Quantitative Morphometrie
WS 2001/2002

Mitschrift von Andreas Besting

6. Oktober 2002

Inhaltsverzeichnis

1 Vorwort

Dieses Dokument basiert auf meinen und anderen Mitschriften der Vorlesung „Quantitative Morphometrie“ im WS 2001/2002 an der RWTH Aachen und bietet einen kleinen Einblick in die Vorlesungsinhalte. Da ich den Inhalt nach eigenem Ermessen gekürzt, ergänzt, strukturiert und kommentiert habe, gibt es selbstverständlich keine Garantie für Korrektheit.
Man sollte es an einigen Stellen nicht ganz so genau nehmen, da einige Herleitungen - wie ich finde - (mehr oder weniger) mathematisch recht gewagt sind. Insbesonders war es mir nicht möglich, eine lückenlose Herleitung der Formeln in Bezug auf Streuung und Verteilung von Meßwerten aus den Aufzeichnungen zu rekonstruieren. Falls also irgendwer die Lücken zu schliessen vermag, wäre ich dankbar für entsprechende Hinweise. Auch sonst ist Kritik immer willkommen.
Ursprünglich sollten noch Übungs- und Klausuraufgaben mit aufgenommen werden (vielleicht später noch), da diese recht umfangreich behandelt wurden und die Theorie sich meiner Meinung nach letztlich auf das Lernen der Formeln reduzieren lässt. Wenn sich jedoch erst einmal ein intuitives Verständnis der Methoden eingestellt hat, sind entsprechende Aufgaben i.d.R. ganz gut zu bewältigen. Ich hoffe, dass dieses hier ein wenig dazu beitragen kann.

Viel Spaß,
Andreas!
email: besting@mb-systeme.de

2 Einführung

2.1 Begriffe

Stereologie:

- Wissenschaft vom Raum
- eine Sammlung von Methoden, um dreidimensionale Parameter einer *Struktur* aus niederdimensionen Messungen zu gewinnen.

Struktur:

- im weiten Sinne ein Teil in einem Bezugssystem, in engen Sinne ein diskretes Element, Objekt oder Partikel
- Struktur als ein Aggregat von Elementen ist eine Phase

Konvexer Solid:

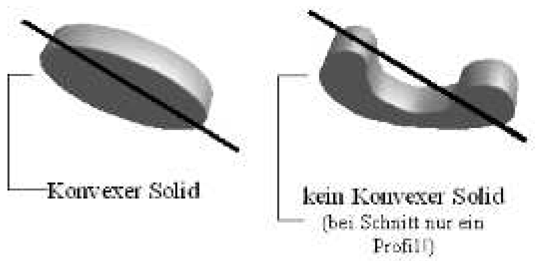

Abbildung 1: Konvexer Solid

Dichte:

- Beziehung zwischen Objekt und umgebenden Raum
- Quantität pro Einheit bzw. Einheitsvolumen

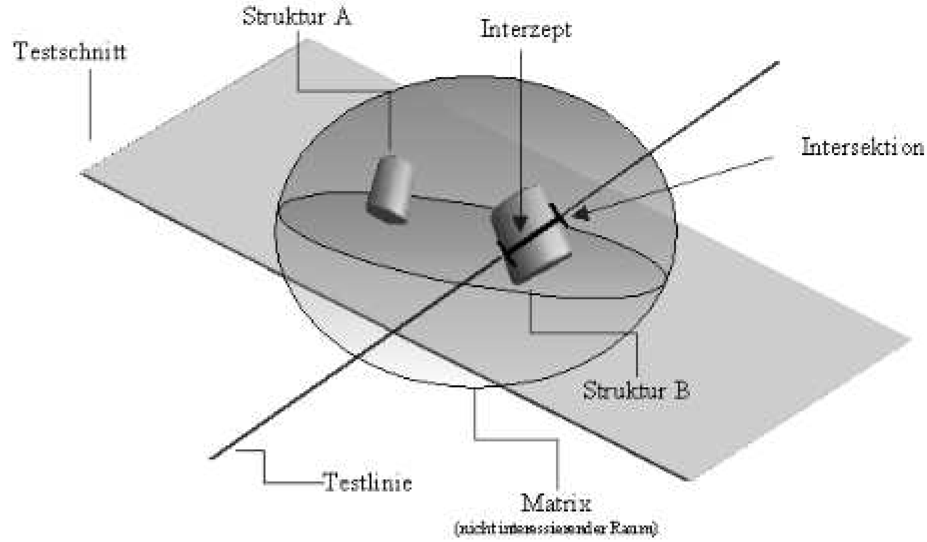

Abbildung 2: Profile

2.2 Stereologische Schreibweise

$$V_{V_{a,r}} = \frac{V_a}{V_r}$$

Beispiel: $V_{V_{Birnen,Korb}}$

ist das Verhältnis des Volumens aller Birnen zum Volumen des Korbs

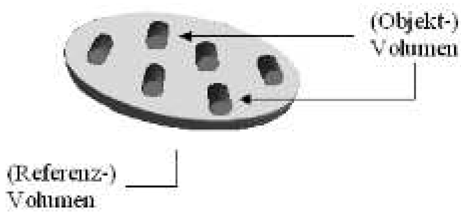

Abbildung 3: Volumendichte

2.3 Wahrscheinlichkeitsrechnung

P_r ist die Wahrscheinlichkeit eines Ereignisses i

1. $0 \leq P_r\{i\} \leq 1$
2. $\sum P_r\{i\} = 1$

Beispiel (Münze):

- $P_r\{\text{Kopf}\} + P_r\{\text{Zahl}\} = 1$
- $P_r\{\text{Kopf}\} = P_r\{\text{Zahl}\}$

Beispiel (Würfel):

- $P_r\{1\} + P_r\{1\}\ P_r\{1\} + P_r\{1\} + P_r\{1\} + P_r\{6\} = 1$
- $P_r\{1\} = \frac{1}{6}$
- $P_r\{1 \text{ oder } 2\} = P_r\{1\} + P_r\{2\} = \frac{1}{3}$

Elemente der Wahrscheinlichkeit: $p = \frac{1}{N}$ (bei N Elementen)

Kugel im Kubus:

- l: Kantenlänge
- d: Kugeldurchmesser

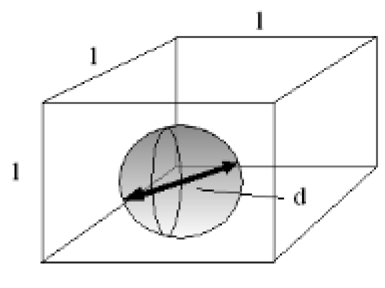

Abbildung 4: Kugel

Wahrscheinlichkeit, die Kugel zu treffen:

Schnitte durch Kubus:

- l: Kantenlänge
- d: Kugeldurchmesser
- dx: Schnittdicke

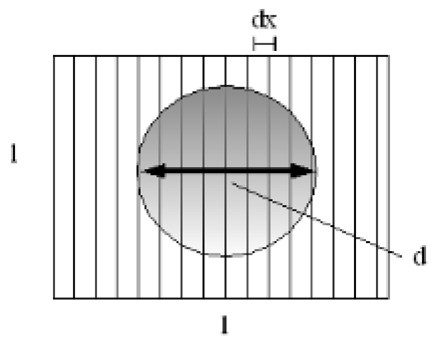

Abbildung 5: Schnittexperiment

Schnitte bzw. Gesamtzahl der Experimente: $N = \frac{l}{dx}$, Treffer: $n = \frac{d}{dx}$

$$P_r\{Kugeltreffer\} = \frac{n}{N} = ... = \frac{d}{l}$$

Beachte: Schnittrichtung ist wichtig (außer bei Kugel)!

3 Stereologische Methoden

3.1 Volumendichte

3.1.1 Delesse'sches Prinzip (1847)

Körper mit Goldstückchen:

- V_s / v_s : Volumen des Steinkörpers / des Schnitts
- V_g : Gesamtvolumen der Goldstücke im Steinkörper
- a_s : Flächenbereich mit Gold oder mit Gestein
- a_g : Flächenbereich mit Gold
- A_s : Testfläche
- A_g : Gesamte Fläche des Goldes

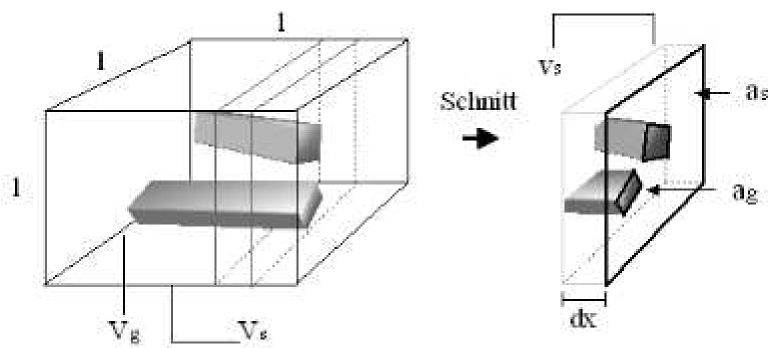

Abbildung 6: Bestimmung des Goldanteils im Gestein

$$V_{V_{Gold,Stein}} = \frac{V_g}{V_s}$$

1. $V_s = \sum v_s$ und $v_s = \sum a_s \cdot dx$
2. $V_g = \sum v_g$ und $v_g = \sum a_g \cdot dx$

$$V_g = \sum a_g \cdot dx$$
$$V_s = \sum a_s \cdot dx$$

$$\Rightarrow V_{V_{Gold,Stein}} = \frac{\sum a_g \cdot dx}{\sum a_s \cdot dx} = \frac{A_g}{A_s}$$

$$V_{V_{Gold,Stein}} = A_{A_{Gold,Stein}}$$

3.1.2 Weiterentwicklung durch Rosiwal (1898)

Testlinien im Querschnitt:

- l_s : Testlinienlänge im Gestein oder im Gold (=max. Länge)
- l_g : Testlinienlänge im Gold

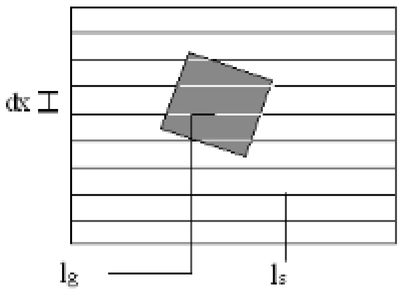

Abbildung 7: Testlinien

1. $A_s = \sum l_s \cdot dx$
2. $A_g = \sum l_g \cdot dx$

$\Rightarrow \frac{A_g}{A_s} = \frac{\sum l_g}{\sum l_s} = \frac{L_g}{L_s}$

$$V_{V_{Gold,Stein}} = L_{L_{Gold,Stein}}$$

3.1.3 Punktzählmethode nach Glagolev (1933)

Gitter im Querschnitt:

- n_s : Punkttreffer im Gestein oder im Gold (=max. Anzahl)
- n_g : Punkttreffer im Gold

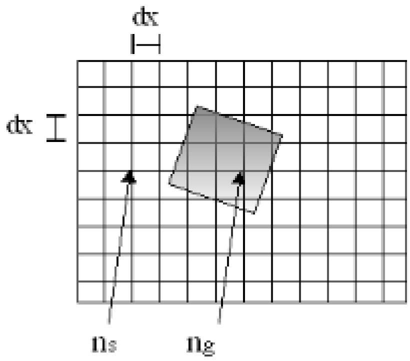

Abbildung 8: Testgitter

1. $A_s = \sum n_s \cdot dx^2$
2. $A_g = \sum n_g \cdot dx^2$

Analog zu Delesse ($V_V = A_A$) folgt daraus die *Punktzählmethode*:

$$V_V = P_P$$

Verfahren: Bilde Quotienten aus den Punkttreffern im Objekt und der Gesamtzahl der Punkte im Testgitter.

Man erhält: Verhältnis des Gesamtvolumens des Objekts bzw. der Objekte zu dem Referenzvolumen (Volumendichte)

Beachte: Richtige Wahl der Gittergröße (Quadrate grösser als Objekte) ($d^2 > a_{max}$)!

3.2 Oberflächendichte

Kugel im Kubus:

- S : natürliche Oberfläche (Kugel)
- A : Testfläche
- B : Kreisfläche
- L : Testlänge (= Gesamtlänge der Testlinien!)
- I : Intersektionen (= Anzahl der Ein-/Austritte der Testlinie aus der Kugel)
- n_a / n_t : Anzahl der Testlinien, die die Kugel treffen / Gesamtzahl der Testlinien
- l : Kantenlänge bzw. Länge einer Testlinie

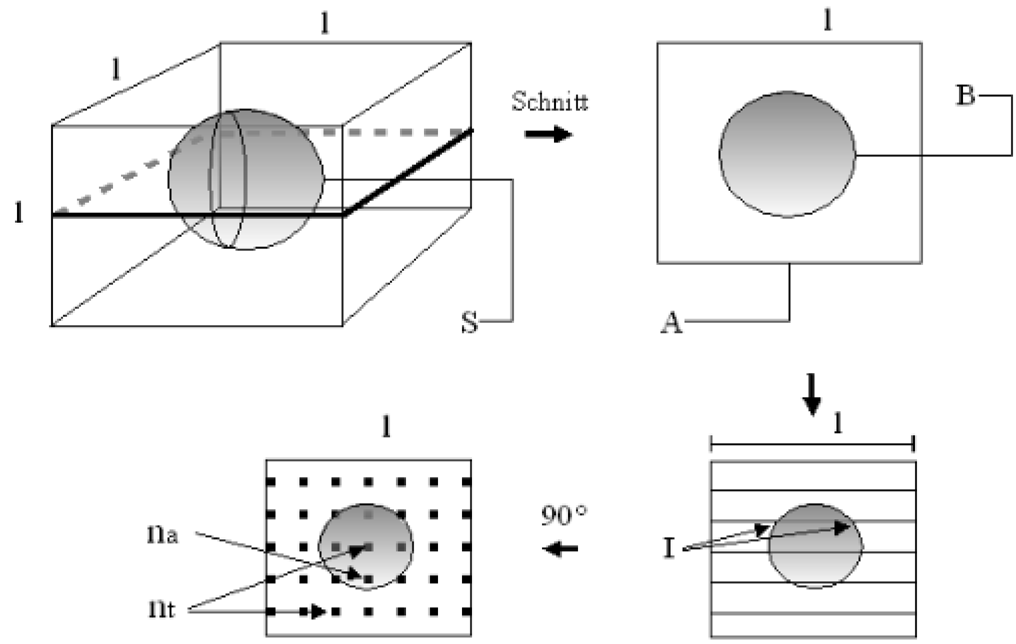

Abbildung 9: Bestimmung der Kugeloberfläche

1. $S_{V_{Kugel,Kubus}} = \frac{4\pi r^2}{l^3}$

2. $S_V = B_A$
3. $S_V \sim I_L$

$$\frac{n_a}{n_t} = \frac{B}{l^2} = \frac{\pi r^2}{l^2} \Leftrightarrow n_a = \frac{n_t \pi r^2}{l^2}$$

$$\underbrace{I = 2 \cdot n_a}_{Ein-/Austritt} = 2 \cdot \frac{n_t \pi r^2}{l^2}$$

$$L = l \cdot n_t$$

$$I_L = \frac{2 n_t \pi r^2}{l^2 n_t l} = \frac{2 \pi r^2}{l^3} = \frac{1}{2} S_V$$

$$\Rightarrow S_V = 2 I_L$$

Verfahren: Bilde Quotienten aus der doppelten Anzahl der Instersektionen und der Testlänge

Man erhält: Verhältnis der Gesamtoberfläche des Objekts bzw. der Objekte zu dem Referenzvolumen (Oberflächendichte)

Beachte: Diese Formel gilt nicht nur in Bezug auf kugelförmige Objekte, sondern allgemein für Flächen ohne Bevorzugung einer Richtung.

3.3 Längendichte

Objekt im Kubus:

- J : natürliche Länge
- Q : Transsektionen (= Treffer (Strukturen))
- A : Testfläche

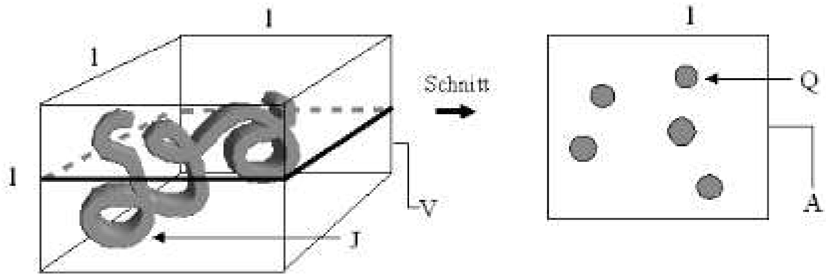

Abbildung 10: Länge des Objekts?

Bekannt aus 3.2 sind die Größen S (natürliche Oberfläche), L (Testlänge) und I (Intersektionen), sowie die Formel $S_V = \frac{2I}{L}$

Man setzt:

$$J = S, A = L \ und \ Q = I$$

$$\Rightarrow J_V = 2Q_A$$

Verfahren: Bilde Quotienten aus der doppelten Anzahl der Transsektionen und der Testfläche

Man erhält: Verhältnis der Länge des Objekts zu dem Referenzvolumen (Längendichte)

3.4 Numerische Dichte

3.4.1 Bestimmung anhand Durchmesser

Mehrere Objekte im Kubus:

- N : Anzahl der Objekte im Kubus
- n_a : Anzahl der Objekte im Testschnitt
- A : Testfläche
- d : Objektdurchmesser
- l : Kantenlänge

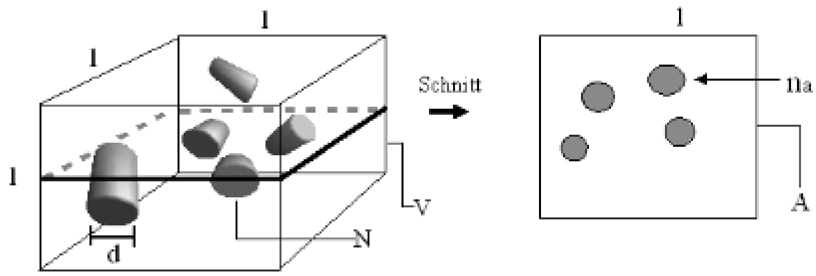

Abbildung 11: Anzahl der Objekte?

- $N_V \sim N_A$

Wahrscheinlicheit eines Treffers: (vgl. 2.3)

$$P_r\{a\} = \frac{n_a}{N} \; und \; P_r\{a\} = \frac{d}{l}$$

$$\Rightarrow \frac{n_a}{N} = \frac{d}{l} \Leftrightarrow n_a = N \cdot \frac{d}{l}$$

$$\frac{n_a}{A} = \frac{n_a}{l^2} = \frac{d \cdot N}{l^3} = \frac{N}{V} \cdot d$$

Ersetze $\frac{n_a}{A}$ durch N_A (*beachte*: N *in* $N_A \neq N$ *in* N_V!):

$$N_A = N_V \cdot d$$

$$N_V = N_A \cdot \frac{1}{d}$$

Verfahren: Bilde Quotienten aus der Anzahl der Objekte in der Testfläche und dem (durchschnittlichen) Durchmesser

Man erhält: Verhältnis der Anzahl der Objekte zu dem Referenzvolumen (numerische Dichte)

Beachte: Falls Durchmesser nicht bekannt, Weibel/DeHoff anwenden!

3.4.2 Weibel und DeHoff

Berechnung der numerische Dichte durch Weibel:

$$N_V = \frac{1}{\beta} \cdot \frac{N_A^{\frac{3}{2}}}{V_V^{\frac{1}{2}}}$$

Alternative Methode nach DeHoff:

$$N_V = N_A^2 \cdot \frac{1}{2I_L} \cdot \frac{\gamma_2}{\gamma_1}$$

$$N_V = N_A \cdot \frac{2I_L}{V_V} \cdot \frac{\gamma_1 \gamma_2}{\gamma_3}$$

Hinweis: Wahl der Konstanten je nach Beschaffenheit des Objekts (meistens gegeben).

3.5 Hierarchie der Kompartimente

Bezeichnungen der Räume:

- l : Leber
- p : Parenchym
- h : Hepatocyt
- c : Cytoplasma
- m : Mitochondrien

Mehrstufiges Sammeln:

1. Lupe : $V_{V_{p,l}} = \frac{V_p}{V_l}$
2. 16x Verg. : $V_{V_{h,p}} = \frac{V_h}{V_p}$
3. 40x Verg. : $V_{V_{c,h}} = \frac{V_c}{V_h}$
4. elektr. Mikr.: $V_{V_{m,c}} = \frac{V_m}{V_c}$

Mulitplikation liefert:

$$\frac{V_p}{V_l} \cdot \frac{V_h}{V_p} \cdot \frac{V_c}{V_h} \cdot \frac{V_m}{V_c} = \frac{V_m}{V_l} = V_{V_{m,l}}$$

4 Optimierung von Messungen

4.1 Varianz

- x_i : Messung $\in \{0, 1\}$
- n : Anzahl der Messungen
- $\overline{x}$: Mittelwert der Messergebnisse

Bestimmung des Mittelwertes:

$$\overline{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Bestimmung der Varianz:

$$\sigma = \frac{\sum(x_i - \overline{x})^2}{n-1}$$

Im Zähler des Quotienten steht die Summe der Abweichungsquadrate, im Nenner der sogenannte *Freiheitsgrad* (=Wiederholungswert).

4.2 Übertragung auf die Punktzählmethode

- P_a : Punkttreffer
- P_t : Testpunkte insgesamt

$P_a = \sum {x_i}^2$ (da $1^2 = 1$), $P_t = n$ und $\overline{x} = \frac{P_a}{P_t}$

$$\sigma = \frac{1}{n-1} \cdot ((\sum {x_i}^2) - n \cdot \overline{x}^2)$$

Man erhält durch Einsetzen:

$$\sigma = \frac{1}{P_t - 1} \cdot (P_a - P_t \cdot \frac{{P_a}^2}{P_t^2})$$

Die -1 im Nenner kann vernachlässigt werden:

$$\sigma = \frac{P_a}{P_t} \cdot (1 - \frac{P_a}{P_t})$$

4.3 Relative Standard Error

$\frac{\sigma}{\overline{x}^2}$ ist der Koeffizient der Varianz.
Relative Standard Error:

$$RSE^2 = \frac{\sigma}{\overline{x}^2 \cdot n}$$

Einsetzen der Formel aus 4.2:

$$RSE^2 = \frac{\frac{P_a}{P_t} \cdot (1 - \frac{P_a}{P_t})}{\overline{x}^2 \cdot n} = \frac{\frac{P_a}{P_t} \cdot (1 - \frac{P_a}{P_t})}{\frac{{P_a}^2}{{P_t}^2} \cdot P_t}$$

$$= \frac{1 - V_V}{P_t \cdot V_V}$$

$$\Leftrightarrow P_t = \frac{1 - V_V}{RSE^2 \cdot V_V}$$

$$RSE^2 = \frac{d^2}{{t_\alpha}^2}$$

t_α ist ein tabellierter Wert bei α, z.B. 95% Sicherheit, 5% Irrtumswahrscheinlichkeit. Für die Punktzählmethode ergibt sich somit die Formel:

$$P_t = \frac{t_\alpha^2 \cdot (1 - V_V)}{d^2 \cdot V_V}$$

Verfahren: Hiermit lässt sich ausrechnen, wieviele Testpunkte insgesamt verwendet werden müssen, um die erforderte Genauigkeit zu erfüllen. Ausserdem erhält man somit Auskunft darüber, wieviele Messungen mit einer bestimmten Anzahl von Testpunkten durchgeführt werden sollten (man teilt einfach P_t durch die Gesamtzahl der Punkte im verwendeten Testgitter). Die allgemeine Formel hierfür, bei der im Zahlenwert des Zählers ein entsprechender Tabellenwert steht, der sich auf die Normalverteilung nach Gauß bezieht, lautet:

$$P_t = \frac{4 \cdot (1 - V_V)}{RSE^2 \cdot V_V}$$

Der „Relative Standard Error“ ist ein Maß für die Verlässlichkeit der Messwerte. In der Stereologie sollte mit einer Sicherheit von 95% gesagt werden, dass die errechneten Werte nicht mehr als 10% von den tatsächlichen abweichen, d.h. also $RSE = 0.1$ bzw. $RSE^2 = 0.01$

Beachte: Um überhaupt eine Aussage über die Verlässlichkeit der Messwerte machen zu können, muss natürlich immer eine erste Messung erfolgen!

Weitere Beziehungen siehe 5

5 Wichtige Formeln und Einheiten

Volumendichte (Punktzählmethode):

$$V_V = P_P$$

$P_t = \frac{4 \cdot (1 - V_V)}{V_V \cdot RSE^2}$ $\qquad [V_V] = \left[\frac{mm^3}{mm^3}\right]$ (*skalar*)

Oberflächendichte:

$$S_V = 2I_L$$

$L_t = \frac{4}{S_V \cdot RSE^2}$ $\qquad [S_V] = \left[\frac{mm^2}{mm^3}\right] = \left[\frac{1}{mm}\right] = \left[mm^{-1}\right]$

Längendichte:

$$J_V = 2Q_A$$

$A_t = \frac{2}{J_V \cdot RSE^2}$ $\qquad [J_V] = \left[\frac{mm}{mm^3}\right] = \left[\frac{1}{mm^2}\right] = \left[mm^{-2}\right]$

Numerische Dichte:

$$N_V = \frac{N_A}{\overline{D}}$$

$$N_V = \frac{1}{\beta} \cdot \frac{N_A^{\frac{3}{2}}}{V_V^{\frac{1}{2}}}$$

$A_t = \frac{1}{N_V \cdot \overline{D} \cdot RSE^2}$ $\qquad [N_V] = \left[\frac{1}{mm^3}\right] = \left[mm^{-3}\right]$