1,12	3,24
2	p02b1	p2aa	353	2,42	1,07	1,13	6,24
		p2a	370	1,70	0,54	1,13	6,39
2	p02b2	p2aa	266	2,21	1,11	1,03	8,52
		p2a	363	1,69	0,49	1,10	4,27
2	p02b3	p2aa	307	2,32	1,33	1,11	14,22
		p2a	378	1,58	0,40	1,12	3,23
2	p02c1	p2aa	164	1,72	0,77	1,08	5,71
		p2a	174	1,38	0,24	1,10	2,40
2	p02f1	p2aa	218	1,82	1,05	1,08	9,88
		p2a	239	1,41	0,36	1,12	3,48
2	p02f3	p2aa	280	2,53	1,58	1,12	10,67

		p2a	317	1,50	0,36	1,10	3,20
Tier	Nerv	Variable	Anzahl N	Durchschnitt	SD	Minimum	Maximum
2	p02g2	p2aa	220	2,29	1,18	1,15	9,55
		p2a	259	1,56	0,41	1,11	3,43
2	p02g3	p2aa	233	2,09	1,10	1,03	6,09
		p2a	273	1,49	0,39	1,10	4,58
3	p00s1	p2aa	317	2,66	1,40	1,14	10,69
		p2a	325	1,45	0,28	1,11	2,98
3	p00s2	p2aa	301	2,88	1,61	1,17	13,37
		p2a	306	1,54	0,41	1,09	4,42
3	p00s3	p2aa	313	2,86	1,67	1,13	13,86
		p2a	314	1,48	0,26	1,13	2,68
3	p00s4	p2aa	306	2,71	1,39	1,14	10,76
		p2a	310	1,49	0,45	1,10	6,54
3	p00s5	p2aa	310	2,64	1,30	1,16	10,40
		p2a	315	1,48	0,33	1,12	4,65
3	p00s6	p2aa	311	2,68	1,27	1,03	8,21
		p2a	311	1,51	0,33	1,11	3,75
3	p00s7	p2aa	322	2,73	1,37	1,15	10,06
		p2a	323	1,44	0,24	1,11	2,85
3	p00s8	p2aa	299	2,70	1,52	1,14	14,65
		p2a	303	1,44	0,27	1,12	3,30
3	p00s9	p2aa	306	2,62	1,45	1,15	9,22
		p2a	307	1,44	0,28	1,11	3,42
3	p00sa	p2aa	309	2,51	1,31	1,13	10,66
		p2a	313	1,47	0,41	1,12	6,08
3	p00sb	p2aa	309	2,43	1,19	1,14	9,70
		p2a	309	1,48	0,29	1,13	3,02
3	p00sc	p2aa	305	2,64	1,52	1,11	15,42
		p2a	308	1,47	0,29	1,12	2,83
3	p00sd	p2aa	310	2,70	1,45	1,15	11,83
		p2a	313	1,49	0,37	1,13	4,97
3	p00se	p2aa	305	2,69	1,42	1,18	11,85
		p2a	305	1,50	0,31	1,14	4,13
3	p00sf	p2aa	311	2,75	1,34	1,15	8,90
		p2a	315	1,45	0,23	1,13	2,95
4	f01a1	p2aa	352	2,46	1,87	1,03	13,99
		p2a	366	1,31	0,24	1,09	2,84
4	f01a2	p2aa	417	2,19	1,88	1,10	18,50
		p2a	438	1,35	0,31	1,10	3,39
4	f01a4	p2aa	651	1,61	0,64	1,05	5,42
		p2a	658	1,37	0,34	1,10	7,38
4	f01a5	p2aa	444	1,66	0,64	1,03	4,79
		p2a	444	1,36	0,22	1,11	3,09
5	f02a1	p2aa	278	2,15	0,89	1,13	6,46
		p2a	335	1,55	0,31	1,18	3,24
5	f02a2	p2aa	385	2,12	1,01	1,09	9,41
		p2a	445	1,40	0,26	1,13	3,38
5	f02a3	p2aa	137	2,02	0,74	1,03	5,09
		p2a	212	1,52	0,32	1,13	3,12
5	f02a4	p2aa	305	2,16	1,01	1,13	7,75
		p2a	335	1,49	0,36	1,14	3,78
5	f02d1	p2aa	399	1,88	0,79	1,03	6,49
		p2a	423	1,41	0,26	1,11	2,75
5	f02d2	p2aa	368	2,19	0,96	1,04	7,01
		p2a	406	1,57	0,37	1,11	3,39
5	f02d3	p2aa	340	2,31	1,29	1,03	8,31
		p2a	406	1,63	0,48	1,13	5,14
6	p05a1	p2aa	197	2,05	1,55	1,13	16,30
		p2a	199	1,34	0,22	1,13	3,36

Tier	Nerv	Variable	Anzahl N	Durchschnitt	SD	Minimum	Maximum
6	p05a2	p2aa	367	2,34	1,25	1,13	11,97
		p2a	373	1,51	0,29	1,14	3,12
6	p05a3	p2aa	346	2,40	1,11	1,16	6,64
		p2a	357	1,52	0,30	1,15	3,11
6	p05a4	p2aa	363	2,06	1,23	1,09	9,99
		p2a	366	1,41	0,26	1,12	3,10
6	p05b1	p2aa	330	2,18	1,14	1,08	10,49
		p2a	342	1,45	0,27	1,15	3,36
6	p05b2	p2aa	196	2,32	1,20	1,19	9,57
		p2a	200	1,47	0,23	1,19	2,51
6	p05b3	p2aa	189	2,61	2,05	1,19	16,29
		p2a	197	1,50	0,29	1,18	3,20
6	p05c1	p2aa	161	2,36	1,33	1,20	8,89
		p2a	171	1,47	0,24	1,16	2,62
6	p05c3	p2aa	186	2,65	2,34	1,09	17,93
		p2a	205	1,46	0,36	1,17	3,35
6	p05d3	p2aa	160	2,83	1,90	1,19	11,05
		p2a	167	1,52	0,30	1,15	2,83
6	p05e1	p2aa	217	3,53	2,52	1,22	15,20
		p2a	240	1,56	0,31	1,18	2,83
6	p05e2	p2aa	153	2,77	1,81	1,24	11,61
		p2a	199	1,64	0,60	1,14	5,19
6	p05f1	p2aa	243	2,25	1,51	1,21	11,96
		p2a	252	1,43	0,33	1,16	4,32
6	p05f4	p2aa	395	1,96	1,08	1,11	8,89
		p2a	398	1,35	0,22	1,13	2,71
6	p07s1	p2aa	349	2,12	0,95	1,13	6,97
		p2a	353	1,44	0,25	1,15	2,99
6	p07s10	p2aa	355	2,07	0,98	1,14	9,78
		p2a	360	1,42	0,23	1,14	2,64
6	p07s11	p2aa	355	2,04	0,87	1,12	6,21
		p2a	361	1,41	0,24	1,14	3,23
6	p07s12	p2aa	357	2,09	1,02	1,14	8,93
		p2a	364	1,43	0,26	1,12	3,20
6	p07s13	p2aa	360	2,14	1,06	1,14	9,41
		p2a	365	1,41	0,23	1,12	2,73
6	p07s14	p2aa	358	2,08	0,84	1,14	5,19
		p2a	366	1,41	0,21	1,10	2,98
6	p07s15	p2aa	357	2,13	0,89	1,10	7,68
		p2a	365	1,44	0,22	1,11	2,76
6	p07s2	p2aa	353	2,04	0,84	1,07	6,95
		p2a	358	1,41	0,20	1,13	2,64
6	p07s3	p2aa	358	2,07	1,00	1,14	8,99
		p2a	362	1,41	0,19	1,12	2,32
6	p07s4	p2aa	342	2,09	1,00	1,12	8,23
		p2a	351	1,44	0,23	1,11	2,89
6	p07s5	p2aa	365	2,10	0,97	0,00	11,01
		p2a	369	1,40	0,19	1,14	2,48
6	p07s6	p2aa	366	2,02	0,94	1,12	10,74
		p2a	369	1,40	0,20	1,13	2,34
6	p07s7	p2aa	360	2,14	0,91	1,14	6,90
		p2a	366	1,43	0,26	1,13	3,22
6	p07s8	p2aa	353	1,95	0,76	1,13	6,33
		p2a	357	1,41	0,23	1,14	3,23
6	p07s9	p2aa	354	2,14	1,21	1,15	13,07
		p2a	361	1,43	0,23	1,14	2,78
7	p06a1	p2aa	487	1,99	1,26	1,06	8,22
		p2a	490	1,38	0,24	1,13	3,27

Tier	Nerv	Variable	Anzahl N	Durchschnitt	SD	Minimum	Maximum
7	p06a2	p2aa	614	2,27	1,67	1,08	13,94
		p2a	615	1,45	0,31	1,12	3,94
7	p06a4	p2aa	604	2,25	1,55	1,06	10,98
		p2a	609	1,52	0,48	1,11	5,54
7	p06b1	p2aa	463	2,68	1,89	1,10	17,14
		p2a	470	1,50	0,33	1,14	3,33
7	p06b2	p2aa	512	2,45	1,51	1,10	13,27
		p2a	523	1,51	0,37	1,11	4,39
7	p06b3	p2aa	433	2,16	1,29	1,12	10,31
		p2a	434	1,46	0,30	1,12	3,88
7	p06c1	p2aa	364	2,51	1,61	1,12	12,80
		p2a	434	1,53	0,43	1,14	4,86
7	p06c3	p2aa	370	2,31	1,75	1,06	12,90
		p2a	374	1,43	0,30	1,12	3,17
7	p06c4	p2aa	686	2,34	1,58	1,11	11,89
		p2a	692	1,50	0,41	1,13	4,13
7	p06d1	p2aa	294	2,84	2,01	1,12	12,52
		p2a	295	1,46	0,30	1,13	2,98
7	p06d3	p2aa	292	2,61	1,76	1,06	12,39
		p2a	293	1,42	0,26	1,12	2,59
7	p06f2	p2aa	521	2,34	1,81	1,08	16,04
		p2a	526	1,47	0,42	1,11	7,87
7	p06f4	p2aa	515	2,45	2,18	1,11	15,81
		p2a	518	1,46	0,37	1,13	4,55
8	p08a1	p2aa	648	2,87	2,22	1,06	16,10
		p2a	680	1,49	0,53	1,10	8,18
8	p08a2	p2aa	542	2,78	2,59	1,08	18,65
		p2a	549	1,46	0,39	1,14	5,05
8	p08b1	p2aa	169	5,21	5,13	1,14	23,16
		p2a	176	1,50	0,78	1,12	5,88
8	p08b2	p2aa	181	4,89	4,44	1,20	20,19
		p2a	185	1,51	0,77	1,13	8,46
8	p08b3	p2aa	162	6,13	5,93	1,08	34,27
		p2a	166	1,49	0,75	1,12	7,23
8	p08c1	p2aa	686	2,52	2,33	1,05	21,00
		p2a	690	1,47	0,55	1,11	7,10
8	p08c2	p2aa	723	2,70	2,62	1,09	21,40
		p2a	729	1,49	0,50	1,14	10,45
8	p08d1	p2aa	546	3,45	3,32	1,12	27,19
		p2a	570	1,95	1,57	1,12	15,94
8	p08d3	p2aa	655	2,69	2,67	1,08	26,21
		p2a	665	1,83	1,51	1,11	15,02
8	p08e1	p2aa	626	2,75	2,59	1,09	22,95
		p2a	660	1,67	0,90	1,15	11,84
8	p08e2	p2aa	586	3,33	3,91	1,06	41,56
		p2a	623	1,66	0,86	1,11	9,45
8	p08f1	p2aa	580	2,99	2,64	1,09	17,48
		p2a	595	1,79	1,37	1,12	13,49
8	p08f2	p2aa	587	2,97	2,51	1,06	21,72
		p2a	599	1,83	1,11	1,15	14,05
8	p08f3	p2aa	611	2,63	2,05	1,11	14,35
		p2a	615	1,69	1,32	1,13	28,47

Tab. 26: Entropie Intervalle 1-3

Tier	Schnitt	ent1	ent2	ent3
1	p03a2	6,21	5,41	4,92
1	p03a3	6,05	5,26	4,78
1	p03a6	6,00	5,21	4,70
1	p03b1	6,08	5,28	4,75
1	p04s1	5,99	5,26	4,73
1	p04s10	5,98	5,25	4,71
1	p04s11	6,01	5,21	4,67
1	p04s12	6,06	5,30	4,79
1	p04s13	5,98	5,24	4,75
1	p04s15	6,01	5,22	4,70
1	p04s2	6,00	5,28	4,73
1	p04s3	5,96	5,23	4,71
1	p04s4	6,01	5,26	4,71
1	p04s5	6,03	5,24	4,78
1	p04s6	6,05	5,31	4,84
1	p04s7	5,91	5,15	4,63
1	p04s9	6,03	5,25	4,74
2	p01a1	5,69	4,85	4,29
2	p01a2	5,93	5,05	4,51
2	p01a3	5,80	4,90	4,35
2	p01b3	5,76	4,89	4,41
2	p01c3	5,71	4,87	4,36
2	p01d3	5,93	5,11	4,61
2	p01e1	6,08	5,20	4,66
2	p01e2	6,01	5,16	4,65
2	p01f1	5,99	5,07	4,52
2	p01f2	5,93	5,05	4,48
2	p01g1	5,57	4,67	4,16
2	p01g2	5,68	4,81	4,26
2	p01g3	5,64	4,75	4,20
2	p01h1	5,66	4,90	4,41
2	p01h2	5,77	5,01	4,49
2	p01h3	5,96	5,14	4,57
2	p02a1	5,92	5,07	4,51
2	p02a2	5,94	5,06	4,57
2	p02a3	5,83	4,96	4,40
2	p02b1	5,63	4,75	4,25
2	p02b2	5,52	4,69	4,12
2	p02b3	5,45	4,59	4,07
2	p02c1	5,41	4,68	4,18
2	p02f1	5,61	4,88	4,37
2	p02f3	5,96	5,15	4,65
2	p02g2	5,49	4,69	4,15
2	p02g3	5,64	4,84	4,34
3	p00s1	5,35	4,49	3,96
3	p00s2	5,38	4,51	4,01
3	p00s3	5,29	4,48	3,94
3	p00s4	5,24	4,44	3,93
3	p00s5	5,32	4,47	3,96
3	p00s6	5,28	4,46	3,93
3	p00s7	5,38	4,50	3,99
3	p00s8	5,41	4,55	4,00
3	p00s9	5,29	4,41	3,89
3	p00sa	5,35	4,46	3,94
3	p00sb	5,43	4,59	4,06
3	p00sc	5,39	4,52	4,02
3	p00sd	5,47	4,62	4,07
3	p00se	5,40	4,51	4,04
3	p00sf	5,45	4,62	4,13
4	f01a1	5,28	4,43	3,89
4	f01a2	5,51	4,62	4,08
4	f01a4	4,98	4,08	3,52
4	f01a5	5,19	4,29	3,74

Tier	Schnitt	ent1	ent2	ent3
5	f02a2	5,22	4,36	3,83
5	f02a3	4,57	3,83	3,35
5	f02a4	4,79	3,91	3,38
5	f02d1	5,01	4,08	3,52
5	f02d2	4,87	4,00	3,45
5	f02d3	5,12	4,20	3,67
6	p05a1	5,66	4,95	4,45
6	p05a2	6,12	5,27	4,77
6	p05a3	5,73	4,94	4,40
6	p05a4	5,86	4,95	4,48
6	p05b1	5,64	4,74	4,23
6	p05b2	5,75	5,04	4,54
6	p05b3	5,85	5,17	4,66
6	p05c1	5,75	5,07	4,60
6	p05c3	5,86	5,05	4,63
6	p05d3	5,71	5,01	4,60
6	p05e1	5,73	4,97	4,46
6	p05e2	5,65	4,90	4,51
6	p05f1	5,74	4,96	4,47
6	p05f4	5,73	4,88	4,34
6	p07s1	5,59	4,70	4,19
6	p07s10	5,56	4,70	4,23
6	p07s11	5,59	4,74	4,20
6	p07s12	5,50	4,68	4,12
6	p07s13	5,52	4,67	4,14
6	p07s14	5,50	4,62	4,09
6	p07s15	5,42	4,57	4,10
6	p07s2	5,51	4,67	4,14
6	p07s3	5,64	4,74	4,28
6	p07s4	5,55	4,67	4,15
6	p07s5	5,59	4,73	4,20
6	p07s6	5,49	4,62	4,13
6	p07s7	5,51	4,72	4,15
6	p07s8	5,51	4,66	4,15
6	p07s9	5,52	4,67	4,17
7	p06a1	6,16	5,32	4,80
7	p06a2	6,20	5,34	4,77
7	p06a4	6,20	5,32	4,78
7	p06b1	6,16	5,31	4,77
7	p06b2	6,03	5,16	4,64
7	p06b3	6,03	5,16	4,65
7	p06c1	6,08	5,17	4,71
7	p06c3	6,12	5,38	4,83
7	p06c4	6,30	5,45	4,88
7	p06d1	6,09	5,33	4,79
7	p06d3	5,75	4,90	4,45
7	p06f2	6,36	5,51	4,97
7	p06f4	6,36	5,52	5,00
8	p08a1	6,80	5,92	5,37
8	p08a2	6,62	5,78	5,27
8	p08b1	5,94	5,59	5,15
8	p08b2	6,15	5,61	5,22
8	p08b3	5,91	5,45	5,13
8	p08c1	6,45	5,59	5,04
8	p08c2	6,64	5,77	5,20
8	p08d1	6,35	5,47	4,97
8	p08d3	6,24	5,37	4,84
8	p08e1	6,31	5,41	4,87
8	p08e2	6,27	5,37	4,82
8	p08f1	6,41	5,54	4,98
8	p08f2	6,47	5,61	5,05
8	p08f3	6,30	5,43	4,90

Tab. 27: Univariaten Parameter und ihre Werte

Variable	Mittelwerte			f-Werte	Standartabweichung			Variationskoeffizient		
	*0	*1	pooled		*0	*1	pooled	*0	*1	pooled
Gruppe	*0	*1	pooled		*0	*1	pooled	*0	*1	pooled
ENT1	5,67	6,35	5,76	43,91	0,37	0,25	0,36	0,07	0,04	0,06
ENT2	4,85	5,57	4,94	45,62	0,39	0,17	0,37	0,08	0,03	0,08
ENT3	4,33	5,06	4,42	45,56	0,40	0,17	0,38	0,09	0,03	0,09
EX5C	24,16	57,76	28,43	142,58	9,22	13,53	9,84	0,38	0,23	0,35
P2A	1,47	1,63	1,49	42,36	0,07	0,17	0,09	0,05	0,10	0,06
AF_M	41,16	87,41	47,05	77,85	11,49	42,70	18,32	0,28	0,49	0,39
AA_M	13,78	28,69	15,67	37,07	6,07	18,42	8,56	0,44	0,64	0,55
PF_M	24,89	36,45	26,36	108,46	3,14	7,27	3,88	0,13	0,20	0,15
PA_M	16,75	31,59	18,64	61,27	4,48	14,76	6,63	0,27	0,47	0,36
RADA_M	1,38	1,91	1,45	25,69	0,34	0,50	0,37	0,25	0,26	0,25
RADF_M	2,79	4,19	2,97	92,5	0,40	0,98	0,51	0,14	0,23	0,17
MEXTF_M	8,41	11,73	8,84	87,28	1,04	2,22	1,24	0,12	0,19	0,14
MEXTA_M	5,40	7,72	5,70	42,95	1,09	2,01	1,24	0,20	0,26	0,22
RADM_M	0,63	0,87	0,67	202,79	0,05	0,11	0,06	0,07	0,13	0,09
MYDICK_M	2,27	2,75	2,33	202,79	0,09	0,22	0,12	0,04	0,08	0,05
MYAREA_M	27,39	58,72	31,38	114,08	5,98	24,74	10,25	0,22	0,42	0,33
PM_M	20,82	34,02	22,50	79,46	3,75	10,94	5,18	0,18	0,32	0,23
P2A_M	1,47	1,63	1,49	42,36	0,07	0,17	0,09	0,05	0,10	0,06
P2AA_M	2,32	3,42	2,46	62,98	0,30	1,13	0,49	0,13	0,33	0,20
SUBAF_M	3,66	3,40	3,62	0,3	1,72	0,77	1,64	0,47	0,23	0,45
RADARF_M	3,32	4,75	3,50	86,02	0,42	1,05	0,54	0,13	0,22	0,15
RADARA_M	1,79	2,55	1,88	34,58	0,41	0,71	0,46	0,23	0,28	0,24
EXTF_M	4,21	5,86	4,42	87,28	0,52	1,11	0,62	0,12	0,19	0,14
AF_S	37,22	72,23	41,68	55,19	13,90	29,00	16,47	0,37	0,40	0,40
AA_S	16,19	30,33	17,99	28,05	7,30	18,28	9,33	0,45	0,60	0,52
PF_S	9,64	16,11	10,46	72,66	2,32	4,40	2,66	0,24	0,27	0,25
PA_S	11,27	29,33	13,56	94,86	4,96	13,01	6,48	0,44	0,44	0,48
RADA_S	0,85	1,04	0,87	8,91	0,20	0,39	0,23	0,23	0,38	0,26
RADF_S	1,26	1,93	1,35	45,31	0,31	0,51	0,34	0,25	0,26	0,26
MEXTF_S	3,03	4,54	3,22	43,74	0,74	1,13	0,80	0,24	0,25	0,25
MEXTA_S	2,66	4,37	2,88	63,71	0,66	1,21	0,75	0,25	0,28	0,26
RADM_S	0,22	0,33	0,24	95,07	0,03	0,05	0,04	0,16	0,15	0,16
MYDICK_S	0,45	0,65	0,47	95,07	0,07	0,10	0,07	0,16	0,15	0,16
MYAREA_S	22,27	46,09	25,30	101,66	7,09	14,12	8,26	0,32	0,31	0,33
PM_S	10,07	21,63	11,54	86,4	3,49	8,24	4,35	0,35	0,38	0,38
P2A_S	0,32	0,92	0,40	173,31	0,09	0,39	0,16	0,28	0,43	0,40
P2AA_S	1,29	3,21	1,53	153,7	0,37	1,19	0,54	0,29	0,37	0,35
SUBAF_S	5,00	5,20	5,02	0,02	4,79	5,18	4,83	0,96	1,00	0,96
RADARF_S	1,34	2,01	1,43	42,67	0,33	0,52	0,36	0,25	0,26	0,25
RADARA_S	0,99	1,39	1,04	25,84	0,24	0,48	0,28	0,24	0,34	0,27
EXTF_S	1,52	2,27	1,61	43,74	0,37	0,56	0,40	0,24	0,25	0,25
AF_C	88,36	85,14	87,95	1,21	10,53	7,94	10,25	0,12	0,09	0,12
AA_C	117,99	107,53	116,65	4,37	18,47	7,10	17,50	0,16	0,07	0,15
PF_C	38,28	43,80	38,98	14,32	5,15	4,71	5,10	0,13	0,11	0,13
PA_C	65,83	93,47	69,35	50,58	14,37	4,96	13,59	0,22	0,05	0,20
RADA_C	62,40	53,34	61,25	9,25	10,89	5,90	10,42	0,17	0,11	0,17
RADF_C	44,78	45,86	44,92	0,42	6,13	3,00	5,84	0,14	0,07	0,13
MEXTF_C	35,62	38,42	35,98	3,94	5,11	3,25	4,92	0,14	0,08	0,14
MEXTA_C	50,06	56,49	50,88	4,48	11,23	3,95	10,62	0,22	0,07	0,21
RADM_C	35,04	37,45	35,35	3,79	4,31	4,46	4,33	0,12	0,12	0,12
MYDICK_C	19,59	23,70	20,11	29,4	2,63	2,81	2,65	0,13	0,12	0,13
MYAREA_C	79,85	81,52	80,06	0,36	9,44	11,97	9,78	0,12	0,15	0,12
PM_C	47,30	62,75	49,27	43,86	8,50	4,93	8,15	0,18	0,08	0,17
P2A_C	21,59	54,99	25,84	207,02	5,28	18,54	8,12	0,24	0,34	0,31
P2AA_C	55,02	93,10	59,87	136,49	11,59	9,84	11,39	0,21	0,11	0,19
SUBAF_C	123,55	141,94	125,89	0,55	81,75	115,98	86,59	0,66	0,82	0,69
RADARF_C	39,89	42,08	40,17	1,94	5,77	2,91	5,51	0,14	0,07	0,14
RADARA_C	56,41	53,91	56,09	0,75	10,65	4,06	10,09	0,19	0,08	0,18
EXTF_C	35,62	38,42	35,98	3,94	5,11	3,25	4,92	0,14	0,08	0,14
EXD	29,51	67,20	34,31	149,92	10,72	11,03	10,76	0,36	0,16	0,31

Gruppe *0 = Tiere gesund; *1 = Tier krank; pooled = alle Tiere

Tab. 28: Pearson's Korrelationskoeffizienten der Mittelwerte der gesunden Population

	af_m	aa_m	pf_m	pa_m	rada_m	radf_m	mextf_m
af_m	1,00	0,95	0,98	0,94	0,90	0,98	0,95
aa_m	0,95	1,00	0,92	0,96	0,97	0,96	0,88
pf_m	0,98	0,92	1,00	0,94	0,86	0,94	0,99
rada_m	0,90	0,97	0,86	0,93	1,00	0,95	0,81
radf_m	0,98	0,96	0,94	0,94	0,95	1,00	0,90
mextf_m	0,95	0,88	0,99	0,90	0,81	0,90	1,00
mexta_m	0,91	0,91	0,94	0,96	0,91	0,91	0,93
radm_m	0,35	0,11	0,35	0,09	-0,01	0,26	0,41
mydick_m	0,35	0,11	0,35	0,09	-0,01	0,26	0,41
myarea_m	0,95	0,82	0,94	0,83	0,74	0,90	0,94
	mexta_m	radm_m	mydick_m	myarea_m	pm_m	p2a_m	p2aa_m
af_m	0,91	0,35	0,35	0,95	0,97	-0,07	0,29
aa_m	0,91	0,11	0,11	0,82	0,96	-0,14	0,17
pf_m	0,94	0,35	0,35	0,94	0,98	0,02	0,38
rada_m	0,91	-0,01	-0,01	0,74	0,92	-0,30	0,02
radf_m	0,91	0,26	0,26	0,90	0,96	-0,24	0,19
mextf_m	0,93	0,41	0,41	0,94	0,95	0,05	0,39
mexta_m	1,00	0,13	0,13	0,83	0,97	-0,16	0,33
radm_m	0,13	1,00	1,00	0,56	0,20	0,16	0,27
mydick_m	0,13	1,00	1,00	0,56	0,20	0,16	0,27
myarea_m	0,83	0,56	0,56	1,00	0,89	0,00	0,38
	radarf_m	radara_m	mextf_m				
af_m	0,99	0,92	0,95				
aa_m	0,94	0,97	0,88				
pf_m	0,99	0,91	0,99				
rada_m	0,94	0,99	0,91				
radf_m	1,00	0,98	0,97				
mextf_m	0,99	0,95	1,00				
mexta_m	0,98	0,99	0,98				
radm_m	0,77	0,61	0,80				
mydick_m	0,77	0,61	0,80				
myarea_m	1,00	0,95	0,99				

Tab. 29: Pearson's Korrelationskoeffizienten der Mittelwerte der kranken Population

	af_m	aa_m	pf_m	pa_m	rada_m	radf_m	mextf_m
af_m	1,00	0,99	0,99	0,98	0,95	1,00	0,98
aa_m	0,99	1,00	0,96	0,99	0,98	0,98	0,95
pf_m	0,99	0,96	1,00	0,97	0,92	0,98	0,99
pa_m	0,98	0,99	0,97	1,00	0,96	0,98	0,95
rada_m	0,95	0,98	0,92	0,96	1,00	0,95	0,91
radf_m	1,00	0,98	0,98	0,98	0,95	1,00	0,97
mextf_m	0,98	0,95	0,99	0,95	0,91	0,97	1,00
mexta_m	0,99	0,99	0,99	0,98	0,96	0,98	0,98
radm_m	0,73	0,62	0,76	0,62	0,55	0,75	0,80
mydick_m	0,73	0,62	0,76	0,62	0,55	0,75	0,80
myarea_m	0,99	0,96	0,99	0,96	0,92	0,99	0,99
	Mexta_m	radm_m	mydick_m	myarea_m	pm_m	p2a_m	p2aa_m
af_m	0,99	0,73	0,73	0,99	0,99	-0,47	0,95
aa_m	0,99	0,62	0,62	0,96	0,99	-0,44	0,94
pf_m	0,99	0,76	0,76	0,99	0,99	-0,36	0,94
pa_m	0,98	0,62	0,62	0,96	1,00	-0,40	0,97
rada_m	0,96	0,55	0,55	0,92	0,95	-0,50	0,88
radf_m	0,98	0,75	0,75	0,99	0,98	-0,51	0,94
mextf_m	0,98	0,80	0,80	0,99	0,97	-0,41	0,91
mexta_m	1,00	0,67	0,67	0,97	0,99	-0,39	0,94
radm_m	0,67	1,00	1,00	0,81	0,67	-0,48	0,63
mydick_m	0,67	1,00	1,00	0,81	0,67	-0,48	0,63
myarea_m	0,97	0,81	0,81	1,00	0,97	-0,48	0,93
	Radarf_m	radara_m	mextf_m				
af_m	1,00	0,98	0,98				
aa_m	0,97	1,00	0,95				
pf_m	0,99	0,96	0,99				
pa_m	0,97	0,99	0,95				
rada_m	0,94	0,99	0,91				
radf_m	1,00	0,98	0,97				
mextf_m	0,99	0,95	1,00				
mexta_m	0,98	0,99	0,98				
radm_m	0,77	0,61	0,80				
mydick_m	0,77	0,61	0,80				
myarea_m	1,00	0,95	0,99				

Herrn Prof. Dr. W. Schmahl möchte ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die jederzeit gewährte freundliche Unterstützung danken.

Ein ganz besonderer persönlicher Dank gilt Herrn Dr. K. Matiasek für die hervorragende Betreuung und vor allem für seine geduldige Unterstützung bei der Verwirklichung dieser Doktorarbeit.

Für die Einführung in die Morphometrie und ihr Engagement bei der Realisierung der Bildanalyse und Auswertung möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Dipl.-Inf. P. Gais und Herrn Dr. K. Rodenacker aus der GSF bedanken. Einen besonderen Dank möchte ich hier auch Frau Dipl.-Math. U. Jütting aussprechen, die die statistische Auswertung mit mir durchgeführt hat und mir eine großartige Unterstützung war.

Dem Laborteam vom Institut für Neuropathologie möchte ich für ihre tatkräftige Mithilfe und vor allem für ihre immer aufmunternden Worte danken.

Meinen vielen lieben Eltern und meinem Bruder Manuel danke ich, dass sie mich so liebevoll durch mein Studium und diese Doktorarbeit begleitet haben.

Einen ganz großen Dank an meine Freunde, insbesondere an Penelope, Peter und Tom für ihre grenzenlose Geduld meine Hoch und Tiefs mit mir durchzustehen und auch an Ralf für seine liebe Unterstützung und das zur Verfügung stellen der Hardware.

Dieser gilt auch Peter, der immer ein offenes Ohr für mich hatte, und der es mir ermöglichte mit seiner wunderbar flexiblen Art während der ganzen Zeit als Tierärztin tätig zu sein.