

Aus dem ¹Institut für Anatomie, ²Institut für Signalverarbeitung und Prozessrechenstechnik, ³Institut für Mathematik, ⁴Institut für Pathologie, ⁵Klinik für Neurologie, Universität zu Lübeck, und ⁶Institut für Mathematische Statistik und Versicherungslehre, Universität Bern

Parameterkarten neuronaler Faserprozesse im menschlichen Cortex cerebri

O. Schmitt¹, E. Mecke¹, P. Lau¹, U. Almert¹, S. Bock¹, M. Böhme¹, M. Pakura², T. Aach², L. Hömke³, E. Reusche⁴, W. Heide⁵, D. Kömpf⁵, L. Dümbgen⁶

Zusammenfassung

Es werden die neuesten Ergebnisse der Analysen von Faserprozessen im Bereich des menschlichen motorischen Kortex vorgestellt. Hierzu wurden zahlreiche algorithmische Vorarbeiten durchgeführt, die genauer dargelegt werden. Letztlich wirken die verschiedenen Algorithmen als eine vielgliedrige Kette labortechnischer, bildprozessierender und bildanalytischer Algorithmen. Die ersten Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die gefundenen Parameterverteilungen von neuronalen Faserverteilungen in sich stimmig sind.

Dort, wo viele Nervenfasern vorkommen, detektiert die bildanalytisch gestützte Erfassung von Nervenfasern auch mehr Verzweigungen und intensivere Färbungen bei gleichzeitig geringeren Grauwertvarianzen. Die Grauwertvarianzen nehmen dann entsprechend in den Kortexschichten zu, wo weniger Fasern liegen und das Auswertungsfenster häufiger auf Vordergrund (gefärbte Faser) und Hintergrund (ungefärbter Gewebebereich) stößt.

Mit der von uns erarbeiteten statistischen Auswertung (Exzess-Massen Analyse und lokaler linearer Rangtest) können benutzerunabhängig die in Form von Profilmustern quantifizierten Laminierungsstrukturen in Hinblick auf Inhomogenitäten untersucht werden. Derartige Inhomogenitäten sind Merkmale von Übergangsregionen zwischen unterschiedlichen Großhirnrindenarealen (Transitionsregionen).

Die entwickelte algorithmische Kette soll zur systematischen Untersuchung des präfrontalen motorischen Kortex eingesetzt werden, um im Bereich des Sulcus praecentralis und Sulcus frontalis superior das menschliche frontale Augenfeld statistisch gesichert zu lokalisieren.

Summary

We present recent results of the analysis of fiber processes in the region of the human motor cortex. Different algorithmic procedures have been elaborated that

are described in detail. They work on a chain of laboratory, image processing, image analytical and statistical procedures. The first results of this work are presented and it is shown that the observed distributions or mappings of parameters of nerve fibers are coherent.

In those parts of the cerebral cortex where many fibers are located the fiber analysis algorithm detects more branchings and stronger stainings indicated by low mean gray values. The variances of gray intensities increase in those laminae where the fiber density decreases because the evaluation procedures encounter more often foreground-background transitions in the images. By applying a new statistical analysis (excess-mass-analysis and local linear rank test) we are able to find statistically significant changes in the profile pattern of the cortical lamination. Such changes are features of transition regions in between different cortical areas.

The developed algorithmic chain will be used in the future for the systematic analysis of the premotor cortex around the precentral sulcus and the frontal superior sulcus in order to detect the exact location of the human frontal eye field with an observer independent procedure.

Einführung

Zur benutzerunabhängigen Differenzierung morphologisch unterschiedlicher Areale der menschlichen Gehirnrinde genügt es nicht, nur eine bestimmte histologische Modalität wie z. B. die Verteilung von Neuronen (Zytoarchitektonik) (Sanides 1962) zu untersuchen. Schon Vogt und Vogt (1919) zeigten anhand von Faserdarstellungen, dass die Zytoarchitektonik nicht als Spiegelbild der Faserarchitektonik betrachtet werden kann. Die funktionell relevante und zugleich objektivierende quantitative Untersuchung der menschlichen Gehirnrinde mittels histologischer Kartierungstechniken stellt einen wichtigen Ansatz zum fundamentalen Verständnis beliebiger Architekturmodalitäten (Zyto-, Axo-, Dendro-, Synapto-, Pigment-, Angio-

, Chemo- und Rezeptorarchitektoniken) dar. Derartige Kartierungstechniken (Schleicher und Zilles 1990; Pakura 2002; Schmitt und Böhme 2002) sind nun soweit entwickelt worden, dass sie eingesetzt werden können, um Struktur-Funktions-Beziehungen im menschlichen Cortex cerebri aufzuklären.

Bei der Suche nach den exakten Grenzen des menschlichen frontalen Augenfeldes (FEF: frontal eye field), das nicht wie bei verschiedenen Affenarten in der Area 8 im Sulcus arcuatus (Bruce und Goldberg 1985; Stanton et al. 1989), sondern in der Area 6 (Rasmussen und Penfield 1948; Fox et al. 1985) lokalisiert ist, ist es seit kurzem möglich, neue quantitative Techniken einzusetzen, um benutzerunabhängig und methodenkomplementär signifikante Inhomogenitäten von Neuronen- und Faserverteilungen, insbesondere der Axoarchitektonik, im postmortalen menschlichen Gehirngewebe zu detektieren. Eine exakte räumliche Lokalisation des frontalen Augenfeldes stellt letztlich die entscheidende Voraussetzung für topologisch detaillierte Studien der molekularen Anatomie dieses Zielgebietes dar. Wichtige Hinweise zur Groblokalisation des FEF stammen von Heide et al. (2001), die eine Häufung von Aktivierungen bei sakkadischen Augenbewegungen mittels fMRI-Methodik im Sulcus praecentralis auf der Höhe des Sulcus frontalis superior nachweisen konnten.

In Hinblick auf architektonische Kartierungsstudien ist das FEF in diesem Bereich schwierig zu analysieren,

da die Gehirnrinde hier eine komplexe räumliche, T-förmige Geometrie aufweist (Abb. 1A). Diese führt bei der Untersuchung von Serienschritten immer zu unerwünschten tangentialen Anschnitten des zerebralen Laminierungsmusters. Aus diesem Grunde ist bislang auch noch nicht geklärt, ob sich das frontale Augenfeld (FEF) statistisch von den übrigen nicht-FEF-Gebieten der Area 6 differenzieren lässt. Erste Hinweise von Stanton et al. (1989) und Rosano et al. (2001) sprechen für eine Art Clusterung mittelgroßer bis großer Pyramidenzellen der Lamina V um den Sulcus frontalis superior und Sulcus praecentralis. Gerade derartige diskrete regionale Häufungen weniger Neurone können leicht zu Fehlinterpretationen führen, da ohne entsprechenden Test unklar bleibt, ob ein statistisch signifikanter Unterschied der räumlichen Neuronenverteilung vorliegt oder die scheinbar räumliche Häufung nur zufällig ist (Schmitt et al. 1995, 2000). Daher ist es besonders wichtig, eine quantitative Auswertung dieses Gebietes auszuführen. Die hierzu notwendigen Methoden sollen im Folgenden erläutert und erste Ergebnisse einer interdisziplinär erarbeiteten Algorithmenkette vorgestellt werden.

Material und Methode

Immunhistochemie und Histologie

Das Gehirn einer 48 Jahre alten Verstorbenen ohne neuropathologische Veränderungen, neurologische oder psychiatrische Erkrankungen wurde 9 Stunden post mortem entnommen und für 24 Stunden immersionsfixiert (neutraler Phosphatpuffer, 4 % Paraformaldehyd, 0,9 % NaCl). Nachdem das Gehirn oberflächlich fixiert war, wurde die Zielregion, der Gyrus praefrontalis mit dem Sulcus praecentralis und dem Gyrus centralis als Block präpariert und in dem gleichen Fixans für weitere 48 Stunden fixiert. Hiernach wurde der fixierte Gewebblock von der pialen Oberfläche zur Rinden-Mark-Grenze seriell mit einem Vibratom geschnitten. Die Schnittrichtung verlief in parallelen Ebenen von der lateralen Konvexität des Gehirns in Richtung medialer Oberfläche bzw. Interhemisphärenspalt. Die Schnitte wurden „etagenweise“ gesammelt, um eine räumliche Zuordnung zu ermöglichen. Die 50 µm dicken Vibratomschnitte wurden bei 4°C gelagert und mit der von uns modifizierten Tyramid-basierten amplifizierenden Immunhistochemie weiter bearbeitet (Preuß 2001). In jeder Etage wurden die Vibratomschnitte mit Antikörpern gegen SMI-32, SMI-312, Tyrosinhydroxylase, Acetylcholinesterase und Parvalbumin inkubiert.

Ein zweites Gehirn von einer 81-jährigen Körperspenderin wurde 6 Stunden post mortem entnommen und in dem Fixans nach Somogyi (Somogyi und Takagi 1982) fixiert. Die Übergangsregion von Area 4 (primär moto-

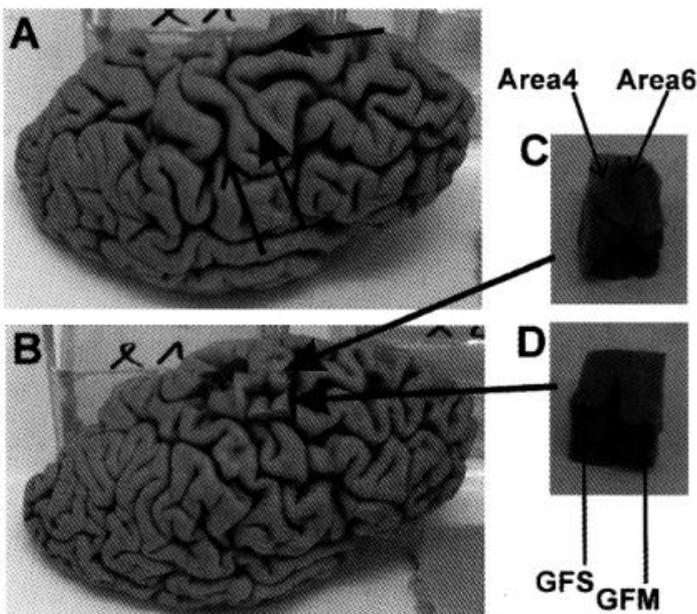


Abb. 1: Präparation des Gewebblockes für die Axoarchitektonik. Die rechte Bildseite von A und B weist nach rostral. In A zeigt der obere gefüllte Pfeil in den Sulcus frontalis superior, der untere gefüllte Pfeil in den Sulcus praefrontalis. Der Kreis in A umspannt die T-förmige ROI. Der offene Pfeil liegt im Sulcus centralis. Der präparierte Block ist in B zu sehen und wurde in C und D von zwei Seiten fotografiert. GFS: Gyrus frontalis superior, GFM: Gyrus frontalis medius.

rischer Kortex) zu Area 6 (praemotorischer Kortex) wurde als Block präpariert und in Paraffin eingebettet (Abb. 1). Die Axoarchitektonik wurde mit der Methode nach Naoumenko und Feigin (1967) an 20 µm dicken Paraffinschnitten visualisiert.

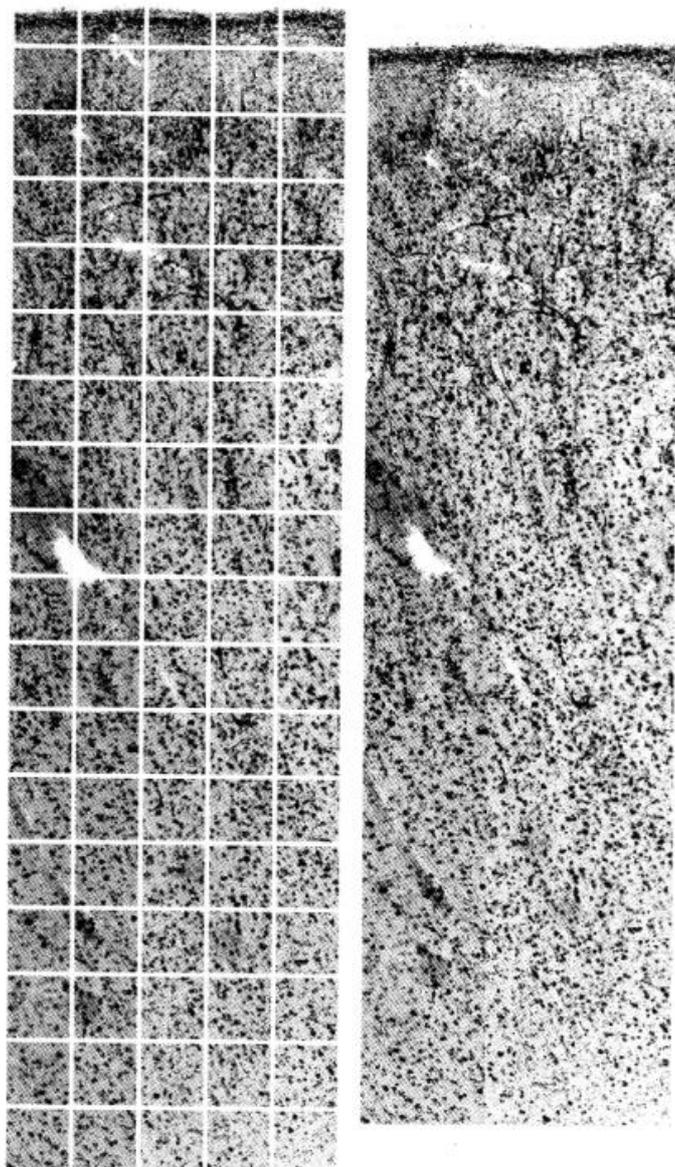


Abb. 2: Das Bildmosaik auf der rechten Seite ist aus den Bildkacheln (tiles) der linken Seite zusammengesetzt. Die Bildkacheln sind jeweils 512 x 512 Pixel groß. Hier wurden b-nos-immunreaktive Perikaryen und Fasern im primären motorischen Kortex nachgewiesen.

Digitalisierung und Mosaik-Generierung

Sowohl die immunreaktiven als auch die histologischen Präparate, in denen die Axoarchitektonik sichtbar gemacht wurde, lassen sich mit einem motorisierten Videomikroskop digitalisieren (Schmitt und Eggers 1999). Hierzu wird eine „region of interest“ (ROI) im Präparat festgelegt, welche dann anschließend mäanderförmig von einem Videomikroskop bei 660-facher Bildschirmvergrößerung (25x Objektiv, Optovar 1,25)

bzw. einer Pixelkantenauflösung von 0,503 µm abgetastet wurde. Hierbei wurde besonders darauf geachtet, projektiv bedingte Illuminationsinhomogenitäten mittels Subtraktion mit einem Tiefpass-gefilterten Leerbild auszugleichen. Nach jeder Neueinstellung eines „field of view“ (FOV) führte das System eine Autofokussierung durch, die robust gegenüber Mikrofaltenbildungen, Gewebeausrissen und ähnlichen Artefakten ist (Schmitt 2001).

Die Einzelbilder (tiles oder Bildkacheln) werden dann mit einem Programm (Linux 7.3, Matlab 6.0) zu einem Mosaik zusammengesetzt, was auch als *Mosaicing* bezeichnet wird (Abb. 2, 3). Die Bildmosaik können aus den Originalbildern aufgebaut werden oder es kann eine GLI-Transformation (gray level index) durchgeführt werden, mit welcher sich die Fläche des Vordergrundsignals kartieren lässt (Abb. 3). Diese Transformation hat bei bestimmten Fragestellungen den Vorteil, dass das Rauschen und Färbetrends reduziert werden.

Faserprozesse

Nicht nur unmittelbar sichtbare Verteilungen von Strukturen wie z. B. Nervenzellkörper oder Axone lassen sich zu Bildmosaikern montieren. Auch Parameter eines Bildes oder Bildsegmentes lassen sich topologisch exakt in einem Mosaikbild eintragen. „Topologisch exakt“ bedeutet in diesem Zusammenhang, dass in dem Originalbild eine Messung, z. B. der Länge einer Nervenfasers, vorgenommen wird und dieser Wert als Pixelintensität kodiert an die entsprechende Position in einem Parameterbild bzw. in eine Parameterkarte eingetragen wird.

Um die Axone der Naoumenko-Feigin-Färbung, sowie die Axone, die Azetylcholinesterase-immunreaktiv sind, zu quantifizieren, wurden folgende morphometrische Parameter bestimmt: Länge, Orientierung, Anzahl, Verzweigungen, Fläche und Rauigkeit (fraktale Dimension) sowie densitometrische Parameter: Grauwertmittel und Grauwertvarianz.

Traversengenerierung

Die Gehirnrinde lässt sich nun in den erzeugten Mosaiken mit einem nicht-linearen auf der Elektrodynamik basierenden Ansatz abtasten (Schmitt und Böhme 2002). Hierzu muss der Benutzer die piale Oberfläche und die Rindenmarkgrenze über dem Gebiet einzeichnen, über welchem später die senkrecht zur Laminierung der Zyto- oder Axoarchitektonik verlaufenden Testlinien erzeugt werden sollen (Abb. 4). Diese Testlinien werden auch als *Traversen* bezeichnet. Zwischen dem außen auf der pialen Oberfläche und dem innen an der Rinden-Mark-Grenze definierten Linienzug, welchen jeweils entgegengesetzte Ladungen, in Anlehnung an das zugrundeliegende physikalische Model,

zugeordnet sind, wandert eine Testladung in dem elektrischen Feld. Der Weg dieser Testladung entspricht dann dem Pfad einer Traverse. Zwischen Start- und

Zielpunkt kann anstelle der Kurve, wie hier durchgeführt, auch eine gerade Verbindungslinie gezogen werden (Abb. 5), so dass eine lineare Testlinie bzw. Traver-

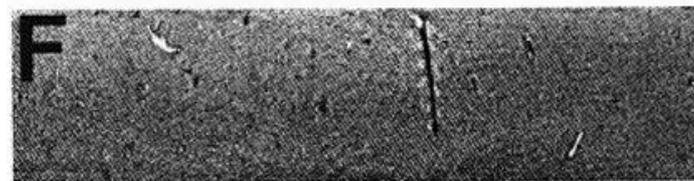
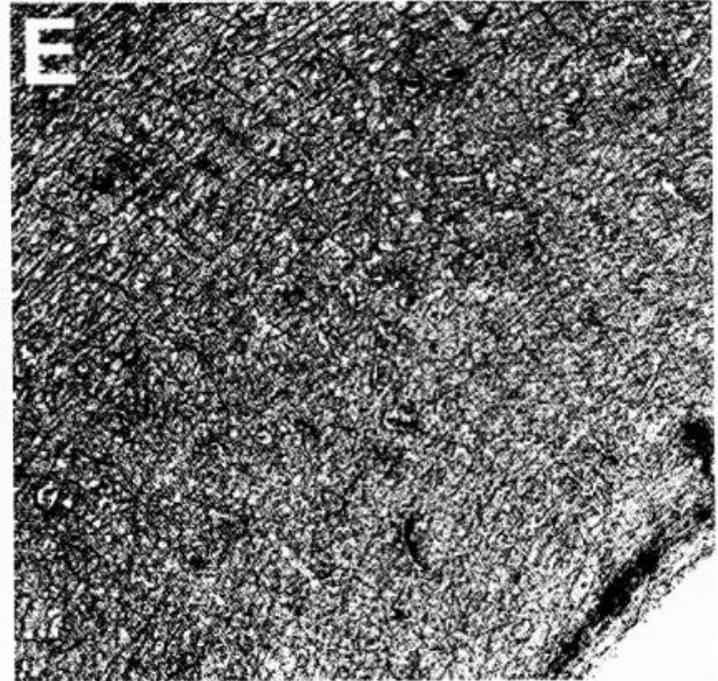
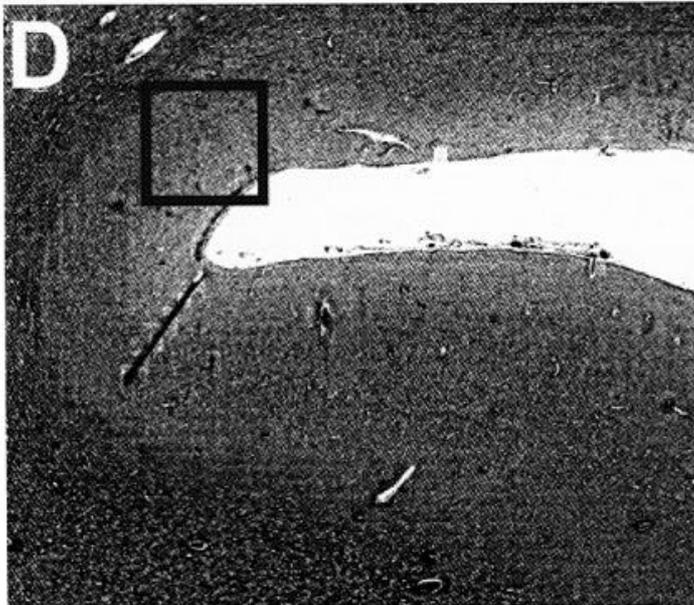
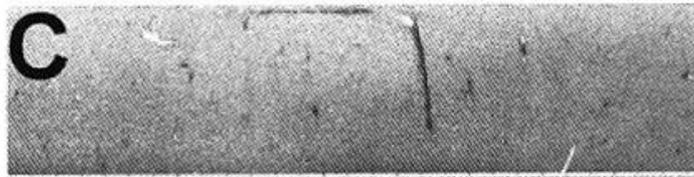
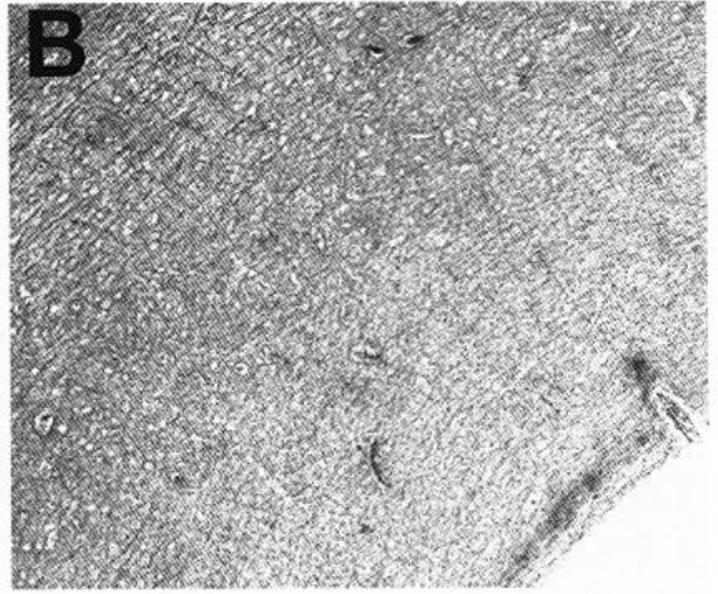
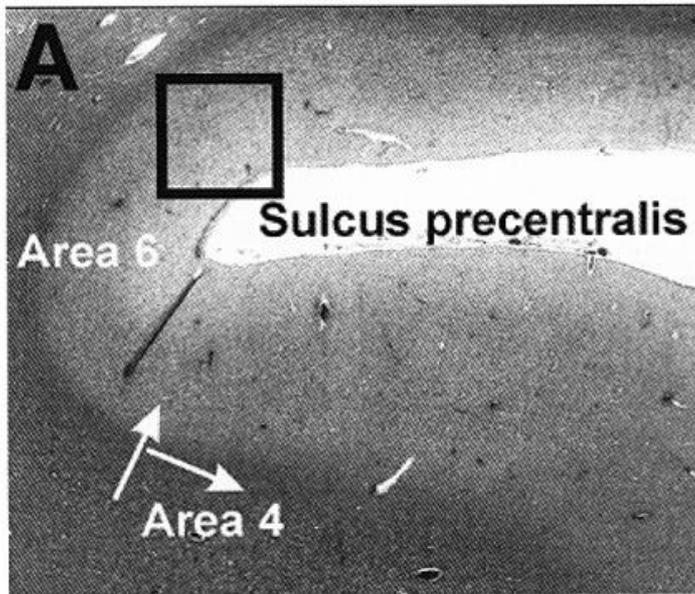


Abb. 3: Ein Bildmosaik (A) von einem Paraffinschnitt (Schnitt aus der Perspektive von Abb. 1 c), in dem die Axoarchitektonik mit der Naoumenko-Feigin-Methode dargestellt wurde. Das Rechteck in A ist höher aufgelöst in B wiedergegeben, um zu zeigen, dass einzelne Axone erfasst worden sind. Das Bildmosaik lässt sich derart vorbereiten, dass die Flächenäquivalente (GLI) in einem GLI-Mosaik (D) kartiert werden. In C und F sind die entsprechenden Profilverfelder gezeigt. Die Falte in A und D wird in dem Profilverfeld (F) wieder abgebildet.

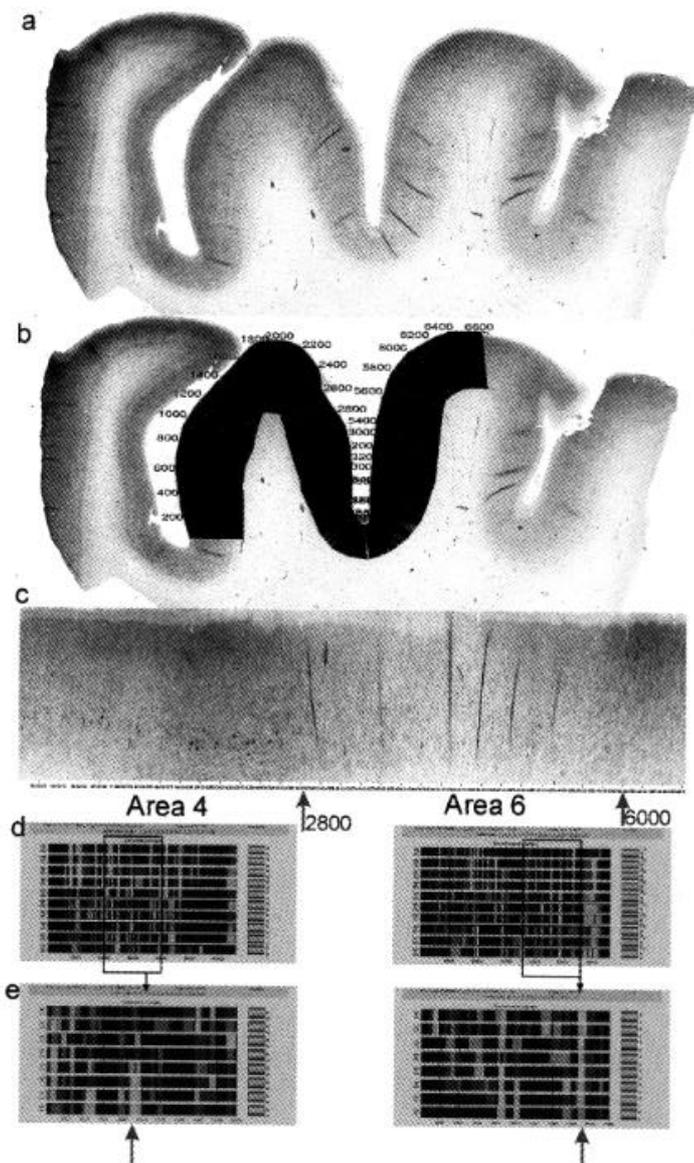


Abb. 4: Ein stark gewundener Gehirnrindenabschnitt (a) von Area 4 bis Area 6 wurde hier abgetastet. Der Traversengenerator erzeugt orthogonale Testlinien (Traversen) (b), unter denen die Grauwerte des Bildes erfasst und in einem Profil eingetragen wurden. Alle 6600 Profile wurden dann in einem Profelfeld (c) zusammengefasst und mittels Exzess-Massen-Analyse ausgewertet. Die Transitionsregion von Area 4 nach Area 6 wurde von dem lokalen linearen Rangtest exakt an der Profilposition 2800 (d, e) benutzerunabhängig und statistisch signifikant detektiert.

se resultiert. Dieser Ansatz zur robusten Abtastung von nicht-linear verlaufenden Strukturen, wie den stark gewundenen menschlichen Cortex cerebri, besitzt u. a. den Vorteil, dass er auch direkt in drei Dimensionen angewendet werden kann. Unter den Traversen können die Grauwerte oder als Grauwerte transformierte und kartierte Parameter wie z. B. Anzahl, Länge etc. (s.o.) erfasst werden.

Die Grauwerte unter den Traversen werden für jede Traverse in ein Profil eingetragen. Diese Profile wer-

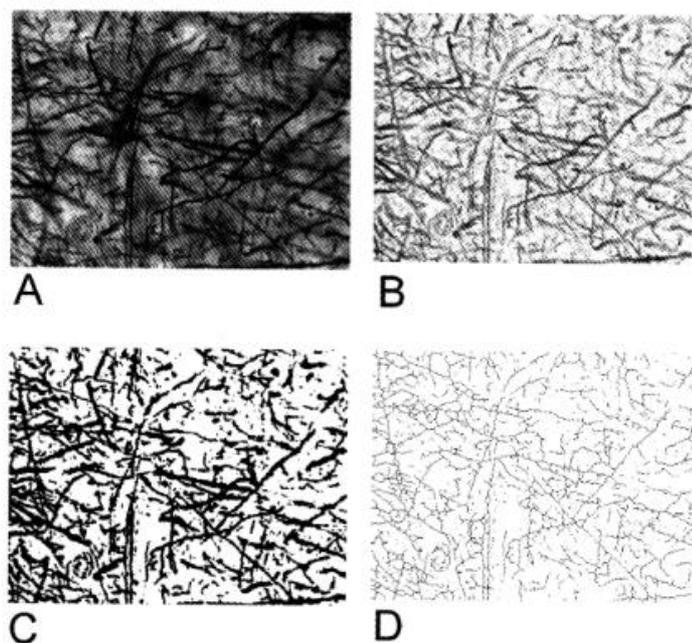


Abb. 5: Die Vorverarbeitung eines Bildes für die Faserquantifizierung erfolgt über drei Hauptprozeduren, deren Effekte hier wiedergegeben sind. A: Originalbild einer Naoumenko-Feigin-Färbung von Axonen. B: Top-Hat-transformiertes Bild. C: Otsu segmentiertes Bild. D: skelettiertes Bild.

den hintereinander in einem Profilararray zusammengefasst und können dann statistisch ausgewertet werden.

Exzess-Massen-Analyse

Diese Auswertung sucht nun in dem Profelfeld nach statistisch signifikanten Änderungen in den Profilssequenzen (Abb. 5). Die Werte, die mittels des lokalen linearen Rangtests (Dümbgen 2002) untersucht werden, sind die sog. Exzess-Massen (Müller und Sawitzki 1991). Diese werden auf unterschiedlichen Niveaus in den Profilen berechnet und sind Flächen unter den Profilen. Dieser Ansatz erwies sich als geeigneter als eine Auswertung von statistischen Momenten der Profile (Schleicher et al. 1999a, b), in welcher die eigentlichen quantitativen Charakteristika, die Abfolge von Strukturzunahme und Strukturabnahme sowie die kortikale Laminierung nicht mehr berücksichtigt wird.

Hierzu müssen die Originalbilder bildanalytisch verarbeitet werden (Abb. 4). Zunächst werden die schlanken und dunklen Vordergrundinformationen (Axone) mit einer Top-Hat-Transformation (Dougherty 1992) verstärkt. Aus dem Top-Hattransformierten Bild wird mit einem konditionierten (Pakura 2002) Otsu Segmentierer (Otsu 1979) ein Binärbild erzeugt. Dieses dient zum einen als Maskenbild zur Bestimmung der densitometrischen Parameter, zum anderen zur Berechnung der Faserflächen. Das Binärbild wird nun noch skelettiert. Die durch die optische Projektion übereinander gelagerten Fasern werden schließlich „entflochten“, so

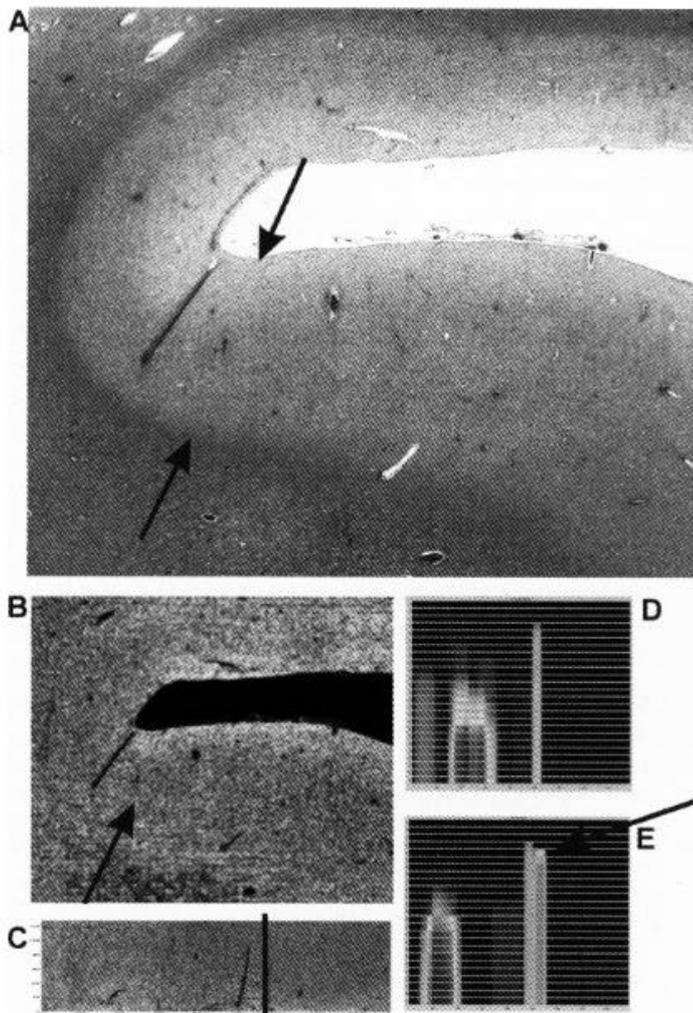


Abb. 6: In dem Axoarchitektonikmosaik (A) wurde u.a. die Anzahl der Axone bestimmt und in der Parameterkarte (B) eingetragen. Diese Parameterkarte wurde dann mit dem Traversengenerator abgetastet, ein Profelfeld (C) erzeugt und anschließend mit der Exzess-Massen-Methode auf signifikante Massenänderungen (D, E) untersucht. Mit den Pfeilen sind in A und B die Transitionsbereiche von Area 6 zu Area 4 markiert. Genau dieser Bereich wurde in der Exzess-Massen-Analyse gefunden. Der Pfeil zeigt auf den signifikanten Sprung in E, der an der entsprechenden Stelle im Profelfeld (C) mit einem schwarzen Balken markiert wurde.

dass morphologisch unmögliche zirkuläre Verläufe von Fasern aufgelöst werden. In den resultierenden Bildern werden dann die übrigen Parameter bestimmt und in die Parameterkarten eingetragen (Abb. 6, 7).

Ergebnisse

Ein Mosaik der Axoarchitektonik ist in Abb. 6 zu sehen. Die Transitionsregion von Area 4 zu Area 6 wurde in der Parameterkarte der lokalen Häufigkeiten von Axonen von der Exzess-Massen-Analyse detektiert. In diesem Bereich wurde eine statistisch signifikante Zunahme von Laminierungsstruktur der lokalen Axon-Häufigkeiten gefunden.

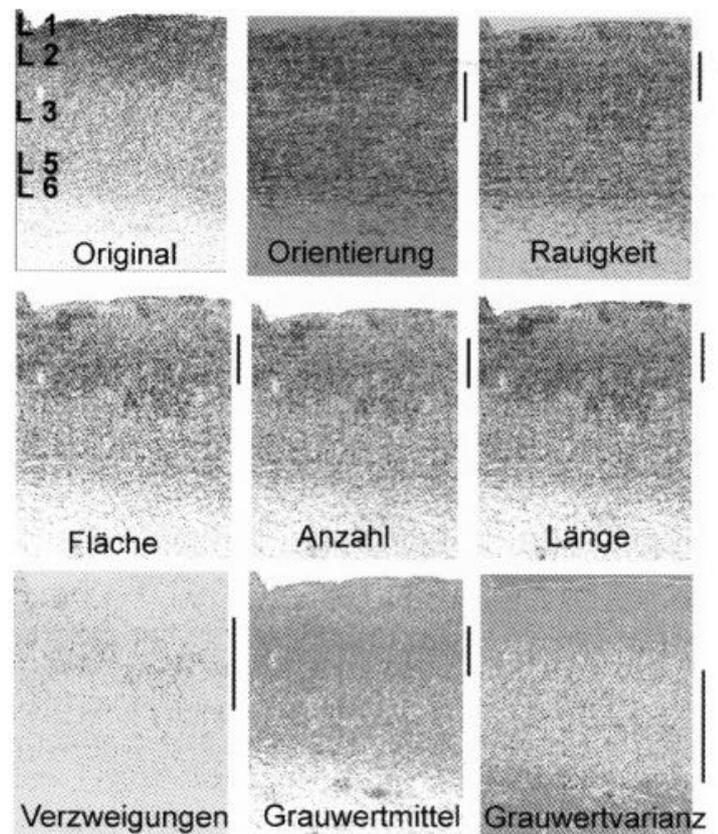


Abb. 7: Faseranalyse eines immunhistochemischen Nachweises von ACHE in der Area 4. Im Originalbild sind die Laminae nummeriert. Die Bereiche, in denen deutlichere Veränderungen zu erkennen sind, wurden mit einem Balken gekennzeichnet.

In einer weiteren Untersuchung wurden sämtliche morphometrischen und densitometrischen Parameter der Faseranalyse auf Grund ihrer Immunreaktion gegen ACHE berechnet und kartiert (Abb. 7). Die ACHE-immunreaktiven Fasern sind im oberen Teil von L3 (L: Lamina) senkrechter orientiert (s. Balkenmarkierung) als in L1 und L2. In den oberen beiden Laminae sind die Fasern am deutlichsten horizontal orientiert (niedrige Winkel: 0-45°). In Laminae 5 und 6 scheint es mehr schräg verlaufende Fasern zu geben.

In L2, der äußeren Körnerschicht, scheinen die Fasern eher geschlängelte Verläufe um die zahlreichen kleinen Körnerzellen zu nehmen. Dies spiegelt sich unmittelbar in einer Zunahme der fraktalen Dimension bzw. Rauigkeit der Fasern wieder. Die lokalen Flächen, -anzahlen- und -längen-Verteilungen ähneln sich. In Laminae 1 und 2 sind diese Werte deutlich höher als in Lamina 3, während sie in Laminae 5 und 6 wieder etwas zunehmen (dunkle Grauwerte).

Genau dort, wo die lokalen ACHE-immunreaktiven Faserflächen, -anzahlen und -längen größer sind, finden sich auch mehr Verzweigungen (dunkle Grauwerte). In diesem Bereich sind ebenfalls die lokalen mittleren Grauwerte erhöht. Passend zu diesem Befund finden sich in den Laminae 3 bis 6 erhöhte Schwankungen bzw. Varianzen der Grauwerte.

Diskussion

Die vorgestellten Ergebnisse sind erste Beobachtungen, die sich aus der quantitativen Analyse von menschlichen Gehirnrindenarealen ergeben haben und denen eine längere Algorithmenkette zugrunde liegt. In den vorliegenden Kartierungen lässt sich bereits eine stimmige Logik der Verteilungsmuster bestimmter morphometrischer und densitometrischer Parameter beobachten. Somit scheint dieser Ansatz vielversprechend, so dass in künftigen Untersuchungen die Areae 4 und 6 hinsichtlich der Axoarchitektonik und der Verteilung von immunreaktiven Fasern systematisch untersucht werden können.

Da die Exzess-Massen-Analyse durch systematische Fehler wie Verstärkung von Vignettierungseffekten bei der Mosaikbildung relativ wenig beeinflusst wird, stellen Streifenbildungen (Abb. 6B; Abb. 7 Rauigkeit) in den Parameterkartierungen grundsätzlich kein Problem dar. Trotzdem wird derzeit noch an retrospektiven Korrekturen von Illuminationsinhomogenitäten (a posteriori shading correction) gearbeitet (Likar 2000), um auch diese Effekte zu eliminieren.

Die Parameterkartierungen und Exzess-Massen-Statistiken werden alle mit farbigen look up tables generiert, die hier nicht wiedergegeben werden konnten, so dass in den Originalbildern stärkere Kontraste sichtbar sind. Aber auch hier wird z. Zt. noch an einer selektiven Verstärkung von Kontrasten gearbeitet, um genau den zentralen Abschnitt der Häufigkeitsbereiche der entsprechenden morphometrierten Parameter über den größten Bereich einer Intensitätskodierung bzw. look up table abzubilden.

Die vorliegenden Auswertungen können im Prinzip auch in hochauflösten 3D-Rekonstruktionen durchgeführt werden, für welche jedoch zuvor die Bildmosaik von aufeinanderfolgenden Schnitten zueinander ausgerichtet werden müssen (Registrierung) (Schmitt und Modersitzki 2001). Allerdings müssten hierzu sehr große Datenmengen behandelt werden. Dies ist deswegen notwendig, da einzelne Zellen und Fasern detektierbar bleiben müssen, um die oben genannten Parameter zu bestimmen. Da jedoch große Bilder bezüglich affin-linearer und erst recht nicht linearer Registrierungen „unangenehme“ Eigenschaften besitzen, wird man hier derzeit noch an Berechnungsgrenzen stoßen. Das Bildmosaik der Axoarchitektonik besteht beispielsweise aus 49 x 42 Bildkacheln der Größe 512 x 512 Pixel. Das Bildmosaik ist in dieser Originalauflösung dann ca. 5.4×10^7 Pixel groß. In dem resultierenden Gleichungssystem einer elastischen Registrierung zweier benachbarter Schnitte dieser Größe müssen dann $(2 \times n^2)^2$ bzw. ca. 3.4×10^{35} Unbekannte bestimmt werden (Modersitzki et al. 1999). Sinnvoller wäre es somit, die Parameterkarten zu registrieren und

3D-Rekonstruktionen anzufertigen, um eine Vorstellung von der dreidimensionalen Verteilung dieser grundlegenden Größen von Nervenfasern zu bekommen.

Literatur

1. Bruce CJ, Goldberg ME (1985) Primate frontal eye fields: I. Single neurons discharging before saccades. *J Neurophysiol* 53: 603-635
2. Dümbgen L (2002) Application of local rank tests to nonparametric regression. *J Nonparam Stat*, im Druck
3. Dougherty ER (1992) *Mathematical morphology in image processing*. Marcel Dekker, New York
4. Fox PT, Fox JM, Raichle ME, Burde RM (1985) The role of the cerebral cortex in the generation of voluntary saccades: A positron emission tomographic study. *J Neurophysiol* 54: 348-369
5. Heide W, Binkofski F, Seitz RJ, Posse S, Nitschke MF, Freund HJ, Kömpf D (2001) Activation of frontoparietal cortices during memorized triple-step sequences of saccadic eye movements: an fMRI study. *Eur J Neurosci* 13:1177-1189
6. Likar B (2000) Registration and restoration of medical images. PhD Thesis, Utrecht University, Medical Faculty
7. Modersitzki J, Obelöer W, Schmitt O, Lustig G (1999) Elastic matching of very large digital images on high performance clusters. *LNCS* 1593: 141-149
8. Modersitzki J, Schmitt O (2001) Effiziente, nicht-lineare Registrierung eines histologischen Serienschnittes durch das menschliche Gehirn. Workshop Bildverarbeitung in der medizin (BVM 2001), Informatik aktuell, 179-183
9. Müller DW, Sawitzki G (1991) Excess mass estimates and tests for multimodality. *JASA* 86: 738-746
10. Naoumenko J, Feigin K (1967) A stable silver solution for axon staining in paraffin sections. *J Neuropath Exp Neurol* 26: 669-673
11. Otsu N (1979) A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Trans Systems, Man Cyb* 9: 62-66
12. Pakura M (2002) Erfassung und Kartierung von Nervenfasern in histologischen Schnittbildern mittels bildverarbeitender Methoden. Diplom-Arbeit, Institut für Signalverarbeitung und Prozessrechenstechnik, Institut für Anatomie, Universität zu Lübeck
13. Preuß S (2001) Quantitative Immunhistochemie am humanen Cortex cerebri. Darstellung ausgewählter Transmittersysteme der primären somatosensorischen und somatomotorischen Kortexareale. Dissertation, Medizinische Universität zu Lübeck
14. Rasmussen T, Penfield W (1948) Movement of head and eyes from stimulation of human frontal cortex. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 27: 346-361
15. Rosano C, Sweeney JA, Melchitzky DS, Lewis DA (2001) Cytoarchitecture of the human precentral sulcus. *Proc Soc Neurosci*, 31st Annual Meeting, San Diego
16. Somogyi P, Takagi H (1982) A note on the use of picric acid - paraformaldehyd glutaraldehyd fixative for correlated light and electron microscopic immunohistochemistry. *Neurosci* 7: 1779-1783

17. Sanides F (1962) Die Architektur des menschlichen Stirnhirns. Monographien aus dem Gesamtgebiet der Neurologie und Psychiatrie Nr. 98. Springer, Berlin
18. Schleicher A, Amunts K, Geyer S, Kowalski T, Schormann T, Palomero-Gallagher N, Zilles K (1999a) Observer-independent cytoarchitectonic mapping of the human cortical architecture: identification and delineation of cortical areas. *J Chem Neuroanat* 20:31-47
19. Schleicher A, Amunts K, Geyer S, Kowalski T, Zilles K (1999b) Observer-independent method for microstructural parcellation of cerebral cortex: a quantitative approach to cytoarchitectonics. *NeuroImage* 8: 165-177
20. Schleicher A, Zilles K (1990) A quantitative approach to cytoarchitectonics: analysis of structural inhomogeneities in nervous tissue using an image analyser. *J Microsc* 157: 367-381
21. Schmitt O, Eggers R, Haug H (1995) Quantitative investigations into the histostructural nature of the human putamen. II. The differentiated topological distribution of certain neuron type arrangements. *Ann Anat* 177: 455-465
22. Schmitt O, Eggers R (1999) Flat-bed scanning as a tool for quantitative neuroimaging. *J Microsc* 196: 337-346
23. Schmitt O, Eggers R, Haug H (2000) Topological distribution of different types of neurons in the human putamen. *Anal Quant Cytol Histol* 22: 155-167
24. Schmitt O (2001) Die multimodale Architektur des menschlichen Gehirns. Habilitationsschrift, Medizinische Universität zu Lübeck
25. Schmitt O, Modersitzki J (2001) Registrierung einer hochaufgelösten histologischen Schnittserie eines Rattenhirns. Workshop Bildverarbeitung in der Medizin (BVM 2001), Informatik aktuell, 174-178
26. Schmitt O, Böhme M (2002) A robust transcortical profile scanner for generating 2D-traverses in histological sections of rich curved cortical courses. *NeuroImage*, im Druck
27. Stanton GB, Deng S-Y, Goldberg ME, McMullen NT (1989) Cytoarchitectural characteristic of the frontal eye fields in macaque monkeys. *J Comp Neurol* 282: 415-427.
28. Vogt C, Vogt O (1919) Allgemeinere Ergebnisse unserer Hirnforschung. *J Psych Neurol* 25: 279-462

FOCUS MUL

Zeitschrift für Wissenschaft, Forschung und Lehre an der Universität zu Lübeck

Herausgeber: Das Rektorat der Universität zu Lübeck

Schriftleitung: H.-P. Bruch, W. Kühnel, Th. Martinetz, H.H. Wolff

Wissenschaftlicher Beirat: T. Aach, H. Arnold, R. Birngruber, S. Bulfone-Paus, K. Diedrich, H. v. Domarus, P. Dominiak, W. Dosch, D. v. Engelhardt, H. L. Fehm, A. Ch. Feller, W. Gross, H. Halsband, E. Hartmann, M. Herczeg, D. Hogrefe, F. Hohagen, W. Jelkmann, D. Jocham, H. A. Katus, R. Kessel, H. Kirchner, U. Knölker, D. Kömpf, E. Konecny, H. Laqua, V. Linnemann, J. Löhr, E. Maehle, P. Müller, D. O. Nutzinger, M. Oehmichen, Th. Peters, S. Pöpl, J. Prestin, H.-H. Raspe, K. R. Reischuk, E. Richter, E.-Th. Rietschel, G. Schäfer, F. Schmielau, P. Schmucker, E. Schwinger, G. Sczakiel, H. H. Sievers, W. Solbach, A.X. Trautwein, H. Weerda, H. D. Weiss, J. Westermann, H. H. Wolff, P. Zabel (alle Medizinische Universität zu Lübeck)

Redaktion: R. Labahn, Telefon (04 51) 5 00 30 04

Anschrift: Universität zu Lübeck, Ratzeburger Allee 160, D-23562 Lübeck

Auflage: 5.000 Exemplare

Verlag: Hansisches Verlagskontor Heinz Scheffler, Mengstraße 16, D-23552 Lübeck, Telefon (04 51) 70 31-01

Anzeigen: Hansisches Verlagskontor H. Scheffler, Christiane Kermel

Druck: Verlag Schmidt-Römhild KG, Mengstraße 16, 23552 Lübeck, Telefon (04 51) 70 31-01

Erscheinen: FOCUS MUL erscheint vierteljährlich

Redaktionsschluß: 6 Wochen vorher

Bezugspreis: Einzelheft DM 18,-/€ 9,20, Jahresabonnement DM 70,-/€ 35,79 zuzügl. Versandkosten. In den Mitgliedsbeiträgen der Gesellschaft der Freunde und Förderer der Universität zu Lübeck enthalten

ISSN 0940-9998