



Kristina-Stefanie Grohmann

INAUGURAL-DISSERTATION zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Vergleich der diffusionsgewichteten Magnetresonanztomographie und pathohistologischer Untersuchung degenerativer Rückenmarkserkrankungen am Beispiel der degenerativen Myelopathie



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2013

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2013

© 2013 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin
Klinik für Kleintiere, Chirurgie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer

**Vergleich der diffusionsgewichteten
Magnetresonanztomographie und pathohistologischer
Untersuchung degenerativer Rückenmarkserkrankungen
am Beispiel der degenerativen Myelopathie**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Kristina-Stefanie Grohmann

Tierärztin aus Düsseldorf

Gießen 2012

Mit der Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer

Gutachter:

Vorsitzender und 1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer

2. Gutachter: Prof. Dr. S. Wenisch

Prüfer: Prof. Dr. C. Herden

Tag der Disputation: 29.01.2013

Meiner Familie gewidmet

1	Einleitung	1
2	Anatomische und physiologische Grundlagen	3
2.1	Anatomie des Rückenmarks	3
2.1.1	Äußerer Aufbau	3
2.1.2	Innerer Aufbau	4
2.1.3.1	Histologischer Feinbau	6
2.1.3.2	Graue Substanz	7
2.1.3.3	Weißer Substanz	7
2.2	Physiologie der Motorik	9
3	Degeneration von Nervenfasern	11
3.1	Wallersche Degeneration	11
3.2	Dying back-primäre axonale Degeneration	12
3.3	Sphäroide	13
3.4	Demyelinisierung	14
3.5	Neuronopathie	14
3.6.1	Veränderungen bei der degenerativen Myelopathie	15
3.6.2	Histopathologisch und nominell vergleichbare Erkrankungen anderer Hunderassen	15
4	Literaturübersicht	18
4.	Degenerative Myelopathie	18
5	Grundlagen der Magnetresonanztomographie	22
5.1	Physikalische Grundlagen	22
5.1.1	Spin Phänomene	22
5.1.2	Longitudinale Relaxation T1	23
5.1.3	Transversale Relaxation T2 und T2*	24
5.2	Diffusionsgewichtete Bildgebung	25
5.2.1	Freie Diffusion	25
5.2.2	Begrenzte Diffusion	25
5.2.3	Stejskal-Tanner Sequenz	26
5.2.4	Apparent diffusion coefficient (ADC)	27
5.2.5	Diffusions-Tensorbildung (DTI)	29
5.2.6	Fixation und DWI	29
6	Material und Methoden	31
6.1	Gerätebeschreibung	31
6.2	Sequenzen	31
6.3.1	Untersuchungsmaterial	32
6.3.2	Gewinnung und Aufbereitung der Proben	33
6.4	Bildauswertung	35
6.5	Pathologische-histologische Untersuchung	36

7	Ergebnisse	38
7.1.1	Magnetresonanztomographische Untersuchung und pathohistologische Auswertung der klinischen für degenerative Myelopathie (DM) verdächtigen Tiere der Gruppe 1	38
7.1.2	Magnetresonanztomographische und pathohistologische Auswertung der klinischen Kontrollgruppe	47
8	Diskussion	53
9	Zusammenfassung	68
10	Summary	70
11	Literaturverzeichnis	71
12	Anhang	94

Abkürzungsverzeichnis

ADC	apparent diffusion coefficient
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
DM	Degenerative Myelopathie
Dipl. ECVN	Diplomate des European College of Neurology
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DTI	Diffusion tensor imaging
DWI	Diffusion weighted imaging
FOV	Field of View
HE	Hämatoxilin Eosin
m	Meter
M	Musculus
MRT	Magnetresonanztomographie
N	Nervus
Nn.	Nervi
OMN	Oberes motorisches Neuron
RM	Rückenmark
SOD	Superoxiddismutase
T1	T1-Relaxationszeit
T2	T2-Relaxationszeit
Tract.	Tractus
TE	Time of Echo (Echozeit)
TR	Time of Repetition (Repetitionszeit)
UMN	Unteres motorisches Neuron
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentralnervensystem

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1	Schematische Darstellung eines Rückenmarksquerschnittes	5
Abbildung 2	Schematische Darstellung der Leitungsbahnen des Rückenmarks	8
Abbildung 3	Schema der Tjeskal-Tanner Sequenz	26
Abbildung 4	Vergleich einer Kleinhirnläsion mittels T2, diffusionsgewichteter Bildgebung und eines errechneten ADC	28
Tabelle 1	Übersicht über Rasse, Alter, Geschlecht und klinischen Status der Tiere der Studie	33
Abbildung 5	Untersuchungsbox	34
Abbildung 6	Vergleich eines hypointensen und eines hyperintensen Präparates in der DWI	36
Abbildung 7	Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 1	38
Abbildung 8	Hämatoxilin-Eosin Färbung eines Rückenmarkslängsschnittes	39
Abbildung 9	HE und Luxol Echtblau Färbung bei einem Rückenmarksquerschnitt	40
Abbildung 10	Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 2	41
Abbildung 11	Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 3	42
Abbildung 12	Bielschowsky Färbung eines Rückenmarkslängsschnittes	43
Abbildung 13	Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 4	44
Abbildung 14	Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 5	45
Abbildung 15	Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 6	46
Abbildung 16	Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 2: Kontrolltier I	48
Abbildung 17	Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 2: Kontrolltier II	49
Abbildung 18	Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 2: Kontrolltier III	50
Abbildung 19	Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 2: Kontrolltier IV	51
Tabelle 2	Tabellarische Darstellung der Pathohistologie der Proben	52
Abbildung 20	Schematische Darstellung eines Nervs und der möglichen Diffusionsrichtungen	54

Abbildung 21	Vergleich zwischen einer Bielschowsky Färbung und einer diffusionsgewichteten Sequenz	55
Abbildung 22	Schematische Darstellung eines Axons	57
Abbildung 23	Einfluss des Proteingehaltes auf die DWI	58
Abbildung 24	Schematische Darstellung der Diffusivität	60
Abbildung 25	Schema der Diffusion bei einer Axonschädigung	61
Abbildung 26	Schema des Partialvolumenartefakts	62
Abbildung 27	Diskontinuierliche Veränderungen	63
Abbildung 28	Hyperintensität des Rückenmarks	65

1 Einleitung

Die degenerative Myelopathie (DM) der großen Hunderassen wurde in der Tiermedizin erstmals Ende der sechziger Jahre von MORGAN (1969) beschrieben. In den folgenden Jahrzehnten stellten zahlreiche Autoren die klinische Symptomatik einer progressiven Hinterhandschwäche mit einer Hyperreflexie der Hintergliedmaßen, welche im Laufe der Zeit in eine Hypo- bis Areflexie übergeht, dar. Die diesbezüglichen pathohistologischen Veränderungen zeigen sich besonders im thorakolumbalen Rückenmark, teils bilateral symmetrisch teils inhomogen verteilt (AVERILL 1973, GRIFFITH und DUNCAN 1975, BRAUND und VANDEVELDE 1978). Ursächlich scheint dabei nach jetzigem Stand der Forschung eine Mutation des Superoxiddismutase 1 Gens (SOD1), vergleichbar der amyotrophen Lateralsklerose (ALS) des Menschen, zu sein (AWANO et al. 2009). Da jedoch nicht alle Patienten mit einer Mutation des SOD1 klinische Symptome entwickeln und nicht bei allen klinisch betroffenen Tieren die beschriebene Mutation nachgewiesen werden kann, scheint es sich, ebenfalls ähnlich der ALS, um einen Erkrankungskomplex zu handeln. Daher kann die Diagnose DM nur alleine auf Basis eines Gentestes nicht gestellt werden.

Im Bereich der bildgebenden Verfahren stellt die Magnetresonanztomographie (MRT) heutzutage das Mittel der Wahl zur Untersuchung der Struktur und Integrität des Rückenmarks dar. Eine Weiterentwicklung ist die sogenannte diffusionsgewichtete Bildgebung (diffusion weighted imaging DWI). Hierbei wird die Teilchenbewegung, genauer die Protonenbewegung, innerhalb eines Gewebes durch spezielle MRT-Techniken visualisiert (STEJSKAL und TANNER 1965). Die DWI findet besonders in der Humanmedizin im Bereich der Schlaganfalldiagnostik Anwendung, da innerhalb von wenigen Minuten eine Darstellung betroffener Gehirnareale möglich ist (CLARK und WERRING 2002, MUIR et al. 2006, SCHLAMANN 2011). Mit dieser Technik sind eine Sensitivität von 95 % und eine Spezifität von annähernd 100 % möglich (LÖVBLAD et al. 1998). Ein weiteres Anwendungsgebiet der DWI liegt in der Visualisierung struktureller Veränderungen des Rückenmarks (BAMMER et al. 2000, CLARK und WERRING 2002).

Im Verlaufe der DM kommt es zu einer Degeneration langer Faserbahnen und damit zu einem Verlust der Integrität des Rückenmarks. In Anlehnung an die humanmedizinischen bildgebenden Darstellungen sind das Ziel und die

Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit die Überprüfung der Fragestellung, ob die bei der DM resultierenden Veränderungen mittels DWI in einem 3 Tesla Magnetresonanztomographen visualisiert werden können. Desweiteren wird eine mögliche Korrelation zwischen den Diffusionsveränderungen in der DWI und den pathohistologischen Veränderungen der Rückenmarksproben überprüft.

2 Anatomische und physiologische Grundlagen

2.1 Anatomie des Rückenmarks, Medulla spinalis

2.1.1 Äußerer Aufbau des Rückenmarks

Das Rückenmark ist der extrakranielle Teil des zentralen Nervensystems (ZNS), welcher einerseits die Verbindung zwischen den oberen motorischen Neuronen des Gehirns mit der appendikulären Muskulatur ermöglicht, darüber hinaus aber auch über eigene Kontrollzentren und Relaisstationen verfügt, welche segmental und suprasegmental reflektorische Funktionen ermöglichen (NICKEL et al. 1992).

Das Rückenmark erstreckt sich beim Hund als einheitlicher Strang vom ersten Halswirbel bis zum fünften Lendenwirbel und wird in verschiedene Segmente eingeteilt, die grob in die Abschnitte Halsmark (Pars cervicalis), Brustmark (Pars thoracica), Lendenmark (Pars lumbalis) und Kreuzmark (Pars sacralis), unterteilt werden. Im Bereich des Übergangs vom Halsmark zum Brustmark und im kaudalen Bereich des Lendenmarks finden sich die Nerven des Armgeflechts (Plexus brachialis), und des Lendengeflechts (Plexus lumbalis). Durch die Ansammlung von Motoneuronen in diesen Bereich verdickt sich der Querschnitt des Rückenmarks zur Brustschwellung (Intumescentia cervicalis) und zur Lendenschwellung (Intumescentia lumbalis). Die Lendenschwellung wiederum verschmälert sich kaudal zum Conus medullaris, der sich seinerseits in den Endfaden (Filum terminale) verjüngt (THIEL 1941, GOLLER 1959, FLETCHER und KITCHELL 1966).

Zu Beginn der Entwicklung des Rückenmarks treten die Spinalnerven noch transversal aus den Wirbellöchern (Foramina intervertebrale) aus. Da die knöchernen Strukturen jedoch schneller wachsen als die nervalen, kommt es zu einer scheinbaren Kopfwärtsbewegung, dem Ascensus medullae spinalis. Dies zeigt sich darin, dass die Spinalnerven schließlich nicht mehr direkt aus den Wirbellöchern austreten, sondern erst eine unterschiedlich lange Strecke im Wirbelkanal verlaufen, bevor sie diesen an der vorbestimmten Stelle verlassen. Die so entstandene Struktur entspricht optisch einem Pferdeschweif, weshalb sie auch als Cauda equina bezeichnet wird (VERMEULEN 1916, SEIFERLE 1939, GOLLER 1959).

Im Querschnitt erkennt man den bilateralsymmetrischen Aufbau des Rückenmarks. Dorsal wird das Rückenmark durch die seichte dorsale Medianfurche, den Sulcus medianus dorsalis, und ventral durch die tiefe, bis fast auf den Zentralkanal reichende Medianspalte, die Fissura mediana ventralis segmentiert. Von der Dorsalfurche aus zieht schließlich noch ein Gliaseptum, das Septum dorsale medianum bis zur grauen Substanz. Lateral der Dorsalfurche findet sich beiderseits eine weitere Längsfurche, der Sulcus lateralis dorsalis. Hier verlaufen die Dorsalwurzeln der Spinalnerven ins Rückenmark. Im vorderen Brust- und Halsmark liegt zwischen dem Sulcus medianus dorsalis und dem Sulcus lateralis dorsalis undeutlich der Sulcus intermedius dorsalis (THIEL 1941, FLETCHER und KITCHELL 1966).

2.1.2 Innerer Aufbau des Rückenmarks

Bereits makroskopisch erkennt man bei einem Rückenmarksquerschnitt die Unterteilung des Rückenmarks in die graue und weiße Substanz, die Substantia grisea und Substantia alba (FUNKE 1860, HYRTL 1860) (siehe Abbildung 1). Dabei besteht die graue Substanz aus den Zellkörpern und Fortsätzen der Nervenzellen (Neurone) und den Gliazellen und umschließt in der Form eines Schmetterlings den Zentralkanal. Sie wird ihrerseits von der weißen Substanz eingefasst.

Bei der grauen Substanz kann zwischen dem schlankeren Dorsalhorn (Cornu dorsale) und dem größeren Ventralhorn (Cornu ventrale) unterschieden werden. Beide divergieren leicht nach lateral. Sie werden verbunden durch den Zwischenteil, die Pars intermedia laterale. Im Bereich des Brustmarks und des vorderen Lendenmarks findet sich zusätzlich noch ein kleines Seitenhorn, das Cornu laterale. Über die graue Kommissur (Commissura grisea) stehen die Zwischenteile der rechten und linken Seite in Kontakt und umschließen den Zentralkanal. Dadurch lässt sich die graue Kommissur in eine Commissura grisea dorsalis und ventralis unterteilen (REXED 1952, EVANS 1993).

Die Dorsalhörner schnüren sich an ihrer Basis ein, was als Isthmus cornus dorsalis bezeichnet wird, und bilden damit den Kopf (Caput cornus dorsalis) der in der Spitze des Dorsalhorns (Apex cornus dorsalis) endet (NICKEL et al. 1992).

Der mittig liegende Zentralkanal beginnt am vierten Hirnventrikel und durchzieht das gesamte Rückenmark bis in den Endfaden (FUNKE 1860). Er wird von den Ependymzellen ausgekleidet.

Die weiße Substanz besteht aus markhaltigen Nervenfasern und umhüllt die graue Substanz vollständig. Der Bereich zwischen der Dorsalfurche und der Längsfurche wird als Dorsalstrang (Funiculus dorsalis) bezeichnet. Der Ventrolateralstrang (Funiculus ventrolateralis) zieht von der Längsfurche zur Medianspalte. Im Halsmark und vorderen Brustmark wird der Dorsalstrang nochmals durch eine Zwischenfurche, den Sulcus intermedius, und ein von dort in die Tiefe ziehendes Septum intermedium in den medialen Fasciculus gracilis und den lateralen Fasciculus cuneatus unterteilt (THIEL 1941, REXED 1952).

Schematische Darstellung eines Rückenmarksquerschnittes

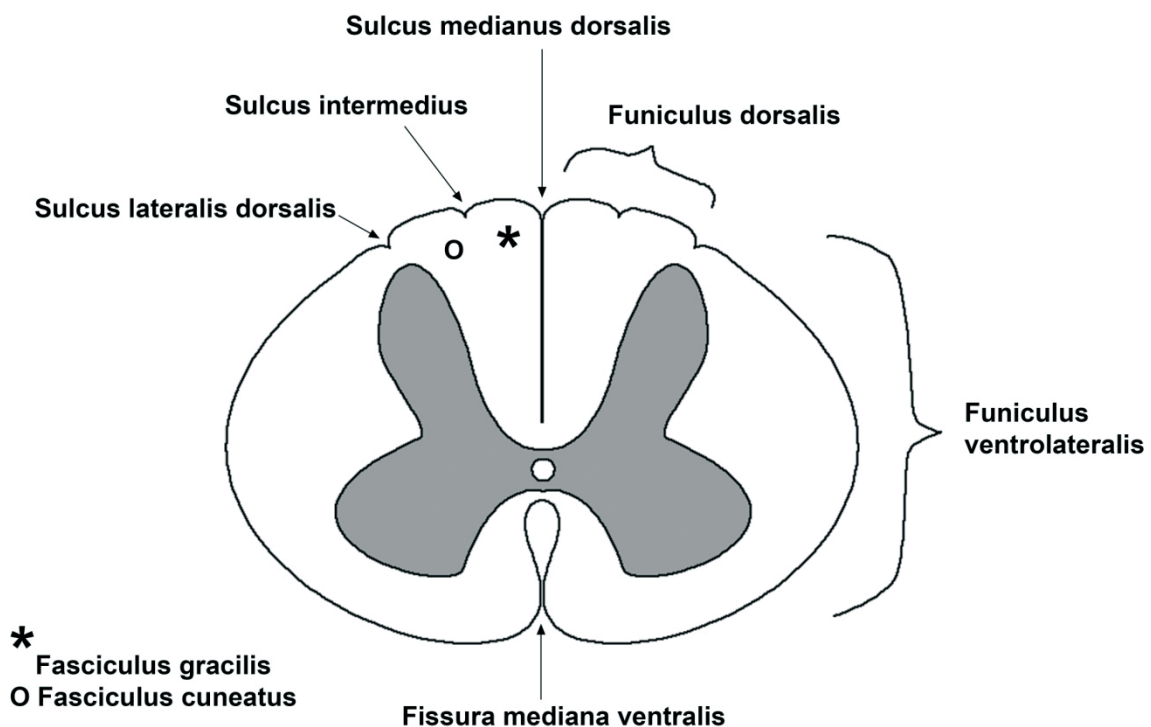


Abbildung 1: Das Rückenmark zeigt im Querschnitt die graue Substanz schmetterlingsförmig im Zentrum. Sie wird von der weißen Substanz eingefasst, die die langen Faserbahnen enthält. Dorsal stellt sich eine Einziehung durch den Sulcus medianus dorsalis und ventral durch die Fissura mediana ventralis dar. Seitliche Einziehungen werden durch den Sulcus lateralis dorsalis gebildet, der den Funiculus dorsalis und Funiculus ventrolateralis trennt, sowie durch den medial davon gelegenen Sulcus intermedius.

2.1.3.1 Histologischer Feinbau

Das Nervengewebe lässt sich grob in zwei unterschiedliche Elemente unterteilen, in die Neuroglia mit Abgrenzungs- und Stoffwechselfunktion und die Nerven- oder Ganglienzellen, die für Erregungsbildung und -leitung zuständig sind. Bei den Neurogliazellen unterscheidet man zwischen Ependymzellen, Astrozyten und Oligodendrozyten (STOFFEL 2010). Ependymzellen dienen der einschichtigen Auskleidung des Zentralkanals im Rückenmark. Astrozyten sind fortsatzreiche Zellen mit einer hohen Stoffwechselfunktion, die vorzugsweise an Gefäßen zu finden sind. In Abgrenzung zur Rückenmarkshaut bilden sie eine kompakte Schicht, die Membrana limitans gliae superficialis. Oligodendrozyten sind fortsatzarm und dienen hauptsächlich der Umhüllung von Axonen, der Markscheiden- und Myelinbildung. Beide Zelltypen weisen Phagozytenfunktion auf und sind somit in der Lage Zelltrümmer zu beseitigen (LIEBICH et al. 2003, STOFFEL 2010).

Über diese Funktion verfügen vor allem Zellen der Mikroglia, die sich jedoch von Blutmonozyten ableiten (REXED 1952, NICKEL et al. 1992).

Nervenzellen weisen einen charakteristischen Grundbau auf, sind in ihrer Form und Größe aber außerordentlich variabel. Der Zytoplasmabereich um den Zellkern herum stellt den Nervenzellkörper, das Perikaryon, dar. Die erregungsempfangenden Fortsätze, die sogenannten Dendriten, nehmen die Erregung auf und leiten sie zum Nervenzellkörper weiter. Dabei sind Nervenzellkörper und Dendriten reich an granulärem endoplasmatischem Retikulum, der NISSL-Substanz. Damit lassen sie sich von dem erregungsableitenden Axon differenzieren, das an einer Nervenzelle in unterschiedlicher Länge vorhanden sein kann (STOFFEL 2010).

Die Nervenzellkörper liegen in der grauen Substanz des Rückenmarks und können mehr oder weniger diffus verteilt oder zu Gruppen (Nuclei) zusammengefasst sein. Die weiße Substanz wird gebildet durch die bündelweise verlaufenden Axone und Dendriten. Diese sind wiederum einzeln oder in Gruppen von Oligodendrozyten umhüllt. Die entstehende lipidreiche Schicht ist makroskopisch weiß und bildet die weiße Substanz (LIEBICH et al. 2003, STOFFEL 2010).

2.1.3.2 Graue Substanz

Die graue Substanz besteht aus Gliazellen und multipolaren Nervenzellen unterschiedlicher Form und Größe. Ihre Dendriten und Axone verbinden sich mit den aus der weißen Substanz eintretenden Nervenfasern anderer Neurone. Dabei lassen sich Nervenzellen nach dem Verlauf ihrer Neuriten in Wurzelzellen und Binnenzellen unterscheiden. Die Axone der Wurzelzellen verlassen über das Ventralhorn das Rückenmark und werden zu einem Bestandteil der peripheren Nerven. Zu den Wurzelzellen gehören die alpha-Motoneurone, auch motorische Ventralhornzellen genannt, und die sympathischen und parasympathischen Wurzelzellen, die in der Pars intermedia liegen. Ihre Fasern verlassen das Rückenmark über das Ventralhorn als Filae radicales und schließen sich zur Radix ventralis zusammen (Nickel et al. 1992, LIEBICH et al. 2003). Die Axone der Binnenzellen verlaufen hauptsächlich innerhalb der grauen Substanz. Bei den Binnenzellen können zusätzlich verschiedene Zelltypen, die sogenannten Schalt-, Kommissur-, Assoziations- und Strangzellen, unterschieden werden. Dabei verlaufen die Schaltzellen innerhalb eines Rückenmarksegmentes und haben am Ende des Axons eine baumartige Aufzweigung. Die Kommissurzellen kreuzen mit ihrem Axon auf die Gegenseite und sorgen somit für eine Zusammenarbeit beider Rückenmarkshälften. Die Axone der Assoziationszellen wiederum verbinden durch auf- und absteigende Äste verschiedene Segmente untereinander, während die Strangzellen in die weiße Substanz eintreten, wobei ihre Axone den Kontakt zu den langen Leitungsbahnen der weißen Substanz herstellen (FLETCHER und KITCHELL 1966, NICKEL et al. 1992, LIEBICH et al. 2003).

2.1.3.3 Weiße Substanz

Die weiße Substanz setzt sich zusammen aus myelinisierten und nichtmyelinisierten Nervenzellfortsätzen, welche von Astrozyten begleitet werden. Die Nervenfasern weisen einen unterschiedlichen Durchmesser auf und zeigen vorwiegend einen Verlauf in Längsrichtung des Rückenmarks. Die weiße Substanz enthält afferente Axone, die in das Rückenmark über die Dorsalwurzel gelangen, efferente Fasern, die

das Rückenmark über die Ventralwurzel wieder verlassen, sowie Axone der auf- und absteigenden Leitungsbahnen (Nickel et al. 1992, EVANS 1993). Die aufsteigenden Leitungsbahnen leiten die aus der Peripherie empfangenen Erregungen an die höheren Zentren des Gehirns weiter, wohingegen die absteigenden Bahnen die Erregungsimpulse des Gehirns an die efferenten Wurzelzellen übertragen (REXED 1952, NICKEL et al. 1992).

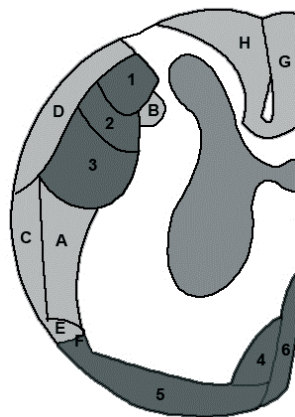
Bei den absteigenden Bahnen ist zwischen den Bahnen des Dorsal- und Lateroventralstrangs zu unterscheiden (siehe Abbildung 2).

Im Dorsalstrang liegt direkt am Sulcus medianus dorsalis der Fasciculus gracilis, dem sich der Fasciculus cuneatus anschließt. Im Lateroventralstrang liegen vorwiegend aufsteigende Bahnen und es werden der Tractus spinothalamicus, spinocervicothalamicus, spinoreticularis, spinocerebellaris ventralis und dorsalis, spinotectalis sowie spinoolivaris unterschieden (EVANS 1993).

Schematische Darstellung der Leitungsbahnen des Rückenmarks:

Aszendierende Leitungsbahnen:

- A: Tract. spinothalamicus
- B: Tract. spinocervicothalamicus
- C: Tract. spinocerebellaris ventralis
- D: Tract. spinocerebellaris dorsalis
- E: Tract. spinoolivaris
- F: Tract. spinotectalis
- G: Fasciculus gracilis
- H: Fasciculus cuneatus



Deszendierende Leitungsbahnen:

- 1: Tract. corticospinalis
- 2: Tract. reticulospinalis lateralis
- 3: Tract. rubrospinalis
- 4: Tract. reticulospinalis ventralis
- 5: Tract. vestibulospinalis
- 6: Tract. tectospinalis

Abbildung 2 (nach EVANS 1993): Die Leitungsbahnen des Rückenmarks teilen sich in auf- und absteigende Bahnen. Die Bezeichnung erfolgt anhand des Ursprungs und des Zielgebiets der Faserbahnen.

Die absteigenden Rückenmarksbahnen finden sich im Ventrolateralstrang und umfassen den Tractus corticospinalis lateralis und ventralis, rubrospinalis, reticulospinalis, tectospinalis und vestibulospinalis

Die efferenten Nervenfasern verlassen das Rückenmark über die Ventralwurzel um ihre Information an die korrespondierenden Erfolgsorgane zu geben. Die auf- und absteigenden Bahnen des Rückenmarks zeigen eine funktionelle Anordnung. Kurze Faserbahnen liegen nahe der grauen Substanz, lange Bahnen sind in der Peripherie lokalisiert.

2.2 Physiologie der Motorik

Das Rückenmark ist Teil des Zentralnervensystems. Es überträgt Impulse zwischen dem Gehirn und den peripheren Muskeln und enthält auch eigene Aktivitätszentren, welche die Muskelaktivität in Gang halten („central pattern generators“ in der grauen Substanz). Die Grundaktivität dieser Zentren ermöglicht einen Positions-erhaltenden Muskeltonus, sowie, angeregt durch Informationen aus den Rezeptoren der Peripherie (Muskelspindeln im Skelettmuskel und Golgi-Organen in Sehnen und Gelenkkapseln), die Durchführung einfacher, stereotyper Bewegungsmuster der Gliedmaßen. Diese laufen in der grundlegenden Form rein reflektorisch innerhalb einer motorischen Einheit ab (KIEHN und KJAERULFF 1998). Das Zusammenspiel und die autonome Funktionsweise der beschriebenen Strukturen wird auch als unteres motorisches Neuron (UMN) bezeichnet (DeLAHUNTA 2008, DEWEY 2008). Die reine Reflextätigkeit ist jedoch nicht ausreichend für einen physiologischen Gang. Bei höheren Wirbeltieren und komplexeren Bewegungsabläufen kommen zunehmend modulatorische Einflüsse des Gehirnes hinzu. Die weiße Substanz des Rückenmarks übernimmt dabei die Aufgabe der Impulsweiterleitung zwischen den spinalen Lokomotionszentren und dem Gehirn (DeLAHUNTA 2008, DEWEY 2008). Die Lokomotionszentren im Gehirn kontrollieren Initiation und Beendigung einer Bewegung, liefern angeborene und erlernte Bewegungsmuster und integrieren Informationen aus dem Gleichgewichtssystem sowie optische Informationen. Diese übergeordneten Regulationszentren aktivieren und deaktivieren die Funktion des UMN (DeLAHUNTA 2008, DEWEY 2008). Die Modulationszentren im Gehirn und deren Verbindungsbahnen zu den Intumeszenzen werden funktionell als das obere motorische Neuron (OMN) bezeichnet.

Bei der DM kommt es zu einer Degeneration vorwiegend der langen Faserbahnen, welche auch die Informationen des OMN vermitteln. In Folge dessen nehmen die regulatorischen Einflüsse des OMN ab, was sich in einer gesteigerten Reflextätigkeit bei der klinisch-neurologischen Untersuchung nachweisen lässt (AVERILL 1973, GRIFFITH und DUNCAN 1975, BRAUND und VANDELDELDE 1978).

3. Degeneration von Nervenfasern

Im Folgenden werden die verschiedenen Degenerationsmuster eines Neurons, die im Rahmen der DM beschrieben sind, dargestellt und in Bezug zur DWI MRT gesetzt. Hierbei kann es zu einer Schädigung der Nervenzelle selber oder zu einer Veränderung der umgebenden Myelinscheide kommen. Die im Folgenden auftretenden Veränderungen zeigen jeweils ein charakteristisches pathomorphologisches Muster (SUMMERS et al. 1994).

3.1 WALLERsche Degeneration- Kontinuitätsunterbrechung

Diese Form der Nervenfaserdegeneration wurde erstmals 1850 von Waller im Bereich der peripheren Nerven beschrieben und wird noch heute nach ihm benannt (WALLER 1850). Sie tritt ebenfalls im ZNS auf, hier verlaufen die im Folgenden beschriebenen Abläufe allerdings langsamer als im peripheren Nervensystem (WEST et al. 1991). Bei der WALLERschen Degeneration wird nach einer Nervenfaserdurchtrennung zwischen einem proximalen, mit dem Perikaryon in Kontakt stehenden, und einem distalen, abgetrennten Stumpf unterschieden. Diese Unterscheidung ist essentiell zur Charakterisierung des pathomorphologischen Musters in Abgrenzung zu anderen Axonpathologien (PFEIFFER 1984). Der distale, abgetrennte Abschnitt geht im Folgenden zugrunde, da die Versorgung über den Zellkörper nicht mehr gegeben ist (LUDWIN 1990, LUDWIN und BISBY 1992). Das Axolemm des proximalen Stumpfs verschließt sich nach der letzten intakten Myelinscheide und der Zellkörper geht über in eine Phase der Regeneration, die sich in einer Entspiralisierung der DNA und Verlagerung der NISSL-Substanz in die Peripherie zeigt („axonal reaction“). Im Laufe dieser Veränderung kommt es zu einer kolbenförmigen Auftreibung des proximalen Axonstumpfes mit einer Ansammlung von Zellorganellen. Sind lange Rückenmarksfasern betroffen, kann dies als funikulärer Defekt bezeichnet werden. Sind hingegen Nervenzellen des Gehirns oder des Rückenmarks betroffen, tritt eine retrograde auf den Zellkörper zu gehenden Degeneration bis zum nächsten Ranvierschen Schnürring auf. Dabei werden Moleküle innerhalb des Axons zersetzt, wobei intraaxonal Kalzium freigesetzt wird. Die gesteigerte Konzentration freien axoplasmatischen Kalziums wiederum aktiviert

weitere Enzyme, die die Degeneration des Axons fördern (VIETEN 2005). Zwölf bis sechsunddreißig Stunden nach einem Insult beginnen sich Ellipsoide (fragmentiertes, tropfiges Myelin) zu bilden (ROSENBLUTH 1976). Der bei diesem Prozess entstehende Raum im Bereich der Ellipsoide wird auch als „digestion chamber“ bezeichnet und enthält axonale Fragmente, degenerierte Myelinbestandteile und Makrophagen (sogenannte „gitter cells“, „Gitterzellen“) (PERRY und SCHEITHAUER 2005). Dabei ist die Aktivierung des axonalen Zerfalls abhängig von der Invasion hämatogener Makrophagen (CHARLTON und PIERCE 1970).

Der abgetrennte distale Axonanteil erfährt zunächst eine analoge Entwicklung mit Schwellung des stumpfnahen Abschnittes und einer Anreicherung von Zellorganellen, in diesem Fall besonders Mitochondrien. Im Gegensatz zum proximalen Anteil folgen nun aber eine Axonfragmentierung und ein Markscheidenzerfall (PFEIFFER 1984). Diese Form der Läsion wird beispielsweise durch Traumata oder Ischämien hervorgerufen.

Die im Rahmen der WALLERschen Degeneration frei werdenden Räume führen dazu, dass die vorwiegende Längsausrichtung des RM unterbrochen wird. In dieser Folge ist eine mikroskopische Teilchenbewegung nicht mehr hauptsächlich longitudinal, sondern auch transversal mittels spezieller MRT-Techniken nachweisbar (FORD et al. 1994, BEAULIEU et al. 1996, PIERPAOLI et al. 2001).

3.2 Dying-back – primäre axonale Degeneration

Das Perikaryon stellt bei einer Nervenzelle den einzigen Ort für die Substratsynthese dar. Bei Zellen mit einem langen Axon, beispielsweise einer Zelle des UMN mit einem Zellkörper im Mikrometerbereich (10^{-6} m) und einem zugehörigen Axon von einem Meter Länge, steht nur ein kleiner Bereich der Zelle für die Proteinsynthese zur Verfügung. Da Axone keine Ribosomen aufweisen, verfügen sie nicht über die Möglichkeit zur Proteinsynthese und alle synthetisierten Produkte werden über axonalen Transport zu ihrem Bestimmungsort gebracht während anfallende Abfallprodukte über diesen Weg zurück zum Perikaryon gelangen. Kommt es in diesem empfindlichen System – der Zellbestandteilsynthese im Perikaryon, dem Transport zum Axon oder Abtransport aus dem Axon – zu einer Störung, resultiert diese in einer distalen axonalen Degeneration, die bei anhaltender Störung nach

proximal fortschreitet. Dieses wird als „dying-back“ bezeichnet (CAVANAGH 1979 und 1984).

Betroffen sind besonders lange Faserbahnen und Fasern mit großem Durchmesser (SCHAUMBURG et al. 1974, SPENCER und SCHAUMBURG 1977). Die Veränderungen treten im Rückenmark bilateral symmetrisch auf (CAVANAGH 1964). Diese Form der Nervendegeneration ist charakteristisch bei der hereditären Enzephalopathie und Polyneuropathie des Alaskan Husky (WAKSHLAG und DeLAHUNTA 2009), wird bei der distalen sensomotorischen Polyneuropathie des Rottweilers vermutet (BRAUND et al. 1994) und ist besonders bei toxischen Nervenschäden nachzuweisen (SUMMERS et al 1994). Zu Beginn der Forschungen im Rahmen der DM wurde dieses Degenerationsmuster ebenfalls bei DM erkrankten Tieren vermutet (GRIFFITH und DUNCAN 1975), im Folgenden aber von BRAUN und VANDEVELDE ausgeschlossen (1978).

3.3 Sphäroide

Da innerhalb eines Axons ständig ein anterograder und retrograder Transport von Zellbestandteilen stattfindet, resultiert eine Läsion des Axons, beispielsweise bei einer WALLERschen Degeneration, unmittelbar in einem Stau der Zellbestandteile. Diese Anschoppung der zu transportierenden Substanzen führt zu einer mikroskopisch darstellbaren Schwellung. Fokale Schwellungen werden als Sphäroid bezeichnet. Im Anschnitt stellen sie sich rundlich, homogen eosinophil oder granuliert dar. Sphäroide können myelinisiert oder ohne Markscheide vorhanden sein. Da Sphäroide eine unspezifische Reaktion des Axons darstellen, werden sie bei zahlreichen Veränderungen beobachtet. Ultrastrukturell setzen sie sich aus Neurofilamenten, tubulovesikulären Strukturen, Mitochondrien und Lysosomen zusammen. Sphäroide werden besonders bei neuroaxonaler Dystrophie, lysosomalen Speichererkrankungen und der equinen degenerativen Enzephalomyelopathie gefunden. Sie treten jedoch auch bei wandernden Parasiten, Infarkten, Rückenmarkskompressionen oder im Rahmen des physiologischen Alterungsprozesses auf (YAGISHITA 1978). Bei der Leukodystrophie des Menschen sind Sphäroide in einer hohen Zahl nachweisbar und betroffene Bereiche zeigen sich in der DWI mit einer Begrenzung der Diffusion (MAILLART et al. 2009).

3.4 Demyelinisierung

Demyelinisierung ist die Zerstörung der Myelinscheide bei zunächst erhaltenem Axon. Dieser Prozess wird auch als primäre Demyelinisierung bezeichnet. Im Gegensatz dazu steht die sekundäre Demyelinisierung, welche nach einem Axonverlust eintritt, da eine Myelinscheide ohne zentrales Axon nicht vital ist (SUMMERS et al. 1994).

Ursächlich verantwortlich für diese Abbauprozesse sind Stoffwechseldefekte, insbesondere der Lipid- und Proteinsynthese. Desweiteren können auch entzündliche Reaktionen gegen basisches Myelinprotein in einer Zerstörung der Myelinscheide resultieren. Histologisch zeigen sich parakristalline Myelinabbauprodukte und Autophagosomen bei erhaltenem Axon. Eine Remyelinisierung stellt sich in charakteristischer Zwiebelschalenform dar (TOLNAY et al. 2008).

Demyelinisierungen lassen sich besonders bei der diabetischen Neuropathie der Katze und des Menschen beobachten (MIZISIN et al. 2007) sowie im Rahmen zahlreicher Viruserkrankungen (SUMMERS et al. 1994).

Die ebenfalls im Rahmen der DM auftretende Demyelinisierung (BRAUND und VANDEVELDE 1978) wurde zu Beginn der DWI MRT als Hauptursache für Veränderungen des Diffusionsverhaltens angesehen.

3.5 Neuronopathie

Wird im Gegensatz zum Dying-back, bei dem die Läsion dem Axon widerfährt, primär der Zellkörper einer Nervenzelle geschädigt, spricht man von einer Neuronopathie. In der Folge kommt es ebenfalls zu einem Absterben des dazugehörigen Axons, jedoch nicht wie bei einer Dying-back Neuropathie von distal nach proximal, sondern in entgegengesetzter Richtung auf den Zellkörper zu. Die Schäden können beispielsweise durch Quecksilber oder Zytostatika auftreten. Eine humanmedizinisch wichtige idiopathische Neuronopathie ist beispielsweise die amyotrophe Lateralsklerose (MARKGRAPH 2008).

Da bei der DM keine Veränderungen in den Kerngebieten der langen Faserbahnen nachweisbar sind, ist nicht von einer Neuronopathie auszugehen (BRAUND und VANDEVELDE 1978).

3.6.1 Veränderungen bei degenerativer Myelopathie

Die degenerative Myelopathie (DM) wird beschrieben als eine vor allem zentrale Axonopathie, die die langen Faserbahnen des Rückenmarks betrifft (AVERILL 1973, BRAUND & VANDEVELDE 1978). Axon- und Myelindegeneration treten in allen Funikuli auf und betreffen das somatosensorische, propriozeptive sowie das motorische System. Degenerationen der Nervenzellkörper werden nicht beobachtet. Die DM zeigt sich als nichtentzündliche axonale Degeneration (AVERILL 1973, GRIFFITH und DUNCAN 1975, BRAUND und VANDEVELDE 1978). Tiere mit einer DM zeigen ein charakteristisches Verteilungsmuster von axonaler zylindrischer Vakuolisierung und axonalem Verlust. Dieser regionale Axonverlust ist bei einigen Tieren hochgradig und zeigt sich durch fast vollständigen Verlust der Axone und des Myelins. Die betroffenen Areale werden durch Gliosen aufgefüllt (AVERILL 1973, BRAUND und VANDEVELDE 1978, JOHNSTON et al. 2000). Auch können einzelne Makrophagen mit Myelindebris beobachtet werden. Die beschriebenen Veränderungen betreffen das Rückenmark in allen Bereichen, jedoch ist das mittlere thorakale Segment am stärksten betroffen. Besonders deutlich lassen sich diese Veränderungen in einem Rückenmarkslängsschnitt darstellen. Dort zeigt sich eine ungleichmäßige multifokale Verteilung mit stärkerem Axonverlust und Demyelinisierung mitthorakal, die nach kranial und kaudal geringer ausgeprägt ist. Klinisch stark betroffene Hunde zeigen eine signifikant stärkere axonale Degeneration sowie Axonverluste im Thorakalsegment die sich nach kranial und kaudal ausdehnen und abschwächen (AVERILL 1973, GRIFFITH und DUNCAN 1975, BRAUND und VANDEVELDE 1978).

3.6.2 Histopathologisch und nominal vergleichbare Erkrankungen anderer Hunderassen

Der Begriff Myelopathie beschreibt eine Erkrankung des Rückenmarks, wird in der Literatur jedoch nicht für ein einheitliches Krankheitsbild verwendet, sondern bei zahlreichen Erkrankungen unterschiedlicher Ätiologie benutzt, so dass im Folgenden verschiedene Erkrankungen vorgestellt und mit der DM verglichen werden.

Die **Afghanenhund Myelopathie** (COCKRELL et al. 1973, AVERILL und BRONSON 1977, CUMMINGS und DeLAHUNTA 1978) beschreibt eine Junghunderkrankung, in der neben Veränderungen des Gangbildes zusätzlich respiratorische Störungen auftreten. Es handelt sich hierbei um eine primäre Demyelinisierung, in der sich in der histologischen Untersuchung im Rückenmark kavernös-spongioforme Hohlräume und Nekrosen zeigen. Ähnlich wie bei der DM ist auch bei dieser Erkrankung hauptsächlich das mitthorakale Segment betroffen, jedoch weist auch die graue Substanz des Rückenmarks Demyelinisierungen auf. Desweiteren finden sich Veränderungen im Corpus trapezoideum. Es scheint sich bei der Afghanenhund Myelopathie um eine autosomal rezessive Erberkrankung zu handeln (DeLahunta 2008).

Bei der **Kooiker-Hund Myelopathie** sind junge Tiere bis zu einem Alter von zwölf Monaten betroffen. Hier weist das Rückenmark erkrankter Tiere transparente Bereiche mit einer Malazie und einem Axonverlust auf. Kranial und kaudal der Veränderungen, die sich vorzugsweise im Hals- und vorderen Thorakalsegment befinden, kommt es zu einer WALLERschen Degeneration der langen Faserbahnen (MANDIGERS et al. 1993).

Die **Hound Ataxie** zeigt Ähnlichkeiten zur degenerativen Myelopathie. Betroffen sind hierbei Tiere bis zu einem Alter von sieben Jahren. Sie zeigen eine zunehmende nicht schmerzhaft Ataxie, die bis zu einer Paraparese fortschreitet. In der histologischen Untersuchung zeigt sich eine WALLERsche Degeneration aller Rückenmarksbahnen, bis in den Hirnstamm sowie eine Myelindegeneration. Die graue Substanz ist bei dieser Erkrankung nicht involviert. Die Pathologie der Hound Ataxie ist unklar, einige Autoren (PALMER et al. 1984, SHEAHAN et al. 1991) vermuten jedoch die ursächliche Beteiligung eines diätetischen Problems durch einseitige Pansenfütterung.

Beim **deutschen Schäferhund** liegen Berichte über zwei Fälle einer Myelopathie bei jungen Tieren von sechs und sieben Monaten vor (LONGHOFER et al. 1990). Diese Tiere zeigten klinisch eine zunehmende Paraparese und weisen in der pathohistologischen Untersuchung diffuse Degenerationen der Axone und des Myelins in der weißen Substanz auf. Zusätzlich zeigen sich Sphäroide und Makrophagen. Obwohl die Autoren keinen eindeutigen Auslöser ausmachen können, gehen sie davon aus, dass es sich bei den vorliegenden Fällen um eine eigenständige Erkrankung handelt.

Die **degenerative Myelopathie des Miniaturpudels** (MATTHEWS und deLAHUNTER 1985) hingegen scheint eine der degenerativen Myelopathie des Schäferhundes und anderer großer Hunderassen vergleichbare Erkrankung zu sein. Das in dem vorliegenden Fallbericht beschriebene Tier ist ebenfalls im mittleren bis hohen Alter und zeigt eine progressive Paraparese die in einer Paraplegie endet. Die histologische Untersuchung des Rückenmarks zeigt eine diffuse Degeneration der weißen Substanz, die das Myelin und die Axone betrifft und nicht auf bestimmte Faserbahnen begrenzt ist. Zusätzlich weist dieses Tier eine Astrozytenproliferation auf.

Eine weitere Rasse, die von einer Degeneration der weißen Rückenmarkssubstanz betroffen ist, ist der **Sibirische Husky** (BICHSEL und VANDEVELDE 1983). Hier liegen ebenfalls Fallberichte einzelner verwandter Tiere vor, die aufgrund einer zunehmende Ataxie und Paraparese euthanasiert wurden. In der histologischen Untersuchung zeigen sich neben einigen nekrotischen Arealen eine Vakuolisierung in der weißen Substanz sowie eine Gliose.

In der jüngeren Literatur häufen sich Fallberichte über verschiedene Rassen, in denen Einzeltiere eine der degenerativen Myelopathie entsprechende Erkrankung aufweisen. Beim **Welsh Corgi Pembroke** (COATES et al. 2007, MARCH et al. 2009), beim **Rhodesian Ridgeback** (AWANO et al. 2009), beim **Boxer** (MILLER et al. 2009), beim **Neuseeland Huntaway** Hund (JOLLY et al. 2000) sowie beim **Berner Sennenhund** (WININGER et al. 2011) liegen Fallberichte mit unterschiedlichen Fallzahlen vor, in denen Tiere klinisch eine progressive Paraparese und teilweise zudem eine diffuse Degeneration weißer Faserbahnen zeigen.

4. Literaturübersicht für die degenerative Myelopathie

4. Degenerative Myelopathie

Bereits in den 70er Jahren des 20. Jahrhunderts wird erstmals eine Erkrankung mit progressiver Paraparese bei großen Hunderassen beschrieben (MORGAN 1969). Röntgenologisch feststellbare Duraverkalkungen werden vom Autor als Ursache jedoch umgehend ausgeschlossen.

Der Begriff der „degenerativen Myelopathie“ (DM) wurde 1973 von AVERILL eingeführt. Er beschreibt die neurologischen Symptome einer Hinterhandschwäche, einer Ataxie sowie einer oberen motorischen Neuronparese und stellt eine Rassedisposition für den deutschen Schäferhund fest. Er verfasst eine detaillierte Übersicht der histopathologischen Veränderungen im Rückenmark betroffener Tiere und vermutet auf Grund der darstellbaren Veränderungen ein Vitamin B12 Defizit.

Anhand der pathologischen Veränderungen stellen GRIFFITH und DUNCAN (1975) erste Überlegungen zur Ätiologie dieser Erkrankung an. Sie stellen eine WALLERsche Axondegeneration fest und kommen in Folge des darstellbaren Verteilungsmusters, betroffen sind ihrer Annahme nach nur bestimmte lange Rückenmarksbahnen, zu dem Schluss, dass ein dying-back Phänomen vorliegen muss. Diesen Überlegungen widersprechen BRAUND und VANDEVELDE (1978), da die Kriterien des dying-back – betroffen sind nur lange großkalibrige Faserbahnen mit einer bilateral symmetrischen Ausprägung (CAVANAGH 1964) –, bei ihren Untersuchungen nicht nachvollzogen werden können.

AVERILLs (1973) Vorschlag eines Vitamin B12 Defizits wird von der Forschergruppe um WILLIAMS und Mitarbeiter (1984 und 1985) aufgegriffen. Sie stellen zwar eine bakterielle Überbesiedlung bei betroffenen Hunden mit Veränderungen der Enzymaktivität fest, können einen Cobalaminmangel jedoch nicht bestätigen. Stattdessen wird im Rahmen dieser Untersuchungen ein verminderter Tocopherolspiegel gefunden. Da alpha-Tocopherol als Radikalfänger eine bedeutende Rolle bei Resorptionsvorgängen spielt, vermuten die Autoren eine gewisse Beteiligung am Krankheitsgeschehen, werten dies jedoch als sekundäre Veränderung in Folge intestinaler Malabsorption. Eine weitere Studie überprüft die mögliche Beteiligung des Tocopherolspiegels bei der Pathogenese der DM

(JOHNSTON et al. 2001). In ihrer vergleichenden Untersuchung stellen die Autoren einen erhöhten Tocopherolspiegel bei gesunden und erkrankten Schäferhunden im Vergleich zu anderen Rassen fest. Somit können sie einen Tocopherolmangel als ursächliche Erklärung für die DM ausschließen.

Sekundäre Rückenmarksdegeneration als Folge eines vorangegangenen Krankheitsgeschehens nehmen auch WAXMAN und Kollegen (1980) an. Sie vermuten eine immunmedierte Fehlantwort peripherer Lymphozyten. Diese können sie nicht bestätigen, finden jedoch eine vermehrte Aktivität der Supressorzellen bei von DM betroffenen Hunden, die die verminderte Proliferation der Lymphozyten erklären kann.

Diesen Überlegungen einer Autoimmunerkrankung folgen BARCLAY und HAINES (1994) und untersuchen das Vorkommen von Immunglobulin G und Komplementfaktor 3. Beide Faktoren werden bei DM Patienten in einer höheren Konzentration gefunden. Jedoch ist eine Differenzierung, ob die Veränderung primär eine autoimmune Ursache hat oder in Folge einer exogenen Stimulation auftritt, nicht möglich.

Eine weitere Veränderung bei DM Patienten ist eine Erhöhung des Proteingehalts im Liquor cerebrospinalis (CLEMMONS 1992). Aufgrund der Tatsache, dass eine reine Proteinmessung unspezifisch ist, schlagen OJI und Mitarbeiter (2007) eine Messung des myelinbasierten Proteins im Liquor vor, da dieses Protein auf das Nervensystem beschränkt ist (MORELL et al. 1989). Dieses ist bei DM Patienten erhöht, allerdings fehlen Vergleichswerte bei anderen demyelinisierenden Rückenmarkserkrankungen.

Eine erste Untersuchung, um mit Hilfe bildgebender Verfahren eine Diagnose stellen zu können, erfolgt durch JONES (2005). Hier wird mittels computertomographischer Myelographie sowohl eine Verschmälerung des Rückenmarkdurchmessers als auch eine Verformung bei DM Patienten im Vergleich zu gesunden Tieren gefunden. Auf Grund fehlender Referenzwerte ist die klinische Diagnostik mittels dieser Methode jedoch fraglich. Desweiteren werden bei DM Patienten zahlreiche chronisch degenerativ veränderte Bandscheiben festgestellt, welche die Problematik einer Differenzierung der DM von einem chronischen Bandscheibenvorfall verdeutlichen.

Untersuchungen mittels MRT scheinen ebenfalls nicht für eine Diagnosestellung auszureichen (DENNIS 2011), da beispielsweise die MRT eines Collies mit DM in

einer Untersuchung von OKADA und Mitarbeitern ein morphologisch unauffälliges Rückenmark zeigt (2009).

Die Uniformität der klinischen Symptome betroffener Tiere, die vergleichbare Histopathologie, das Alter und eine gewisse Rasseprädisposition sprechen für eine genetische Grundlage der DM. Diesen Ansatz verfolgen CLEMMONS und Mitarbeiter (2006), die in Anlehnung an die multiple Sklerose beim Menschen Veränderungen im caninen Leukozyten Antigen bei gesunden und klinisch erkrankten Tieren untersuchen. Sie können bei ihren Forschungen eine Punktmutation in der entsprechenden Gensequenz zeigen. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass es bei der DM, ähnlich wie bei der multiplen Sklerose eine genetische Basis gibt. Jedoch können diese Ergebnisse in einer erneuten Studie (CLARK et al. 2008) nicht repliziert werden.

Ein erster Durchbruch gelingt AWANO und Mitarbeitern (2009) beim Pembroke Welsh Corgi. Sie lokalisieren mittels „genome-wide association“ im Chromosom 31, welches auch das Superoxid Dismutase 1 (SOD1) Gen codiert, eine spezifische Veränderung. Die physiologische Reaktion der SOD liegt in der Umwandlung von Superoxidanionen zu Wasserstoffperoxid unter Freisetzung von Sauerstoff. SOD1 Mutationen zeigen sich bei einer Untergruppe von Personen, die an familiärer amyotropher Lateralsklerose (ALS) erkrankt sind (ROSEN et al. 1993). ALS ist eine Erkrankung des Menschen, die histopathologisch und klinisch der DM vergleichbar ist. Daher scheint eine Veränderung in diesem Genabschnitt mit hoher Wahrscheinlichkeit auch mit DM assoziiert zu sein. AWANO und Mitarbeiter (2009) finden in ihrer Untersuchung eine Punktmutation, bei welcher Guanin durch Adenin ersetzt wird. Diese Mutation des SOD1 kann dargestellt werden für den Pembroke Welsh Corgi, den Boxer, den Rhodesian Ridgeback, den Deutschen Schäferhund sowie den Chesapeake Bay Retriever. Jedoch zeigen einige Tiere ein homozygotes Auftreten der Mutation ohne klinisch betroffen zu sein. Dies legt eine inkomplette Penetranz nahe. Die DM des Berner Sennenhundes allerdings lässt sich mit diesem Gentest nicht nachweisen. Bei dieser Rasse zeigt sich auch eine Mutation des SOD1 Gens, jedoch in einem anderen Abschnitt, so dass ähnlich wie bei der ALS auch bei der DM angenommen werden muss, dass verschiedene Mutationen ein ähnliches klinisches Bild verursachen könnten (WINNINGER et al. 2011).

Bezüglich der Möglichkeiten einer Therapie für DM Patienten existieren ebenfalls nur sehr eingeschränkte Literaturangaben. Eine Arbeit beschreibt den Einsatz zahlreicher Vitamine und Nahrungssupplementierungen (CLEMMONS 1992), die sich jedoch auf die bereits widerlegte Annahme eines Vitamin- oder Nährstoffmangels bezieht und darüber hinaus keine statistischen Belege liefert. Eine andere Studie (KATHMANN et al. 2006) belegt die herausragende Bedeutung der Physiotherapie. In dieser Untersuchung wird die Überlebenszeit der Tiere in Anhängigkeit von der Intensität der angewandten Physiotherapie untersucht. Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, dass bei intensiver Physiotherapie eine signifikant verlängerte Überlebenszeit der DM Patienten beobachtet werden kann. Desweiteren werden in dieser Untersuchung nicht nur der Deutsche Schäferhund sondern auch der Kuvasz, der Berner Sennenhund und der Hovawart als überproportional häufig betroffen gesehen.

Auch wenn zum jetzigen Stand der Forschung keine kurative Therapie möglich ist, so ist doch die Weiterentwicklung diagnostischer Verfahren von existentieller Bedeutung für betroffene Tiere, um ihnen mittels physiotherapeutischer Behandlung eine Lebenszeitverlängerung zu ermöglichen.

5 Grundlagen der Magnet-Resonanz-Tomographie

5.1 Physikalische Grundlagen

Die Magnetresonanztomographie macht sich die Drehbewegung der Atomkerne, genauer der Protonen eines Atomkerns, zu Nutze. Dieses Phänomen der nuklearmagnetischen Resonanz oder auch Magnet-Resonanz ist im englischsprachigen Raum unter der Bezeichnung „Spin“ bekannt. Daher wird die Magnetresonanztomographie (MRT) auch als Kernspin-Tomographie bezeichnet. Voraussetzung für die Untersuchung mittels MRT sind Atomkerne mit einer ungeraden Nukleonenzahl, da nur sie das magnetische Kernmoment μ aufweisen. Den einfachsten Atomkern stellt hierbei der Wasserstoffatomkern dar, der nur ein Proton besitzt und ubiquitär anzutreffen ist. Zudem besitzt er das größte magnetische Kernmoment (SEMMLER et al. 2002).

5.1.1 Spin Phänomene

Durch die Drehbewegung eines Protons entsteht ein magnetisches Feld. Dieser Vorgang ist vergleichbar mit dem Feldaufbau durch eine elektrische Spule und es entsteht ein Dipol mit einem positiv und einem negativ geladenen Ende. Zwischen diesen beiden Punkten verläuft der Magnetfeldvektor, auch Magnetfeldachse genannt. In normaler Materie sind die Protonen, das heißt die Magnetfeldvektoren, willkürlich verteilt (SCHMIDT 2006, ERLINGER 2010). Sie befinden sich dabei in einem energetisch günstigen Zustand, in dem die Magnetfeldvektoren in alle Raumrichtungen zeigen und sich dadurch gegenseitig nicht beeinflussen.

Wird nun ein zu untersuchender Körper in ein äußeres Magnetfeld gebracht, so richten sich die einzelnen Protonen und mit ihnen der Magnetfeldvektor parallel und antiparallel zu diesem äußeren Magnetfeld aus (EDELMAN et al. 2006). Diese geringe Energiedifferenz zwischen parallelen und antiparallelen Spins kann nun mittels eines Tomographen gemessen werden. Die Ausrichtung der Protonen findet auch unter natürlichen Bedingungen alleine durch die Magnetfeldachse der Erde statt, allerdings ist die Kraft, also das Magnetfeld B_0 , eines Magnetresonanztomographen etwa 60 000 mal stärker und die daraus resultierende

Längsmagnetisierung umso größer (WEISHAUPT et al. 2010). Gemessen wird die Stärke eines Magnetfeldes in Tesla.

Neben seiner Eigenschaft als Dipol weist das Proton bzw. der Spin noch eine weitere Eigenschaft auf. Wird er in ein Magnetfeld eingebracht, wirkt eine äußere Kraft auf die Kreisbewegung und versucht die Rotationsachse des Spins abzulenken. Dieser reagiert darauf mit einer Ausweichbewegung, die als Präzessionsbewegung bekannt ist. Die charakteristische Frequenz, mit der der Kreisel ausweicht, wird als Larmorfrequenz bezeichnet und ist proportional zur Stärke des Magnetfeldes B_0 (SCHMIDT 2006, WEISHAUPT et al. 2010).

Wird in das stabil ausgerichtete Spinsystem von außen Energie eingebracht, die genau der Larmorfrequenz entspricht, kippen die Spins aus der sogenannten z-Ebene. Durch einen Hochfrequenzimpuls kann eine Auslenkung um exakt 90° erreicht werden, wodurch auch die Gesamtmagnetisierung um 90° kippt. Das nach wie vor bestehende Magnetfeld B_0 jedoch wirkt weiter auf die Spins ein, so dass sie nun nicht mehr in ihrer ursprünglichen Ausrichtung präzessieren, sondern um 90° gekippt. Durch die Drehbewegung entsteht eine Spannung die gemessen werden kann, das so genannte Magnetresonanzsignal (MR-Signal) (SCHMIDT 2006, ERLINGER 2010).

Nach der beschriebenen Anregung folgen die für die MR-Bildgebung wichtigen Relaxationsbewegungen der Spins. Dabei handelt es sich zum einen um die longitudinale Relaxation und zum anderen um die transversale Relaxation, welche im Folgenden genau erläutert werden.

5.1.2 Longitudinale Relaxation T1

Das Kippen der Spins und die folgende Rotation um 90° werden als transversale Magnetisierung bezeichnet. Durch die Kraft des äußeren Magnetfeldes fallen die Spins nach und nach wieder in ihre ursprüngliche Ausrichtung zurück. Dadurch nimmt die Magnetisierung im 90° Winkel ab, das ausgesandte MR-Signal wird kleiner. Die Magnetisierung entlang der ursprünglichen Längsausrichtung nimmt hingegen wieder zu, so dass von einer longitudinalen Relaxation gesprochen wird (WEISHAUPT et al. 2010). Die Geschwindigkeit, mit der dieses Phänomen erfolgt, ist

abhängig von der Stärke des äußeren Magnetfelds B_0 und von der Beeinflussung der Spins untereinander, der Spin-Gitter-Relaxation, welche wiederum gewebeabhängig ist. Die Zeitkonstante dieses Vorgangs wird als T_1 bezeichnet. Läuft der beschriebene Vorgang einmalig ab, entsteht zwar ein messbares Signal, dieses reicht jedoch nicht aus, um ein sichtbares Bild zu erzeugen. Dafür muss der Vorgang mehrfach wiederholt werden. Dabei ist die Zeit zwischen Erholung und erneuter Anregung, also Umlenkung im 90° Winkel, variabel einstellbar und wird Repetitionszeit (TR) genannt. Wird die TR sehr lang gewählt, sind alle zuvor um 90° gekippten Spins wieder in ihre Ursprungslage zurück gefallen und können nun alle erneut angeregt, also gekippt werden. Damit wird der Einfluss der Spin-Gitter-Wechselwirkung, also die T_1 -Gewichtung des Bildes, geringer. Ist die TR hingegen kurz, sind nicht alle Spins wieder in Ausgangslage und können demnach auch nicht wieder angeregt werden, so dass deutlich weniger Signalstärke entsteht und das Bild damit weniger beeinflusst wird. Wie bereits beschrieben, zeigen Gewebe unterschiedliche T_1 Eigenschaften, das heißt verschiedene Gewebe relaxieren unterschiedlich schnell. Diese Eigenschaft wird ausgenutzt, um Gewebe gezielt darzustellen. Gewebe mit einer kurzen TR zeigen sich hell, das bedeutet sie geben viel magnetisches Signal ab, wohingegen Gewebe mit einer langen TR dunkel sind, da sie wenig bis gar kein Signal zur Bilderzeugung beisteuern (SEMMLER et al. 2002, SCHMIDT 2006).

5.1.3 Transversale Relaxation T_2 und T_2^*

Für die transversale Relaxation ist die Drehbewegung der Spins entscheidend. Nachdem sie angeregt wurden drehen sie sich alle synchron, was man als „in Phase“ bezeichnet. Durch Wechselwirkungen untereinander geht die Synchronität verloren, es kommt zur so genannten Dephasierung. Damit beginnen jedoch die einzelnen Magnetfeldvektoren sich gegenseitig aufzuheben, und das resultierende MR-Signal nimmt zusehends ab (WEISHAUPT et al. 2010).

Das bedeutet, für die Bildentstehung ist die Zeitspanne zwischen Anregung der Spins und Messung des Signals entscheidend, die so genannte Echozeit TE . Wenn die Echozeit kurz gewählt wird, ist der Signalunterschied klein. Bei einer langen Echozeit hingegen verdeutlicht sich der Gewebeunterschied und nun zeigen sich

Gewebe mit einer kurzen TE dunkel, da sie bereits ihr Signal verloren haben, und Gewebe mit einer langen TE geben genau zum Messzeitpunkt ihr Signal ab und stellen sich hell dar. Insgesamt ist jedoch zu beachten, dass die T2 Zeit deutlich kürzer ist als die T1 und nur im Bereich von Millisekunden liegt (WEISHAUPT et al. 2010).

5.2 Diffusionsgewichtete Bildgebung

Bereits 1954 wurde das Phänomen der Signalabschwächung in einer Magnetresonanzspektroskopie durch Diffusion beschrieben (CARR und PURCELL). Die Grundlage der heutigen diffusionsgewichteten Bildgebung lieferten jedoch erst 1965 STEJSKAL und TANNER mit einer speziellen Sequenz.

5.2.1 Freie Diffusion

Auf Grund der Brownschen Molekularbewegung zeigen Teilchen in einer Flüssigkeit eine zufällige, ungerichtete Bewegung. Markiert man diese Teilchen zu einem Zeitpunkt $t=0$, so kann man die Dichteveränderung über ein Zeitintervall Δt untersuchen. Sie ist abhängig von der Molekülgröße, der Umgebungstemperatur und der Interaktion der Teilchen untereinander und wird beschrieben durch den so genannten Diffusionskoeffizienten.

In freier Flüssigkeit erfolgt die Bewegung nach dem Zufallsprinzip und gleichmäßig in alle Richtungen. Diese Richtungsunabhängigkeit der freien Diffusion wird als Isotropie bezeichnet (EINSTEIN 1926, STAHL et al 2003).

5.2.2 Begrenzte Diffusion

Untersuchungen zeigen, dass der Diffusionswert in biologischen Geweben signifikant unter dem Wert freien Wassers ($2,5 \cdot 10^{-3}$) (COOPER et al 1974), da die Bewegungsfreiheit der Moleküle durch zelluläre Mikrostrukturen eingeschränkt wird. Durch diese physiologischen Barrieren kommt es zu einer Vorzugsrichtung der Molekülbewegung entlang dieser Barrieren, während sie senkrecht dazu nur

eingeschränkt möglich ist. Diese Richtungsabhängigkeit wird als Anisotropie bezeichnet (STAHL 2003).

5.2.3 Stejskal-Tanner Sequenz

Die von Stejskal und Tanner 1965 veröffentlichte Sequenz bildet die Grundlage der diffusionsgewichteten Bildgebung (Diffusion weighted imaging DWI).

Hierbei werden zwischen den Hochfrequenzimpulsen und dem Auslesen der Messdaten zwei Gradientenimpulse geschaltet (siehe Abbildung 3). Der erste Gradientenimpuls führt dazu, dass sich die Kernspins dephasieren und somit mit unterschiedlicher Frequenz um die Magnetachse rotieren. Diese Dephasierung wird durch einen zweiten Dephasierungsimpuls rückgängig gemacht. Würden sich die Spins zu diesem Zeitpunkt an der gleichen Stelle befinden wie beim ersten Impuls, käme es zu einer Rephasierung aller Spins. In natura ist dies nicht der Fall, so dass nur die Moleküle erfasst werden, die sich zwischen den zwei Gradientenimpulsen nicht

Bei Temperaturen über dem absoluten Nullpunkt ist immer Diffusion einzelner Moleküle nachweisbar. Damit entsteht eine diffusionsabhängige Signalabschwächung, da zum späteren Messzeitpunkt nicht mehr alle Moleküle zur Signalbildung zur Verfügung stehen. Die Signalabschwächung ist umso stärker, je größer die Möglichkeit der Moleküle zur Bewegung ist.

Weitere Faktoren, die zu einem Signalverlust beitragen, sind die Gradientendauer und die Gradientenstärke (STEJSKAL und TANNER 1965, HAJNAL et al. 1991, LE BIHAN 1991, STIELTJES et al. 2003).

Die Stärke der Diffusionsgewichtung einer Sequenz wird mit der Angabe des b -Wertes ausgedrückt. Dieser errechnet sich aus der genannten Stärke und Dauer des Diffusionsgradienten sowie aus der Zeit zwischen Einstrahlung des Dephasierungs- und Rephasierungsimpulses (STAHL 2003). Der b -Wert ist sequenzspezifisch, und damit vom Untersucher einstellbar. Ist $b=0$ resultiert ein rein T2 gewichtetes Bild. Der b -Wert charakterisiert die Diffusionssensitivität einer DWI-Sequenz und kann über seine Variablen verändert werden. Eine gewisse T2 Gewichtung ist bei jedem DWI Bild vorhanden, da bei ausschließlicher Diffusionsgewichtung anatomische

Strukturen wegen des niedrigen Signals kaum mehr erkennbar sind und damit eine relevante Zusatzinformation fehlt (SARTOR 2003).

Schema der Stjeskal-Tanner Sequenz

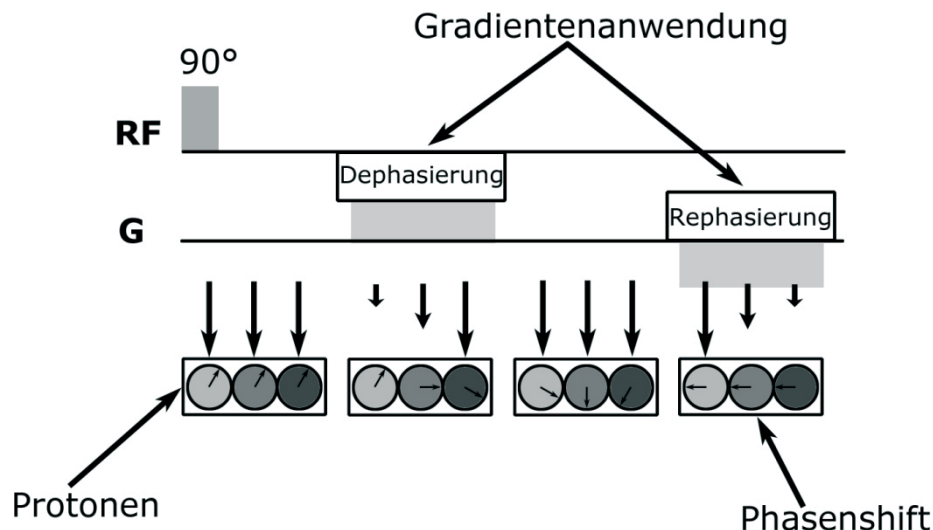


Abbildung 3 (nach Qayyum 2009): Diffusionsgewichtete Sequenz. Dabei werden zwei Gradientenimpulse zwischen den Hochfrequenzimpuls und den Zeitpunkt der Messauslesung geschaltet. Der erste Gradientenimpuls führt zu einer Dephasierung der Spins, so dass sie mit einer unterschiedlichen Frequenz rotieren. Diese wird durch einen zweiten Impuls rückgängig gemacht. Würden sich die Spins zu diesem Zeitpunkt an der gleichen Stelle befinden wie beim ersten Impuls, käme es zu einer Rephasierung aller Spins. Da das unter natürlichen Bedingungen nicht vorkommt werden nur die Moleküle erfasst, die sich zwischen den Impulsen nicht bewegt haben.

5.2.4 Apparent diffusion coefficient (ADC)

Der „apparent diffusion coefficient“ (scheinbarer Diffusionskoeffizient ADC) ist eine physikalische Größe, die die Diffusion von Wassermolekülen in einem biologischen System beschreibt.

Da die Diffusion in Geweben nicht ungehindert möglich ist, ist nur die Feststellung des scheinbaren Diffusionskoeffizienten möglich (MOSELEY et al. 1990). Der Name macht deutlich, dass es sich hierbei nicht um eine genaue Messung der Diffusion in einem Gewebe handelt, sondern die Interaktion von Molekülen und Gewebestrukturen untereinander in einer vorgegebenen Messzeit beschrieben wird. Bei einer kurzen Messzeit beschreibt der ADC eher die Viskosität innerhalb eines

Gewebes, wohingegen bei längerer Messzeit die begrenzenden Eigenschaften eines Gewebes, beispielsweise Zellmembranen, stärker zum Tragen kommen (BEAULIEU 2002). DWI Bilder enthalten immer eine T2 Komponente (T2 shine through), die man zwecks Erfassung von echten Normabweichungen der Diffusion beseitigen muss. Auf DWI erscheinen diejenigen Strukturen hyperintens, in denen die Wasserdiffusion eingeschränkt ist, aber auch solche, in denen die Diffusion erleichtert, aber zugleich die T2-Relaxation erhöht ist, beispielsweise bei vasogenen Ödemen und Nekrosen (HEILAND 1999). Um den Ursprung einer Hyperintensität näher zu differenzieren, wird zunächst ein sogenannter ADC-Map berechnet, welcher die Umkehrung („negative“) der DWI-Bilder ohne T2-Einfluss darstellt. Auf ADC-Maps entsprechen Areale mit niedrigem ADC (dunkel) Gewebearealen mit pathologisch eingeschränkter Diffusion (siehe Abbildung 4) (SARTOR 2003).

Vergleich einer Läsion mittels T2, diffusionsgewichteter Bildgebung und eines errechneten ADC

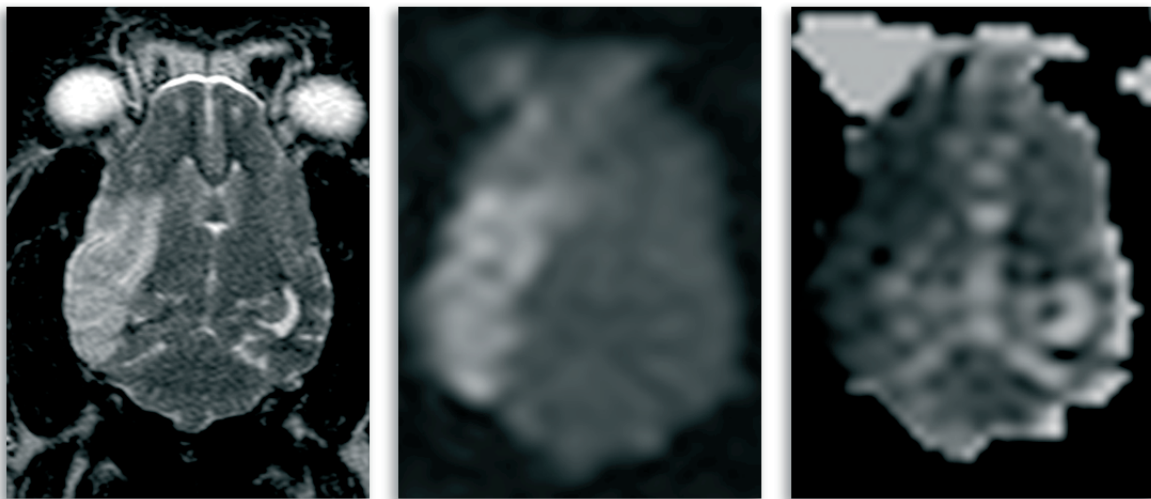


Abbildung 4: Beispiel dreier Sequenzen einer dorsalen MRT Untersuchung des Gehirns eines Hundes. Vergleich der T2 gewichteten- (a) und diffusionsgewichteten Sequenz (b) sowie einem ADC mapping (c)

a) Die T2 Gewichtung zeigt eine Hyperintensität (Aufhellung) des Gewebes. Eine Differenzierung zwischen Flüssigkeit, Fett und physiologischer Gewebeeigenschaft ist nicht möglich.

b) In der DWI erscheint dieses Areal deutlich hyperintens was hinweisend sein kann für eine verminderte Diffusion des Gewebes.

c) Zur genauen Abgrenzung inwieweit das helle Signal reine Diffusion oder T2 shine through Effekt ist, wird im ADC der T2 Einfluss rechnerisch eliminiert. Da das Gebiet dunkel erscheint ist von einer Verminderung der Diffusion in diesem Gebiet auszugehen.

5.2.5 Diffusions-Tensorbildung DTI

Auf Grund der Tatsache, dass Gewebe, beispielsweise Nerven, eine faserige Textur aufweisen, ergibt sich eine gewisse Ausrichtung der Diffusion entlang der Hauptachse (STAHL 2003). Untersucht man eine einzelne Faser pro Voxel, ist die erhaltene Diffusionsrichtung eine gute Annäherung an die Ausrichtung der gesamten Faser (ALEXANDER et al. 2001).

Da Diffusion jedoch in einem dreidimensionalen Raum stattfindet, ist die Ermittlung einer 3x3 Matrix (Tensor) notwendig, die die Molekularbewegung entlang einer gemessenen Richtung und die Korrelation zwischen den Richtungen beschreibt. Die gemessene Signalintensität beschreibt das Maß der Diffusion entlang eines geschalteten Gradienten. Durch wiederholte Messungen in unterschiedlichen Ausrichtungen ergibt sich ein ellipsoides Verhaltensmuster der Diffusion. Es ist die Messung von sechs verschiedenen Raumrichtungen nötig, um für jedes Voxel eine identische Abtastung des Diffusionsellipsoids (Tensor, symmetrische 3x3-Matrizen) zu erreichen.

Aus diesen Elementen werden die einzelnen Elemente der Tensormatrix anschließend berechnet.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit ist es sinnvoll, die Form des erhaltenen Tensors in Form einer Grauwertdarstellung zu wählen. Er stellt das Verhältnis des anisotropen Anteils des Diffusionsellipsoids zum gesamten Ellipsoid dar, was auch als fraktionale Anisotropie bezeichnet wird. Diese Zahl bewegt sich zwischen null und eins, wobei Werte bei null eine isotrope Diffusion und Werte bei eins eine anisotrope Diffusion beschreiben (BASSER und PIERPAOLI 1996).

5.2.6 Fixation und DWI

Auf Grund der Sensitivität der DWI Parameter bezüglich Bewegung (Herzaktivität, Atembewegung und Liquor cerebrospinalis Pulsation) sind die Einsatzmöglichkeiten in vivo sehr limitiert. Desweiteren ist die Lage des Rückenmarks im Wirbelkanal günstig für die Entstehung zahlreicher Artefakte durch die Grenzflächenbildung mit der Wirbelsäule (HOLDER et al. 2000, RIES et al. 2000). Zur Vermeidung einer Artefaktbildung in der Bildentstehung zwischen Rückenmark und Fett sowie zwischen Rückenmark und Knochen ist die Untersuchung fixierten Nervengewebes eine im

Bereich der Forschung häufig eingesetzte Methode (RIES et al. 2000, D'ARCEUIL et al. 2007).

Da das MRT Signal abhängig ist von zahlreichen Gewebeeigenschaften, kann angenommen werden, dass eine Fixierung mittels Formalin das Signalverhalten verändert. Durch die Proteindenaturierung im Rahmen der Fixierung mit Formalin kommt es jedoch nur zu einer geringen Veränderung des Signals. Am Rückenmark der Katze konnte festgestellt werden, dass dieser Effekt sich besonders deutlich innerhalb der ersten zwei Wochen nach Beginn der Fixierung zeigt. Der dabei entstehende geringe Signalabfall in einer T2 Sequenz stagniert jedoch nach diesem Zeitpunkt. Damit ist eine Untersuchung fixierter Proben nach Abschluss der Fixation zu jedem beliebigen Zeitpunkt möglich. Insbesondere die DWI und die daraus resultierenden ADC-Maps zeigen trotz der veränderten Diffusionsmöglichkeiten durch die Proteindenaturierung keine Veränderungen am fixierten Präparat im Vergleich zu einem frisch entnommenen (PATTANY et al. 1997), so dass Rückschlüsse auf Erkrankungsprozesse in vivo möglich sind.

6. Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit geht der Fragestellung nach, ob degenerative Rückenmarkserkrankungen, insbesondere die degenerative Myelopathie mittels diffusionsgewichteter Magnetresonanztomographie bei 3 Tesla darstellbar sind. Ziel und Aufgabenstellung der eigenen Untersuchungen ist es, Veränderungen des Diffusionsverhaltens festzustellen und mit pathohistologischen Befunden zu vergleichen sowie Erklärungsmöglichkeiten für diese aufzuzeigen.

6.1 Gerätebeschreibung:

Die MRT-Untersuchungen dieser Arbeit wurden mit dem Gerät Trio 3.0 Tesla der Firma Siemens im Brain Imaging Center im Zentrum für Bildgebung in den Neurowissenschaften der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt am Main durchgeführt. Für alle Sequenzen wurde eine Handgelenksspule, ebenfalls der Firma Siemens, verwendet.

Die Auswertung der Bilder erfolgte mit Hilfe der Software Philips DICOM Viewer R 2.4.

6.2 Sequenzen:

Bei der Untersuchung der Rückenmarkspräparate kamen zwei verschiedene Sequenzen zum Einsatz. Zum einen eine T2 gewichtete Sequenz (22 Schichten, FOV 60x60mm, Voxelgröße 0,3x0,3x2mm, TR 3000ms, TE 67ms, FLIP angle 170°) sowie zur Darstellung potentieller Diffusionsunterschiede der Präparate eine determinierte diffusionsgewichtete Sequenz der Firma Siemens, welche modifiziert wurde (ep2d_diff-phase_murks). Die letztgenannte stellt eine sogenannte echoplanare Einzelimpulstechnik dar (ssh Epl= „single-shot echo-planar imaging“). Sie liefert einen guten Kontrast und ein gutes Signal-Rausch-Verhältnis („signal-noise-ratio“ SNR) bei vergleichsweise kurzen Messzeiten. Darüber hinaus vermindert sie den Einfluss von „T2 shine through“ Effekten. Allerdings kommt es bei ihrer Nutzung durch Magnetfeldinhomogenitäten und Suszeptibilitätsartefakte zu Signalverlust und

Bildverzerrung. Die b-Werte wurden auf 500, 1000 und 1500 eingestellt (Voxelgröße 0,7x0,7,2mm, TR 3200ms, TE 160ms).

Die Diffusion der Protonen wird in dieser Sequenz nicht nur in einer Richtung (Phasencodier- oder Schichtrichtung) sondern aus einer Kombination aller drei Richtungen (Phasencodierung, Frequenzcodierung und Schichtrichtung) errechnet (isotrope Abbildung der Diffusionseigenschaften).

Alle Untersuchungen wurden mit Hilfe der gleichen Voreinstellungen durchgeführt.

6.3.1 Untersuchungsmaterial:

Im Rahmen der Arbeit wurden Rückenmarkspräparate von zehn Hunden untersucht (siehe Tabelle 1). Alle Tiere wurden im Zeitraum vom 01.04.2007 bis zum 01.06.2010 im Klinikum Veterinärmedizin in der Klinik für Kleintiere der Justus-Liebig-Universität vorgestellt. Gruppe 1 beinhaltet sechs klinisch neurologisch auffällige Hunde, die in der Klinik für Kleintiere als Patienten vorgestellt und auf Besitzerwunsch euthanasiert wurden. Die vier Tiere der Vergleichsgruppe 2 sind auf Grund anderer, nicht rückenmarksassoziierter schwerwiegender Erkrankungen auf Besitzerwunsch euthanasiert worden und wiesen keine neurologischen Auffälligkeiten auf. Das Alter der Tiere in Gruppe 1 lag zwischen 9 und 11 Jahren mit einem Durchschnitt von 9,5 Jahren. In der Gruppe 2, der Vergleichsgruppe, befanden sich Tiere von 2 bis 14 Jahren mit einem Altersdurchschnitt von 7 Jahren. Die Geschlechterverteilung ergab in Gruppe 1 drei männliche und drei weibliche Tiere sowie in Gruppe 2 drei männliche und ein weibliches Tier. Die klinisch auffällige Gruppe 1 setzte sich aus Hovawarten (4) und Hunden der Rasse Deutscher Schäferhund (2) zusammen. In der Vergleichsgruppe 2 befanden sich ein Deutscher Schäferhund, ein Deutsch Kurzhaar, ein Labrador Retriever sowie ein Golden Retriever.

Die klinisch-neurologische Untersuchung der sechs neurologisch auffälligen Patienten zeigte durchweg eine hochgradige Paraparese mit einer oberen motorischen Neuron-Symptomatik, hinten beidseits aufgehobener Propriozeption und verzögerten Haltungs- und Stellreaktionen. Eine Hyperästhesie der Wirbelsäule ließ sich bei allen Patienten nicht feststellen. Die Untersuchung der Kopfnerven, sowie der Reflexe der Vordergliedmaßen verlief unauffällig. Damit ergibt sich der Verdacht

auf eine Läsion zwischen den Intumeszenzen (zwischen dem dritten Thorakal- und dritten Lendenwirbel).

Übersicht über Rasse, Alter, Geschlecht und klinischen Status der Tiere

Tabelle 1

Patient	Rasse	Alter in Jahren zum Zeitpunkt der Euthanasie	Geschlecht	Klinischer Verdacht auf degenerative Myelopathie
Gruppe 1				
1	Hovawart	10	weiblich	ja
2	Hovawart	11	männlich	ja
3	Deutscher Schäferhund	9	männlich	ja
4	Deutscher Schäferhund	9	männlich	ja
5	Hovawart	9	weiblich kastriert	ja
6	Hovawart	9	weiblich	ja
Gruppe 2				
I	Deutscher Schäferhund	4	männlich	nein
II	Deutsch Kurzhaar	8	männlich	nein
III	Golden Retriever	2	männlich	nein
IV	Labrador Retriever	14	weiblich	nein

Die klinisch-neurologische Untersuchung der vier Vergleichstiere (Nummer I-IV) zeigte keine neurologischen Ausfälle.

In der Magnetresonanztomographie der für DM verdächtigen Tiere im Rahmen der klinischen Aufarbeitung zeigten zahlreiche Bandscheiben der thorakolumbalen Wirbelsäule aller Tiere teils hochgradig Degenerationen im 1 Tesla MRT, jedoch waren keine Protrusionen oder Extrusionen der Bandscheiben nachweisbar, die an der klinischen Symptomatik ursächlich beteiligt sein könnten.

Die Untersuchungswerte des Liquor cerebrospinalis zeigten keine Abweichung von der Referenz.

6.3.2 Gewinnung und Aufbereitung der Proben:

Nach Euthanasie der Tiere wurde das thorakolumbale Rückenmark im Institut für veterinärmedizinische Pathologie der Justus-Liebig Universität entnommen. Vom

Todeszeitpunkt bis zur Entnahme vergingen durchschnittlich 60 Minuten. Anschließend erfolgte eine Immersionsfixierung der Rückenmarkspräparate als Ganzes mit den Rückenmarkshäuten in 10 % Formalin (1 Teil 36 % Formalin und 9 Teile Wasser) für 14 Tage. Danach wurden die Dura mater und Pia mater ohne Substanzverlust von den Rückenmarken abpräpariert und die Pars thoracica in drei ca. fünf Zentimeter lange Stücke geteilt. Bis zum Zeitpunkt der Untersuchung erfolgte eine weitere Fixierung der Präparate in 10 % Formalin.

Anschließend wurde eine Nummerierung der Präparate zur Verschlüsselung per Losverfahren durchgeführt (siehe Nummern der Patienten in Tabelle 1). Sechs einzelne Rückenmarksabschnitte können in den sechs Fächern einer Box gleichzeitig untersucht werden, so dass je sechs Abschnitte einer Box zugelost wurden (siehe Abbildung 5). Damit ergibt sich beispielsweise für das Rückenmarksteilstück des Patienten 1 in der Box Nummer 5 die Codierung 1.5.

Untersuchungsbox



Abbildung 5: Die Abbildung stellt eine der eigens angefertigten Dosen zur gleichzeitigen Untersuchung von sechs Rückenmarksproben dar. Zur Vermeidung von Artefakten während der Untersuchung mittels Magnetresonanztomographie sind die Dosen mit Formalin gefüllt. Die Proben der Patienten werden durch Nummerierung verschlüsselt und die Verteilung auf die ebenfalls nummerierten Dosen erfolgt mittels Losverfahren. So können die Proben zugeordnet werden ohne für den Untersucher nachvollziehbar zu sein. Die Tiere der Kontrollgruppe wurden nachträglich umbenannt in römische Ziffern zur besseren Differenzierung (Tier 7 bis 10 erhielten die Nummern I-IV).

Befand sich mehr als ein Rückenmarksteilstück eines Patienten in einer Box, so wurde der zweiten Ziffer ein zusätzlicher Buchstabe zugewiesen (z.B. Patient III hatte zwei Abschnitte in Box 4, so dass sich die Identifizierungsnummern III.4x und III.4y ergeben).

Die Untersuchung aller sechs Boxen erfolgte an einem Tag. Zur Minimierung möglicher Artefakte an der Grenzfläche Luft zu Flüssigkeit waren die Boxen während der Untersuchung mit Formalin gefüllt. Die per Losverfahren zugeteilten und durch Nummerncodierung geblindeten Proben wurden anschließend im Magnetresonanztomographen im Brain Imaging Center untersucht.

6.4 Bildauswertung:

Die Beurteilung der entstandenen Datensätze erfolgte von einem Diplomate für Neurologie (Dr. Martin Schmidt DECVN) und einem Resident für Neurologie (Kristina-S. Grohmann).

Wie in der Abbildung 6.4 verdeutlicht, zeigt Probe A (Gruppe 1, Patient Nummer 3) ein Rückenmarkspräparat, welches in der DWI als hyperintens befundet wurde. Deutlich sind die zentrale Aufhellung (weißer Pfeil) und der helle Ring (schwarzer Pfeil) im Bereich der weißen Substanz zu erkennen. Im Vergleich dazu erscheint Probe B (Gruppe 1, Patient Nummer 2) deutlich dunkler, also hypointenser. Im Folgenden werden bei der Beschreibung der MRT Bilder die Begriffe hyperintens und hypointens synonym zu hell und dunkel verwendet.

Vergleich eines hyperintensiven und eines hypointensen Präparates in der DWI

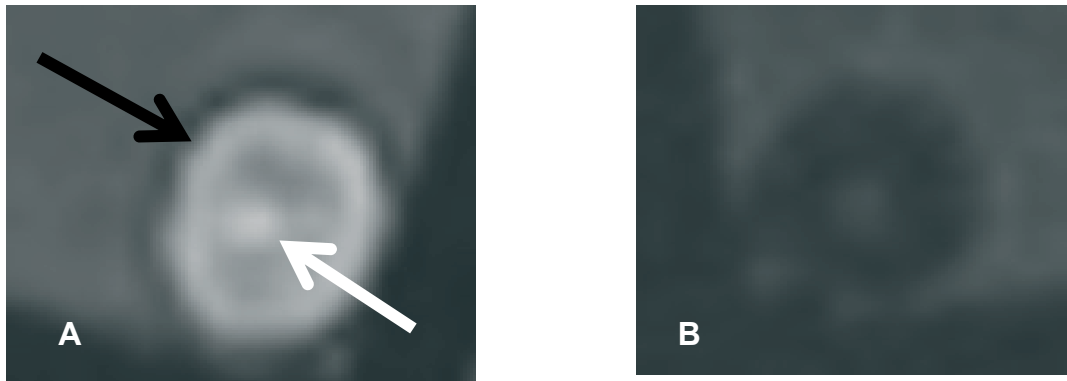


Abbildung 6: Die Abbildungen verdeutlichen die Signalunterschiede eines Rückenmarkspräparats mittels diffusionsgewichteter Magnetresonanztomographie

Abbildung 6 A: Diffusionsgewichtete Sequenz Patient 3.4, Querschnitt thorakolumbal, **hyperintense Probe:** Deutlich zeigt sich das hyperintense, helle Signal der Probe (weißer Pfeil). Die äußerliche weiße Substanz des Rückenmarks tritt stärker hervor im Vergleich zur etwas gräulichen grauen Substanz im Zentrum des Rückenmarks. Dies bedeutet, dass in den helleren Bezirken die Protonen weniger Möglichkeit zur Bewegung hatten, so dass ein höherer Prozentsatz zur Bildaquirierung zur Verfügung steht.

Abbildung 6 B: Diffusionsgewichtete Sequenz Patient 2.6, Querschnitt thorakolumbal, **hypointense Probe:** Bei dieser Probe zeigt sich zwar eine gewisse Inhomogenität der Grautöne, im Vergleich zum linken Präparat jedoch kein hyperintenses, helles Signal. Bei diesem Präparat haben die Protonen die Möglichkeit ihre Position zu verändern, und stehen für ein Bildsignal somit nicht zur Verfügung.

6.5 Pathologisch-histologische Untersuchung

Im Anschluss an die MRT Untersuchung erfolgte die pathohistologische Auswertung der Rückenmarksproben in der Vetsuisse Fakultät in Bern im Department klinische Veterinärmedizin, klinische Forschung Neuropathologie.

Mit Hilfe eines Schlittenmikrotoms wurden von allen drei Einzelproben der thorakolumbalen Rückenmarksproben pro Tier 4 µm dicke transversale Schnitte angefertigt, welche in einem 37°C warmen Wasserbad gestreckt und auf 0,1 % polylysinierte Objektträger aufgezogen wurden. Zur Färbung wurden die Gewebeschnitte in Xylol entparaffiniert und über eine absteigende Ethanolreihe rehydriert. Anschließend erfolgte die Färbung nach den drei folgenden Färbemethoden.

Die **Hämatoxylin-Eosin-Färbung** dient der Unterscheidung verschiedener Gewebestrukturen im mikroskopischen Bild anhand von zwei verschiedenen Einzelfärbungen und wird als Übersichtsfärbung verwendet.

Hämatoxylin färbt alle sauren beziehungsweise basophilen Strukturen blau, insbesondere Zellkerne mit der darin enthaltenen Desoxyribonukleinsäure (DNS) sowie das mit Ribosomen angereicherte rauhe endoplasmatische Retikulum (rER). Eosin, als Gegenfärbung, färbt alle azidophilen beziehungsweise basischen (eosinophilen) Strukturen rot. Hierbei werden das Zytoplasma, Kollagen und Erythrozyten rot gefärbt.

Zur weiteren Differenzierung wurde eine Kombination aus Hämatoxylin Eosin mit Luxol Echtblau vorgenommen (Markscheidenfärbung, **Luxol Fast Blue**). Luxol Fast Blue, ein basisches Kupfer-Phthalocyanin bindet an die Markscheiden über die Cholinbausteine der Phospholipide. Bei der gewöhnlichen Paraffineinbettung bleibt von dem Myelin nur das Neurokeratin erhalten; zu diesem Lipoprotein besitzt Luxol Echtblau eine spezifische Affinität und färbt es leuchtend blau. Damit erscheinen intakte Myelinscheiden blau, während demyelinisierte Regionen rosa erscheinen.

Zusätzlich wurden die Schnitte mit einer **Silbernitratlösung** nach Bielschowsky gefärbt. Diese basiert auf einer Abwandlung der Golgifärbung, bei welcher der Nervenzellkörper und das Axon tiefschwarz gefärbt werden.

Aus Teilbereichen aller drei Einzelproben der sechs klinisch verdächtigen Tiere der Gruppe 1 und der vier Vergleichstiere der Gruppe 2 wurden Transversalschnitte und Längsschnitte angefertigt. Diese Schnitte wurden mittels der genannten Techniken gefärbt. Anschließend erfolgte die Beurteilung im Lichtmikroskop in Unkenntnis des Vorberichts und der diffusionsgewichteten Bildgebung.

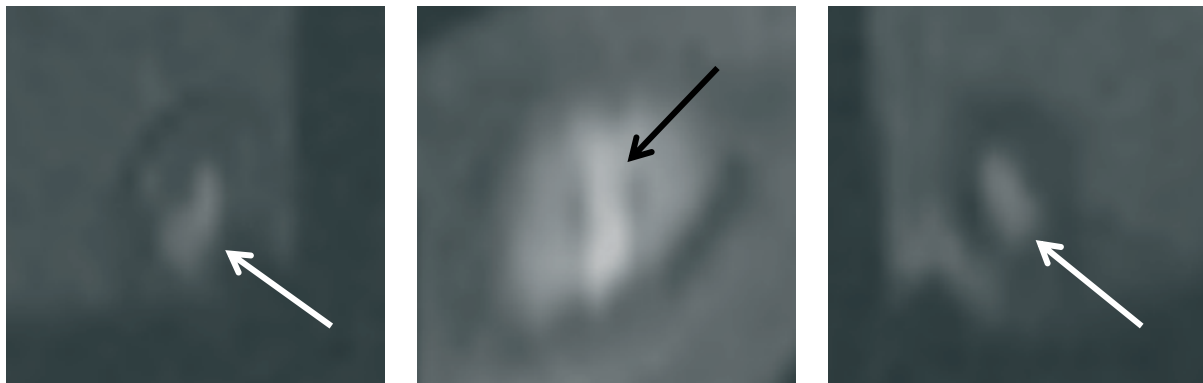
7. Ergebnisse

7.1.1 Magnetresonanztomographische Untersuchung und pathohistologische Auswertung der klinisch für degenerative Myelopathie (DM) verdächtigen Tiere der Gruppe 1

Die Proben der klinisch für DM verdächtigen Tiere in **Gruppe 1** weisen ein sehr heterogenes Signalmuster auf.

Der **erste Patient der Gruppe 1** ist eine zum Zeitpunkt der Euthanasie 10 Jahre alte Hovawarthündin, bei der auf Grund der klinischen Untersuchung der Verdacht auf eine degenerative Myelopathie bestand. Sie zeigt in Probe 1.5 (Abbildung 7) eine deutlich sichtbare zentrale Hyperintensität, die den Querschnitt der Probe durchzieht (schwarzer Pfeil). Das umgebende Gewebe stellt sich ebenfalls, wenn auch etwas weniger deutlich, hyperintens dar.

Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 1



Abschnitt 1.2

Abschnitt 1.5

Abschnitt 1.6

Abbildung 7: Magnetresonanztomographie, diffusionsgewichtete Sequenz des Patienten 1, einem Hovawart, 10 Jahre, weiblich, Verdacht auf degenerative Myelopathie, thorakolumbales Rückenmark geteilt in 3 Abschnitte, transversal

Abschnitt 1.2 Eine Abgrenzung zwischen grauer und weißer Substanz ist nicht klar begrenzt aber deutlich erkennbar. Die zentrale graue Substanz zeigt ein helles T2 shine through Signal (weißer Pfeil) im Gegensatz zur umgebenden hypointensen weißen Substanz

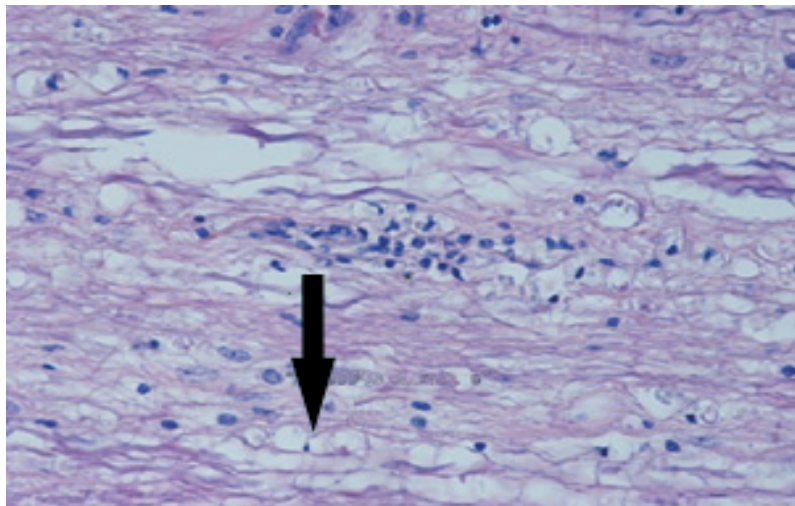
Bei **Abschnitt 1.5** ist eine sichere Unterscheidung zwischen grauer und weißer Substanz nicht möglich. Das ganze Präparat erscheint homogen hyperintens mit einer länglichen Aufhellung (siehe Pfeil), die den Rückenmarksquerschnitt durchquert.

Abschnitt 1.6 zeigt das gleiche Signalverhalten wie die erste Probe des Patienten. Jedoch erscheint die Unterscheidung zwischen grauer Substanz (weißer Pfeil) und weißer Substanz etwas deutlicher.

Die beiden anderen Proben von Patient 1 stellen sich mit einem fast identischen Signalverhalten dar. Die zentrale graue Substanz erscheint geringgradig hyperintens und wird von der sich hypointens darstellenden weißen Substanz umgeben. Die charakteristische Schmetterlingsform der grauen Substanz lässt sich nicht abgrenzen.

In der histopathologischen Untersuchung wird der klinische Verdacht der DM in allen drei Proben bestätigt. Alle drei Abschnitte weisen hochgradige Veränderungen auf mit axonalen Sphäroiden, Axondegenerationen, Axonfragmentation, Axonverlust und einer Gliose (Abbildung 9) sowie einer sekundären Myelindegeneration bilateral symmetrisch (Abbildung 8).

Hämatoxylin-Eosin Färbung eines Rückenmarkslängsschnittes klinisch-neurologisch verdächtiges Tier Nummer 1 (Gruppe 1)

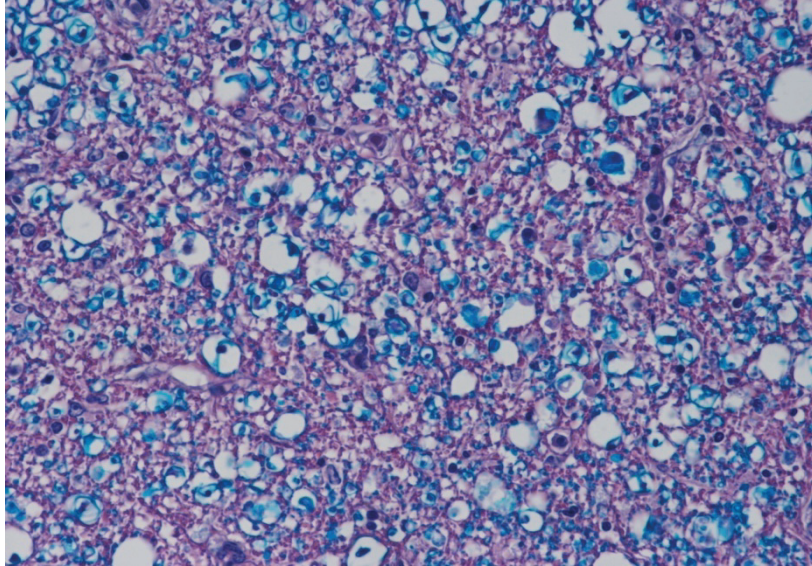


Präparat 1.5 40xObjektiv

Abbildung 8: HE Färbung eines Rückenmarkslängsschnittes des Tieres 1

Mit Hilfe der HE-Färbung kann eine Unterscheidung zwischen basophilen Strukturen, die durch das Hämatoxylin blau gefärbt werden (z.B. Zellkerne und das endoplasmatische Retikulum), und azidophilen Strukturen, die durch Eosin rot (Plasmaproteine) gefärbt werden, vorgenommen werden. Die HE-Färbung dient als Übersichtsfärbung. Hier dargestellt sind die Befunde des Patienten 1. Man erkennt „digestion chambers“ (schwarzer Pfeil) mit enthaltenen Axonfragmenten und Makrophagen sowie einer ballonartigen Auftreibung der Myelinscheide.

HE und Luxol Echtblau Färbung bei einem Rückenmarksquerschnitt Tier Nummer 1



Gliose Präparat 1.2

HE und Luxol Echtblau40xObjektiv

Abbildung 9: HE und Luxol Echtblau Färbung bei einem Rückenmarksquerschnitt des Tieres Nummer 1

Luxol Echtblau mit einer HE-Gegenfärbung stellt Myelin leuchtend blau, das Neuropil, also unmyelinisierte Dendriten und Gliazellfortsätze rötlich (eosinophil), die Zellkerne dunkelblau (basiphil) und Nervenzellkörper eosinophil dar.

Dieses Bild zeigt die hochgradige Gliose im Rückenmark von Patient 1. Zwischen den leuchtend blau gefärbten Myelinscheiden ist die Gliose an der erhöhten Zahl von basophilen Zellkernen und eosinophilen Zellfortsätzen zu erkennen. Die Gliazellen verteilen sich gleichmäßig zwischen den verbliebenen Axonen und füllen den durch den Axonverlust entstandenen Freiraum auf.

Patient **Nummer 2 der Gruppe 1** ist ein männlicher, 10 Jahre alter Hovawart, der zum Zeitpunkt der Euthanasie 11 Jahre alt ist. In der klinisch-neurologischen Untersuchung zeigt er eine obere motorische Neuronsymptomatik der Hintergliedmaßen mit der Verdachtslokalisation einer thorakolumbalen Rückenmarksläsion. Auf Grund der Ausschlussdiagnostik besteht der Verdacht einer DM.

Alle drei Proben des dreigeteilten thorakolumbalen Rückenmarks (Abbildung 10) sind homogen in ihrem Signalverhalten. Sie zeigen die schmetterlingsförmige graue Substanz zentral mit einem geringgradig hyperintensens Signal (weiße Pfeile). Die umgebenden weißen Faserbahnen bieten ein homogen hypointenses Signal.

Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 2

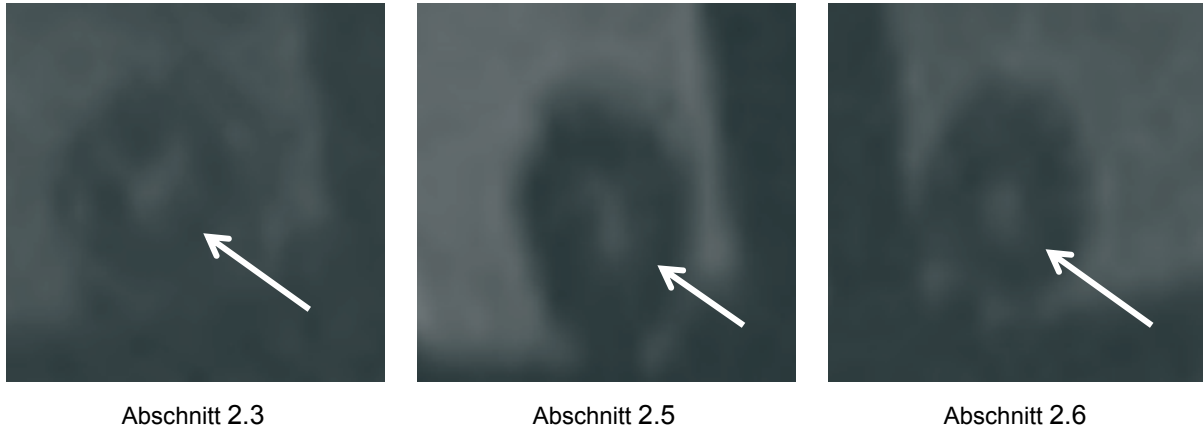


Abbildung 10: Magnetresonanztomographie, diffusionsgewichtete Sequenz des Patienten 2, eines Hovawarts, 11 Jahre, männlich, Verdacht auf degenerative Myelopathie, thorakolumbales Rückenmark geteilt in 3 Abschnitte, transversal

Alle drei Proben von Patient 2 zeigen ein vergleichbares Signalverhalten. Die zentrale graue Substanz stellt sich bei allen Proben hyperintens und unscharf begrenzt dar (weiße Pfeile). Die umgebende weiße Substanz erzeugt in allen drei Proben ein homogenes hypointenses Signal.

Bei der pathohistologischen Untersuchung werden die drei Einzelproben eindeutig positiv für das Vorliegen einer DM diagnostiziert. Es finden sich axonale Sphäroide, Axondegenerationen, Axonfragmentation, Axonverlust und eine Gliose sowie eine sekundäre Myelindegeneration bilateral symmetrisch. Die Veränderungen sind im Rückenmarksabschnitt 2.6 hochgradig ausgeprägt. Abschnitt 2.3 und 2.5 weisen mittelgradige Veränderungen auf.

Bei **Patient Nummer 3 der Gruppe 1** handelt es sich um einen 9 Jahre alten, männlichen Deutschen Schäferhund. Auch bei diesem Tier besteht auf Grund der klinisch-neurologischen Untersuchung und der Ausschlussdiagnose der Verdacht auf eine DM, welcher sich in der pathohistologischen Untersuchung nicht bestätigt. Die Proben des Patienten (Abbildung 11) stellen sich inkonstant im Signalverhalten dar. Die erste und dritte Probe des Tieres zeigen eine kleine zentrale Hyperintensität (weiße Pfeile). Diese wird bei der ersten Probe (3.4) umgeben von einem gemischt iso- bis hypointensen Signal (gestrichelter Pfeil). Dieser Bereich stimmt etwa mit der

schmetterlingsförmigen grauen Substanz überein. Jedoch stellt sich auch das umgebende Gewebe mit einem deutlich hyperintensen Signal dar.

Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 3



Abbildung 11: Magnetresonanztomographie, diffusionsgewichtete Sequenz des Patienten 3, ein Deutscher Schäferhund, 9 Jahre, männlich, Verdacht auf degenerative Myelopathie, thorakolumbales Rückenmark geteilt in 3 Abschnitte, transversal

Bei **Abschnitt 3.4** stellt sich die graue Substanz iso- bis hypointens dar mit einer zentralen Hyperintensität (weißer Pfeil). Der Bereich der grauen Substanz zeigt sich hellgrau (gestrichelter Pfeil). Die sie umgebende weiße Substanz hingegen ist deutlich hell und hyperintens.

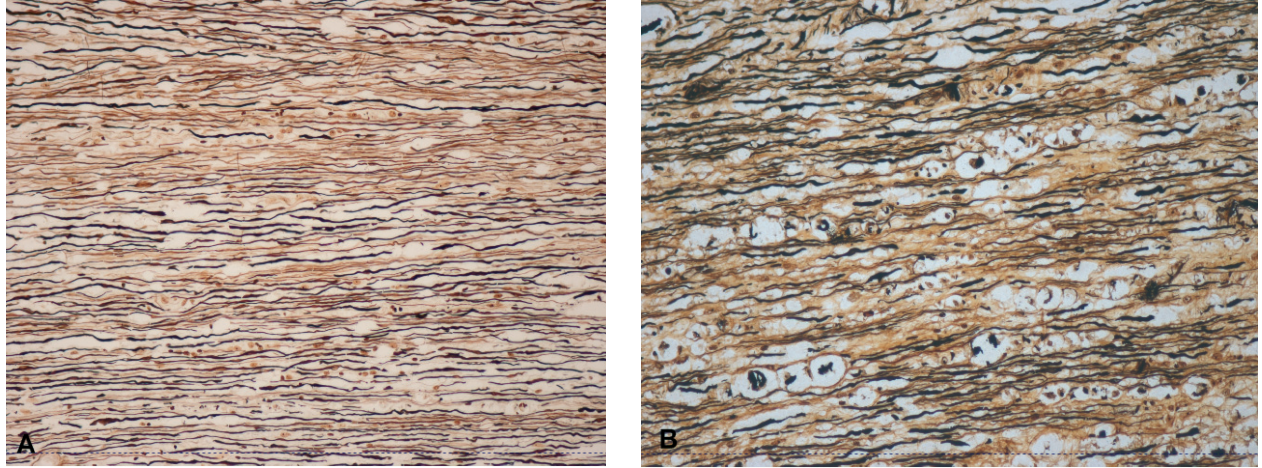
Abschnitt 3.5 weist ein fast unverändertes Signalverhalten auf mit einer hyperintensiven schmetterlingsförmigen grauen Substanz (schwarzer Pfeil) und der homogen hypointensen umgebenden weißen Substanz.

Präparat 3.6 zeigt ein ähnliches Signalverhalten wie die erste Rückenmarksprobe des Patienten jedoch mit einer deutlich geringeren Ausprägung. Auch hier findet sich ein hyperintenses Signal im Zentrum (weißer Pfeil), welches von einem iso- bis hyperintensiven Signal umgeben wird. Die äußere Begrenzung des Rückenmarks erscheint physiologisch hypointens.

Ein ähnliches Signalverhalten zeigt die dritte Probe des Patienten (3.6). Hier zeigt sich die gesamte umgebende Rückenmarksstruktur jedoch iso- bis hyperintens, wenn auch in einer nicht so deutlichen Ausprägung. Eingefasst wird das Rückenmark von einem hypointensen Saum. Die Probe 3.5 stellt ein physiologisches Signalverhalten dar, mit einer Hyperintensität der grauen Substanz (schwarzer Pfeil) welches von einem hypointensen, dunklen, Signal umgeben wird.

In der pathohistologischen Untersuchung wird dieses Tier in allen drei Einzelproben frei von DM diagnostiziert. Die Proben 3.5 und 3.6 weisen eine Autolyse mit einzelnen geschwollenen und degenerierten Axonen (Abbildung 12) auf, jedoch lassen sich keine Veränderungen finden, die charakteristisch für das Vorliegen einer DM sind. Abschnitt 3.4 weist zusätzlich eine Gliose auf.

Bielschowsky Färbung eines Rückenmarkslängsschnittes von Tier Nummer II und 3



A physiologisches Rückenmark
Kontrolltier II 20x Objektiv

B Rückenmark mit Degeneration
Patient 3, Probe 3.4 40x Objektiv

Abbildung 12: Die Bielschowsky Färbung (Silberimprägnation) ermöglicht die Darstellung mechanischer Schäden der Axone. Sie sind besonders charakteristisch im Longitudinalschnitt eines Nervs wie hier gezeigt.

In **Abbildung 12 A** (Kontrolltier Nummer II) stellen sich die Axone physiologisch imprägniert dar. Es zeigt sich eine gleichförmige Struktur der Nervenfasern.

Abbildung 12 B (DM verdächtiges Tier Nummer 3) zeigt ein Rückenmark mit charakteristischer Schwellung der Axone (Sphäroide), und balonartiger Auftreibung der Myelinscheide. Diese Veränderungen entstehen im Rahmen einer Axondegeneration beispielsweise bei einer Wallerschen Degeneration und enthalten axonale Fragmente, Myelindebris sowie Makrophagen. Sie werden dann als „digestion chambers“ bezeichnet.

Das **vierte Tier in Gruppe 1** der klinisch für DM verdächtigen Tiere ist ein 9 Jahre alter männlicher Deutscher Schäferhund. Auch bei diesem Tier wurde mittels klinisch-neurologischer Untersuchung und Ausschlussdiagnose der Verdacht auf DM gestellt. Die dreigeteilten thorakolumbalen Rückenmarksproben des Tieres (Abbildung 13) weisen jeweils ein sehr ähnliches Signalverhalten jedoch in unterschiedlicher Ausprägung auf. Alle drei Proben des Patienten zeigen eine zentrale Hyperintensität (weiße Pfeile). Bei Probe 4.4 lässt sich die schmetterlingsförmige Struktur der grauen Substanz deutlicher abgrenzen als bei den anderen Proben des Patienten. Bei diesen ist das zentrale Signal unschärfer, runder und geringgradig hyperintenser sichtbar. Das Signal der langen Faserbahnen

der weißen Substanz stellt sich in den Proben 4.4 und 4.5 iso- bis hypointens und in dem Rückenmarksabschnitt 4.3 geringgradig hyperintens dar.

Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 4

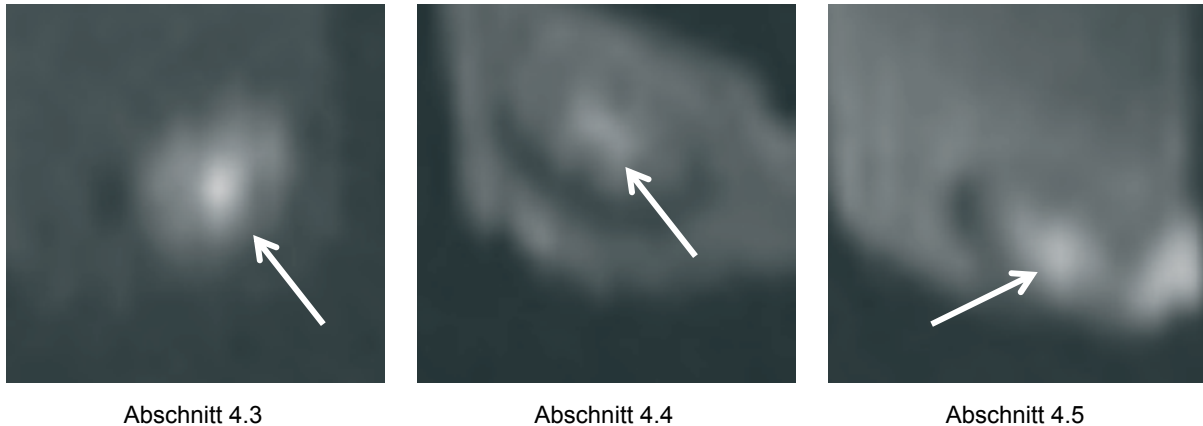


Abbildung 13: Magnetresonanztomographie, diffusionsgewichtete Sequenz des Patienten 4, eines Deutschen Schäferhundes, 9 Jahre, männlich, Verdacht auf degenerative Myelopathie, thorakolumbales Rückenmark geteilt in 3 Abschnitte, transversal

In **Abschnitt 4.3** zeigt sich der zentrale graue Bereich des Rückenmarks mittelgradig hyperintens (weißer Pfeil). Die Schmetterlingsform lässt sich nicht nachvollziehen. Die umgebenden weißen Faserbahnen zeigen ein geringgradig inhomogenes iso- bis hyperintensives Signal, welches am äußeren Rand hypointens ist.

Auch **Abschnitt 4.4** weist ein ähnliches Signalverhalten auf. Bei diesem Abschnitt des Rückenmarks ist die Schmetterlingsform der grauen Substanz deutlicher zu erkennen (weißer Pfeil) und die Hyperintensität des zentralen Signals ist geringer ausgeprägt als in den beiden anderen untersuchten Abschnitten der Probe.

Der **Rückenmarksabschnitt 4.5** verhält sich in seinem Signalverhalten identisch zu Abschnitt 4.3. Auch hier findet sich ein hyperintensives zentrales Signal (weißer Pfeil), welches von einem iso- bis hypointensen Signal umschlossen wird.

In der pathohistologischen Untersuchung wird die Diagnose DM in allen drei Einzelabschnitten des Tieres gestellt. Die Rückenmarksabschnitte 4.3 und 4.4 weisen geringgradige Veränderungen und der Abschnitt 4.5 weist mittelgradige Veränderungen auf. Die Rückenmarkspräparate zeigen axonale Sphäroide, Axondegeneration, Axonfragmentation, Axonverlust und Gliose sowie eine bilateral symmetrische, sekundäre Myelindegeneration.

Die Präparate des **Tieres 5** (Abbildung 14) der klinisch-neurologisch auffälligen **Gruppe 1** stellen sich homogen im Signalverhalten dar. Hierbei handelt es sich um

eine weibliche kastrierte Hovawarthündin von 9 Jahren, bei der auf Grund der klinisch-neurologischen Untersuchung der Verdacht auf eine DM besteht.

Alle Proben des Patienten 5 zeigen ein geringgradig hyperintenses Signal der grauen Substanz (weiße Pfeile).

Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 5

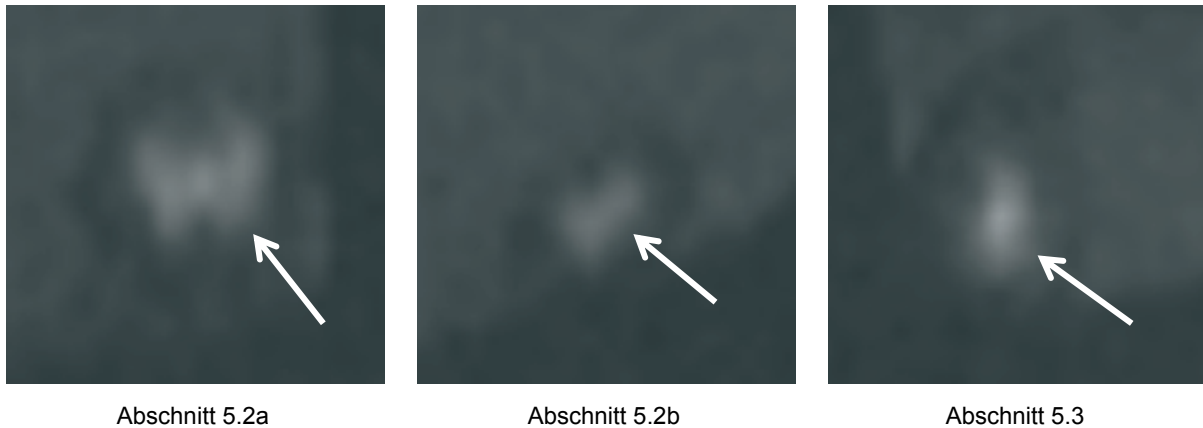


Abbildung 14: Magnetresonanztomographie, diffusionsgewichtete Sequenz des Patienten 5, eines Hovawarts, 9 Jahre, weiblich-kastriert, Verdacht auf degenerative Myelopathie, thorakolumbales Rückenmark geteilt in 3 Abschnitte, transversal

Bei **Abschnitt 5.2a** ist die schmetterlingsförmige graue Substanz von allen drei untersuchten Proben am besten abzugrenzen (weißer Pfeil). Deutlich hebt sich das geringgradig hyperintense Signal von seinem umgebenden hypointensen Saum ab.

In **Abschnitt 5.2b** ist die Schmetterlingsform undeutlicher aber dennoch erkennbar (weißer Pfeil). Das Signalverhalten dieser Probe ist identisch zu Abschnitt 5.2a.

Bei **Abschnitt 5.3** ist die zentrale Hyperintensität (weißer Pfeil) etwas stärker ausgeprägt. Jedoch zeigt sie sich rundlich und die ursprüngliche Form der grauen Substanz ist nicht mehr nachvollziehbar. Die umgebenden langen Faserbahnen zeigen auch in diesem Abschnitt des Rückenmarks ein hypointenses Signal.

Bei Probe 5.2a ist die ursprüngliche Schmetterlingsform am deutlichsten abzugrenzen. In Probe 5.2b erscheint das Signal im Bereich der grauen Substanz deutlich abgeflachter und länglich. Bei Probe 5.3 ist das hyperintense Signal kreisförmig, jedoch in dieser Probe am deutlichsten sichtbar im Vergleich zu den anderen beiden Abschnitten. Das Signal der umgebenden weißen Substanz ist in allen Proben homogen hypointens.

In der pathohistologischen Untersuchung kann die Diagnose DM für alle drei Einzelproben gestellt werden. Die Rückenmarksabschnitte 5.2a und b weisen hochgradige Veränderungen, der Abschnitt 5.3 weist mittelgradige Veränderungen auf. Es finden sich axonale Sphäroide, Axondegenerationen, Axonfragmentation,

Axonverlust und eine Gliose sowie eine bilateral symmetrische, sekundäre Myelindegeneration.

Bei **Tier Nummer 6**, das aufgrund der klinischen Symptomatik in der DM-verdächtigen **Gruppe 1** eingeordnet wurde, handelt es sich um eine weibliche, 9 Jahre alte Hovawarthündin. Die dreigeteilten thorakolumbalen Rückenmarksproben des Patienten (Abbildung 15) ähneln sich ebenfalls in ihrem Signalverhalten, unterscheiden sich aber deutlich von den beiden vorherigen Patienten (Nummer 4 und 5).

Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 1: Patient 6

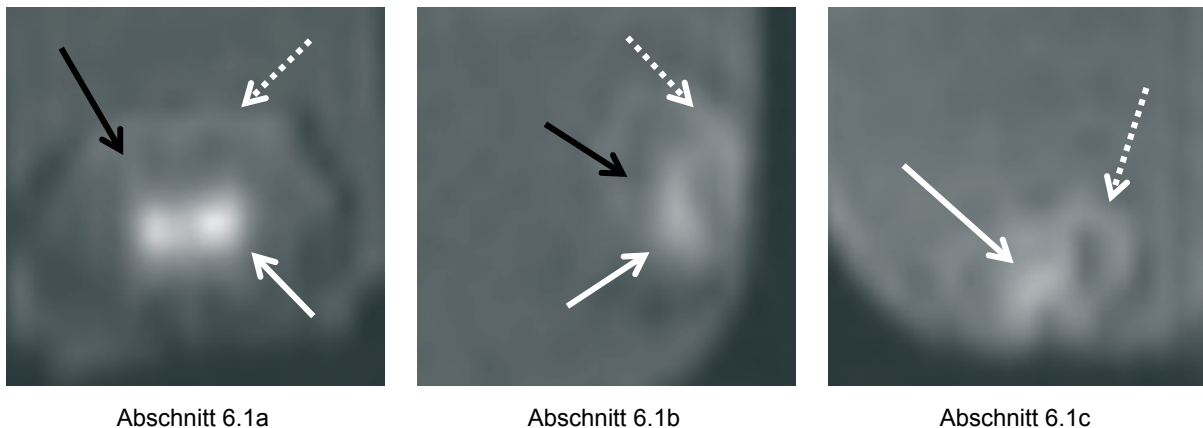


Abbildung 15: Magnetresonanztomographie, diffusionsgewichtete Sequenz des Patienten 6, eines Hovawart, 9 Jahre, weiblich, Verdacht auf degenerative Myelopathie, thorakolumbales Rückenmark geteilt in 3 Abschnitte, transversal

Abschnitt 6.1a zeigt ein annähernd H-förmiges deutlich hyperintenses Signal im Zentrum (weißer Pfeil) des Rückenmarks dessen Ausprägung im Bereich der grauen Substanz liegt. Die umgebende weiße Substanz weist ein iso- bis hypointenses Signalverhalten auf (schwarzer Pfeil). Die Randbereiche des Rückenmarks sind deutlich hyperintens hervorgehoben (gestrichelter Pfeil).

Probe 6.1b entspricht in ihrem Signalverhalten der Probe 6.1a, jedoch ist das zentrale hyperintense Signal geringgradig schwächer ausgeprägt.

Bei **Abschnitt 6.1c** liegt ein deutlich inhomogeneres Signalverhalten der Probe vor im Vergleich zu den anderen beiden Rückenmarksabschnitten 6.1a und b. Das zentrale Grau zeigt hier ebenfalls eine Schmetterlingsform (weißer Pfeil), jedoch ist die Hyperintensität der umgebenden weißen Substanz (gestrichelter Pfeil) deutlicher ausgeprägt und diffuser über die Probe verteilt.

In den Proben des Patienten Nummer 6 weisen alle drei Abschnitte des Rückenmarks eine Hyperintensität der zentralen grauen Substanz auf (weiße Pfeile). Die Schmetterlingsform lässt sich in allen Proben erahnen, ist jedoch bei Abschnitt

6.1a am deutlichsten ausgeprägt. Die umgebende weiße Substanz zeigt in allen Proben eine iso- bis hypointense Grundstruktur (schwarze Pfeile). In den Randbereichen des Rückenmarks wird das Signal jedoch deutlich hyperintenser. Diese Veränderung ist bei 6.1a deutlicher sichtbar (gestrichelte Pfeile) als in den beiden anderen Proben, ist aber auch in diesen erkennbar. In Probe 6.1c beschränkt sich das umgebende hyperintense Signal nicht nur auf den Randbereich, sondern lässt sich diffus auch im Bereich der weißen Substanz erkennen.

In der pathohistologischen Untersuchung wird die Diagnose DM auf Grund zweier mittelgradig veränderter Abschnitte (6.1b und c) sowie auf Grund eines geringgradig veränderten Abschnittes (6.1a) gestellt. Es zeigen sich axonale Sphäroide, Axondegenerationen, Axonverluste und eine Gliose sowie eine sekundäre Demyelinisierung. Die veränderten Areale stellen sich bilateral symmetrisch dar.

7.1.2 Magnetresonanztomographische und histopathologische Untersuchung der klinischen Kontrollgruppe 2

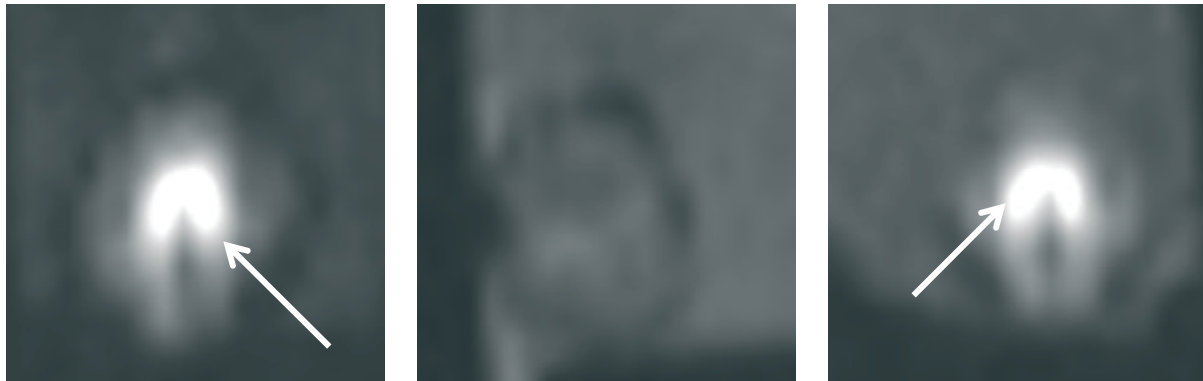
In der Kontrollgruppe 2 wurden vier Tiere untersucht. Die Tiere der Kontrollgruppe sind ausschließlich Patienten der Klinik, die auf Grund einer nicht-neurologischen Grunderkrankung auf Besitzerwunsch euthanasiert wurden. Die klinisch-neurologische Untersuchung zeigt sich bei den vier Tieren ohne Abweichung von der Norm.

Bei **Kontrolltier Nummer 1 der Gruppe 2** handelt es sich um einen vier Jahre alten, männlichen Deutschen Schäferhund. Die dreigeteilten thorakolumbalen Rückenmarksproben weisen ein inkonstantes Signalverhalten in der Diffusion auf (Abbildung 16). Die erste und letzte Probe des Patienten (I.3 und I.6) zeigen ein hufeisenförmiges hyperintenses Signal im Zentrum des Rückenmarkes (weiße Pfeile), welches von einem inhomogenen hypo- bis isointensen Signal umgeben wird. Die zweite Rückenmarksprobe (I.5) liefert hingegen das zu erwartende durchgängig hypo- bis isointense Signal.

In der pathohistologischen Untersuchung zeigt sich in den Rückenmarksabschnitten der Zentralkanal dilatiert und mit einer proteinreichen Substanz gefüllt. Die Diagnose

DM kann nicht gestellt werden. Alle Rückenmarksabschnitte weisen ein Schnittartefakt auf.

Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 2: Patient I



Abschnitt I.3

Abschnitt I.5

Abschnitt I.6

Abbildung 15: Magnetresonanztomographie, diffusionsgewichtete Sequenz des Patienten I, eines Deutschen Schäferhundes, 4 Jahre, männlich, Kontrolltier, thorakolumbales Rückenmark geteilt in 3 Abschnitte, transversal

Abschnitt I.3 zeigt ein deutlich hyperintenses Signal (weißer Pfeil) zentral im Rückenmark umgeben von einem geringgradig inhomogenen isointensen Signal.

Abschnitt I.5 hingegen zeigt keine Hyperintensitäten und weist eine gemischt iso- und hypointense Signalintensität auf

Abschnitt I.6 ist im Signalverhalten vergleichbar mit der ersten Probe des Patienten (I.3). Das hyperintense Signal (weißer Pfeil) ist deutlich sichtbar und wird von einem inhomogenen isointensen Signal umgeben.

Im Vergleich deutlich homogener stellt sich das Signalverhalten des **Kontrolltieres Nummer II der Gruppe 2** dar. Hierbei handelt es sich um einen acht Jahre alten, männlichen Deutsch Kurzhaar ohne neurologisch auffällige Befunde.

Die drei Proben des Rückenmarks dieses Tieres weisen einen Signalunterschied zwischen grauer und weißer Substanz auf (Abbildung 17). Die zentrale graue Substanz erscheint geringgradig heller (weiße Pfeile) als die umgebende hypointense weiße Substanz (schwarze Pfeile). Im Vergleich zum vorherigen Patienten Nummer I ist das deutlich homogenere Signalverhalten der drei Rückenmarksproben zu erkennen.

In der pathohistologischen Untersuchung zeigt sich das Kontrolltier II frei von DM. Es finden sich in allen Abschnitten des Rückenmarks nur einzelne geschwollene und degenerierte Axone.

Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 2: Kontrolltier II

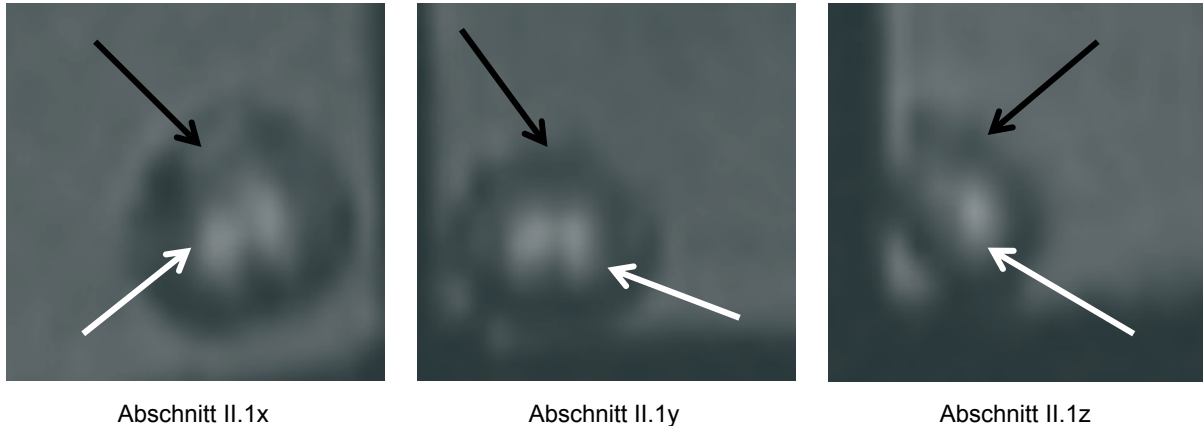


Abbildung 17: Magnetresonanztomographie, diffusionsgewichtete Sequenz des Patienten II, eines Deutsch Kurzhaars, 8 Jahre, männlich, Kontrolltier, thorakolumbales Rückenmark geteilt in 3 Abschnitte, transversal

Alle drei Rückenmarksproben des Patienten Nummer II zeigen ein vergleichbares Signalverhalten in der DWI. Die schmetterlingsförmige graue Substanz erscheint bei diesem Patienten geringgradig hyperintenser (weiße Pfeile). Sie wird in allen drei Rückenmarksabschnitten vom hypointensen Signal der weißen Substanz eingefasst (schwarze Pfeile).

Kontrolltier Nummer III der Gruppe 2 (Abbildung 18), bei dem es sich um einen zwei Jahre alten, männlichen Golden Retriever mit einer unauffälligen neurologischen Untersuchung handelt, entspricht in seinem Signalverhalten Patient Nummer I.

Die erste Probe (III.2) des dreigeteilten thorakolumbalen Rückenmarks zeigt ein inhomogen helles, hyperintenses Signal im Bereich der grauen wie auch der weißen Substanz (weißer Pfeil). Eine Differenzierung zwischen dem Bereich der Nervenzellkörper und den langen Faserbahnen ist nicht mehr möglich. Probe III.4x lässt die schmetterlingsförmige graue Substanz erahnen, wenn sie auch im Vergleich zu den bisherigen Proben hypointens erscheint (schwarzer Pfeil). Die Hyperintensität der umgebenden weißen Substanz ist sehr subtil. Die letzte Rückenmarksprobe des Patienten steht in ihrem Signalverhalten zwischen den beiden Vorherigen. Im Gegensatz zur ersten Probe ist eine Abgrenzung zwischen grauer und weißer Substanz möglich. Jedoch stellt sich der Bereich der grauen Substanz auch in dieser Probe eher hypointens dar (schwarzer Pfeil). Die umgebende weiße Substanz weist wie die erste Probe eine deutliche Hyperintensität auf (weißer Pfeil).

In der pathohistologischen Untersuchung wird die Diagnose frei für DM gestellt. Es zeigen sich einzelne geschwollene und degenerierte Axone sowie im Abschnitt III.2 eine Autolyse.

Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 2: Kontrolltier III

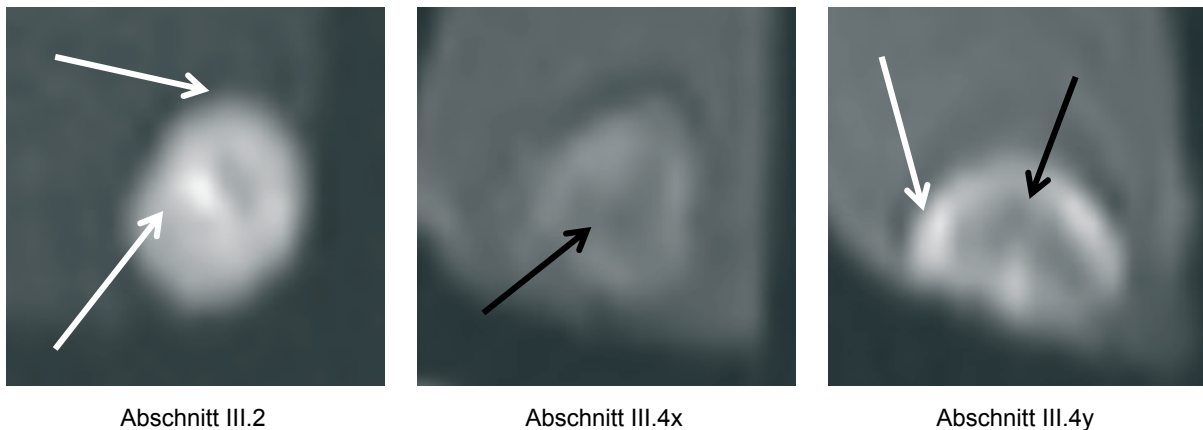


Abbildung 18: Magnetresonanztomographie, diffusionsgewichtete Sequenz des Kontrolltieres III, eines Golden Retrievers, 2 Jahre, männlich, Kontrolltier, thorakolumbales Rückenmark geteilt in 3 Abschnitte, transversal

Bei **Probe III.2** zeigt sich das gesamte Präparat inhomogen hyperintens (weiße Pfeile). Eine Trennung zwischen grauer und weißer Substanz ist nicht mehr möglich.

Abschnitt III.4x lässt eine mäßige Trennung zwischen grauer und weißer Substanz zu. Hierbei ist die graue Substanz jedoch homogen hypointens (schwarzer Pfeil), zeigt sich also dunkler. Im Vergleich zu den anderen beiden Präparaten ist die weiße Substanz nicht so hochgradig verändert im Signalverhalten, aber auch hier zeigt sich eine geringgradige homogene Hyperintensität.

Probe III.4y nimmt in ihrem Signalverhalten eine Zwischenstufe zwischen den beiden ersten Präparaten ein. Im Gegensatz zu III.2 lässt sich die graue Substanz als hypointenses Signal abgrenzen (schwarzer Pfeil), jedoch wird sie von einem deutlich helleren Signal umgeben (weißer Pfeil) als es bei III.4x der Fall ist.

Die Proben des **Kontrolltieres IV der Gruppe 2**, einer 14 Jahre alten Labrador Retriever Hündin ohne pathologisch neurologische Befunde, zeigen sich inhomogen in ihrem Signalverhalten (Abbildung 19).

Die erste Probe (IV.2) des Tieres weist ein inhomogenes Signalverhalten auf. Die Signalqualität reicht von hypointens bis hyperintens und erlaubt keine Unterscheidung zwischen grauer und weißer Substanz des Rückenmarks. Im Vergleich zu den vorherigen Proben zeigt sich die Hyperintensität in diesem Abschnitt des Rückenmarks jedoch eher geringgradig und diffus und lässt sich nicht auf einen Bereich lokalisieren. Die zweite Probe (IV.4) des Tieres erlaubt ebenfalls keine Differenzierung zwischen den beiden Anteilen des Rückenmarks, jedoch stellt

sich ein kleiner Bereich deutlich hyperintens im Vergleich zum sonst iso- bis hypointensen Rückenmark dar. Die letzte Probe (IV.6) des Patienten ist charakteristisch für ein negatives Präparat. Das geringgradig hellere Zentrum des Rückenmarks hebt sich sichtbar von der umgebenden hypointensen weißen Substanz ab.

In der pathohistologischen Untersuchung zeigt sich das Kontrolltier IV frei von DM. Einzelne geschwollene und degenerierte Axone sind gleichmäßig in allen drei Abschnitten darstellbar.

Diffusionsgewichtete Sequenz Gruppe 2: Kontrolltier IV

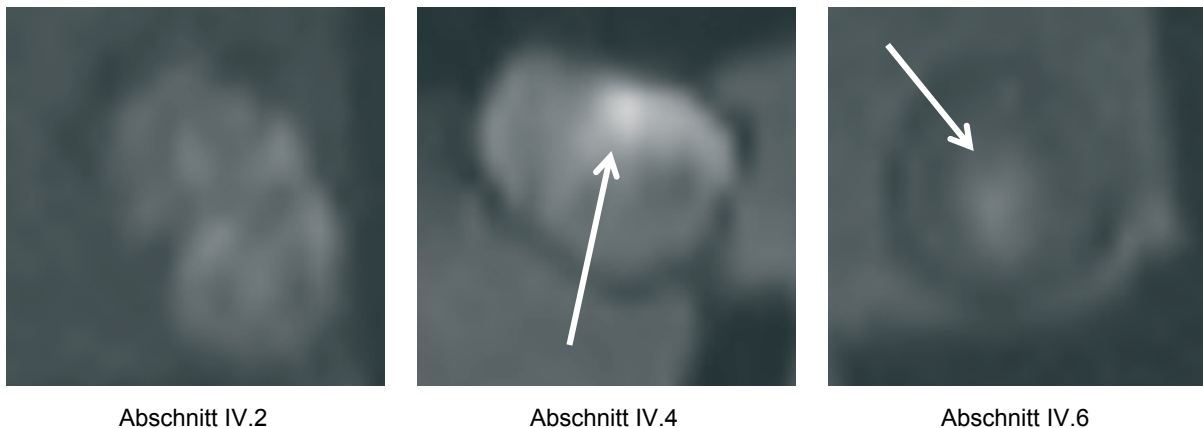


Abbildung 19: Magnetresonanztomographie, diffusionsgewichtete Sequenz des Kontrolltieres IV, eines Labrador Retrievers, 14 Jahre alt, weiblich, Kontrolltier, thorakolumbales Rückenmark geteilt in 3 Abschnitte, transversal

Das DWI Bild in **Abschnitt IV.2** erlaubt keine Differenzierung zwischen grauer und weißer Substanz. Das gesamte Präparat erscheint inhomogen hypo- bis hyperintens.

Bei **Abschnitt IV.4** ist ebenfalls keine Differenzierung zwischen grauer und weißer Rückenmarkssubstanz möglich. Insgesamt zeigt das Präparat ein relativ homogenes hypo- bis isointenses Signal. Ausgenommen ist hierbei ein kleiner Bereich mit einer deutlichen Hyperintensität (weißer Pfeil). Aufgrund des homogenen Signalverhaltens ist eine Lokalisation der Veränderung nicht möglich.

Abschnitt IV.6 zeigt ein klassisch unauffälliges Signalverhalten. Die hypointense weiße Substanz umgibt die geringgradig hellere graue Substanz (weißer Pfeil).

7 Ergebnisse

Tabelle 2: Darstellung der Pathohistologie der Proben

Probennummer: Patientennummer mit Nummer der Box	Histopathologie				
	DM Positiv	DM Negativ	Ausprägung		
			ggr	mgr	hgr
1.1	x				x
1.5	x				x
1.6	x				x
2.3	x			x	
2.5	x			x	
2.6	x				x
3.4		x			
3.5		x			
3.6		x			
4.3	x		x		
4.4	x		x		
4.5	x			x	
5.2a	x				x
5.2b	x				x
5.3	x			x	
6.1a	x		x		
6.1b	x			x	
6.1c	x			x	
I.3		x			
I.5		x			
I.6		x			
II.1x		x			
II.1y		x			
II.1z		x			
III.2		x			
III.4x		x			
III.4y		x			
IV.2		x			
IV.4		x			
IV.6		x			

DM: degenerative Myelopathie

ggr: geringgradig

mgr: mittelgradig

hgr: hochgradig

8. Diskussion

Die diffusionsgewichtete Magnetresonanztomographie (DWI) stellt in der Humanmedizin eine etablierte Untersuchungstechnik für eine Vielzahl von Erkrankungen des Nervensystems, insbesondere in der Früherkennung des Schlaganfalls, dar.

Weitere Einsatzgebiete sind die Untersuchung von Multipler Sklerose, Epilepsie, traumatischen Gehirnverletzungen, Gehirnabszessen oder Entwicklungsstörungen (LARSSON et al. 1992, CHRISTIANSEN et al. 1993, ARFANAKIS et al. 2002).

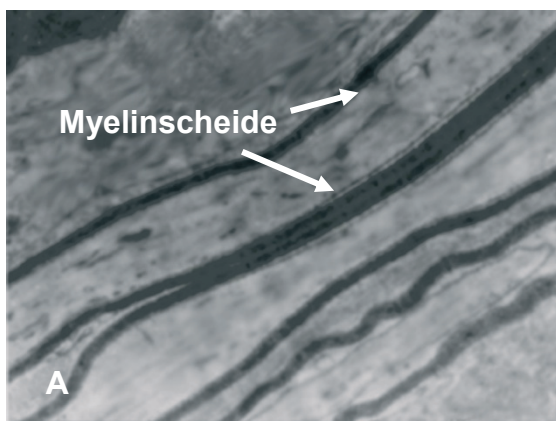
Der Einsatz der DWI im Bereich des Rückenmarks ist deutlich limitierter. Dies liegt an den im Vergleich zum Gehirn inhomogeneren Phasenräumen innerhalb des Wirbelkanals. Besonders die geringe Größe des Rückenmarks, aber auch stärkere Artefaktbildungsgefahr auf die im Folgenden genauer eingegangen wird, stellen eine Herausforderung dar (THURNHER und BAMMER 2006).

Zur Interpretation der Befunde aus Histopathologie und DWI ist die Kenntnis der grundsätzlichen Einflussfaktoren von zellulären Veränderungen auf die Diffusion nötig. Mögliche Ursachen von Veränderungen des Signalverhaltens im Sinne einer Hyper- oder Hypointensität werden im Folgenden an Hand der untersuchten Proben erläutert.

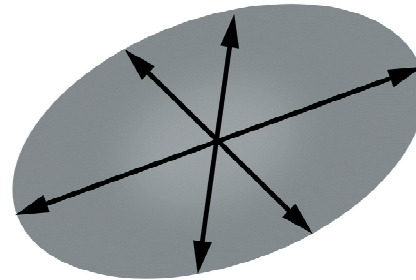
Wie in den physikalischen Grundlagen der Magnetresonanztomographie beschrieben, herrscht innerhalb eines biologischen Gewebes nicht die gleiche Diffusionsmöglichkeit von Wassermolekülen wie in einem physikalischen freien Diffusionsraum. Zellmembranen bieten der freien Diffusion Grenzen, wobei je nach Art der Zelle unterschiedlich starke Anisotropie, also gerichtete Diffusion, beobachtet wird. In einer Nervenzelle ist die Anisotropie von Wasser durch das langausgezogene Axon und die lamellierte, mit Myelin verstärkte, Schwannsche Scheide in hohem Maße ausgeprägt (Abbildung 20). Das Wasser kann in transversaler Richtung wesentlich weniger diffundieren als in longitudinaler Richtung, entlang des Axons, wo ausgedehnte, so genannte gerichtete Diffusion erfolgt. Der Verlust der strukturellen Integrität des Axons führt zu einer Erhöhung des (ungerichteten) Diffusionskoeffizienten und zu einer Erniedrigung der Anisotropie,

oder - einfach ausgedrückt - in einer Zunahme der Beweglichkeit von Wassermolekülen durch Wegfall der Diffusionsgrenzen (MELHEM et al. 2002).

Darstellung eines Nerven und der möglichen Diffusionsrichtungen



Schematische Darstellung eines Nervenlängsschnittes in einem Elektronenmikroskop



Schema der Diffusionsmöglichkeiten eines Protons

Abbildung 20 (modifiziert nach BEAULIEU 2010): Abbildung 20 A zeigt die schematische Darstellung eines Nerven unter dem Elektronenmikroskop. Die weißen Pfeile verdeutlichen die kompakten und begrenzenden Myelinscheiden, von denen die Nerven umgeben sind. Betrachtet man Abbildung 20 B ergänzend, verdeutlicht sich die Einschränkung der Diffusion durch die gegebene Form eines Nerven.

Lange Zeit ging man davon aus, dass die **Myelinschicht** auf Grund ihrer stark lipophilen Eigenschaft und ihrer mehrschichtig isolierenden Funktion, die entscheidende Begrenzung der transversalen Diffusion der Wassermoleküle innerhalb des Axons darstellt (LE BIHAN et al. 1993). Diese Überlegung kann von BEAULIEU und ALLEN (1994) nicht bestätigt werden. Sie untersuchen myelinisierte Axone des Nervus opticus und des Nervus trigeminus des Hornhechtes (*Belone belone*) vergleichen diese zum physiologisch unmyelinisierten Nervus olfaktorius und weisen eine fast identische fraktionelle Anisotropie nach. Weitergeführt wird diese Untersuchung von GULANI und Kollegen (2001) sowie HARSAN und Kollegen (2007), indem sie genetisch demyelinisierte Ratten und Mäuse untersuchen. Hierbei stellen sie nur eine geringe Abnahme der Anisotropie, von ca. 10 % im Vergleich zu genetisch intakten Tieren fest.

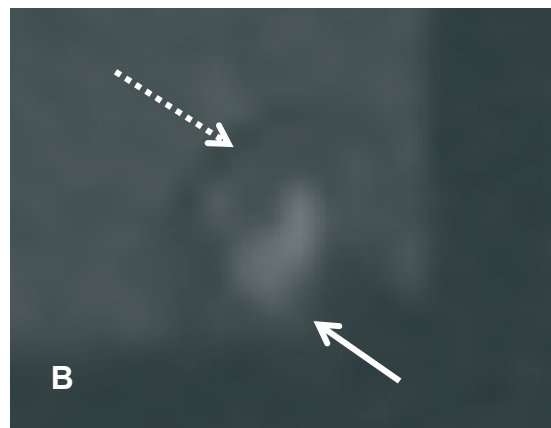
Diese Ergebnisse legen eine vorsichtige Interpretation von DWI Bildern nahe. Einerseits kann gezeigt werden, dass die Myelinummantelung des Axons nicht vorrangig an der Ausbildung der Anisotropie beteiligt ist, eine gerichtete Diffusion folglich auch bei Axonen ohne Myelinscheide vorliegt. Andererseits weisen die Ergebnisse auf die Gefahr der DWI-Bildinterpretation hin. Obwohl massive histologische Veränderungen vorhanden sein können (z.B. Demyelinisierungen), müssen diese nicht zwangsläufig in der MRT darstellbar sein, so dass sich Proben mit hochgradiger Axonzerstörung in der DWI unauffällig zeigen und somit falsch negativ befundet werden könnten (siehe Abbildung 21).

Vergleich zwischen einer Bielschowsky Färbung und einer diffusionsgewichteten Sequenz



Patient 1 Abschnitt 1.2

Bielschowsky Färbung 40x Objektiv, Längsschnitt



Patient 1 Abschnitt 1.2

diffusionsgewichtete Sequenz,
transversal

Abbildung 21:

Die Abbildung verdeutlicht die Gefahr einer falsch negativen Befundung der DWI. Abbildung 21 A zeigt einen histologischen Schnitt des Rückenmarks mit einer Bielschowsky Silber Imprägnationstechnik. Deutlich erkennt man im Rückenmark die charakteristischen „digestion chambers“ und die deutlich verminderte Schwärzung des Präparates im Rahmen des Axonverlusts.

Das selbe Präparat in der DWI zeigt in Abbildung 21 B jedoch ein physiologisches Signalverhalten mit einem iso- bis hypointensen Bereich der weißen Substanz (gestrichelter Pfeil) und einem T2 shine through der grauen Substanz (weißer Pfeil). Daher wäre dieses Präparat ohne histologische Untersuchung trotz einer hochgradigen Demyelinisierung in der DWI als gesund befundet worden.

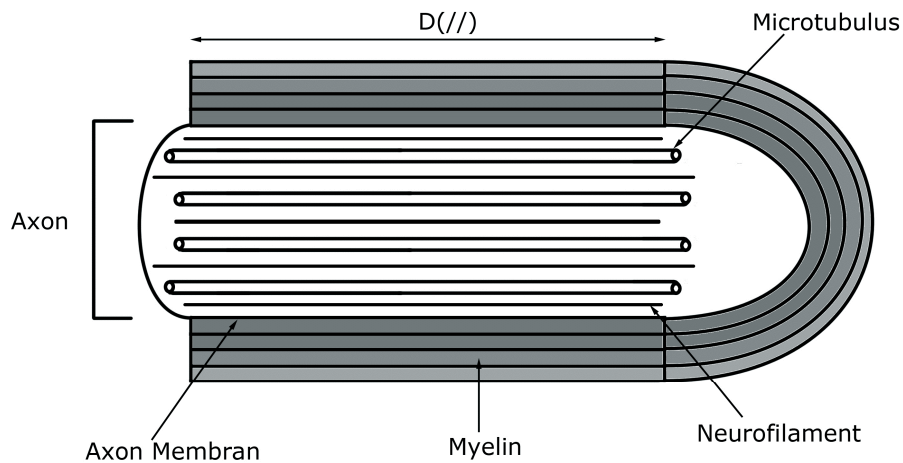
Diese Tatsache kann ein erster Erklärungsansatz für die Divergenz der oben beschriebenen Ergebnisse in der Histologie und DWI sein. Betrachtet man die Nervenfaserverstrukturen in Abbildung 21, so ist ein hochgradiger Verlust der

Myelinsubstanz des Patienten Nummer 1 sichtbar. Das korrespondierende DW Bild zeigt hingegen ein physiologisches Diffusionsmuster mit einem geringgradig hyperintensiven Signal der grauen Substanz und einem iso- bis hypointensen Saum im Bereich der langen Faserbahnen, also keine Veränderung der Diffusion der Wassermoleküle. Nur mit Hilfe der Magnetresonanztomographie und der DW-Bildgebung hätte bei diesem Patienten trotz massiver pathohistologischer Veränderungen keine Diagnose gestellt werden können.

Dieses unauffällige Signalverhalten zeigt sich bei zwei Rückenmarksabschnitten des Patienten 1 und allen drei Rückenmarksabschnitten der Patienten 2 und 5 trotz teils hochgradiger degenerativer Veränderungen in der pathohistologischen Untersuchung. Somit liefert die DWI für diese Patienten, bei denen die DM pathohistologisch bestätigt wurde, keinen Hinweis für eine mögliche Veränderung des Diffusionsverhaltens. Einzig bei Patient 4 und 6 zeigen sich Hyperintensitäten im Bereich der langen Faserbahnen, jedoch weisen diese Tiere nur gering- bis mittelgradige degenerative Veränderungen in der pathohistologischen Untersuchung auf.

Ein weiterer Erklärungsansatz für das Verhalten von Wassermolekülen innerhalb eines Axons untersuchen BEAULIEU und ALLEN (1994). Das komplexe, dicht gepackte dreidimensionale Zytoskelett eines Axons (siehe Abbildung 22) ist hauptsächlich longitudinal ausgerichtet auf Grund der Ausrichtung der zylindrischen Neurofibrillen, also der Mikrotubuli und Neurofilamente. Diese Axonbestandteile sind sehr klein aber zahlreich vorhanden, so dass sie eine wirkungsvolle Barriere für die Diffusion darstellen könnten. Dieser Überlegung folgen BEAULIEU und ALLEN (1994) und gehen der Frage nach, ob ein Verlust dieser Strukturen zu einer Veränderung des Diffusionsverhaltens führen könnte. Die Zerstörung der Neurofilamente mittels Vinblastin zeigt eine geringe Veränderung der Anisotropie, doch kommen die Autoren zu dem Schluss, dass die Abwesenheit longitudinaler Zellstrukturen nicht ausschlaggebend für eine Verminderung der Anisotropie ist. Daher ist nicht davon auszugehen, dass die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Hyperintensitäten mit einem Verlust der inneraxonalen Strukturen erklärbar sind.

Schematische Darstellung eines Axons



Schema der Mikrotubulstruktur eines Axons

Abbildung 22 (modifiziert nach BEAULIEU 2002): Schematische Darstellung eines Axons

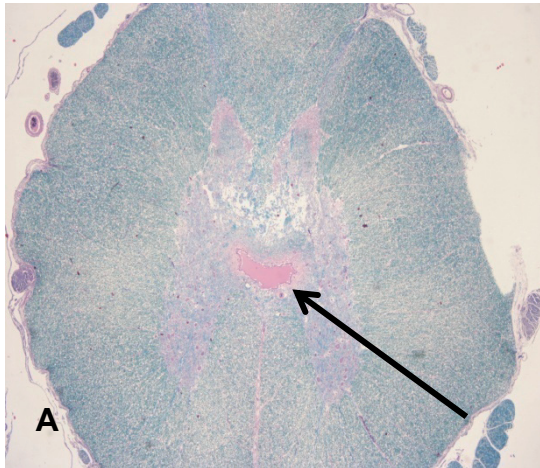
Die Zeichnung verdeutlicht den inneren Aufbau eines Axons. Es handelt sich hierbei nicht um einen Hohlzylinder, der von einer Zellmembran begrenzt und von einer Myelinscheide umgeben ist. Das Axon ist im Gegenteil dicht gepackt mit Neurofilamenten und Mikrotubuli. Diese zeigen ebenfalls eine definierte Ausrichtung.

Einen gesicherten Einfluss auf das Diffusionsverhalten hingegen hat der **Proteingehalt** einer Flüssigkeit (KINOSHITA et al. 2005).

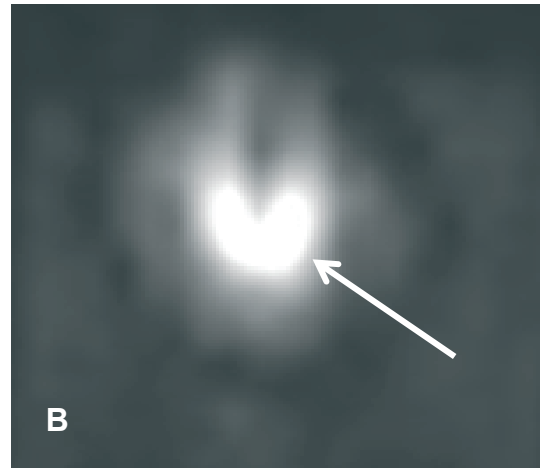
Abbildung 23 zeigt die Rückenmarksprobe des Kontrolltieres Nummer 1 (Rückenmarksabschnitt I.3) Dieses Präparat zeigt in zwei untersuchten Proben ein hyperintenses Signal in der DWI, also eine verminderte Diffusion. In der Histopathologie dieses Patienten zeigt sich in allen drei Einzelproben eine Erweiterung des Zentralkanals. Ein erweiterter Zentralkanal ließe eigentlich eine verstärkte Diffusion, also einen Signalabfall, erwarten. Jedoch befindet sich bei diesem Präparat proteinreiches Material im Sinne einer Syrinx im Zentralkanal. Durch die vorhandenen Proteinmoleküle kommt es zu einer Behinderung der freien Diffusion, so dass bei der Bildakquisition kaum eine Bewegung der zuvor angeregten Teilchen möglich ist und unverändert viele Wassermoleküle zur Verfügung stehen, so dass ein hyperintenses Signal entsteht. Bei der erfolgten Untersuchung weisen jedoch nur zwei von drei Proben ein deutlich hyperintenses Signal auf, obwohl alle drei Proben in der pathohistologischen Untersuchung einheitliche Veränderungen zeigen.

Damit muss auch die Nachweisbarkeit dieser pathohistologischen Veränderung kritisch betrachtet werden. Da im Rahmen dieser Studie jedoch nur ein Patient einen dilatierten und proteingefüllten Zentralkanal aufweist, müssen weitere Untersuchungen diese Überlegung sichern.

Einfluss des Proteingehaltes auf die DWI



Rückenmarkspräparat Abschnitt I.3 (Kontrolltier I)
HE mit Luxol Echtblau Querschnitt 2x Objektiv
Querschnitt



Diffusionsgewichtete Sequenz des Abschnitts I.3
des Kontrolltieres I der Gruppe 2
transversal

Abbildung 23: Einfluss des Proteingehaltes auf die DWI

Abbildung 23 A zeigt ein Rückenmarkspräparat des Tieres I aus der Kontrollgruppe 2. Es handelt sich um einen Querschnitt gefärbt mit HE und Luxol Echtblau. Deutlich zeigt sich der mittels Eosin rötlich gefärbte proteinreiche Inhalt des dilatierten Zentralkanals (schwarzer Pfeil). Die Untersuchung dieser Probe in der DWI (23 B) zeigt ein hochgradig hyperintenses Signal im Zentrum welches der Ausdehnung des dilatierten Zentralkanals entspricht (weißer Pfeil). Damit bestätigt sich bei den vorliegenden Proben, dass der Proteingehalt die Diffusion maßgeblich beeinflusst.

Die Detektierung eines **Ödems** bei einem Hirninfarkt ist der zur Zeit wichtigste Einsatzbereich der DWI in der Humanmedizin (MORITANI et al. 2005).

In der Akutphase eines Hirninfarkts kommt es innerhalb von Minuten zu einem zytotoxischen Ödem mit einer verminderten Diffusion. Dieses stellt sich als hyperintenses Signal in der DWI und als hypointenses Signal im apparent diffusion coefficient (ADC) dar. Erst nach mehreren Stunden entwickelt sich ein vasogenes Ödem, welches in einer normalen T2 Sequenz darstellbar ist (BARZÓ et al. 1997, BERNARDING et al.2000).

Mit einsetzender Nekrose kehren sich die Veränderungen des ADC um, da nun die Diffusion der Wassermoleküle weniger eingeschränkt ist, und es kommt zu einer Pseudonormalisierung des ADC (CONNELLY et al. 2000). Von Pseudonormalisierung spricht man, da der ADC keine Veränderungen mehr aufweist, jedoch ein pathologisch geschädigtes Gewebe vorliegt.

In Analogie zum Hirninfarkt kann experimentell beim Hund eine Infarzierung des Rückenmarks durch DW-MRT dargestellt werden (ZHANG et al. 2007). In den DWI Sequenzen zeigt sich eine Zunahme der Signalintensität in den infarzierten Arealen. In der vorliegenden Arbeit lässt sich der Einfluss eines Ödems nicht nachweisen. Dies kann damit erklärt werden, dass ein Ödem als Anzeichen eines akuten Geschehens im Rahmen einer Axonzerstörung früh im zeitlichen Verlauf einer Erkrankung auftritt. Die Patienten, die für die vorliegende Studie untersucht wurden, haben jedoch ausnahmslos eine chronische Krankheitsanamnese. Auch in den histopathologischen Schnitten der Rückenmarkspräparate zeigen sich keine zytotoxischen oder vasogenen Ödeme, die die Veränderungen des Signalverhaltens erklären könnten.

Einen für die DM wichtigen pathologischen Mechanismus stellt die **WALLERsche Degeneration** dar. Hierbei finden sich axonale zylindrische Vakuolisierungen sowie zudem ein Axon- und Myelinverlust. Dadurch eröffnen sich freie Räume innerhalb eines Nervs, die mit Zellfragmenten angefüllt sind und damit größere Möglichkeiten für ungerichtete transversale Diffusion erlauben. In longitudinaler Richtung hingegen verkürzt sich die Länge des Nervs, da im Rahmen der Degeneration der Nerv abgebaut wird.

Dieser Verlust der Rückenmarksintegrität beeinflusst ebenfalls das Diffusionsverhalten der Wassermoleküle im Rückenmark (FORD et al. 1994, BEAULIEU et al. 1996, PIERPAOLI et al. 2001). COHEN-ADAD und Mitarbeiter (2011) stellen eine deutliche Veränderung der fraktionellen Anisotropie fest, in dem sie eine Verminderung der longitudinalen sowie eine Zunahme der transversalen Diffusion zeigen. Diese Veränderungen lassen sich jedoch nur mit der Messung des beschriebenen Diffusionstensors nachweisen, da hierbei eine Aufschlüsselung der Diffusionsveränderung in Hinblick auf die Diffusionsrichtung möglich ist. Damit tritt jedoch ein mathematisches Problem auf. Betrachtet man Abbildung 24 zeigt sich

deutlich ein Unterschied der Diffusionsmöglichkeit entlang der Achsen. Die dargestellten Körper gehen von einer Kugelform in eine Zigarrenform über. Es ist zu erkennen, dass bei der Kugel die Teilchenbewegung in alle Raumrichtungen gleichmäßig möglich ist. Im Verlauf der Streckung der Körper verstärkt sich die Diffusionsmöglichkeit entlang der Achse, wohingegen sie quer zu ihr vermindert wird. Die Gesamtdiffusion, die Diffusivität jedoch bleibt gleich, da es sich hier um eine mathematische Mittelung handelt.

Schematische Darstellung der Diffusivität innerhalb verschiedener Körper

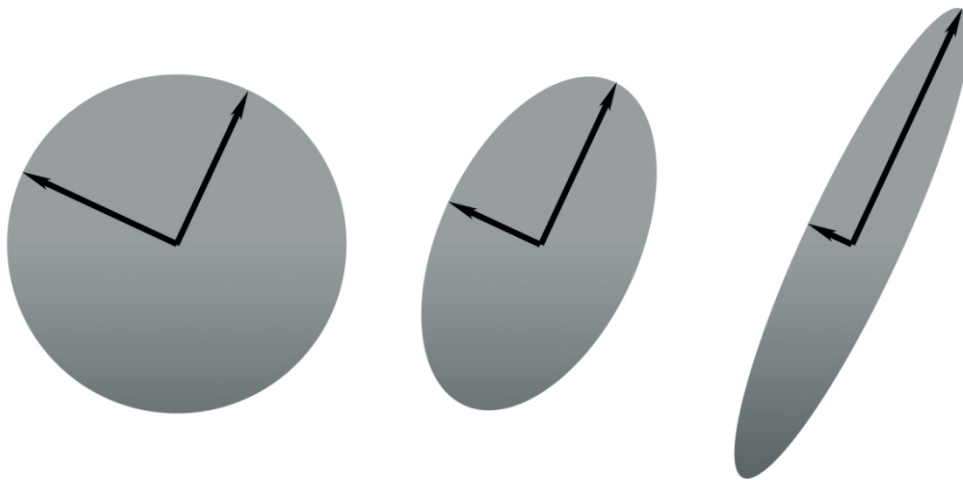


Abbildung 24 (modifiziert nach BEAULIEU 2010): Schematische Darstellung der Diffusivität

Die Abbildung verdeutlicht ein technisches Problem der Diffusionsdarstellung. Bei der Kugel links im Bild ist die Diffusion der Moleküle in alle Raumrichtungen gleichmäßig möglich. Bei den ellipsoiden Körpern in der Mitte und rechts nimmt die Diffusionsmöglichkeit entlang der Längsachse zu, jedoch quer zu ihr ab. Da es sich bei der Messung der Diffusivität jedoch um eine Erfassung der Gesamtdiffusion handelt, kommt es zu einer Mittelung der Diffusionswerte, so dass alle drei Körper den gleichen Diffusionswert aufweisen.

Obwohl es bei der degenerativen Myelopathie im Rahmen der WALLERschen Degeneration zu einer Zerstörung der Axone und der Myelinscheiden kommt, kann es in einer DW Sequenz vorkommen, dass keine Veränderung des Signalverhaltens darstellbar ist, da es sich hierbei wie in Abbildung 25 verdeutlicht, ebenfalls um eine Mittelung der Diffusion in alle drei Raumrichtungen handelt. Dieses Phänomen kann ein Erklärungsansatz für die Proben der vorliegenden Untersuchung sein, die positiv für DM diagnostiziert wurden (Patient Nummer 2, 4 und 5) und mittel- bis hochgradige Veränderungen in der pathohistologischen Untersuchung aufweisen,

jedoch ein annähernd physiologisches Signalverhalten in der DWI zeigen. Die Darstellung der Faserbahnen mittels Traktographie könnte in diesem Kontext ein Lösungsansatz sein. Hierbei wird die Diffusion in alle drei Raumrichtung separat gemessen, so dass die Richtung der hauptsächlichen Teilchenbewegung sicherer ermittelt werden kann.

Schema der Diffusion bei einer Axonschädigung

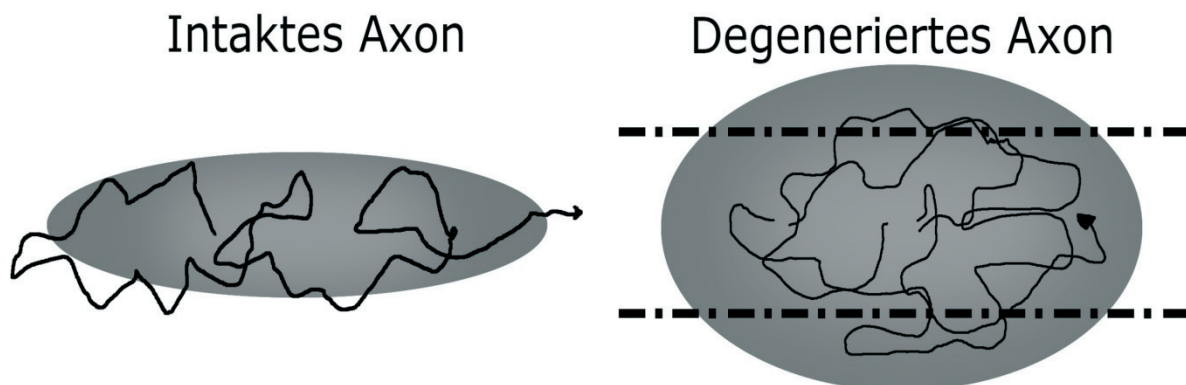


Abbildung 25 (modifiziert nach BEAULIEU 2010): Schema der Diffusion bei einer Axonschädigung

Die Abbildung verdeutlicht die oben beschriebene Problematik im Hinblick auf die Diffusionsdarstellung des Nervengewebes. Im Rahmen der Wallerschen Degeneration kommt es zu einer Veränderung der Diffusion innerhalb des Axons, jedoch bleibt die Diffusivität des untersuchten Bereiches gleich, da es sich hierbei nur um die Darstellung eines Mittelwertes handelt.

Eine weitere technische Problematik, stellt die Bildakquisition als Voxel dar. Wie im Abschnitt der MRT Physik beschrieben, erfolgt eine Mittelung des Magnetverhaltens eines bestimmten Bereiches als definierter Grauwert.

Abbildung 26 verdeutlicht, dass hier ein schwerwiegendes Problem in der Darstellung der DM und anderer degenerativer Erkrankungen mittels DWI liegt. Liegt ein Voxel ausschließlich in einem Bereich mit Veränderungen der Gewebestruktur, beispielsweise einer Gliose, wird folglich dieser Bereich als Grauwert, in diesem Fall hyperintens dargestellt. Umfasst ein Voxel jedoch physiologische und veränderte Bereiche, erhält der Anwender ein Mischbild mit einem gemittelten Grauton. Damit können pathologisch veränderte Bereiche schnell fehldiagnostiziert werden. Das beschriebene Phänomen wird auch als Partialvolumenartefakt bezeichnet.

Die DM ist charakterisiert als eine diffuse Axonopathie mit Myelinverlust, die im thorakolumbalen Rückenmark auftritt. Die Veränderungen des Rückenmarks treten

jedoch nicht homogen auf sondern diskontinuierlich (AVERILL 1973, BRAUND und VANDEVELDE 1978). In Abbildung 27 zeigt sich, dass sich wiederkehrend physiologische und pathologisch veränderte Abschnitte aneinanderreihen, so dass mittels DWI mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Mischbild entsteht, welches nicht sensitiv für den Nachweis der Veränderungen ist.

Schema des Partialvolumenartefakts

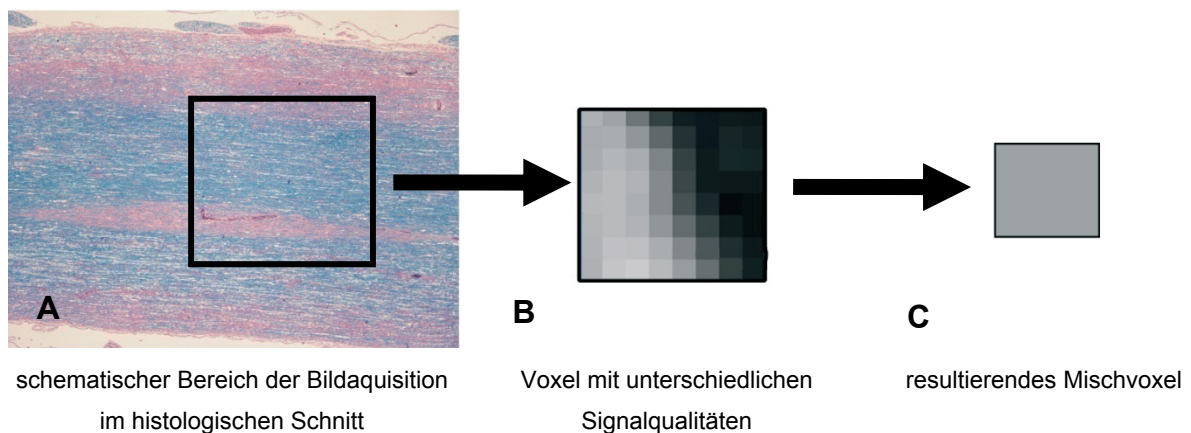
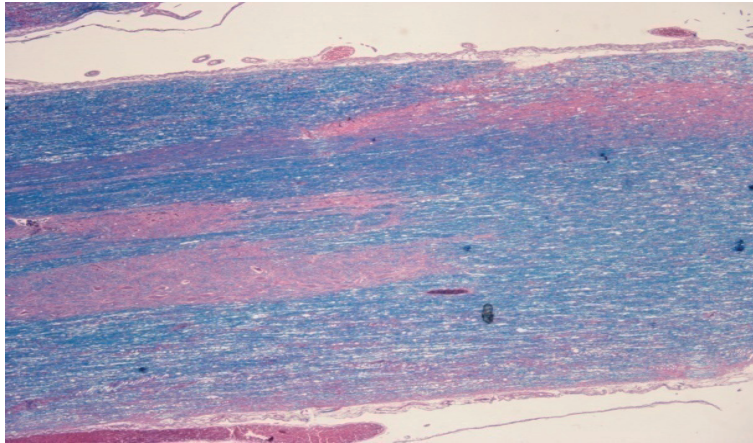


Abbildung 26: Schema des Partialvolumenartefakt

Abbildung 26 A zeigt den histologischen Schnitt einer der untersuchten Proben. Deutlich stellen sich Bereiche mit hochgradiger Veränderung des Zellbildes (bläulich) und unverändertes Rückenmarksgewebe (rötlich) dar. Bei der Bildakquisition werden nun Protonen aus beiden Bereichen angeregt und es entsteht ein Voxel mit unterschiedlichen Signalen, dargestellt in Abbildung 26 B, mit hellen und dunklen Arealen. Abbildung 26 C zeigt nun das vom Computer dargestellte Mischvoxel in einem mittleren Grauwert.

Da in der pathohistologischen Untersuchung keine vollständige Analyse der gesamten Rückenmarkslänge möglich ist, ist nicht sicher festzustellen, in wie fern dies für die Proben der Untersuchung zutrifft. Betrachtet man Abbildung 27, die den Rückenmarkslängsschnitt 1.2 des Patienten 1 zeigt, so lassen sich die abwechselnd physiologischen und pathologischen Bereiche erkennen. Das entsprechende DW Bild weist keine klare Hyperintensität auf. Daher ist davon auszugehen, dass dieses technische Problem einen deutlichen Einfluss auf das Ergebnis der DWI hat.

Diskontinuierliche Veränderungen



Patient 1, Rückenmarksabschnitt 1.2, HE und Luxol Echtblau Färbung eines Längsschnitts 2x Objektiv

Abbildung 27: Rückenmarkslängsschnitt zur Verdeutlichung der inhomogenen Veränderungen

Die Abbildung verdeutlicht einen für die DWI besonders kritischen Bereich der Untersuchung. Die abwechselnde bläuliche und rosafarbene Färbung der Gliose und des Rückenmarks kann bei der Bildakquirierung innerhalb eines Voxels liegen, so dass wie in der vorherigen Abbildung 26 beschrieben mit einer hohen Wahrscheinlichkeit ein Mischvoxel entstehen wird, welches vom Untersucher leicht als unveränderter Bereich fehlinterpretiert werden kann.

Kritisch zu bewerten im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen ist die Tatsache, dass die diffusionsgewichtete MRT nur transversal durchgeführt wurde und keine Untersuchung in Längsrichtung erfolgte. Hierbei hätten sich Hinweise für Diffusionsveränderungen zeigen können, welche anschließend gezielt transversal hätten kontrolliert werden können. Da die Untersuchungen jedoch durch ein Fremdinstitut erfolgten, ist diese Problematik erst retrospektiv festgestellt worden. Ein weiteres Problem stellt die Tatsache dar, dass entlang der ca. 5-6 cm langen Rückenmarksabschnitte die exakte Lokalisation der Diffusionsmessung aus technischen Gründen nicht nachzuvollziehen ist. Daher ist ein sicherer Vergleich zwischen den Untersuchungen der Pathohistologie und der DWI nur eingeschränkt möglich.

Ein weiterer Aspekt der bei der DWI berücksichtigt werden muss, ist das Risiko der **Artefaktdarstellung** bei der Bildentstehung. Mit dem Einsatz von Hochfeldmagneten mit Magnetfeldstärken von 3.0T haben sich große Vorteile für die DWI ergeben. Eine

Erhöhung der Magnetfeldstärke lässt einen linearen Anstieg der Bildqualität erwarten. Andererseits ist beim Einsatz von echoplanaren Einzelimpulstechniken mit ansteigender Magnetfeldstärke auch mit einem Anstieg von Artefakten zu rechnen. Die für die DWI wichtigsten Artefakte, welche in der Interpretation der Ergebnisse aus qualitativer und quantitativer Bildanalyse erwähnt werden, werden im Folgenden kurz erläutert.

Ein **Suszeptibilitätsartefakte** entsteht durch Phasenfehler, die sich bei Magnetfeldinhomogenitäten von Zeile zu Zeile addieren. Die räumliche Position eines Signals wird fehlerhaft dargestellt, so dass es zu Verzerrungen anatomischer Strukturen kommen kann. Dieses Artefakt spielt besonders bei der Anwesenheit von Metallen eine Rolle (WEISHAUPT et al. 2010).

Das „**Chemical shift Artefact**“ wird im Deutschen auch als **Fettsignalartefakt** bezeichnet. Liegen Fett und Wasser direkt nebeneinander wird ihr Signal gegeneinander verschoben abgebildet, da sich ihre Protonen in ihrer Resonanzfrequenz nur geringfügig unterscheiden (WEISHAUPT et al. 2010). Zur Minimierung des Risikos von Suszeptibilitätsartefakten und „chemical shift“ Artefakten ist bei den Präparaten die fetthaltige Dura mater entfernt worden und die Proben sind homogen in Formalin eingebettet.

Bewegungsartefakte spielen bei in vivo Diagnostik ebenfalls eine bedeutende Rolle und kommen durch Bewegung des Patienten, aber auch durch Flussbewegungen, beispielsweise des Blutes oder des Liquorflusses, zustande (WEISHAUPT et al. 2010). Da es sich bei den untersuchten Proben jedoch um Rückenmarkspräparate handelt, kann dieses Artefakt ausgeschlossen werden.

Eine weitere Hypothese für Veränderungen der Diffusion ist die Überlegung, dass mit einer steigenden Anzahl verletzter Axone die Anisotropie eines Gewebes sinkt (MACDONALD et al. 2007). So wie in zunehmendem Maße die Integrität des gesamten Nervengewebes zerstört wird, werden Hohlräume frei, die mit Zelldebris und Zellbestandteilen gefüllt sind. Es wird von den Autoren angenommen, dass in diesen Hohlräumen eine größere Möglichkeit zur ungerichteten Bewegung möglich ist im Vergleich zu einem intakten Axon oder Nerv. Hierbei kommt es zu einem Signalabfall, das heißt zu einer Hypointensität in den veränderten Bereichen. Diese Feststellung lässt sich in den hier untersuchten Proben jedoch nicht nachvollziehen.

Keine der untersuchten Proben zeigt in der diffusionsgewichteten Darstellung eine Hypointensität im Vergleich zur T2 Aufnahme.

Exemplarisch ist die Probe 1.5 des Patienten 1 dargestellt, der mit dem Verdacht einer DM vorgestellt wird, die klinisch bereits so weit fortgeschritten ist, dass eine Paraplegie vorliegt.

Hyperintensität des Rückenmarks

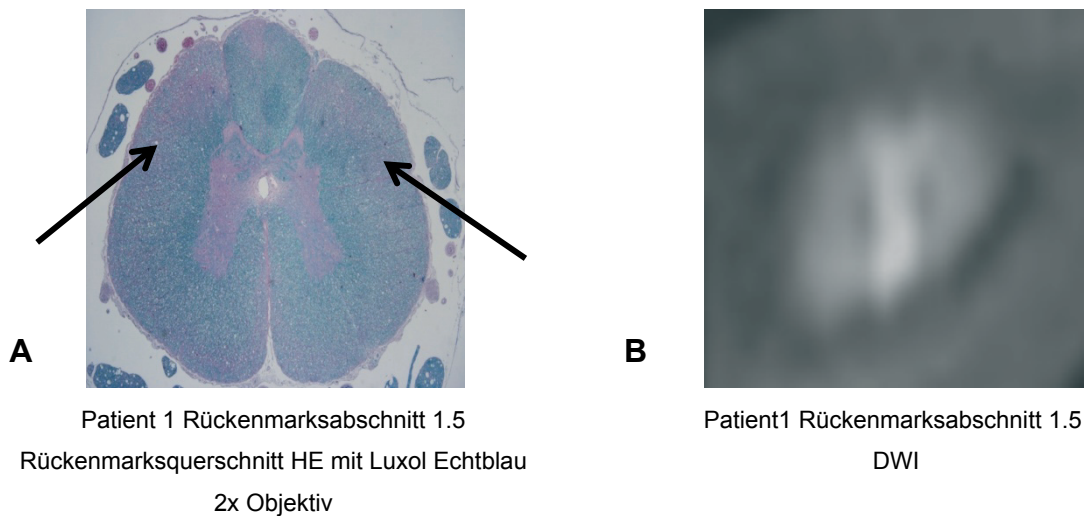


Abbildung 28: Die Abbildung vergleicht den Rückenmarksquerschnitt 1.5 des Patienten1 mit dem korrespondierenden DW-Bild.

In Abbildung 28 A sind die eosinophilen inhomogen veränderten Bereiche in der weißen Substanz erkennbar. Hierbei handelt es sich um eine ausgeprägte Gliose (schwarze Pfeile).

Abbildung 28 B stellt den entsprechenden Abschnitt in der DWI dar. Hier zeigt sich keine lokal isochrone Hypointensität im Bereich der weißen Substanz, wie sie bei einer Begrenzung der Diffusion zu erwarten wäre.

Hierbei zeigt sich ein hyperintenses Signal, also eine verminderte Diffusion, und nicht wie zu erwarten ein Signalabfall. Ein möglicher Erklärungsansatz ist, dass es im Rahmen eines zunehmenden Axon- und Myelinschadens zu einer Reparatur kommt. Dabei findet eine Ansammlung von Astrozyten statt, die im Rahmen einer **Gliose** Narbengewebe bilden. Erhöhte Zellularität eines Gewebes beschränkt die Diffusion, da sich die Moleküle nur noch innerhalb eines Zellkörpers aufhalten. Dies führt in der DWI zu einem hyperintensiven Signal (SUTHERLAND-SMITH et al. 2011). Bei den untersuchten Proben im Rahmen dieser Studie kann dieser Erklärungsansatz nicht bestätigt werden. Obwohl alle für DM positiv befundenen Patienten teils mittel- bis hochgradige Gliosen aufweisen, zeigen nur die Rückenmarksabschnitte des sechsten Patienten in der weißen Substanz, wo sich

auch die Veränderungen der DM darstellen, hyperintense Areale. Bei allen anderen DM Patienten ist dieses zu erwartende Signalverhalten nicht nachvollziehbar. Eine mögliche Erklärung kann das unterschiedliche Patientengut sein. SUTHERLAND-SMITH und Kollegen (2011) können die Signalveränderungen, die durch eine Gliose hervorgerufen werden ausschließlich bei Patienten mit Gliazelltumoren darstellen und untersuchen keine chronischen Erkrankungen des Nervengewebes. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen die Untersuchungen von LOCKWOOD-ESTRIN und Mitarbeitern (2011). Hierbei werden chronische Epilepsiepatienten mittels DTI im Vergleich mit histopathologischen Untersuchungen analysiert. Die Autoren können mittels 3T keine Übereinstimmung zwischen der Ausprägung einer Gliose der Patienten und Veränderungen des Diffusionsverhaltens der untersuchten Gehirne in der DWI MRT feststellen.

Ursächlich scheint es sich bei der degenerativen Myelopathie (DM) um Mutationen der Superoxiddismutase zu handeln, ähnlich der amyotrophen Lateralsklerose (ALS) des Menschen. Die ALS zeigt wie die DM Degenerationen der langen Faserbahnen sowie im Bereich der alpha-Motoneurone des Rückenmarks (COWIN et al. 2011). Diese Degeneration der Motoneurone spiegelt sich in diffusions sensitiven Sequenzen als hyperintenses Signal im Ventralhorn der grauen Substanz wider. Neue Untersuchungen bestätigen, dass die Motoneurone des caninen Rückenmarks bei der DM ebenfalls betroffen sein können (LONG et al. 2011). Eine Interpretation des hyperintensens Signals der grauen Substanz, welches sich bei allen Proben der vorliegenden Untersuchung feststellen ließ, im Sinne einer **Motoneurondegeneration** kann jedoch nicht getroffen werden. COWIN und Mitarbeiter (2011) verwenden eine diffusionsgewichtete Magnetresonanztomografie bei 16,4T, welche eine deutlich höhere Auflösung und Darstellung der Rückenmarksstrukturen erlaubt. Daher ist bei den Hyperintensitäten der grauen Substanz im Rahmen dieser Untersuchung von einem T2 shine through auszugehen. Der **T2 shine through** entsteht auf Grund der Tatsache, dass eine diffusionsgewichtete Sequenz auf einer T2 Gewichtung aufbaut. Daher erscheinen hyperintense Signale in der T2 ebenfalls hell in der DWI. Das hyperintense Signal im Bereich der grauen Substanz findet sich bei zwei Proben des Patienten 1 (Rückenmarksabschnitt 1.2 und 1.6), bei allen Proben der Patienten 2, 4, 5 und 6,

sowie bei allen Abschnitten der Tiere 3 und II. Ein Abschnitt zeigt sich bei Kontrolltier IV (Abschnitt IV.6) mit einem hyperintensiven Signal. Eine Unterscheidung wäre mittels apparent diffusion coefficient (ADC) möglich. Da die in der vorliegenden Arbeit Areit angefertigten ADC sich ausschließlich homogen schwarz darstellen und damit keine auswertbare Qualität aufweisen, können sie jedoch zur Diagnosestellung nicht herangezogen werden. Eine Beteiligung des von COWIN und Mitarbeitern (2011) beschriebenen Phänomens kann jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die eine Vielzahl von Pathologien Veränderungen des Diffusionsverhaltens hervorrufen können. Alleine mit der DWI ist eine Abgrenzung von Hyperintensitäten der grundlegenden T2 Aufnahme nicht möglich.

Eine sichere Differenzierung pathohistologischer Veränderungen nur anhand der DWI scheint ebenfalls nicht möglich. Besonders ist auf die Gefahr eines physiologischen DW-Bildes trotz hochgradiger Veränderungen der Nervenstrukturen hinzuweisen.

Die Erweiterung der reinen diffusionsgewichteten Magnetresonanztomographie (DWI) zu einem diffusionsgewichteten Tensor (DTI) mit einer Bilddarstellung als Traktographie (PEASE und MILLER 2011) scheint Läsionen mit Kontinuitätsunterbrechung sicherer darstellen zu können. Da diese Technik jedoch auch auf dem Diffusionsverhalten des Gewebes beruht, müssen wie vorher aufgezeigt entsprechend die Diffusion beeinflussende Parameter bei der Bildinterpretation berücksichtigt werden.

9. Zusammenfassung:

Die degenerative Myelopathie (DM) ist eine idiopathische Erkrankung älterer, großwüchsiger Hunderassen, die insbesondere bei Tieren des Schäferhund-Typs auftritt. Im Rahmen der DM kommt es im thorakolumbalen Rückenmark betroffener Tiere zu einer Demyelinisierung langer Faserbahnen und einer Degeneration der Axone. Klinisch zeigt sich bei betroffenen Tieren eine progressive Ataxie sowie eine Hyperreflexie der Hintergliedmaßen. Ein Nachweis der DM mittels zuverlässigem Gentest, Untersuchung des Liquor cerebrospinalis oder Schnittbilddiagnostik im Sinne einer Magnetresonanztomographie ist zum jetzigen Stand der Wissenschaft nicht möglich, so dass es sich um eine Ausschlussdiagnose handelt, welche nur mittels pathohistologischer Untersuchung des Rückenmarks betroffener Patienten post mortem bestätigt werden kann.

Ziel der vorliegenden Studie ist die Feststellung von Veränderungen des Diffusionsverhaltens der Rückenmarksproben mittels 3 Tesla MRT und gefundene Veränderungen mit pathohistologischen Befunden der Proben zu vergleichen.

Hierfür wurden je drei thorakolumbale Rückenmarkspräparate von 6 klinisch für DM verdächtigen Tieren (Gruppe 1) und von 4 neurologisch unauffälligen Tieren (Gruppe 2) mit Hilfe einer Handgelenksspule untersucht. Bei der verwendeten Sequenz handelt es sich um eine modifizierte ep2d_diff-phase_murks mit den b-Werten 500, 1000 und 1500. Anschließend erfolgte eine pathohistologische Untersuchung der Einzelproben zur Diagnosestellung und Graduierung der degenerativen Veränderungen.

Es konnte aufgezeigt werden, dass eine Vielzahl von Pathologien Veränderungen des Diffusionsverhaltens hervorrufen können. Eine Korrelation zwischen den mikroskopischen Untersuchungen und der Darstellung mittels DWI konnte nicht gefunden werden.

Eine sichere Diagnostizierung pathohistologischer Veränderungen nur anhand der DWI scheint ebenfalls nicht möglich. Besonders ist auf die Gefahr eines physiologischen DW-Bildes bei hochgradigen Veränderungen der Nervenstrukturen hinzuweisen. Desweiteren ist alleine mit der DWI eine Abgrenzung von Hyperintensitäten der grundlegenden T2 Aufnahme nicht möglich.

Die Erweiterung der reinen DWI zu einem diffusionsgewichteten Tensor (DTI) mit einer Bilddarstellung als Traktographie scheint Läsionen mit Kontinuitätsunterbrechung sicherer darstellen zu können. Da diese Technik jedoch auch auf dem Diffusionsverhalten des Gewebes beruht, müssen spezifische Faktoren (wie der Proteingehalt einer Probe, das Vorhandensein von Gliosen oder Ödemen sowie mögliche Artefaktdarstellungen) bei der Bildinterpretation berücksichtigt werden.

10. Summary

Degenerative myelopathy (DM) is an idiopathic disease occurring in older large breed dogs, particularly in the German Shepherd type breed. During the course of the disease a demyelization of long nerve fibre tracts and degeneration of axons takes place within the thoracolumbar spinal cord of the affected animals. The clinical signs are progressive ataxia, as well as a hyperreflexia of the hind limbs. The confirmation of DM by means of a reliable genetic test, cerebral spinal fluid analysis or sectional diagnostic imaging i.e. magnetic resonance imaging (MRI), is not possible with the present level of scientific knowledge, rendering DM a diagnosis of exclusion. A conclusive diagnosis is only attainable by the post mortem pathohistological evaluation of the affected patient's spinal cord.

The aim of this study was to determine the changes of diffusion behaviour in the spinal cord specimens by means of a 3 Tesla MRI and to compare these changes with pathohistological samples. For this purpose three spinal cord preparations in each of six dogs, clinically suspicious of DM (group 1) and four neurologically unremarkable dogs (group 2), were investigated with a wrist coil. The employed sequence was a modified ep2d_diff-phase_murks with b-values of 500, 1000 and 1500. Subsequently a histopathological evaluation of the individual specimens was performed to facilitate a diagnosis and grading of the degenerative changes.

It could be concluded that many of the pathologies could alter the characteristic of diffusion. A correlation between the microscopic examinations and imaging by means of DWI could not be found.

A definitive differentiation of histopathological changes by means of DWI alone is also not possible. This is especially the case in physiological DW-images with high grade changes in the nervous structures. With DWI alone hyperintensities could not be differentiated from a basic T2 image.

The extension of the simple DWI to a diffusion weighted tensor (DTI) with an image depiction as tractography appears to give a more secure depiction of lesions with disruption of continuity. Since this technique is also based on the diffusion characteristics of the tissue, influencing factors (e.g. protein content, existence of gliosis or oedema as well as artifacts) have to be considered during image interpretation.

11. Literaturverzeichnis:

Alexander AL, Hasan KM, Lazar M, Tsuruda JS, Parker DL (2001):

Analysis of partial volume effects in diffusion-tensor MRI

Magn Reson Med 45(5):770-780

Arfanakis K, Haughton VM, Carew JD, Rogers BP, Dempsey RJ, Meyerand ME

(2002):

Diffusion tensor MR imaging in diffuse axonal injury.

Am J Neuroradiol 23(5):794-802

Averill R (1973):

Degenerative myelopathy in the aging German Shepherd dog: clinical and pathologic findings.

J Am Vet Med Assoc 15;162(12):1045-1051

Averill DR, Bronson RT (1977):

Inherited necrotizing myelopathy of Afghan Hounds

J Neuropathol Exp Neurol 36:743-747

Awano T, Johnston GS, Wade CM, Katz ML, Johnson GC, Taylor JF, Perloski M, Biagi T, Baranowska I, Long S, March PA, Olby NJ, Shelton GD, Khan S, O'Brien DP, Lindblad-Toh K, Coates JR (2009):

Genome-wide association analysis reveals a SOD1 mutation in canine degenerative myelopathy that resembles amyotrophic lateral sclerosis

Proc Natl Acad Sci 106:2794-2799

Bammer R, Fazekas F, Augustin M, Simbrunner J, Strasser-Fuchs S, Seifert T

(2000):

Diffusion-weighted MR imaging of the spinal cord

Am J Neuroradiol 21:587-591

Barclay KB, Haines DM (1994):

Immunohistochemical evidence of immunoglobulin and complement deposition in spinal cord lesions in degenerative myelopathy in German Shepherd Dogs
Can J Vet Res 58(1):20-24

Barzó P, Marmarou A, Fatouros P, Hayasaki K, Corwin F (1997):

Contribution of vasogenic and cellular edema to traumatic brain swelling measured by diffusion-weighted imaging
J Neurosurg 87(6):900-907

Basser PJ, Pierpaoli C (1996):

Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI
J Magn Reson B 111:209-219

Beaulieu C, Allen PS (1994):

Determinants of anisotropic water diffusion in nerves
Magn Reson Med 31:394-400

Beaulieu C, Does MD, Snyder RE, Allen PS (1996):

Changes in water diffusion due to Wallerian degeneration in peripheral nerve
Magn Reson Med 36(4):627-631.

Beaulieu C (2002):

The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system
NMR in Biomedicine 15:435-455

Bernarding J, Braun J, Hohmann J, Mansmann U, Hoehn-Berlage M, Stapf C, Wolf KJ, Tolxdorff T (2000):

Histogram-Based Characterization of Healthy and Ischemic Brain Tissues Using Multiparametric MR Imaging Including Apparent Diffusion Coefficient Maps and Relaxometry

Magn.Reson. Med(43):52-61

Bichsel P, Vandeveld M (1983):

Degenerative myelopathy in a family of Siberian Husky dogs.

J Am Vet Med Assoc 183(9):998-1000

Braund KG, Vandeveld M (1978):

German Shepherd Dog Myelopathy- A Morphologic and Morphometric Study

Am J Vet Res 39:1309-1315

Braund KG, Ticio-Kinnucan M, Vallat JM, Mehta JR, Levesque DC (1994):

Distal sensorimotor polyneuropathy in mature Rottweiler dogs

Vet Pathol 31:316-326

Carr HY, Purcell EM (1954):

Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments

Phys Rev 94:630-638

Cavanagh JB (1964):

The significance of the "dying-back" process in experimental and human neurological diseases

Int Rev Exp Pathol 3: 219-267

Cavanagh JB (1979):

The "dying back" process: a common denomination in many naturally occurring and toxic neuropathies

Arch Pathol Lab Med 103: 659-664

Charlton KM, Pierce KR (1970):

A neuropathy in goats caused by experimental coyotillo (*Karwinskia humboldtiana*) poisoning: II, lesions in the peripheral nervous system, teased fiber and acid phosphatase studies

Pathol Vet 7:385-347

Christiansen P, Gideon P, Thomsen C, Stubgaard M, Henriksen O, Larsson HB (1993):

Increased water self-diffusion in chronic plaques and in apparently normal white matter in patients with multiple sclerosis

Acta Neurol Scand 87(3):195-199

Clark CA, Werring DJ (2002):

Diffusion tensor imaging in spinal cord: methods and applications- a review

NMR Biomed 15:578-586

Clark LA, Tsai KL, Murphy KE (2008):

Alleles of DLA-DRB1 are not unique in German Shepherd dogs having degenerative myelopathy.

Anim Genet39(3):332

Clemmons RM (1992):

Degenerative Myelopathy

Vet Clin North Am Small Anim Pract22(4):965-971

Clemmons RM, Cheesman JA, Kamishina H, Oji T(2006):

Genetic analysis of spontaneous canine model of primary progressive multiple sclerosis

The FASEB Journal 20;1417

Coates JR, March PA, Pglesbee M, Ruaux CG, Olby NJ, Berghaus RD, O`Brian PD, Keating JH, Johnson GS, Williams DA (2007):

Clinical characterization of a familial degenerative myelopathy in Pembroke Welsh Corgi dogs

J Vet Int Med 21:1323-1331

Cockrell BY, Heringstad RR, Flo GL, Legendre AF (1973):

Myelomalacia in Afghan Hounds

J Am Vet Med Assoc 162:362-365

Cohen-Adad J, Leblond H, Delivet-Mongrain H, Martinez M, Benali H, Rossignol S (2011):

Wallerian degeneration after spinal cord lesions in cats detected with diffusion tensor imaging

Neuroimage 1;57(3):1068-1076

Connelly A, Calamante F, Porter DA, Gadian DG (2000):

Diffusions- und Perfusions-Magnetresonanz-tomographie bei Schlaganfall im Kindesalter

electromedica. neuro 68:2-8

Cooper RL, Chang DB, Young AC, Martin CJ, Ancker-Johnson B (1974):

Restricted diffusion in biophysical systems

Biophys J 14:161-177

Cowin GJ, Butler TJ, Kurniawan ND; Watson C, Wallace RH (2011):

Magnetic resonance microimaging of the spinal cord in the SOD1 mouse model of amyotrophic lateral sclerosis detects motor nerve root degeneration

Neuroimage 58:69-74

Cummings JF, DeLahunta A (1978):

Hereditary myelopathy of Afghan Hounds

Acta Neuropathol 42:173-181

D'Arceuil HE, Westermoreland S, Crespigny AJ (2007):

An approach to high resolution diffusion tensor imaging in fixed primate brain

Neuroimage 35:553-565

Dennis R (2011):

Optimal magnetic resonance imaging of the spine

Vet Radiol Ultrasound 52:72-80

DeLahunta A(2008):

Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology
Saunders, 3rd edition,6-220

Dewey CW (2008):

Chapter 2: Functional and dysfunctional neuroanatomy: the key to lesion localization
in: A practical guide to canine and feline neurology
John Wiley & Sons; Auflage: 2. Auflage, 17-52

Edelman RR, Hesselin JR, Zlatkin MB, Crues JV (2006):

Clinical Magnetic Resonance Imaging 3ed.
Saunders Elsevier, Kapitel 1:3-694

Erlinger M (2010):

Diagnostik und Differenzierung des Morbus Parkinson mittels der T2*-
Magnetresonanztomographie
Dissertation Universität des Saarlandes

Evans HE (1993):

Millers Anatomie of the dog 3rd Edition
Saunders, Kapitel 14:758-775, Kapitel 16:800-828

Einstein A (1926):

Investigations of the theory of the Brownian movement
Dover Publ 1956, New York (first published by Methuen Co. 1926)

Fletcher TF, Kitchell RL (1966):

Anatomical studies on the spinal cord segments of the dog
Am J Vet Res 27:1759-1767

Ford JC, Hackney DB, Alsop DC, Jara H, Joseph PM, Hand CM, Black P (1994):

MRI characterization of diffusion coefficients in a rat spinal cord injury model
Magn Reson Med31(5):488-494

Funke O (1860):

Lehrbuch der Physiologie für akademische Vorlesung und zum Selbststudium
Leopold Voss, 582-892

Goller H (1959):

Vergleichende Rückenmarktopographie unserer Haustiere
TU 14:107-110

Griffith IR, Duncan ID (1975):

Chronic degenerative radiculomyelopathy in the dog
J Small Anim Pract 13:461-471

Gulani V, Webb AG, Duncan ID, Lauterbur PC (2001):

Apparent diffusion tensor measurements in myelin-deficient rat spinal cords.
Magn Reson Med 45(2):191-195

Hajnal JV, Doran M, Hall AS, Collins AG, Oatridge A, Pennock JM, Young IR, Bydder GM (1991):

MR imaging of anisotropically restricted diffusion of water in the nervous system:
technical, anatomic and pathologic considerations
J Comput Assist Tomogr 15:1-18

Harsan LA, Poulet P, Guignard B, Parizel N, Skoff RP, Ghandour MS (2007):

Astrocytic hypertrophy in dysmyelination influences the diffusion anisotropy of white matter.

J Neurosci Res 85(5):935-944

Heiland S, Sartor K (1999):

Magnetresonanztomographie beim Schlaganfall-methodische Grundlagen und klinische Anwendung
Rofo 171:3-14

Holder CA, Muthupillai R, Mukundan S Jr, Eastwood JD, Hudgins PA (2000):
Diffusion-weighted MR imaging of the normal human spinal cord in vivo
Am J Neuroradiol 21(10):1799-1806

Hyrtl J (1860):
Handbuch der topographischen Anatomie und ihre practisch medicinisch-
chirurgischen Anwendung 4.Auflage
Wien, 325-334

Johnston PEJ, Barrie JA, McCulloch MC, Anderson TJ Griffiths IR (2000):
Central nervous system pathology in 25 dogs with chronic degenerative
radiculomyelopathy.
Vet Rec146: 629-633

Johnston PEJ, Knox K, Gettinby G, Griffiths IR (2001):
Serum α -tocopherol concentrations in German shepherd dogs with chronic
degenerative radiculomyelopathy
Vet Rec148:403-407

Jolly RD, Burbridge HM, Alley MR, Pack RJ, Wilson MS (2000):
Progressive myelopathy and neuropathy in New Zealand Huntaway dogs
N Z Vet J 48:188-191

Jones JC, Inzana KD, Rossmeisel JH, Bergmann RL, Wells T, Butler K (2005):
CT myelography of the thoraco-lumbar spine in 8 dogs with degenerative myelopathy
J Vet Sci 6(4):341-348

Kathmann I, Cizinauskas S, Doherr MG, Steffen F, Jaggy A (2006):
Daily Controlled Physiotherapy Increases Survival Time in Dogs with Suspected
Degenerative Myelopathy
J Vet Intern Med 20: 927-932

Kiehn O, Kjaerulff O (1998):

Distribution of central pattern generators for rhythmic motor outputs in the spinal cord of limbed vertebrates

In: Mechanisms for locomotor generation in vertebrates (eds. O. Kiehn, R. Harris-Warrick, L. Jordan, H. Hultborn and N. Kudo).

New York Academy of Science Proceeding 1998 Vol 860, 110-129

Kinoshita T, Moritani T, Hiwatashi A, Numaguchi Y, Wang HZ, Westesson PL, Sugihara S, Matsusue E, Fujii S, Ohama E, Ogawa T (2005):

Clinically silent choroid plexus cyst: evaluation by diffusion-weighted MRI.

Neuroradiology47(4):251-255

Larsson HB, Thomsen C, Frederiksen J, Stubgaard M, Henriksen O (1992):

In vivomagneticresonance diffusion measurement in the brain of patients with multiple sclerosis.

Magn Reson Imaging 10(1):7-12

Le Bihan D, Turner R, Moonen CT, Pekar J (1991):

Imaging of diffusion and microcirculation with gradient sensitization: design, strategy, and significance

J Magn Reson Imaging 1: 7-28

Le Bihan D, Turner R, Douek P (1993):

Is water diffusion restricted in human brain white matter? An echo-planar NMR imaging study.

Neuroreport 4(7):887-890

Liebich HG, Böck P, Budras KD (2003):

Zentralnervensystem in: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere 4rd

Schattauer Kapitel5:111-128

Lockwood-Estrin GL, Thom M, Focke NK, Symms MR, Martinian L, Sisodiya SM, Duncan JS, Eriksson SH (2011):

Correlating 3T MRI and histopathology in patients undergoing epilepsy surgery

J Neurosci Methods 29:183-189

Lövblad KO, Laubach HJ, Baird AE, Curtin F, Schlaug G, Edelman RR, Warach S (1998):

Clinical experience in diffusion weighted MR in patients with acute stroke

AJNR 19:1061-1066

Long S, Chang R, Walker AK, Orian J, Atkin J (2011):

Endoplasmic reticulum stress and the unfold protein response confirm canine degenerative myelopathy as a large animal model of amyotrophic lateral sclerosis

Proceedings 24th Annual Symposium of the ECVN:12

Longhofer SL, Duncan ID, Messing A (1990):

A degenerative myelopathy in young german shepherd dogs

J Small Anim Pract 31: 199-203

Ludwin SK (1990):

Oligodendrocyte survival in Wallerian degeneration

Acta Neuropatol 80:184-191

Ludwin SK, Bisby MA (1992):

Delayed wallerian degeneration in the central nervus system in Ola mice: an ultrastructural study

J Neurol Sci 109: 140-147

Mac Donald CL, Dikranian K, Bayly P, Holtzman D, Brody D (2007):

Diffusion tensor imaging reliably detects experimental traumatic axonal injury and indicates approximate time of injury.

J Neurosci 31;27(44):11869-11876.

Maillart E, Rousseau A, Galanaud D, Gray F, Polivka M, Labauge P, Hauw JJ, Lyon-Caen O, Gout O, Sedel F (2009):

Rapid onset frontal leukodystrophy with decreased diffusion coefficient and neuroaxonal spheroids.

J Neurol 256:1649-1654

Mandigers PJ, Van Nes JJ, Knoll BW, Ubbink GJ, Gruys E (1993):

Hereditary necrotizing myelopathy in Kooiker dogs

Res Vet Sci 54:118-123

March PA, Coates RJ, Abyad JR, Williams DA, O'Brian PD, Olby NJ, Keating JH, Oglesbee M (2009):

Degenerative Myelopathy in 18 Pembroke Welsh Corgi Dogs

Vet Pathol 46:241-250

Markgraph J (2008):

Erkrankungen des Nervensystems aus Basics spezielle Pathologie

Elsevier, Urban & Fischer Verlag, 90-103

Matthews NS, de Lahunta A (1985):

Degenerative myelopathy in an adult miniature poodle

J Am Vet Med Assoc 186:1213-1215

Melhem ER, Mori S, Mukundan G, Kraut MA, Pomper MG, Zijl PC (2002):

Diffusion tensor Mr imaging of the brain and white matter tractography

AJR Am J Roentgenol 178: 3-16

Miller AD, Barber R, Porter BF, Peters RM, Kent M, Platt SR, Schatzberger SJ (2009):

Degenerative Myelopathy in two Boxers

Vet Pathol 46:684-687

Mizisin AR, Nelson RW, Sturges BK, Vernau KM, LeCouteur RA, Williams DC, Burgers LM, Shelton GD (2007):

Comparable myelinated nerve pathology in feline and human diabetes mellitus
Acta Neuropathol 113:431-442

Morell P, Quarles RH, Norton WT (1989):

Formation, structure and biochemistry of myelin

In: Siegel et al: Basic Neurochemistry. New York: Raven Press:109-136

Morgan JP (1969):

Spinal Dural Ossification in the Dog: Incidence and Distribution Based on a Radiographic Study

J Am Vet Radiol Soc. 10:43-48

Moritani T, Ekholm S, Westesson PL (2005):

Chapter 5 Infarction In: Diffusion Weighted MR Imaging of the Brain, 39-54

Moseley ME, Cohen YC, Kucharczyk J, Asgari HS, Wendland MF, Tsuruda J, Norman D (1990):

Diffusion-weighted MR imaging of anisotropic water diffusion in cat central nervous system

Radiology 175:439-443

Muir KW, Buchan A, von Kummer R, Rother J, Baron JC (2006):

Imaging of acute stroke

Lancet Neurol 5:755-768

Nickel R, Schummer A, Seiferle E (1992):

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band IV Nervensystem, Sinnesorgane und endokrine Drüsen

3rd ed. Verlag Paul Parey, 28-61

Oji T, Kamishina H, Cheeseman JA, Clemmons RM (2007):

Measurement of myelin basic protein in the cerebrospinal fluid of dogs with degenerative myelopathy

Vet Clin Pathol (36):281-284

Okada M, Kitagawa M, Kanayama K, Yamamura H, Sakai T.(2009):

Negative MRI findings in a case of degenerativemyelopathy in a dog

J S Afr Vet Assoc 80:254-256

Palmer AC, Medd RK, Wilkinson GT (1984):

Spinal cord degeneration in hound ataxia

J Small Anim Pract (25):139-148

Pattany PM, Puckett WR, Klose KJ, Quencer RM, Bunge RP, Kasuboski L, Weaver RG (1997):

High-resolution diffusion-weighted MR of fresh and fixed cat spinal cords: evaluation of diffusion coefficients and anisotropy

Am J Neuroradiol18(6):1049-1056

Pease A, Miller R (2011):

The use of diffusion tensor imaging to evaluate the spinal cord in normal and abnormal dogs

Vet Radiol Ultrasound 52:492-494

Perry A, Scheithauer BW (2005):

Neuropathology in: Essentials of anatomic pathology (eds. Cheng L, Bostwick DG) Springer Verlag, 2. Auflage, Kapitel 8:359-422

Pfeiffer J (1984):

In: Pathologie Band 4(Remmler W), Neuropathologie

Springer Verlag, 1-288

Pierpaoli C, Barnett A, Pajevic S, Chen R, Penix LR, Virta A, Basser P (2001):
Water diffusion changes in Wallerian degeneration and their dependence on white
matter architecture.

Neuroimage 13(6 Pt 1):1174-85

Rexed B (1952):

The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat

J comp neurology 96:415-495

Ries M, Jones RA, Dousset V, Moonen CTW (2000):

Diffusion tensor MRI of spinal cord

Magn Reson Med 44:884-892

Rosen DR Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, Donaldson
D, Goto J, O'Regan JP, Deng HX, Rahmani Z, Krizus A, McKenna-Yasek
D, Cayabyab A, Gaston SM, Berger R, Tanzi RE, Halperin JJ, Herzfeldt B, Van den
Bergh R, Hung WY, Bird T, Deng G, Mulder DW, Smyth C, Laing NG, Soriano
E, Pericak-Vance MA, Haines J, Rouleau GA, Gusella JS, Horvitz HR, RH Brown Jr
(1993):

Mutation in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic
lateral sclerosis

Nature 362:59-61

Rosenbluth J (1976):

Intramembranous particle distribution at the node of Ranvier and adjacent axolemma
in myelinated axons of the frog brain

J Neurocytol 5:731-745

Sartor K, Hartmann M, Fiebach J, Harting I, Wilhelm Th, Heiland S (2003):

Normale und pathologische Wasserdiffusion im Gehirn

Rofo 175(10):1317-13129

Schaumburg HH, Wisniewski HM, Spencer PS (1974):

Ultrastructural study of the dying-back process I. peripheral nerve terminal and axon degeneration in systemic acrylamide intoxication

J Neuropathol Exp Neurol 33(2): 260-284

Schlamann M (2011):

Diffusionsgewichtung in der Neuroradiologie

Radiologe 51:180-185

Schmidt M (2006):

Die Ontogenese des Rindergehirns

Inaugural Dissertation Gießen

Seiferle E (1939):

Zur Rückenmarkstopographie von Pferd und Rind

Anatomy and Embryology 110:371-384

Semmler W, Brix G, Kolem H, Nitz WR, Bock M, Hauert F, Fischer H, Niendorf HP, Balzer T, Reimer (2002):

in Magnetresonanztomographie (eds. Reiser M, Semmler W)

SpringerVerlag3rd ed. Kapitel 2:4-95

Sheahan BJ, Caffrey JF, Gunn HM, Keating JN (1991):

Structural and biochemical changes in a spinal myelinopathy in twelve English foxhounds and two harriers

Vet Pathol 28:117-124

Spencer PS, Schaumburg HH (1977):

Ultrastructural Studies of the dying-back process. IV. Differential vulnerability of PNS and CNS fibres in experimental central-peripheral distal axonopathies

J Neuropathol Exp Neurol 36(2):300-320

Stahl R, Dietrich O, Teipel S, Hampel H, Reiser MF, Schoenberg SO (2003):
Diffusion tensor imaging zur Erfassung axonaler Degeneration bei Morbus Alzheimer
Radiologe 43:566-575

Stejskal EO, Tanner JE (1965):
Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent filed
gradient
J Chem Phys 42:288-292

Stieltjes B, Schlüter M, Hahn HK, Wilhelm T, Essig M (2003):
Diffusions-Tensor-Bildgebung: Theorie, Sequenzoptimierung und Anwendung bei
Morbus Alzheimer
Radiologe 43:562-565

Stoffel MH (2010):
Strukturelle Anatomie des ZNS in: Funktionelle Neuroanatomie
Enke erste Auflage, Kapitel 2: 29-95

Summers BA, Cummings JF, DeLahunta A (1994):
Veterinary Neuropatholgy
Elsevier, Oxford 1. Auflage, Kapitel 1:1-67, Kapitel 5:208-350, Kapitel 7:402-501

Sutherland-Smith J, King R, Faissler D, Ruthazer R, Sato A (2011):
Magnetic resonance imaging apparent diffusion coefficients for histological confirmed
intracranial lesions in dogs
J Vet Radiol 52:142-148

Thiel G (1941):
Die Topographie der Rückenmarkssegmente des Hundes
Hannover: Dissertation: Tierärztliche Hochschule Hannover

Thurnher MM, Bammer R. (2006):

Diffusion-weighted magnetic resonance imaging of the spine and spinal cord
Semin Roentgenol 41(4):294-311

Tolnay M, Heppner F, Wiestler OD (2008):

Peripheres Nervensystem in Böcker W, Denk H, Heitz PU, Moch H: Pathologie 4.
Ausgabe Urban & Fischer/ Elsevier GmbH, Kapitel 9:136-140

Vermeulen HA (1916):

Über den Conus medullaris der Haustiere, sein besonderes Verhalten beim Pferd
und dessen Bedeutung
BerlTierärztl (2):13-17

Vieten M (2005):

Zentralnervensystem in Angewandte Physiologie (ed. VAN DEN BERG), 2
Organsysteme verstehen
2. Auflage Georg Thieme Verlag, Kapitel 8:375-400

Wakshlag JJ, DeLahunta A (2009):

Hereditary encephalopathy and polyneuropathy in Alaskan husky
J Small Anim Pract (50):670-674

Waller AV (1850):

Experiments on section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog,
and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive
fibres.

Phil Trans R Soc Lond (1)140:423-429

Waxman FJ, Clemmons RM, Hinrichs DJ (1980):

Progressiv myelopathy in older german shepherd dogs II Presence of circulating
suppressor cells

J Immunol 124:1216-1222

Waxman FJ, Clemmons RM, Johnson G, Evermann J, Johnson MI, Roberts C, Hinrichs DJ (1980):
Progressiv myelopathy in older german shepherd dogs II Depressed Response to Thymus-Dependent Mitogens
J Immunol 124:1209-1215

Weishaupt D, Köchli VD, Marincek B (2010):
Wie funktioniert MRT?
Springer Verlag 6. Auflage, Kapitel 1-3:1-16, Kapitel 13:121-128

West NR, Collins GH (1991):
Relationship of Wallerian degeneration to regrowing axons
J Neuropathol Exp Neurol 50:693-703

Williams DA, Batt RM, Sharp NJH (1984):
Degenerative myelopathy in German shepherd dogs: An association with mucosal biochemical changes and bacterial overgrowth in the small intestines
Clin Sci66:25

Williams DA, Prymak C, Baughan J (1985):
Tocopherol (vitamin E) status in canine degenerative myelopathy
Proceedings of the 3rd Annual Veterinary Medical Forum: 154

Winger FA, Zeng R, Johnson GS, Katz ML, Johnson GH, Bush WW, Jarboe JM, Coates JR (2011):
Degenerative Myelopathy in a Bernese Mountain Dog with a novel SOD1 Missense Mutation
J Vet Int Med (25):1166-1170

Yagishita S (1978):
Morphological investigations on axonal swellings and spheroids in various human diseases
Virrchows Arch (378):181-197

Zhang JS, Huan Y, Sun LJ, Ge YL, Zhang XX, Chang YJ (2007):

Temporal evolution of spinal cord infarction in an in vivo experimental study of canine models characterized by diffusion-weighted imaging

J Magn Reson Imaging 26(4):848-854

12. Anhang

Gießen Patienten Nummer	DM	Schwere grad	Axonal degeneration	Sek. Myelin verlust	Gliose	Befunde	Verteilung	am stärksten betroffen	Bilateral-symmetrisch
2,6	y	3	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetrisch	F. gracilis, Tr. Spinocerebellaris dorsalis und ventralis, Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior und lateralis, nur ganz einzelne degenerierte Axone im Rückenmark und in den Nervenwurzeln	T. spinocerebellaris dorsalis, Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, F. gracilis, Tr. Tectospinalis	x
8.1x	n		x	no	no	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetrisch (in the F. gracilis asymmetric); age-related lesions in the nerve roots (myelin ballooning), but also few axonal degeneration	F. gracilis, Tr. Spinocerebellaris dorsalis and ventralis, Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior und lateralis,	Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, F. gracilis, Tr. spinocerebellaris dorsalis, Tr. Tectospinalis	x (bis auf F. gracilis)
2,5	y	2	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetrisch	F. gracilis, Tr. Spinocerebellaris dorsalis und ventralis, Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior und lateralis,	T. spinocerebellaris dorsalis, Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, F. gracilis, Tr. Tectospinalis	
6.1c	y	2	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetrisch	Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. Spinocerebellaris dorsalis und ventralis, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior, F. gracilis (very mild); myelin ballooning in nerve roots	Tr. Corticospinalis lateralis; Tr. spinocerebellaris dorsalis	x
3,4	n		x	x	x	axonal degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, unilateral	extradural inflammation (macrophages) and fibrosis - herniated disc?		
1,5	y	3	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetrisch (except F. gracilis, which is affected asymmetric), axonal degeneration in nerve roots; myelin ballooning	Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, F. gracilis, Tr. Spinocerebellaris dorsalis and ventralis, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior; myelin ballooning in nerve roots	Tr. Corticospinalis lateralis; F. gracilis	x (bis auf F. gracilis)
4,3	y	1	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-asymmetric; single degenerated axons in nerve roots, myelin ballooning	Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. Spinocerebellaris dorsalis and ventralis, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior	Tr. Corticospinalis lateralis	

Gleichen Patienten Nummer	DM	Schwere grad	Axonal degeneration	Sek. Myelin verlust	Gliose	Befunde	Verteilung	am stärksten betroffen	Bilateral-symme trisch
7,3	n		no	no	no	large central canal filled with protein rich fluid. Loose grey matter and white matter (interstitial edema?). In one cut mechanical disruption (artefact) of the tissue			
4,4	y	1	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-asymmetric; single axonal degeneration in the nerve root	F. gracilis, Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. Spinocerebellaris dorsalis and ventralis, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior	Tr. Corticospinalis lateralis	
5,2b	y	3	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetric but with slight asymmetria regarding severity in the corticospinal tract	Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. Spinocerebellaris dorsalis, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior, F. gracilis	Tr. Corticospinalis lateralis and spinocerebellaris dorsalis	x
8,13	n		x		x	single swollen and degenerated axons, multifocal, no articular distribution			
8,19	n		x (single)			single swollen and degenerated axons, multifocal, no particular distribution			
6,1a	y	1	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetrisch	Tr. Spinocerebellaris dorsalis and ventralis, Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior		x
7,5	n		no	no	no	large central canal filled with protein rich fluid. Loose grey matter and white matter (interstitial edema?). In one cut mechanical disruption (artefact) of the tissue			
3,6	n		x (single)	no	no	marked autolysis, single swollen and degenerated axon (no particular distribution),			
3,5	n		x (single)	no	no	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetric			
5,3	y	2	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetric	Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. Spinocerebellaris dorsalis, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior, F. gracilis	Tr. Corticospinalis lateralis, Tr. spinocerebellaris dorsalis	x

Gießen Patienten Nummer	DM	Schwere grad	Axonal degeneration	Sek. Myelin verlust	Gliose	Befunde	Verteilung	am stärksten betroffen	Bilateral- symme- trisch
10,2	n		x (single)	no	no	single swollen and degenerated axon (no particular distribution)			
7,6	n		no	no	no	large central canal filled with protein rich fluid. Loose grey matter and white matter (interstitial edema?). In one cut mechanical disruption (artefact) of the tissue			
4,5	y	2	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-asymmetric	Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. Spinocerebellaris dorsalis und ventralis, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior	Tr. Corticospinalis lateralis	
5,2a	y	3	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetric	Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. Spinocerebellaris dorsalis, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior, F. gracilis	Tr. Corticospinalis lateralis and spinocerebellaris dorsalis	x
9,4x	n		x (single)	no	no	single swollen and degenerated axon (no particular distribution)			
10,6	nicht	0,5	x	x	no				
6,1b	y	2	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetrisch; few degenerated axons in the nerve roots	Tr. Spinocerebellaris dorsalis und ventralis, Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior und lateralis, F. cuneatus	Tr. spinocerebellaris dorsalis, Tr. Tectospinalis	x
9,2	?	0,5	x	x	no	marked autolysis, few swollen and degenerated axons, bilatera, but hard to say whether symmetrical or not			
2,3	y	2	x	x	x	axonale Spheroids, degeneration, fragmentation and loss, gliosis, sek. Myelin degeneration, bilateral-symmetric	Tr. Corticospinalis lateralis und anterior, Tr. Spinocerebellaris dorsalis and ventralis, Tr. tectospinalis, Tr. Spinothalamicus anterior, F. gracilis	Tr. spinocerebellaris dorsalis; F. gracilis	x

DM= degenerative Myelopathie

n= nein

y= ja

Tr= Tractus

F= Fasciculus

sek= sekundär

Danksagung

Ein herzliches Dankeschön allen, die mich während der Erstellung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein erster Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer und Herrn Dr. Martin Schmidt für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit und die Förderung der Arbeit

Ein herzlicher Dank gilt allen Züchtern und Besitzern der Hunde dieser Studie, ohne deren Bereitschaft die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ich möchte weiterhin Herrn Eysel für die finanzielle Unterstützung zu Beginn der Anfertigung dieser Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, meiner Schwester, meiner Tante Gabriele, Alex, meinem Freund Mark und allen meinen Freunden, ohne deren Unterstützung die Umsetzung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

ERKLÄRUNG

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Kristina-Stefanie Grohmann



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5992-7



9 17 8 3 8 3 5 11 9 5 9 9 2 7