

Immunhistochemische Untersuchungen zur
Inzidenz interstitieller Pneumonien beim
Plötzlichen Kindstod

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Gabriele Jenny Letzner
aus Dresden

2009

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. B. Madea
2. Gutachter: Prof. Dr. J. Vogel

Tag der Mündlichen Prüfung: 20.08.2009

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. med. B. Madea

Meiner Familie

<u>1.</u>	<u>EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG</u>	<u>7</u>
1.1.	HISTORISCHE ASPEKTE UND FORSCHUNGSENTWICKLUNG	8
1.2.	PHÄNOMENOLOGIE UND RISIKOFAKTOREN	13
1.3.	RECHTSMEDIZINISCHE GRUNDLAGEN	15
1.4.	DEFINITION UND KLASSIFIKATION DES SIDS	16
1.5.	PNEUMONIEN IM SÄUGLINGS- UND KINDESALTER	22
1.5.1.	INZIDENZ UND MORTALITÄT	22
1.5.2.	ERREGERSPEKTRUM DER PNEUMONIEN	23
1.6.	DIAGNOSTISCHE KRITERIEN ZUR LUNGENPATHOLOGIE BEIM SIDS	24
1.7.	FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG	25
<u>2.</u>	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	<u>26</u>
2.1.	STUDIENKOLLEKTIV	26
2.2.	KONTROLLKOLLEKTIV	29
2.3.	ASSERVATION UND FIXATION	30
2.4.	METHODIK DER IMMUNHISTOCHEMISCHEN FÄRBUNG	30
2.4.1.	ENTSTEHUNG UND PRINZIP	30
2.4.2.	LSAB-METHODE	31
2.4.3.	UNTERSUCHUNGSVORGANG I	32
2.4.4.	ANTIGENDEMASKIERUNG (ENGL.: RETRIEVAL)	34
2.4.4.1.	HITZEBEHANDLUNG IN DER MIKROWELLE	35
2.4.4.2.	ENZYMATISCHE VORBEHANDLUNG	35
2.4.5.	UNTERSUCHUNGSVORGANG II	36
<u>3.</u>	<u>AUSWERTUNG DER IMMUNHISTOCHEMISCHEN FÄRBUNGEN</u>	<u>38</u>
3.1.	CD68, LCA, CD45 R0, E-SELEKTIN	38
3.2.	IgE	43
3.3.	BRONCHUS ASSOCIATED LYMPHATIC TISSUE - BALT	43
<u>4.</u>	<u>ERGEBNISSE</u>	<u>44</u>
4.1.	GESCHLECHTSVERTEILUNG	44

4.2.	JAHRESZEITLICHE VERTEILUNG.....	44
4.3.	AUFFINDEPOSITION	45
4.4.	ALTERSVERTEILUNG	46
4.5.	CD 68 MAKROPHAGEN	47
4.6.	IGE	48
4.7.	LCA-LEUKOZYTEN	50
4.8.	CD 45 R0 T-LYMPHOZYTEN	52
4.9.	BALT-EXPRESSION.....	54
4.10.	E-SELEKTIN.....	56
5.	<u>DISKUSSION.....</u>	60
5.1.	MATERIAL UND METHODEN	60
5.2.	CD 68 ⁺ MAKROPHAGEN	62
5.3.	IGE	63
5.4.	LCA ⁺ LEUKOZYTEN	64
5.5.	CD 45 R0 ⁺ T-LYMPHOZYTEN	65
5.6.	BALT	69
5.7.	E-SELEKTIN.....	72
5.8.	RELEVANTE INTERSTITIELLE LUNGENPATHOLOGIE	75
6.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	77
7.	<u>ANHANG</u>	79
7.1.	LITERATURVERZEICHNIS.....	79
7.2.	DANKSAGUNG	91
7.3.	LEBENS LAUF	92

1. Einleitung und Zielsetzung

Der Plötzliche Kindstod als Tod eines Säuglings aus vermeintlich völliger Gesundheit heraus ist seit jeher ein stark traumatisierendes Ereignis. Eine besondere Belastung in diesem Zusammenhang stellt die Tatsache dar, dass den Eltern in den meisten Fällen selbst nach einer erfolgten Obduktion des Kindes sowie den routinemäßig durchgeführten histologischen und chemisch-toxikologischen Untersuchungen keine konkrete Todesursache genannt werden kann. Nur in diesem Fall wird das Kind bezüglich der Todesursache per Ausschlussdiagnose dem Kollektiv des möglichen SIDS zugerechnet, dem *sudden infant death syndrome*. Andere gebräuchliche Bezeichnungen sind *Wiegen-* oder *Krippentod* sowie *Plötzlicher Säuglingstod*, im englischsprachigen Raum werden auch Begriffe wie *cot death*, *sudden unexpected death*, *crib death* oder *silent death* verwendet. Im Lateinischen findet sich die Bezeichnung *mors subita infantum*. Hier wird bereits deutlich, dass die moderne Bezeichnung SIDS ein schon alt bekanntes Phänomen benennt. In Deutschland hat die Zahl der plötzlichen Kindstode seit 1991 kontinuierlich abgenommen. Während 1990 noch 1283 Fälle verzeichnet wurden (dies entspricht 1,42 Fällen pro 1000 Lebendgeborene), gab es nach Angaben des Statistischen Bundesamtes im Jahr 2005 nur noch 298 Fälle (entspricht 0,43 Fälle pro 1000 Lebendgeborene), die gemäß ICD10: R95 als Plötzlicher Kindstod diagnostiziert wurden. Dieser Rückgang konnte hauptsächlich durch die Bevölkerungsaufklärung Anfang und Mitte der Neunziger Jahre erreicht werden, die dazu aufforderte, Kinder zum Schlafen auf den Rücken zu legen. Zuvor waren vor allem in den Niederlanden, später auch in England sehr erfolgreiche Kampagnen gestartet worden („back to sleep“-campaign), die teils eine Halbierung der SIDS-Raten bewirkt hatten (DE JONGE ET AL 1989). Die Basis für die Kampagnen stammte aus den Erkenntnissen epidemiologischer Studien, die den Plötzlichen Kindstod vor allem mit der Bauch-, aber auch mit der Seitenlage, assoziiert sahen. Auch wenn die Informationen in Deutschland nicht flächendeckend in Form einer bundesweiten Kampagne verbreitet wurden (BAJANOWSKI 2004, VENNEMANN 2005), stieg das Bewusstsein für den Risikofaktor Schlafposition an. Seither sinken die SIDS-Fallzahlen stetig (GESUNDHEITSBERICHTERSTATTUNG DES BUNDES, STATISTISCHES BUNDESAMT). Auch das Wissen um andere, modifizierbare Risikofaktoren hat dazu sicherlich beigetragen. Den Verlauf der registrierten Fälle in Deutschland verdeutlicht Abbildung 1.

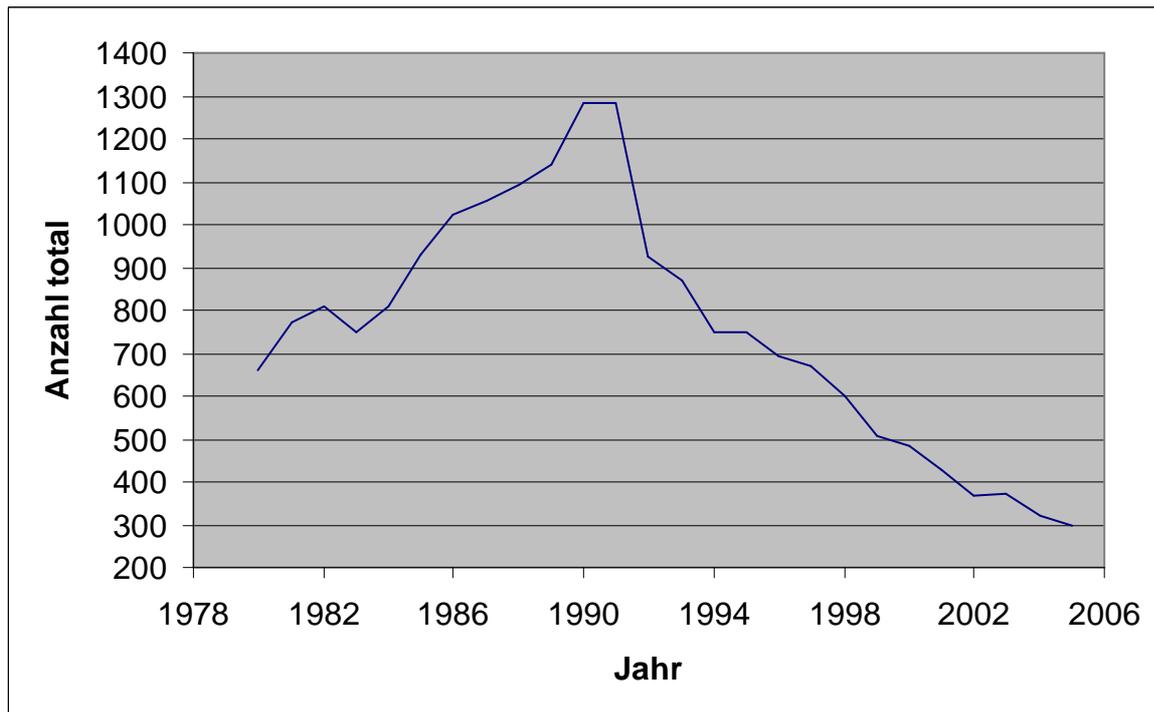


Abb. 1: Entwicklung der Anzahl Plötzlicher Kindstode in Deutschland zwischen 1980 und 2005 (Quelle: Statistisches Bundesamt 2007)

1.1. Historische Aspekte und Forschungsentwicklung

In der Bibel findet sich im Alten Testament der erste beschriebene Fall eines plötzlichen Kindstodes. Dabei ergeht das Salomonische Urteil (1. Könige 3, 16-28) über eine Frau, deren Sohn morgens nach einer Nacht im gemeinsamen Bett tot aufgefunden wurde. Damals wurde als Todesursache vermutet, die Mutter habe sich auf das Kind gelegt. Im Laufe der Zeit führte die Angst vor dem Kindstod im Bett zu verschiedensten Überlegungen, wie er zu verhindern sei. So präsentierte beispielsweise im frühen 18. Jahrhundert ein Mitglied der Royal Society in London einen aus Italien importierten *arcuccio*, der dort schon länger weit verbreitete Anwendung fand. Dieser war eine Art Käfig aus Holz und Metall, in den der Säugling zur Nacht gelegt werden, und in dem er sogar gestillt werden konnte. Durch die Konstruktion war er sicher davor, erdrückt zu werden (Abb. 2). Den Ammen und Kinderschwestern war immerhin unter Strafandrohung vorgeschrieben, ihn zu benutzen.

Zur Zeit der Aufklärung wurde dieser *arcuccio* auch in einigen deutschen Staaten zum Verhindern von Erstickungstoden empfohlen (NORVENIUS 1993). Bis heute hält sich der Begriff *overlaying* (engl. für „auflegen“, „überrollen“) im Zusammenhang mit der Forschung am SIDS.

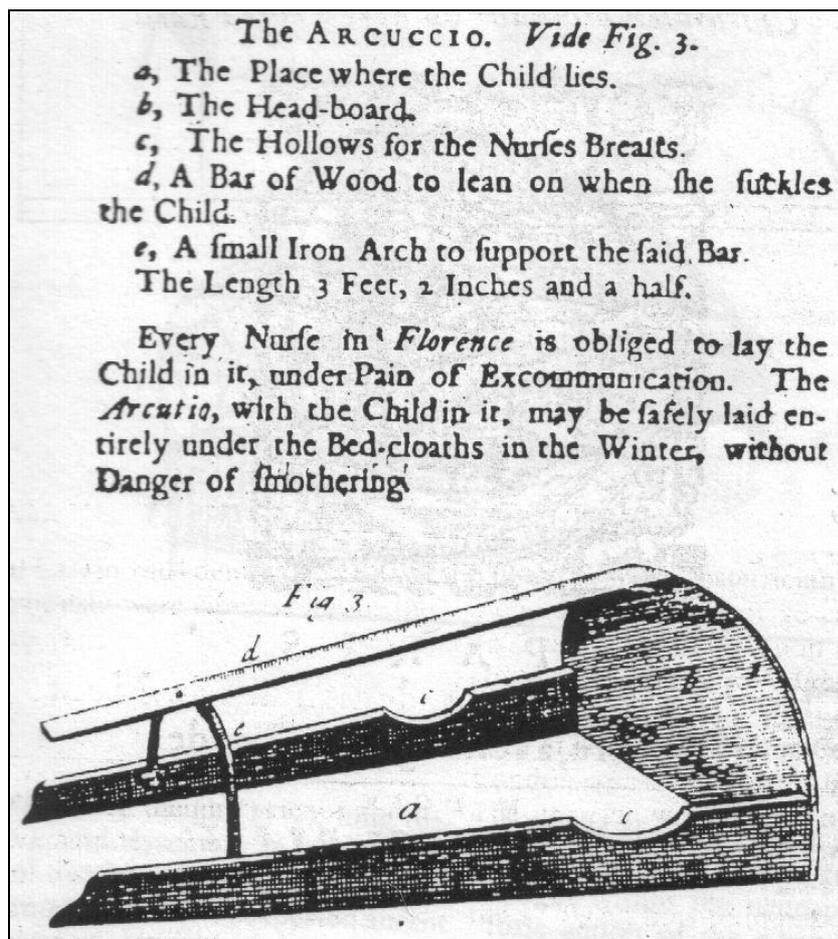


Abb. 2: „The arcuccio“, aus: Philosophical Transactions of the Royal Society of London 1732; 422:256 (Norvenius 1993)

Heutzutage spielen Kindstode, die sich auf diese Art ereignen, in den westlichen Ländern nur noch eine recht untergeordnete Rolle. Generell aber gilt das *co-sleeping*, also das gemeinsame Schlafen des Kindes im Bett mit einem Erwachsenen, als Risikofaktor für den Plötzlichen Kindstod (MITCHELL ET AL 1992, VENNEMANN 2005a).

Doch selbst wenn bereits aus sehr frühen menschlichen Aufzeichnungen plötzliche Kindstode bekannt sind, so muss doch relativiert werden, dass dies sicher nicht alle Fälle im heutigen Verständnis von einem SIDS waren. In historischen Zeiten waren erwartete und unerwartete Todesfälle bei Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern eher häufig. Kindersterblichkeit und Lebensbedingungen hingen eng zusammen, wie sich auch heute noch diese zwei Parameter gegenseitig beeinflussen. Der Zeitraum zwischen Geburt und der sog. Kindbettzeit wurde aufgrund widriger Lebensumstände zeitweise nur zu 40-55% überlebt. Auch nicht-natürliche

Todesursachen dürften stärker als heute zum häufigen Auftreten plötzlicher Kindstode geführt haben. Opferungen von Kindern sind aus dem Altertum bekannt, und auch später lag die letztendliche Verfügungsgewalt über Leben und Tod eines Kindes häufig bei dessen Vater. Misshandlungen, aber auch Kindsmorde durch ihn blieben zu damaliger Zeit gesellschaftlich unbeachtet und waren somit straffrei. Erstmals in der Römerzeit und später im Mittelalter wurde Kindstötung per Gesetz strafbar (RISSE 2002).

Was den Plötzlichen Kindstod nach jüngerem Verständnis angeht, so gibt es schon seit über einem Jahrhundert Theorien und Forschungen zum Pathomechanismus desselben. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über einige der bisher aufgestellten Hypothesen, ohne einen Anspruch auf Vollständigkeit erheben zu wollen.

Tab. 1: Hypothesen und Theorien zur Ursache des Plötzlichen Kindstodes. Modifiziert und erweitert nach Kenner und Kerbl in Kurz (2000). Wo keine Hypothese/Theorie angegeben ist, gilt dieselbe des vorgenannten Autors.

Autor	Jahr	Hypothesen/Theorien
Grawitz	1888	vergrößerter Thymus
Paltauf	1889	
Kolisko	1913	Enteropathie
Abramson	1944	Ersticken
Spain	1954	Immundefizienz
Schlemmer	1956	Infektion der Atemwege
Althoff	1969	
Lignitz	1989	
Bajanowski	1995	
Stowens	1957	Reflexdysfunktion
Emery	1958	Atemwegsobstruktion
Shaw	1968	
Kahn	1988	
Schlüter	1996	
Parish	1960	Milchallergie
Gold	1961	Infektionen
Müller	1961	
Maresch	1964	Elektrolytentgleisung
Gunther	1966	Anaphylaxie
Devey	1976	
Geertinger	1966	Endokrine Insuffizienz
Wolf	1966	Diving Reflex
French	1972	
Hoedt	1966	Bakterielle Infektionen
Johnson	1966	
Rognum	1999	

Blackwell	1999	
Church	1967	Herzrhythmusstörungen
James	1968	
Stramba-Badiale	1995	
Schwartz	1998	Long QT-Syndrome
Althoff	1969	Hirnödem
Bergmann	1969	Laryngospasmus
Ray	1970	Virusinfektion
Steinschneider	1972	Schlafapnoen
Guilleminault	1975	
Crawford	1973	Härtegrad des Wassers
Salk	1974	Autonomes Nervensystem
Naeye	1974	Chronische Hypoxie
Valdes-Dapena	1976	Cerebralschaden
Geertinger	1976	Glomus caroticum
Kirvonen	1976	Diabetes der Mutter
Shannon	1977	Atemregulation
Kurz	1986	
Rognum	1988	Protrahierte cerebrale Hypoxie
Nelson	1989	Überwärmung
Fleming	1992	
de Jonge	1989	Bauchlage
Einspieler	1992	
Ponsonby	1993	
Schneider	1989	partieller Komplement -C4-Mangel
Opdal	1999	
Kemp	1991	CO ₂ -Rückatmung
Bolton	1993	
Corbyn	1999	
Martinez	1991	Kollaps kleiner Atemwege
Molz	1992	Gehirnveränderungen
Christos	1992	Traumerlebnis
Milerad	1993	Nikotinbelastung
Richardson	1994	Toxine in Matratzen
Howat	1997	Inadäquate Interleukinproduktion
Deeg	1998	Zerebrale Perfusionsstörung
Dettmeyer	1999	Virus-Myokarditis
Wedgewood	1972	"three-hit-model" (thm)
Rognum	1993	three hit model mit genetischen Risikofaktoren
Reid	2001	three hit model mit Selenmangel in Peritoneal-exsudativen Zellen
Gordon	2002	three hit model mit Interleukin-Gen-Polymorphismen
Opdal	2003	

Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, suchten die Forscher bis in die Siebziger Jahre des letzten Jahrhunderts hauptsächlich nach einer singulären Ursache für den Plötzlichen Kindstod. Seither, aber ganz besonders in den letzten 15 Jahren, entwickelte sich die Meinung eher dahingehend, dass das Phänomen SIDS wohl multifaktoriell bedingt ist. Wedgewood hatte bereits 1972 erstmals den Begriff *three hit model* gebraucht, und die dahinter stehende Theorie wurde in den folgenden Jahren aufgegriffen und erweitert. Folgendes Schema verdeutlicht die drei Hauptkomponenten, die nach heutigem Verständnis Einfluss auf den Plötzlichen Kindstod nehmen.

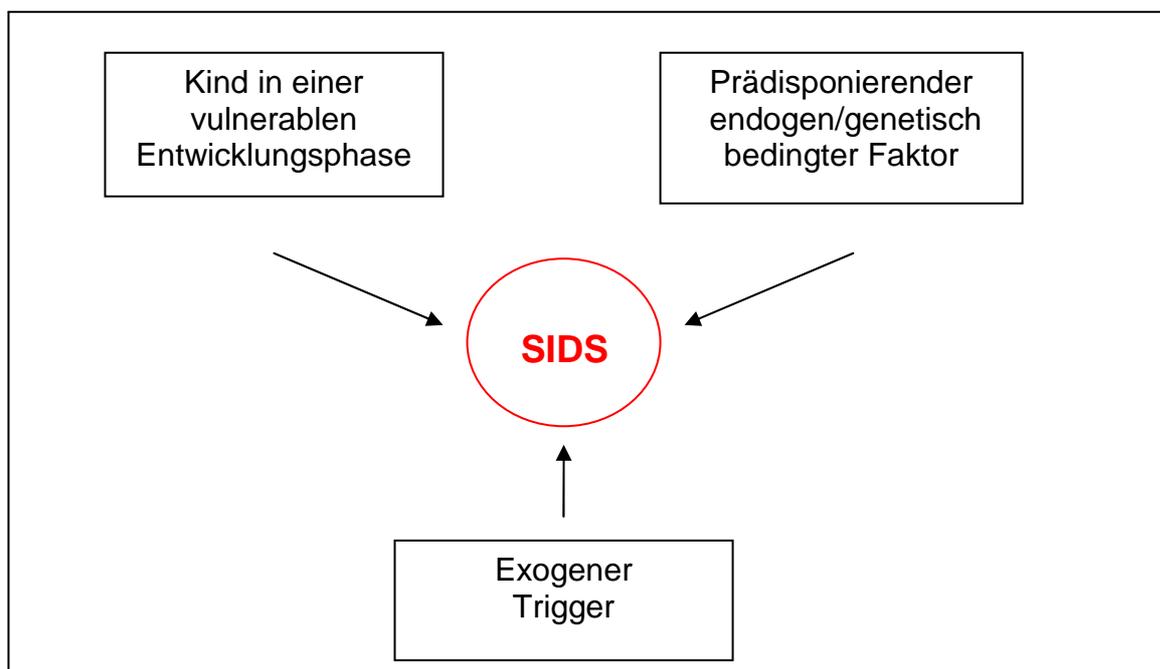


Abb. 3: Modell zur multifaktoriellen Genese des Plötzlichen Kindstodes, angelehnt an WEDGEWOOD (1972) und ROGNUM (1993)

Anhand dieses Schaubildes wird deutlich, dass das Phänomen des Plötzlichen Kindstodes trotz aller intensiven Forschungen wohl auch weiterhin heterogen, und im Einzelfall ein sehr komplex bedingtes Geschehen bleiben wird.

Die Idee zur folgenden Arbeit entstand in Anlehnung an die Ergebnisse jener Autoren, die ein entzündliches Geschehen im Körper des Kindes als zumindest wichtige Komponente für den plötzlich eingetretenen Tod postulieren. Hier stellt sich dann die Frage nach der Eintrittspforte und letztlich dem Wirkungsort der Entzündung. RASTEN-ALMQVIST ET AL (2002) konnten einen Zusammenhang zwischen SIDS und Myokarditis aufzeigen. BAASNER ET AL (2003) gelang mit

Hilfe der PCR der Direktnachweis von Enterovirus und Parvovirus B19 im Myokard von SIDS-Kindern. DETTMEYER ET AL (1999, 2002, 2004a) haben in verschiedenen Untersuchungen an vermeintlichen SIDS-Opfern sowohl virale Myokarditiden, als auch virale Pneumonien (2008) nachweisen können. Sie wendeten dabei immunhistochemische Verfahren und ebenfalls den inzwischen etablierten Direktnachweis durch PCR an und konnten eindeutig zeigen, dass beide Verfahren der konventionellen Histologie überlegen waren (DETTMEYER 2002, 2004a). Sowohl die immunhistochemische Gewebsuntersuchung, als auch molekularpathologische Nachweisverfahren gehören derzeit noch nicht zur routinemäßigen SIDS-Diagnostik.

1.2. Phänomenologie und Risikofaktoren

Neben den oben aufgeführten verschiedensten Forschungsrichtungen finden sich zahlreiche Faktoren, die mit dem Plötzlichen Kindstod signifikant verbunden sind oder ihn sogar charakterisieren. Hierbei sind zu nennen:

- Der Häufigkeitsgipfel liegt zwischen dem 2. und 5. Lebensmonat
- In den ersten 2 Lebenswochen und nach dem 10. Lebensmonat ist SIDS selten
- Männliche Säuglinge sind häufiger betroffen (52-56%)
- Während der kalten Monate und während Grippeepidemien tritt SIDS gehäuft auf
- SIDS findet sich gehäuft in den kalten Klimazonen der Erde

Diese Erkenntnisse stammen aus den Forschungen von ALTHOFF 1978, 1980, 1986, 1987, BAJANOWSKI ET AL 1996, BARBEY 1978, BEAL ET AL 1988, BECKWITH 1975, BRINKMANN ET AL 1996, BYARD UND KROUS 2001, DALTVEIT ET AL 1998, DAVIES 1985, DITTMANN UND PRIBILLA 1983, DOUGLAS ET AL 1998, EISENMENGER 1974, GILBERT ET AL 1994, HAAS ET AL 1993, HAHN 1995, HARRISON ET AL 1999, IRGENS UND SKJAERVEN 1986, JORCH ET AL 1994, KAPLAN ET AL 1984, KERBL ET AL 1995, KLEEMANN UND POETS 1997, KOHLENDORFER ET AL 1998, KRAUS ET AL 2000, KURZ ET AL 2000, KYTIR UND PAKY 1997, LIMERICK 1992, MAGE UND DONNER 1996, MITCHELL ET AL 1997 a, b, 1999, MÜLLER 1963, PEARCE ET AL 1999, RAJS ET AL 1988, RAMBAUD 1997, SATERNUS 1985, SAWAGUCHI ET AL 2000, SCHOLLE ET AL 1989, TONKIN 1986, VENNEMANN ET AL 2005, WATSON ET AL 1981, WENNERGREN ET AL 1997.

Zusätzlich zu den genannten Charakteristika lassen sich Risikofaktoren hervorheben, die prä-, peri- oder postnatal Einfluss auf einen möglichen Plötzlichen Kindstod haben:

1. Bauchlage. In Bauchlage wurden die meisten SIDS-Opfer aufgefunden (DE JONGE ET AL 1993, DITTMANN UND PRIBILLA 1983, MITCHELL ET AL 1992, 1999, SATERNUS 1985, VENNEMANN ET AL 2005).
2. Nikotinabusus vor allem der Mutter während und nach der Schwangerschaft, aber auch durch in der Wohnung lebende Angehörige (GORDON ET AL 2002, HAGLUND UND CNATTINGIUS 1990, POETS ET AL 1995, RINTAHAKA ET AL 1986, VENNEMANN ET AL 2005).
3. Frühgeburtslichkeit (BRATZKE 1986, 1987, BRINKMANN ET AL 1996).
4. Mehrere, schnell aufeinander folgende Schwangerschaften (ALTHOFF 1986, KAPLAN ET AL 1984).
5. Mehrlingskinder, v.a. jene mit Untergewicht bei der Geburt (ALTHOFF 1986, MALLOY ET AL 1999)
6. Niedriges Geburtsgewicht. Ein Geburtsgewicht unter 1500 g soll das SIDS-Risiko um den Faktor 5-6 steigern (ALTHOFF 1986, RIEGEL, 1987, SPIERS 1976).
7. Kinder sehr junger Mütter sollen vermehrt betroffen sein (ALTHOFF 1986, BRATZKE 1986, KYLE ET AL 1990, RINTAHAKA 1986).
8. Schlafen des Kindes im Bett der Eltern soll das Risiko erhöhen (MITCHELL ET AL 1992, VENNEMANN ET AL 2005). SCRAGG ET AL (1993) konnten dies nur bei rauchenden Müttern nachweisen.
9. Unterlassenes Stillen (FORD ET AL 1993, GORDON ET AL 1999, JORCH ET AL 1994).
10. Bereits an SIDS verstorbene Geschwister. Mögliche Risikoerhöhung um den Faktor 10 (IRGENS ET AL 1986, PETERSON ET AL 1980).
11. Unterlassene Impfungen. Durchgeführte Impfungen sollen einen schützenden Einfluss haben (ESSERY ET AL 1999) oder zumindest kein SIDS-Risiko darstellen (HOFFMANN ET AL 1987, JONVILLE-BERA ET AL 1995, NIU ET AL.1999).
12. Niedriger sozioökonomischer Status sowie damit in Zusammenhang stehende Faktoren wie z.B. schlechte Wohnverhältnisse, Größe der Wohnung, geringe Schulbildung der Eltern (DALTVEIT ET AL 1998, RINTAHAKA UND HIRVONEN 1986).
13. I.v.-Drogenmissbrauch der Mutter (DURAND ET AL 1990, KANDALL ET AL 1991).
14. Nicht-eheliche Kinder sollen vermehrt betroffen sein (RINTAHAKA UND HIRVONEN 1986).

15. Belastung des Organismus durch bakterielle Toxine (BENTLEY 1997, BLACKWELL 1999, JAKEMAN 1991, MALAM ET AL 1992, NEWBOULD ET AL 1989, SIARAKAS ET AL 1999).

Es bleibt zu beachten, dass die genannten Risikofaktoren teils in Abhängigkeit von verschiedenen Erdregionen oder ethnischen Gruppen differieren. Jeder Risikofaktor für sich wurde jedoch durch entsprechende Studien belegt.

1.3. Rechtsmedizinische Grundlagen

Mit Bezug auf die in Kapitel 1.1. erläuterten historischen Aspekte kommt der definitiven Abgrenzung natürlicher von nicht-natürlichen Todesursachen bis zur heutigen Zeit eine immens wichtige Bedeutung bei. Für die Angehörigen eines plötzlich verstorbenen Kindes ergibt sich akut eine extreme psychische Belastung. Nicht selten folgen Schuldgefühle, Selbstvorwürfe oder Anschuldigungen, und auch aus juristischer Sicht muss ebenfalls ein eventuell vorliegendes Fremdverschulden untersucht werden. Eine definitive Aussage hierüber kann jedoch nur nach einer Obduktion sowie den sich anschließenden chemisch-toxikologischen und mikroskopischen Untersuchungen gemacht werden. Die Rechtsgrundlage für eine Obduktion findet sich in den §§ 87 ff. der Strafprozessordnung (StPO). Zwingend voranzugehen hat zunächst eine äußere Leichenschau durch den herbeigerufenen Arzt. Sie ist durch die Leichenschaugesetze der Bundesländer geregelt, und nach der Durchführung ist eine Todesbescheinigung auszustellen. In dieser ist zu bestimmen, ob der Tod „natürlicher“ oder „nicht-natürlicher“ Art ist. In manchen Bundesländern, darunter Nordrhein-Westfalen, gibt es zusätzlich die Möglichkeit, die Todesart als „ungeklärt“ zu bezeichnen. Ist dies der Fall, oder wurde der Tod eindeutig als „nicht-natürlich“ bezeichnet, ergeht eine Meldung an die zuständigen Ermittlungsbehörden. Diese können dann den Leichnam beschlagnahmen lassen, und die Staatsanwaltschaft wird im Regelfall eine gerichtliche Obduktion veranlassen.

Es ist offensichtlich, dass eine große Verantwortung hinsichtlich des weiteren Verfahrens beim leichenschauenden Arzt liegt. Oft sind die häuslichen Umstände, unter denen das Kind zu untersuchen ist, für eine ausführliche Leichenschau nicht optimal, zumal nicht selten die Eltern selbst ärztlicher Hilfe bedürfen. Auch können für den Tod ursächliche Differentialdiagnosen, die sich nur im Körperinneren ausgewirkt haben (z.B. nach stumpfer Gewalteinwirkung, Schütteltrauma, anatomische Fehlbildungen etc.), durch die äußere Leichenschau allein gar nicht

erkannt werden (DETTMEYER 2006). Als Schlussfolgerung daraus sollten die leichenschauenden Ärzte ermutigt werden, mehr Fälle von mutmaßlichem Plötzlichen Kindstod trotz unauffälliger äußerer Leichenschau als „ungeklärt“ einzustufen, um überhaupt eine Obduktion möglich zu machen. Nicht zuletzt kann auch nur auf diesem Weg die Ursachenforschung um den Plötzlichen Kindstod vorangetrieben werden. Wurde die Todesursache als „natürlich“ angegeben, können nur noch die Eltern selbst eine Obduktion veranlassen; eine gerichtliche Anordnung erfolgt dann nicht (DETTMEYER 2006).

Hat die Qualifikation der Todesart eine Obduktion zur Folge, so sollte den Eltern der Sinn und die Notwendigkeit dieser Untersuchung verständlich erklärt werden. Für manche ist die Vorstellung, ihr Kind werde in einer Obduktion sichtbar verletzt, zusätzlich zum eigentlichen Todesereignis sehr belastend. Für das Verständnis besonders wichtig kann hier der Hinweis sein, dass ein genaues Ergebnis bezüglich Art und Ursache des Todes zur Verarbeitung des plötzlichen Verlustes wesentlich beitragen kann. Es sollte auch nicht verschwiegen werden, dass die Obduktionsergebnisse wissenschaftlichen Zwecken dienen und damit zur Ursachenforschung und Prävention des SIDS wesentlich beitragen können. Einigen Eltern kann dieses Wissen in der Phase der Sinnfindung hilfreich sein (MARTIN 1998, MCCLAIN 1996, KRUEGER 2006, SATERNUS 1997). Untersuchungen haben gezeigt, dass die Einbindung der Eltern eines verstorbenen Kindes in wissenschaftliche Forschung in annähernd allen Fällen positiv erlebt und keinesfalls bereut wurde (DYREGROV 2004).

1.4. Definition und Klassifikation des SIDS

Die Definition des Plötzlichen Kindstodes bzw. des SIDS ist nach heutiger Übereinkunft eine Ausschlussdiagnose. Nachdem zunächst lediglich Beobachtungen rund um einen plötzlichen Kindstod zur Diagnosestellung führten (MÜLLER 1963), wurde 1969 erstmals eine Definition zum *sudden infant death syndrome* (SIDS) getroffen. So definiert BECKWITH 1970 SIDS wie folgt:

The sudden death of any infant or young child, which is unexpected by history, and in which a thorough postmortem examination fails to demonstrate an adequate cause of death.

(Der plötzliche Tod jedes Säuglings oder Kleinkinds, der unerwartet eintritt und bei dem

eine sorgfältige postmortale Untersuchung keine adäquate Todesursache nachweisen lässt.)

In dieser Definition wurde noch keine exakte Altersbegrenzung angegeben, innerhalb derer sich das Kind befinden muss, um bei einem plötzlichen Tod zum Phänomen des SIDS gezählt werden zu können. Eine spätere, erweiterte Definition nach WILLINGER 1991 und VALDES-DAPENA 1992 begrenzt dagegen das mögliche Alter des Kindes auf das erste Lebensjahr, was dem Säuglingsalter entspricht:

The sudden unexpected death of an infant under one year of age, which remains unexplained after a thorough case investigation, including performance of a complete autopsy, examination of the death scene, and reviews of the clinical history.

(Der plötzliche und unerwartete Tod eines Säuglings unter 1 Jahr, der nach einer gründlichen Untersuchung, einschließlich einer vollständigen Obduktion, der Untersuchung der Todesumstände und der Überprüfung der Vorgeschichte, unerklärt bleibt.)

In der vorgenannten Definition erscheint nun auch erstmals die Forderung nach einer ausführlichen Untersuchung der Umgebung, in der das Kind aufgefunden worden war. Diese zusätzliche Exploration wird verlangt, um beispielsweise auch eine nicht-natürliche Todesursache zu erkennen.

In der *Stavanger Definition* von 1994 (ROGNUM 1995) wird die letztgenannte Erklärung ein wenig kürzer gefasst und lautet dann:

Sudden death in infancy unexplained after review of the clinical history, examination of the circumstances of death, and postmortem examination.

(Plötzlicher Tod im Säuglingsalter, ungeklärt nach Überprüfung der Vorgeschichte, Untersuchung der Todesumstände und Obduktion.)

Die Altersbeschränkung auf das Säuglingsalter, zum Teil noch genauer gefasst zwischen dem 8. Lebenstag und dem vollendeten ersten Lebensjahr, mag in manchen Fällen problematisch sein, ist sie doch willkürlich festgelegt. So hat ein Kind, das im Alter von 13 oder 15 Monaten

plötzlich verstirbt, nicht zwingend aufgrund seines gering höheren Alters einen anderen möglichen Pathomechanismus, der zum Tode geführt haben könnte, als ein wenige Monate jüngeres Kind. Insbesondere ist in dieser Definition das Entwicklungsalter des Kindes nicht berücksichtigt, was etwa beim Vergleich von termingerecht Geborenen mit gleichaltrigen Frühgeborenen variiert.

Die Klassifikation der ISPID (International Society for the Prevention of Infant Deaths, vormals ESPID, European Society for the Prevention of Infant Deaths) geht auf eine weitere Schwierigkeit anderer Art ein (ROGNUM 1995). Nachdem in den letzten Jahren die Ursachenforschung um den Plötzlichen Kindstod erheblich vorangetrieben wurde, sahen sich die obduzierenden Rechtsmediziner und Pathologen zunehmend mit Fällen konfrontiert, die einzelne Begleitbefunde aufwiesen, deren Schweregrad und Bedeutung hinsichtlich der Todesursächlichkeit teils bis heute heftig diskutiert werden. So sah man es als notwendig an, die SIDS-Fälle von den sog. Grenzfällen (*borderline cases*) zu unterscheiden. Schließlich hat sich die Expertengruppe für folgende Klassifikation entschieden:

- a.) *Pure SIDS cases, in which the autopsy and clinical information do not reveal any cause of death. (SIDS im engeren Sinn, bei dem Obduktion und klinische Befunde keine Todesursache erkennen lassen.)*
- b.) *Borderline SIDS cases, in which pre-existing congenital disorders or clinical symptoms, and/or postmortem findings are not severe enough to explain the cause of death. (Grenzfall eines SIDS, bei dem vorbestehende angeborene Krankheiten oder klinische Symptome und/oder Obduktion keine hinreichende Erklärung für die Todesursache geben.)*
- c.) *Non-SIDS cases, in which the cause of death is explained according to clinical information and the result of postmortem examinations. (NICHT-SIDS, bei dem die Todesursache durch klinische Informationen und durch das Ergebnis der Obduktion hinreichend erklärt ist.)*
- d.) *Suspected SIDS victims without postmortem examination. (Verdacht auf SIDS ohne Durchführung einer Obduktion.)*

MOLZ schließlich ging noch einen Schritt weiter und bezog in ihre Klassifikation von 1997 explizit auch Ergebnisse ein, die nur durch die zusätzlich zur Obduktion durchgeführten histologischen, immunhistochemischen und molekularpathologischen Untersuchungen gewonnen werden können:

- Gruppe 1: keine wesentlichen Befunde, Tod nicht erklärbar*
- Gruppe 2: Begleitbefunde, die den Tod nicht hinreichend erklären, z.B. katarrhalische Infekte, Zytomegalie der Kopfspeicheldrüsen u.a.*
- Gruppe 3: klinisch bedeutsame Befunde, die den Tod hinreichend erklären, z.B. Pneumonie, Myokarditis, Nephritis, Septikämie (Staphylococcus aureus), Enterotoxine, Toxic-Shock-Syndrom u.a.*

Die beiden letztgenannten Klassifikationen weisen bereits auf das Problem hin, dass die Diagnose SIDS lange Zeit anhand von nicht eindeutig definierten Kriterien gestellt wurde, woraus folgt, dass Befunde und Diagnosezuweisungen stark vom jeweiligen Untersucher abhängen. Schon länger gibt es Bestrebungen, zum einen ein international einheitliches Obduktionsprotokoll umzusetzen (ROGNUM 2000), andererseits auch einen Konsens über die klare Definition insbesondere der histologischen Befunde zu finden. In diesem Bereich wurden in den letzten Jahren deutliche Fortschritte erzielt.

Auf der „State of the art conference on the stratification of SUDI (sudden and unexpected death in infancy)“ einigten sich Rechtsmediziner und Pathologen aus Skandinavien, England, Australien, Nordamerika und Deutschland auf Ausschlusskriterien des SIDS hinsichtlich der Herz- und Lungenpathologie sowie bezüglich der Anwendung genetischer und metabolischer Untersuchungen (ROGNUM ET AL 2003). Die generelle Einteilung in SIDS, borderline-SIDS und Explained Infant Death (*plötzlicher Tod mit geklärter Ursache*) entspricht dabei der ISPID-Klassifikation. Die Kriterien zur Lungenpathologie werden in Kapitel 1.6. vorgestellt.

Die derzeit aktuellste Definition des Plötzlichen Kindstodes wurde auf der San Diego Konferenz 2004 verfasst (KROUS ET AL 2004):

SIDS is defined as the sudden unexpected death of an infant <1 year of age, with onset of the fatal episode apparently occurring during sleep, that remains unexplained after a thorough investigation, including performance of a complete autopsy and review of the circumstances of death and the clinical history.

(SIDS wird definiert als der plötzliche, unerwartete Tod eines Kindes unter 1 Jahr, der offensichtlich während des Schlafs einsetzt und nach eingehender Untersuchung ungeklärt bleibt. Diese Untersuchung beinhaltet die Durchführung einer vollständigen Obduktion, die Überprüfung der Todesumstände sowie die Durchsicht der Krankengeschichte.)

Diese generelle Definition nimmt erstmals die Tatsache auf, dass sich der Plötzliche Kindstod im Schlaf ereignet. Durch die Umformulierung von ehemals „death scene investigation“ („Untersuchung des Ereignisortes“) hin zu „review of the circumstances of death“ („Überprüfung der Todesumstände“) wird nun zusätzlich auch die Einbeziehung aller Umgebungsfaktoren verlangt, denen das Kind kurz vor und nach seinem Tod ausgesetzt war. Weiterhin haben sich die Teilnehmer der Konferenz auf zusätzliche Subklassifizierungen verständigt, um die Obduzenten bei der Klassifikation und Diagnosestellung zu unterstützen, und durch einheitliche Kriterien einen vergleichbaren Rahmen für wissenschaftliche Untersuchungen zu schaffen. Für die Einzelkriterien zur Lungenpathologie sei nochmals auf Kapitel 1.6. verwiesen, während die generelle Klassifikation aus Tabelle 2 entnommen werden kann.

Tab. 2: San Diego definition of SIDS, modifiziert nach Krous et al. (2004)

	Clinical history	Circumstances of death	Autopsy
General definition of SIDS	Sudden, unexpected death <1 year of age Onset of fatal episode during sleep Death unexplained by clinical history	Unexplained after review of circumstances	Unexplained after thorough autopsy
<u>Stratified subcategorizations</u>			
Category IA SIDS (Classic features of SIDS present and completely documented)	1. Age >21 days < 9 months 2. Normal clinical history, including a) full term pregnancy (37 gestational weeks or more) b) normal growth and development 3. No similar deaths among siblings, relatives or other infants of the same caregiver	1. No explanation for the death 2. Safe sleep environment, without evidence of accidental death	1. Absence of potentially lethal pathological Findings 2. No evidence of unexplained trauma, abuse, neglect or intentional injury 3. No substantial thymic stress effect 4. Negative results of toxicologic, microbiologic, radiologic, vitreous chemistry and metabolic screenings
Category IB SIDS (Classic features of SIDS present but incompletely documented)	All criteria of the general definition are met, as well as the entire Cat. IA criteria	Scene investigation was not performed and/or →see autopsy	5. At least 1 out of the screenings mentioned above (point 4) was not performed
Category II SIDS	Infant deaths that meet Cat.I criteria except for 1 of the following: 4. Age 0-21 days or 270-365 days 5. Similar deaths in siblings, relatives or other infants of the same caregiver, that are not suspect for infanticide or recognized genetic disorders 6. Neonatal or perinatal conditions that have resolved by the time of death	Mechanical asphyxia or suffocation caused by overlaying not determined with certainty	6. Abnormal growth and development not thought to have contributed to death 7. Marked inflammatory changes or abnormalities not sufficient to be unequivocal causes of death
Unclassified Sudden Infant Death SUDI	Criteria for Cat I and II SIDS are not met	Alternative diagnoses of natural or unnatural conditions are equivocal	Autopsy was not performed

1.5. Pneumonien im Säuglings- und Kindesalter

Infektionen gehören bei Säuglingen und kleinen Kindern zum Alltag. Der so genannte Nestschutz mit den von der Mutter erhaltenen Antikörpern verliert sich zunehmend in den ersten Lebensmonaten. Nun reift das kindseigene Immunsystem heran, indem es sich mit den ihm dargebotenen Antigenen auseinandersetzt. Die kindseigene Antikörperproduktion setzt ein, und gleichermaßen wird die zelluläre Abwehr stetig ausgebaut. Diese zwei Anteile der Abwehr sind unbedingt notwendig, um letztlich über ein funktionierendes Immunsystem verfügen zu können. Dennoch bedarf es einiger Zeit, bis die Abwehr tatsächlich kompetent arbeitet und sich für bereits bekannte Antigene ein Gedächtnis aufbauen konnte. Daher erkrankten Säuglinge und Kleinkinder genau in dieser Zeit häufig an Infektionen vor allem des Verdauungstraktes und der Atemwege.

1.5.1. *Inzidenz und Mortalität*

Zur Inzidenz von erworbenen Pneumonien im Säuglings- und Kindesalter wurde bisher nicht sehr umfangreich publiziert, während gleichzeitig die zur Verfügung stehenden Zahlen in ihrer Größe variieren. Gründe dafür lassen sich beispielsweise in der unterschiedlichen Methodik der Datenerhebung finden, aber auch in der Schwierigkeit der Diagnosestellung. Eine Möglichkeit der Datengewinnung besteht darin, Krankenhauszuweisungen auf deren Aufnahmediagnose hin zu überprüfen. BJÖR UND BRABÄCK führten zwischen 1987 und 2000 eine solche Studie in Schweden durch, die innerhalb dieses Zeitraums eine sinkende Inzidenz kindlicher Pneumonien von 14/1000 auf 7/1000 für Kinder unter 1 Jahr ergab. Die Bayerische Neonatalerhebung aus dem Jahr 1991 befand, dass 1,2% von ca. 12.000 Neugeborenen an einer postnatal erworbenen Pneumonie erkrankten. Damit ergibt sich eine Inzidenz von 10/1000 (ROOS 1993). Eine finnische Studie von 1982 bezifferte die Zahl der Pneumonien mit 36/1000 Kindern pro Jahr, allerdings bezogen auf alle Kinder bis zum 5. Lebensjahr. Hierbei wurden alle Fälle von radiologisch bestätigten Pneumonien innerhalb einer bestimmten geografischen Region prospektiv an ein Pneumonie-Register gemeldet (JOKINEN ET AL 1993). In der Schweiz wurden Pädiater und Praktische Ärzte gebeten, in einem Fragebogen ihre Diagnosehäufigkeit von Pneumonien an das Gesundheitsministerium zu übermitteln. Es ergab sich eine Inzidenz von 6.6/1000 Kindern zwischen 0 und 23 Monaten (ESS ET AL 2003). In Schleswig-Holstein wurden Eltern von 5-7 jährigen Kindern befragt, ob ein Arzt je eine Pneumonie bei ihrem Kind diagnostiziert hatte.

Gemäß deren Angaben lag die Inzidenz bei den Kindern unter 1 Jahr zwischen 16.6 und 19.3/1000 (WEIGL ET AL 2003a). Daten aus England von 1999-2001 geben die Inzidenz von Pneumonien, bezogen auf Kinder bis zum 14. Lebensjahr, mit 10-15/1000 pro Jahr an. Es wird jedoch betont, dass der Hauptanteil bei den Kindern bis 5 Jahre liegt. Die Mortalität bei kindlichen Pneumonien lag 1999 in England bei ungefähr 1.6/100.000, bezogen auf alle an einer Pneumonie verstorbenen Kinder gleich welchen Alters (FARHA, THOMSON 2005). 75% der Todesfälle sollen aber die Kinder unter 4 Jahren betroffen haben (MCINTOSH 2002). Im Kollektiv der Bayrischen Neonatalerhebung verstarben ca. 4% der Kinder an ihrer postnatal erworbenen Pneumonie (ROOS 1993).

1.5.2. *Erregerspektrum der Pneumonien*

Kinder erkranken genau wie Erwachsene durch Bakterien und Viren an tiefen Atemwegsinfektionen. Dennoch ist das Spektrum der Erreger in Abhängigkeit vom Alter der Person unterschiedlich. Pneumonien bei Säuglingen und Kleinkindern sind hauptsächlich durch Viren verursacht. Typische Erreger sind RNA-Viren wie das Respiratory Syncytical Virus (RSV), Influenza A, B, C und Parainfluenzaviren 1, 2, 3, sowie Adenoviren (ROOS 1993; BAJANOWSKI 1995, 2003). Eher beim Neu- und Frühgeborenen können das Cytomegalievirus CMV oder das Herpes Simplex-Virus (HSV) eine Pneumonie verursachen (ABZUG ET AL 1990; BRASFIELD ET AL 1987). Seit kürzerer Zeit hat auch das humane Metapneumovirus (hMPV) als Erreger tiefer Luftwegsinfektionen an Bedeutung gewonnen. Von den Bakterien sind vordergründig *Streptokokkus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* Typ b, *Mykoplasma pneumoniae* und *Staphylokokkus aureus* als Verursacher schwerwiegender Lungenentzündungen bekannt (WEIGL 2003b). Speziell bei unreif Geborenen finden sich hin und wieder Infektionen mit *Pneumocystis jirovecii*. Kommt auf der Basis einer viralen Infektion eine Besiedelung mit toxinbildenden Bakterien hinzu, können diese das Risiko für das Erleiden eines plötzlichen Kindstodes potenzieren (JAKEMAN 1991, PEARCE 1999b). Dass es Bakterien gibt, die in besonderer Ausprägung an Zellen binden, die mit dem Influenza A Virus infiziert sind, konnten EL AHMER ET AL 1999 zeigen. Sie beschrieben eine signifikant häufigere Bindung eines *Staphylokokkus aureus*-Stammes an mit humanem Influenza A Virus infizierten Zellen. Dieses Phänomen beruht darauf, dass diese speziellen Viren eine Hochregulation körpereigener Zellantigene bewirken, die von den Bakterien als Rezeptoren genutzt werden.

1.6. Diagnostische Kriterien zur Lungenpathologie beim SIDS

In den letzten Jahren ist es zu wesentlichen Verbesserungen in der Formulierung diagnostischer Kriterien für SIDS gekommen. Hierzu tragen vor allem die Empfehlungen zweier großer Kongresse bei. 2003 fand in Oslo die „State of the art conference on the stratification of SUDI“ statt. ROGNUM ET AL. (2003) veröffentlichten die Ergebnisse, und so finden sich folgende Übereinkünfte zur Beurteilung der histologischen Befunde sowie zur Einteilung der interstitiellen Lungenbefunde:

SIDS: Sowohl Obduktion als auch die Anamnese bieten keine todesursächlichen Fakten.

Interstitium: Wenige diffus verteilte Lymphozyteneinstreuungen oder wenige kleine bis mittelgroße Foci gelten als Minimalveränderungen und dürfen vorhanden sein, ohne einen pathologischen Wert zu besitzen.

Borderline SIDS: Es finden sich vorbestehende angeborene Störungen oder klinische Symptome und/oder Befunde *post mortem*, die nicht schwerwiegend genug sind, um den Tode zu erklären

Interstitium: Moderate lymphozytäre Infiltrate lassen sich in mehreren Lungenschnitten nachweisen.

Explained infant death (=exclusion of SIDS): Der Tod wird durch die Krankengeschichte und/oder die Ergebnisse der durch die Obduktion gewonnenen Befunde hinreichend erklärt.

Interstitium: Ausgedehnte Infiltrate sind in den Alveolarwänden aller Lungenschnitte vorhanden. Damit wird eine interstitielle Pneumonie diagnostiziert, die als eigenständige Diagnose gilt und den Tod erklärt.

Basis aller Untersuchungen sind 2 Schnitte aus jedem Lungenlappen, je einer zentral und einer peripher entnommen. Die mikroskopische Untersuchung fordert weiterhin die Beurteilung folgender unspezifischer Lungenveränderungen, die teils von ALTHOFF bereits 1980 beschreiben worden waren:

- Pleurapetechien
- Kongestion
- Alveoläre Blutung
- Atelektasen und Emphysem
- Lungenödem
- Alveolarmakrophagen
- Septale/Interstitielle Blutung

Die jüngsten Empfehlungen aus der San Diego Konferenz 2004 bezüglich der Lungenpathologie folgen größtenteils den auf diesem Kongress modifizierten „Nordic diagnostic criteria for the exclusion of SIDS“ (BAJANOWSKI 2007). Auch sie fordern die histologische Untersuchung von je 2 Schnitten pro Lungenlappen, sowie die Beurteilung aller nicht-spezifischer Lungenveränderungen zusätzlich zum Lungengewicht. Entsprechend zur generellen Klassifikation erfolgt die Einteilung hier in „Cat. I und II SIDS“, „USID“ (unclassified sudden infant death) und „explained infant death“. Cat. I SIDS entspricht dabei „SIDS“, und Cat. II SIDS entspricht „Borderline SIDS“. Inhaltlich stimmen die Empfehlungen mit den bereits oben Beschriebenen überein.

Cat. I SIDS: Das Interstitium darf gelegentlich diffus eingestreute Lymphozyten oder wenige mäßig große Entzündungsherde aufweisen.

Cat.II SIDS: Lymphozytäre Infiltrate bilden erhebliche Manschetten um die Bronchi in mehr als einem Schnitt. Im Interstitium lassen sich in mehreren Schnitten mäßige Lymphozytenansammlungen nachweisen.

Explained infant death: Das Interstitium ist geprägt durch umfassende lymphozytäre Infiltrate in allen Schnitten (entspricht einer interstitiellen Pneumonie).

1.7. Fragestellung und Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, mittels immunhistochemischer Diagnostik die Inzidenz interstitieller Pneumonien an einem Kollektiv aus 80 mutmaßlich am Plötzlichen Kindstod verstorbenen Kindern zu untersuchen. Dabei soll ebenfalls dargelegt werden, welche verschiedenen Marker für die Diagnostik interstitieller Infiltrate überhaupt geeignet sind, und

welche Aussagekraft sie jeweils besitzen. Schließlich soll überprüft werden, ob die ursprüngliche Diagnose „Plötzlicher Kindstod“ weiterhin sicher gestellt werden kann.

2. Material und Methoden

2.1. Studienkollektiv

Untersucht wurde Lungengewebe von Säuglingen, die in den Jahren 1995 bis 2006 am Plötzlichen Kindstod verstorben waren. Zum Zeitpunkt der Untersuchungen lagen Lungenproben von 104 Säuglingen vor, jedoch konnten aus materialtechnischen Gründen nur 80 Fälle verwendet werden. Davon stammten 79 Fälle aus dem Versorgungsgebiet des Rechtsmedizinischen Instituts der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, zu dem die Bezirke der Staatsanwaltschaften Bonn, Koblenz und Siegen gehören. Ein Fall stammte aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Bern. Die Zahl der Proben je Fall war unterschiedlich groß. Während es von den Fällen der Jahre 1995 bis 2001 häufig nur ein oder zwei Proben gab, steigerte sich die Zahl der Proben in den weiteren Jahren bis hin zu fünf je Fall. Diese Zunahme ergibt sich aus einem erst später eingeführten Schema zur Probenentnahme, welches seit Beginn 2004 in Bonn konsequent angewendet wird. Die Entnahmeorte wurden wie folgt standardisiert:

- Lunge 1: Rechter Lungenoberlappen
- Lunge 2: Rechter Lungenmittellappen
- Lunge 3: Rechter Lungenunterlappen
- Lunge 4: Linker Lungenoberlappen
- Lunge 5: Linker Lungenunterlappen

In allen Fällen konnte weder durch den makroskopischen Befund bei der Obduktion, noch in den chemisch-toxikologischen oder konventionell-histologischen HE-Untersuchungen eine todesursächliche Diagnose gestellt werden, sodass ein so genannter Plötzlicher Kindstod als Todesursache in Betracht kam.

Gemäß der ISPID-Klassifikation (s. Kapitel 1.3.), nach der in diesem Zeitraum in Bonn diagnostiziert worden ist, zählten somit alle untersuchten Fälle zu Punkt a, der nur die SIDS-Fälle

im engeren Sinne umfasst. Die folgende Tabelle führt die wichtigsten Daten der einzelnen Fälle auf:

Tab. 3: Stammdaten des Studienkollektivs. Abkürzungen: S.-Nr. = Sektionsnummer, G = Geschlecht, M = männlich, W = weiblich, Frühgeburtlichkeit (+) = ja, (-) = nein, Lage beim Auffinden, BL= Bauchlage, RL = Rückenlage, SL = Seitenlage, k.A. = keine Angabe

Fall-Nr.	S.-Nr.	G	Alter	Früh-geb.	Lage	Sterbemonat
1	039/96	W	1	-	k.A.	Feb
2	198/96	W	2	-	SL	Sep
3	202/96	M	2	-	BL	Sep
4	234/96	M	6	-	RL	Nov
5	031/97	M	3	-	BL	Feb
6	041/97	W	8	+	RL	Feb
7	109/97	M	8	+	BL	Apr
8	136/97	W	5	+	SL	Jun
9	158/97	W	8	-	RL	Jul
10	174/97	W	8	+	k.A.	Jul
11	246/97	M	4	-	BL	Jul
12	067/98	M	7	+	k.A.	Apr
13	124/98	M	3	-	SL	Jun
14	040/99	W	2	-	BL	Feb
15	059/99	W	5	-	RL	Mär
16	155/99	M	8	-	RL	Jul
17	164/99	M	8	k.A.	SL	Jul
18	172/99	M	8	-	RL	Sep
19	205/99	M	2	+	BL	Okt
20	220/99	W	2	k.A.	k.A.	Okt
21	024/00	W	6	-	BL	Feb
22	028/00	M	3	-	RL	Feb
23	069/00	M	10	-	k.A.	Mär
24	085/00	M	3	-	k.A.	Apr
25	188/00	W	3	+	BL	Aug
26	226/00	W	2	-	BL	Okt
27	243/00	W	10	-	BL	Nov
28	252/00	M	4	k.A.	BL	Nov
29	013/01	M	12	k.A.	RL	Jan
30	014/01	M	9	k.A.	RL	Jan
31	115/01	M	5	+	BL	Mai
32	162/01	W	3	-	RL	Jul
33	181/01	W	2	-	BL	Jul

Fall-Nr.	S.-Nr.	G	Alter	Früh-geb.	Lage	Sterbemonat
34	227/01	M	1	+	BL	Sep
35	267/01	M	2	-	k.A.	Nov
36	287/01	M	8	-	BL	Dez
37	290/01	M	3	-	BL	Dez
38	299/01	M	3	k.A.	RL	Dez
39	064/02	M	12	k.A.	k.A.	Feb
40	065/02	M	7	+	k.A.	Feb
41	100/02	M	12	-	RL	Mär
42	113/02	W	2	+	RL	Apr
43	121/02	M	2	-	k.A.	Apr
44	137/02	M	2	k.A.	BL	Mai
45	141/02	W	1	k.A.	SL	Mai
46	166/02	W	6	+	RL	Jun
47	213/02	W	5	k.A.	k.A.	Jul
48	232/02	W	3	-	BL	Aug
49	268/02	M	1	k.A.	k.A.	Sep
50	276/02	M	2	+	BL	Sep
51	312/02	W	2	k.A.	SL	Nov
52	352/02	M	2	k.A.	k.A.	Dez
53	060/03	W	6	+	k.A.	Feb
54	099/03	W	5	k.A.	BL	Apr
55	131/03	M	4	+	RL	Jun
56	144/03	M	3	k.A.	k.A.	Jun
57	149/03	M	2	k.A.	SL	Jun
58	236/03	M	8	k.A.	RL	Okt
59	237/03	M	13	k.A.	BL	Okt
60	245/03	M	5	k.A.	RL	Nov
61	261/03	W	3	-	BL	Nov
62	275/03	W	2	k.A.	BL	Nov
63	305/03	M	5	+	BL	Dez
64	027/04	M	11	+	RL	Jan
65	032/04	W	2	k.A.	k.A.	Jan
66	078/04	W	2	-	SL	Mär
67	118/04	W	2	-	k.A.	Apr
68	122/04	M	4	k.A.	BL	Apr
69	235/04	W	2	k.A.	RL	Sep
70	242/04	M	4	-	k.A.	Okt
71	314/04	M	1	k.A.	k.A.	Dez
72	027/05	M	2	k.A.	BL	Jan

Fall-Nr.	S.-Nr.	G	Alter	Früh-geb.	Lage	Sterbemonat
73	070/05	W	12	k.A.	BL	Feb
74	089/05	W	1	k.A.	k.A.	Mär
75	180/05	W	7	k.A.	BL	Jun
76	225/05	M	2	+	BL	Jul
77	276/05	M	8	k.A.	RL	Okt
78	025/06	M	4	k.A.	k.A.	Jan
79	042/06	M	3	k.A.	k.A.	Feb
80	Be05/3878	M	4	k.A.	BL	Mai

2.2. Kontrollkollektiv

Ein Kontrollkollektiv kam in dieser Untersuchung nicht zur Anwendung, da es einzig um die Beurteilung von Lungenbefunden beim Plötzlichen Kindstod ging. Zur Beurteilung der Ergebnisse aus den Färbungen mit HE sowie gegen Makrophagen, Leukozyten generell und T-Lymphozyten diente die normale Lungenhistologie als Vergleich, wie sie in den Büchern der Pathologie und Histologie beschrieben ist (JUNQUEIRA-CARNEIRO 1996, REMMELE 1997).

2.3. Asservation und Fixation

Aus den während der Obduktion entnommenen Lungen wurden Gewebeproben aus einzelnen Lungenlappen genommen und sofort in eine Fixierlösung verbracht, jede Probe in einer eigenen Kapsel. Die restliche Lunge verblieb zum Teil in toto im Fixativ und wurde über die Jahre hinweg asserviert, teils waren aber auch keine weiteren Lungenanteile asserviert worden. Seit dem Jahr 1996 wurde ausschließlich neutral phosphat-gepuffertes Formaldehyd (pH 7,0) als Fixativ verwendet. Die Fixationsdauer der Gewebeproben durfte maximal 48 Stunden betragen, um eine fixationsbedingte Blockierung der Epitope zu vermeiden, die eine immunhistochemische Untersuchung unmöglich machen kann. Anschließend wurden die Proben zum Entwässern in ein Autotechnikon (Firma Shandon, Modell Citadel 1000) verbracht und danach in Paraffin eingebettet.

Als Fixativ wurde phosphatgepuffertes Neutralformalin verwendet. Dieses Asservationsmedium hat einen pH-Wert von 7,0. Es wird hergestellt aus 4,0 g Natriummonophosphat und 6,5 g Dinatriumphosphat, wasserfrei gelöst in 900 ml Aqua dest. Der Zusatz von 100 ml Formalin (35% Formaldehyd) ergibt einen Liter Lösung.

2.4. Methodik der immunhistochemischen Färbung

2.4.1. *Entstehung und Prinzip*

Das Prinzip der Immunhistochemie stammt bereits aus den Vierziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts. Coons et al. berichteten bereits 1941 von einer Technik, bei der ein mit Fluoreszin verbundener Antikörper direkt an das Ziel-Antigen bindet, was schließlich mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops sichtbar gemacht werden kann. Da es in diesem Verfahren sehr aufwändig war, jeden Antikörper mit Fluoreszin zu verbinden, entwickelte sich daraus die Vorgehensweise, einen fluoreszierenden Sekundärantikörper einzusetzen, der gegen den unkonjugierten Primärantikörper gerichtet ist. Infolge der Anwendung dieser Technik wurde das Ergebnis deutlich verbessert, insbesondere hinsichtlich der Intensität der Färbungen (WELLER und COONS 1954). Die Nachteile dieses Verfahrens lagen allerdings darin, dass die Färbungen zum einen noch nicht sehr haltbar waren, zum anderen war man stets auf das Vorhandensein

eines Fluoreszenzmikroskops angewiesen. So entstand die Idee, ein für Lichtmikroskope nutzbares Verfahren zu entwickeln. 1966 fand man mit der Meerrettichperoxidase (HRP) ein Enzym, das mit einem geeigneten Substrat lichtmikroskopisch sichtbare Produkte hervorbrachte. Dabei war das Enzym über einzelne chemische Bindungen „angeklebt“ (engl.: labelled), die sich jedoch relativ leicht wieder lösen konnten. 1969 erwies sich dann eine Methode als vorteilhaft, die einen Antikörper gegen HRP verwendet (*unlabelled-antibody*-Methode). Dabei wirken sich stabile und lösliche Komplexe (Peroxidase-Antiperoxidase-Komplexe, *PAP*) dieses neuen Antikörpers vorteilhaft auf die Farbintensität aus. Die Sensitivität dieses Verfahrens konnte schließlich gesteigert werden, indem in der sog. *double-bridge*-Technik der zweite und dritte Schritt wiederholt werden.

Die Erhöhung der Spezifität gelang zum einen durch vorherige Inkubation mit Normalserum, wodurch unspezifische Bindungen an größere elektrisch geladene Zellbestandteile verhindert werden. Zum anderen durch Inkubation mit einer wasserstoffperoxidhaltigen Lösung vor dem Auftragen der HRP, um eine Reaktion mit der physiologisch im Gewebe vorkommenden Peroxidase zu verhindern.

Später wurden Techniken entwickelt, die statt des Sekundärantikörpers auch Protein A oder einen Avidin-Biotin-Komplex (ABC-Methode) verwenden.

Letztere Methode setzte sich schließlich gegenüber den Anderen durch, was einerseits in der hohen Affinität des Avidins zum Biotin begründet ist, andererseits im damit verbundenen, wesentlich geringeren Antikörperverbrauch.

2.4.2. *LSAB-Methode*

Die LSAB-Technik (*labelled streptavidin biotin* Technik) besteht aus vier wesentlichen Schritten. Zunächst folgt dem Primärantikörper ein gegen ihn gerichteter, biotinylierter Sekundärantikörper. Im Folgenden lagert sich ein Peroxidase-Avidin-Komplex an das Biotin an; hierdurch wird die hohe Sensitivität ermöglicht. Die letztlich lichtmikroskopisch beurteilbare Anfärbung erfolgt im vierten Schritt. Dabei entsteht unter Verwendung von 3-Amino-9-Ethyl-Carbazol (AEC) durch Oxidation ein roter Farbstoff. Abbildung 4 verdeutlicht die LSAB-Methode.

Die Dicke der Schnitte mochte trotz der eingestellten Dicke von 5 Mikrometern am Gerät im Einzelfall geringfügig variieren, was jedoch für die Beurteilung irrelevant ist, da allein semiquantitativ ausgewertet wurde.

Als ebenfalls haftungsverstärkender Vorgang folgte eine Inkubation im Wärmeschrank (Heraeus Instruments, Gerätetyp B12) bei 37° C für mindestens 24 Stunden.

Im weiteren Verlauf erfolgte die Entparaffinierung der Schnitte in einem zwanzigminütigen Xylolbad, sowie die Rehydrierung in absteigender Alkoholreihe, beginnend bei 100% Alkohol, über 96%, 70% und 50%. Unter stetigem Bewegen der Schnitte in den Bädern war die Verweildauer jeweils mindestens 2 Minuten, wobei die Bäder zu 100% und 96% doppelt durchlaufen wurden. Am Ende stand ein Bad im TRIS-Puffer für mindestens 5 Minuten.

Die folgenden Arbeitsschritte der immunhistochemischen Färbung unterschieden sich teils recht deutlich, sodass sie weiter unten gesondert beschrieben werden sollen.

Für die Färbungen wurden folgende Antikörper verwendet:

Anti-Human CD 68, Makrophagen

Firma Dako Cytomation, monoklonal, Klon KP1

Markiert werden Makrophagen und andere Mitglieder der mononukleären Phagozyten-Zelllinie.

Anti-Human CD 45R0, T-Lymphozyten

Firma Dako Cytomation, monoklonal, Klon UCHL1. CD 45 R0 ist eine Isoform des Glykoproteins CD 45. Der Antikörper markiert IL-2 abhängige T-Lymphozyten.

Anti-Human CD 45, LCA (Leucocyte Common Antigen)

Firma Dako Cytomation, monoklonal, Klon T29/33

CD 45 wird von allen kernhaltigen Zellen der hämatopoetischen Reihe exprimiert. Folglich markiert der Antikörper T- und B- Lymphozyten, Granulozyten, Monozyten und Makrophagen.

Nicht markiert werden Megakaryozyten und reifende Erythrozyten.

Anti-Human CD 62E (E-Selektin)

Firma Monosan; monoklonal, Klon 16 G4

CD 62E (auch endothelial leucocyte adhesion molecule-1, ELAM-1, oder E-Selektin) gehört bei den Oberflächenmolekülen zur Familie der Selektine (neben CD 62L und CD 62P). Es wird von zytokin-induzierten Endothelzellen exprimiert und vermittelt die Bindung von Leukozyten an das exprimierende Endothel in der initialen Phase einer Entzündungsreaktion.

Der Antikörper markiert humanes CD 62E und CD 62P.

Anti-Human IgE, Immunglobulin

Firma Dako Cytomation, monoklonal, Klon CIA-E-7.12

Der Antikörper markiert menschliches IgE-Paraprotein.

Bevor nun im weiteren Verlauf der Primärantikörper aufgebracht werden konnte, mussten in Abhängigkeit von der Art des Markers ein bis zwei Schritte vorgeschaltet werden.

2.4.4. Antigendemaskierung (engl.: retrieval)

Die sog. Antigendemaskierung wird durchgeführt, um das Gewebe dem Färbevorgang besser zugänglich zu machen. Durch den Fixierungsvorgang in Formalin sind Aldehydvernetzungen entstanden, die einige Antigenbindungen verhindern, und so zu falsch negativen oder abgeschwächten Ergebnissen führen würden (sog *Masking-Effekt*, WASIELEWSKI 1995, EZAKI 2000). Die Antigendemaskierung kann auf verschiedenen Wegen erfolgen. Zur Verfügung stehen die Behandlung mit Hitze oder die enzymatische Vorbehandlung. Nicht alle Epitope reagieren gleich gut auf beide Verfahren, sodass im Einzelfall für jedes Gewebe gesondert die Methode experimentell ermittelt werden muss, die die besten Ergebnisse liefert.

2.4.4.1. Hitzebehandlung in der Mikrowelle

Das Prinzip dieser Vorbehandlung ist recht einfach. Durch die Hitzeeinwirkung werden die durch Formalin entstandenen Aldehydverbindungen gelöst und somit die Antigene freigelegt (WASIELEWSKI 1995). Da die Gewebeschnitte auf den Objektträgern jedoch bei Hitzeanwendung im Trockenen binnen Sekunden austrocknen würden und damit unbrauchbar wären, müssen sie in einer Lösung gekocht werden. Die Objektträger werden dazu in hitzestabile Plastikküvetten gestellt, die bis knapp unter den Rand mit Lösung gefüllt sind, und bei 650 W bzw. 800 W je nach Antikörper unterschiedlich lang gekocht. Die Lösung kann entweder fertig gekauft oder selbst hergestellt werden. Ausreichend gute Ergebnisse wurden in diesen Untersuchungen mit 0,05M Citratpuffer bei einem pH-Wert von 6,0 erreicht. Nur für die Färbung gegen E-Selektin wurde eine 0,05%ige EDTA-Lösung bei pH 8,0 benötigt. Beim Kochvorgang befanden sich stets 4 Küvetten à 7 Objektträger in der Mikrowelle, um eine einheitliche Hitzebehandlung bei allen Färbedurchgängen zu gewährleisten.

Bei Färbedurchgängen mit weniger als 28 Präparaten wurden die Fehlenden durch leere Objektträger ersetzt. Während des Kochens musste die verdampfte Flüssigkeit unbedingt nachgefüllt werden, um ein Austrocknen der Schnitte zu verhindern.

Nach Ende des Kochvorgangs hatten die Schnitte 20 min (bzw. 40 min beim E-Selektin) bei Raumtemperatur abzukühlen, bevor sie weiter bearbeitet werden konnten.

2.4.4.2. Enzymatische Vorbehandlung

Die Behandlung mit Enzymen bewirkt eine Andauung des Gewebes und folgend, ebenfalls wie bei der Hitzebehandlung, die Freilegung der Epitope.

Geeignet sind vor allem Pronase und Proteinase K. Trypsin kann ebenfalls verwendet werden, kam jedoch in den hier geschilderten Untersuchungen nicht zum Einsatz.

Letztlich wurde diese Art der Antigendemaskierung am vorliegenden Material nur bei der Markierung von IgE benutzt.

Auch bei diesem Verfahren ist es notwendig, in Abhängigkeit vom Antikörpertyp die Konzentration der Lösung, die Andauzeit und die Inkubationstemperatur zu variieren.

An den Vorgaben des Herstellers orientierend, wurde in der Austestung mit folgenden Werten gearbeitet:

Konzentration der Enzymlösung

Pronase (Dako Cytomation): 0,05%, 0,1%
 Proteinase K (Dako Cytomation): fertig verdünnte Lösung ohne Konzentrationsangabe

Andauzeiten

Pronase und Proteinase K: 5, 10, 15 Minuten

Inkubationstemperatur

Raumtemperatur und 37° C im Wärmeschrank

Als Positivkontrollen wurden Schleimhautproben der Nase und des Sinus frontalis von Erwachsenen benutzt, die autoptisch speziell dafür entnommen worden waren. Wie die Lungengewebeproben auch, waren sie für max. 48 Std. in neutral gepuffertes Formalin verbracht, und anschließend auf normalem Wege weiterbearbeitet worden.

Im Laufe der Testreihen ergab sich mehrmals eine zu starke Hintergrundfärbung, die aber letztlich durch Modifikationen vermieden werden konnte. Am Ende zeigten sich die besten Ergebnisse bei einem Retrieval mit 0,05%iger Pronase, einer Inkubationszeit von 10 min bei 37° C und der Primärantikörperverdünnung von 1:30. Die Vorbehandlung mit Proteinase K ergab eine weniger deutliche Zellanfärbung und eine nicht auszuschaltende Hintergrundfärbung.

2.4.5. *Untersuchungsvorgang II*

Nach erfolgter Antigendemaskierung wurden die Objektträger für 1 min in Tris-Puffer gespült, und die überschüssige Lösung bis an den Rand der Schnitte vorsichtig mit Zellstoff abgewischt. Ein zügiges Arbeiten war bei diesem und allen anderen folgenden Wischvorgängen notwendig, damit die Schnitte in der Zwischenzeit nicht austrockneten.

Die Objektträger wurden jetzt in feuchte Kammern (Firma KreaTech Diagnostics) gelegt, in denen alle folgenden Inkubationsvorgänge stattfanden.

In der Folge wurde Schweineserum (Firma Dako Cytomation) aufgebracht, das zuvor mit Tris-Puffer im Verhältnis 1:5 verdünnt worden war. Dabei war darauf zu achten, dass der komplette Schnitt mit ausreichend Flüssigkeit bedeckt war.

Dieser Schritt bewirkt ein Abblocken unspezifischer Proteine und verhindert damit später eine ungewollte Bindung von Antikörpern an unspezifische Gewebebestandteile.

Nach 20 min wurde das Serum nur von den Objektträgern gekippt, es wurde aber nicht gespült. Wieder wurde die überschüssige Flüssigkeit mit Zellstofftüchern abgewischt.

Jetzt konnte der Primärantikörper aufgebracht werden. Als Verdünnungsmedium diente das Antibody Diluent (Firma Dako Cytomation), das Verdünnungsverhältnis differierte je nach Antikörper. (Siehe Tab. 4).

Inkubiert wurde über Nacht bei 4° C im Kühlschrank. Zwar fanden sich auch Angaben des Herstellers zur Inkubation für 60-90 min bei 25° C, jedoch wurden die besten Ergebnisse bei der länger dauernden Kälteinkubation erreicht.

Am nächsten Tag wurden die Kammern aus dem Kühlschrank entnommen und zur Adaption an die Raumtemperatur 20 min geöffnet stengelassen.

Die Objektträger wurden entnommen und wieder 1 min lang in Tris-Puffer gewaschen.

Nach dem Wischen konnte jetzt der spezifische Sekundärantikörper aufgetropft werden (Firma Dako Cytomation, LSAB-Kit, Flasche 1). Die Inkubationszeit betrug 30 min, nach denen wieder in Tris-Puffer gespült, und die Objektträger bis an den Rand der Schnitte abgewischt wurden.

Der nächste Schritt diente dazu, die endogene Peroxidase zu blockieren, die sonst eine zu starke Hintergrundfärbung hervorgerufen und die Auswertung erschwert hätte. Dazu wurde das Blockingreagens auf die Schnitte aufpipettiert und für 20 min belassen. Ausnahmsweise wurde hiernach zweimal für jeweils mindestens 2 min in Tris-Puffer gespült.

Es konnte dann der Avidin-Biotin-Komplex (LSAB-Kit, Flasche 2) aufgetropft werden, der 30 min auf den Schnitten verblieb.

Jetzt sollte die eigentliche Färbung erfolgen. Dazu wurde das fertige AEC-Substrat (Firma Dako Cytomation) auf die Schnitte getropft und verblieb solange darauf, bis in der mikroskopischen Kontrolle ein positives Färbeergebnis zu erkennen war. Je nach Antikörper lagen die Färbezeiten zwischen ca. 5 und 40 min. Da das Chromogen in der Lösung nach 30 min an der Luft zerfällt, musste bei einer längeren Färbedauer das Substrat nochmals nachgetropft werden.

Durch ein Bad in Aqua dest. wurde die Färbung gestoppt.

Im letzten Schritt wurde eine Kernfärbung mit Hämalaun nach Meyer durchgeführt, und die Schnitte mit einem wasserlöslichen Kleber und Deckgläschen eingedeckt.

Tabelle 4 gibt eine abschließende Übersicht über die für jeden Antikörper verwendeten Verfahren in dieser Arbeit.

Tabelle 4: Verwendete Antikörper und entsprechende Retrievalmethode

Primär-AK	Firma	Verdünnung	AG-Demaskierung	Dauer der AGD	Temperatur/Watt	Inkubation des AK
CD 68	Dako	1:50	Citrat/Mikrowelle	20 min	650 W	4°C ü.N.
CD 45 R0	Dako	1:60	keine			4°C ü.N
LCA	Dako	1:50	Citrat/Mikrowelle	20 min	650 W	4°C ü.N
CD 62E	Monosan	1:30	EDTA/Mikrowelle	40 min	800 W	37°C 1 h
IgE	Dako	1:30	Pronase 0,05%	10 min	37°C	37°C 10 min

3. Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Jedes Präparat wurde lichtmikroskopisch beurteilt, indem es in üblicher Weise mäanderförmig durchgemustert wurde (Fa. Hund, Wetzlar, Typ V 365 Wilozyt, Vergrößerung 200fach).

Da sich interstitielle Pneumonien entweder diffus oder fokal manifestieren können, mussten hierbei alle Areale des Präparates erfasst werden, um eine verlässliche Aussage machen zu können. Dabei wurde jedes Präparat von zwei Untersuchern unabhängig voneinander begutachtet. Die Auswertung erfolgte dann semiquantitativ, indem die Präparate einer der nachfolgend genauer erläuterten Kategorien zugeordnet wurden. Später wurden die jeweiligen Einteilungen zwischen beiden Untersuchern verglichen. Bisher finden sich in der Literatur kaum Untersuchungen speziell zur Morphologie und Histologie kindlicher Pneumonien, insbesondere nicht in der immunhistochemischen Darstellung. Als Referenz diente deshalb die normale Histologie. Bei der Beurteilung wurde weiterhin berücksichtigt, ob die entsprechenden Zellen diffus oder fokal angeordnet waren, letztere uni- oder multifokal. Außerdem galt die Aufmerksamkeit zusätzlich dem gleichzeitigen Verhalten des *BALT* (bronchus associated lymphatic tissue).

3.1. CD68, LCA, CD 45 R0, E-Selektin

Alle durch die drei erstgenannten Marker positiv gekennzeichneten Zellen wurden nach oben beschriebener Methode semiquantitativ ausgewertet und einer der vier folgenden Kategorien zugeordnet:

- (-) keine nachweisbaren Zellen
- (+) geringe bis normale Zellzahl
- (++) mäßig erhöhte Zellzahl
- (+++) stark erhöhte bis übermäßige Zellzahl

Anhand folgender Bilder wird die Graduierung beispielhaft illustriert:

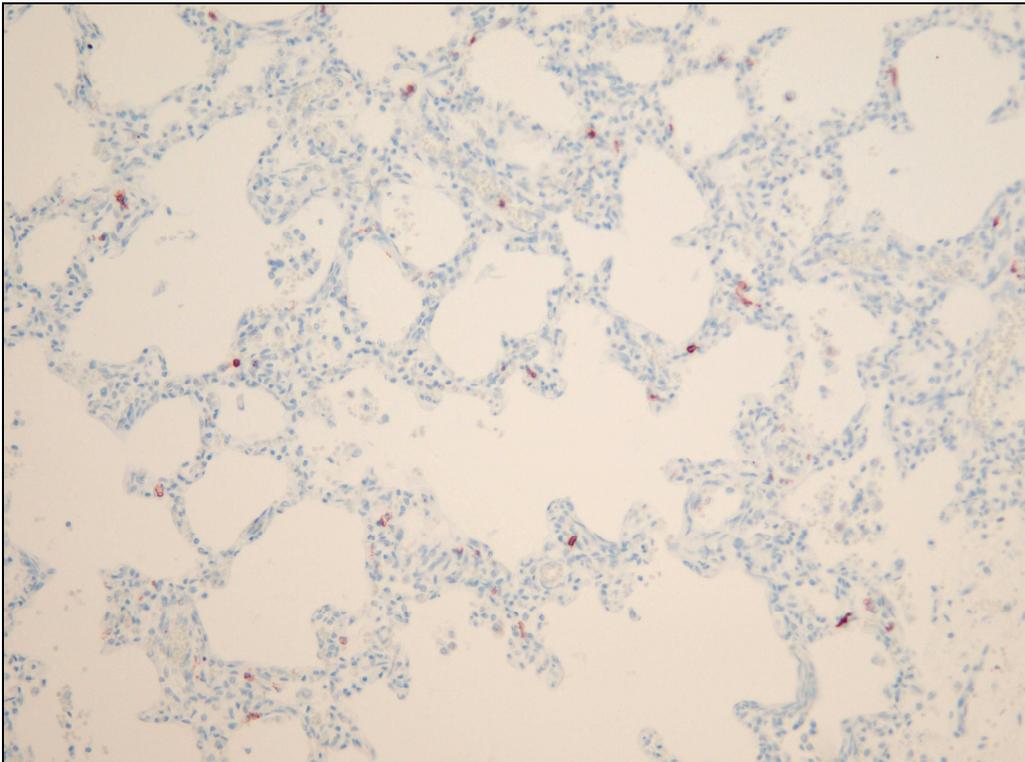


Abb. 5: CD 45 R0 x 200, (+). Einzelne T-Lymphozyten stellen sich dar.

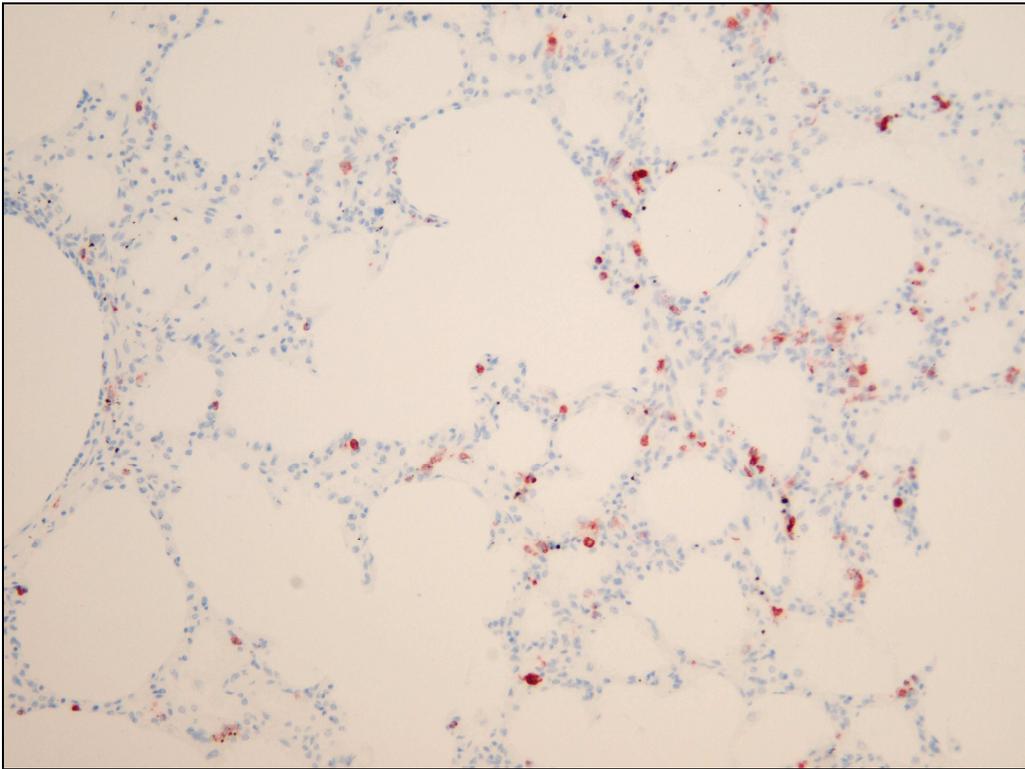


Abb. 6: CD 45 R0 x 200, (++). Schon deutlich mehr CD45 R0-positive T-Lymphozyten werden markiert.

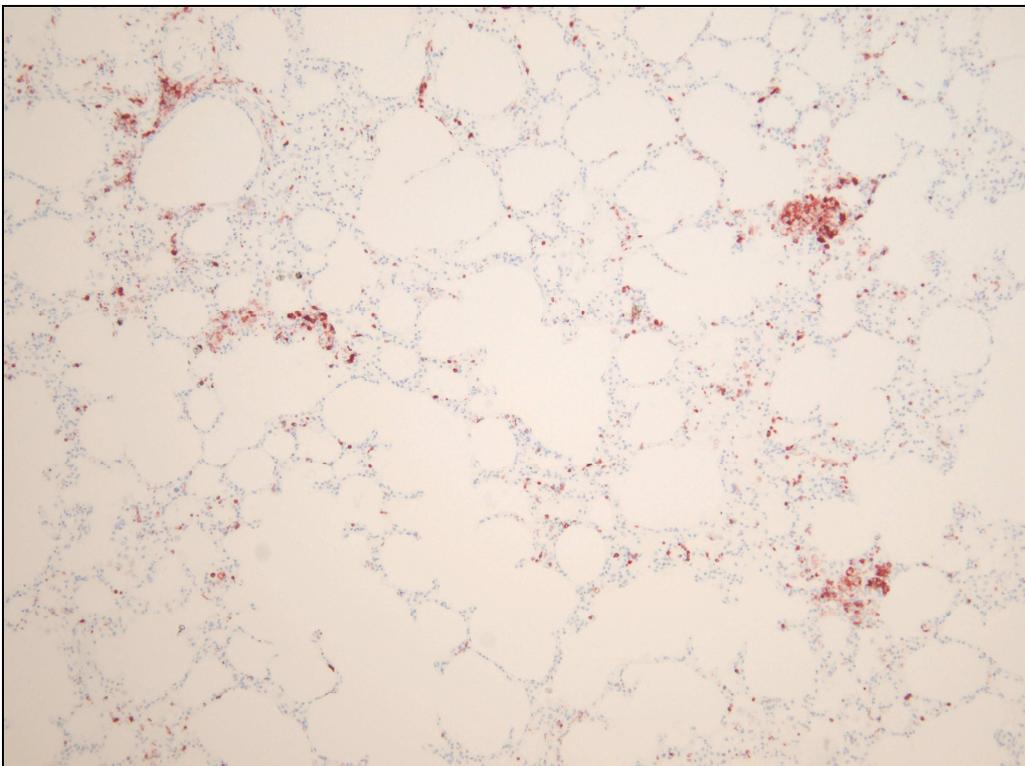


Abb. 7: CD 45 R0 x 100, (++). Multiple Foci sind in der Übersicht zu erkennen.

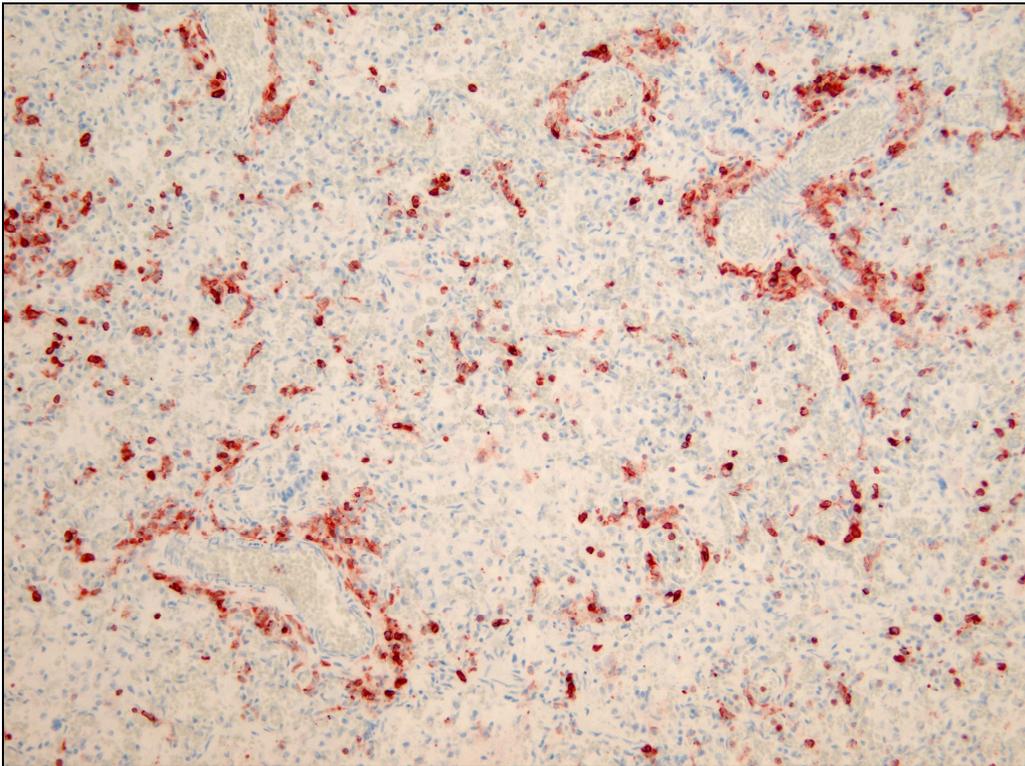


Abb. 8: CD 45 R0 x 200, (+++). Diffuse Infiltration des Interstitiums sowie peribronchial deutliche Markierung

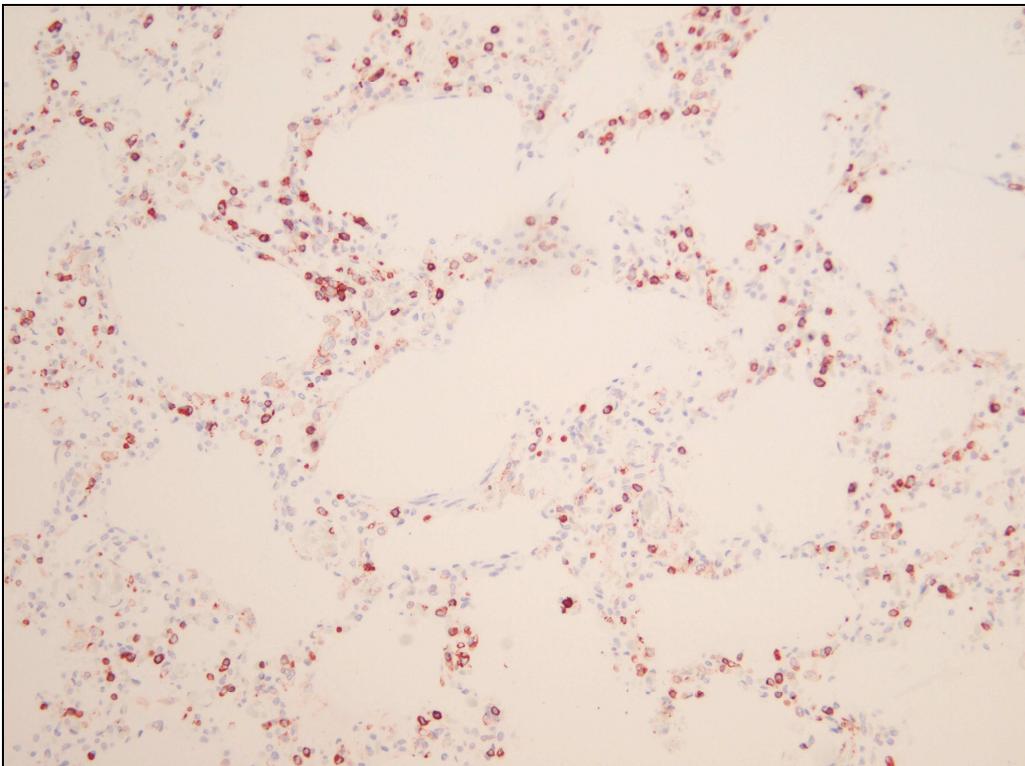


Abb. 9: LCA x 200, (++) . Zahlreiche LCA-positive Zellen im Interstitium.

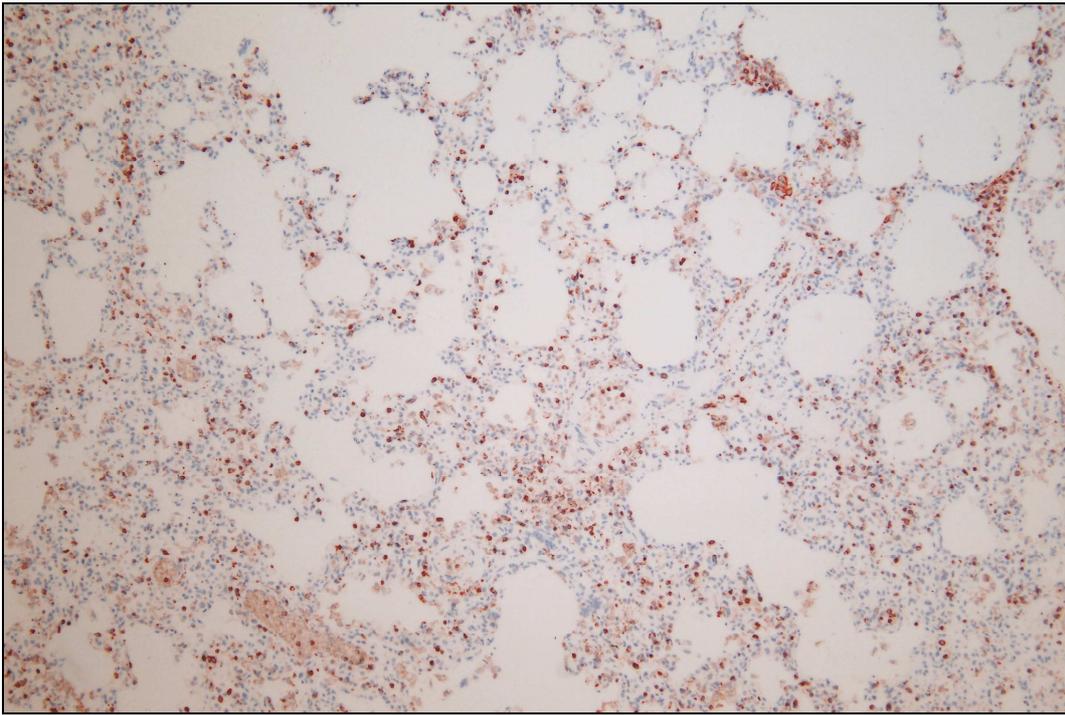


Abb. 10: LCA x 100, (+++). Diffuse Infiltration

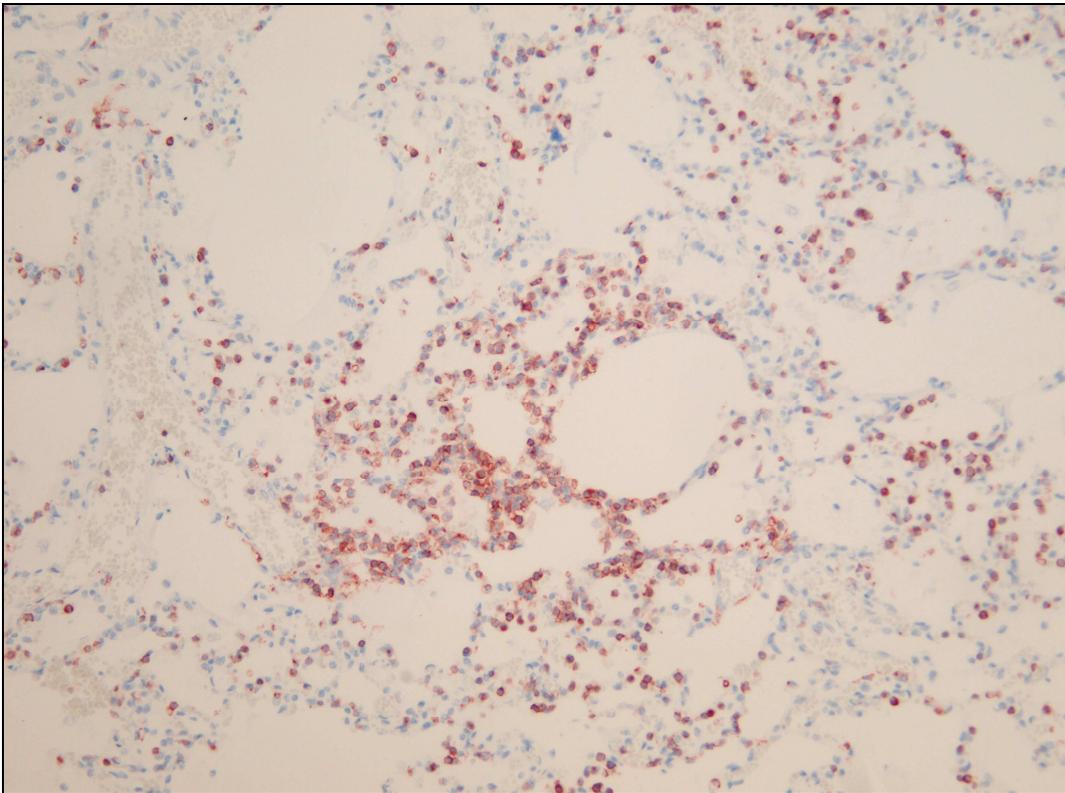


Abb. 11: LCA x 200, (+++). Focus.

Auch beim E-Selektin wurde semiquantitativ bewertet, hier färbte sich das Zytokin E-Selektin in den Endothelzellen an.

Mit (+) wurde ein Fall bewertet, wenn sich vereinzelt in wenigen Gefäßen E-Selektin nachweisen ließ.

Als (++) galt, wenn das Endothel jeweils mehrerer Gefäße E-Selektin ringförmig exprimierte, (+++) bezeichnete den durchgehenden Nachweis von E-Selektin im Endothel mehrerer benachbarter Gefäße.

3.2. IgE

Das Vorkommen dieses menschlichen Paraproteins wurde mit (-) für negativ und (+) für positiv festgehalten. Als Positivkontrollen waren Schleimhaut aus Nase und dem Sinus frontalis von Erwachsenen verwendet worden. 24 zufällig ausgewählte Schnitte von 21 Fällen wurden immunhistochemisch gefärbt.

3.3. Bronchus associated lymphatic tissue - BALT

Dieser spezielle Teil des Immunsystems wurde vorrangig in der CD 45 R0-Färbung, vereinzelt aber auch in den HE-Schnitten begutachtet. Es ging um die Beurteilung der Nachweisbarkeit und Ausbreitung dieser lymphatischen Zentren. Eingestuft wurde in:

„nachweisbar und gut demarkiert“ (+),

„vergrößert mit beginnender Migration“ (++)

„stark vergrößert mit deutlicher Überschreitung der Grenzen“ (+++)

4. Ergebnisse

4.1. Geschlechtsverteilung

Hinsichtlich der Geschlechtsverteilung zeigt sich, dass die männlichen Kinder überwiegen. Wie in Abbildung 5 zu sehen, waren 48 der Kinder (60%) männlichen Geschlechts, 32 Kinder (40%) waren weiblich. Damit fügen sich die Ergebnisse aus diesem Kollektiv in die bisherigen Beobachtungen ein, dass Jungen häufiger vom Plötzlich Kindstod betroffen sind als Mädchen (BECKWITH 1975, CARPENTER ET AL 2004, FINDEISEN ET AL 2004, MAGE 1996).

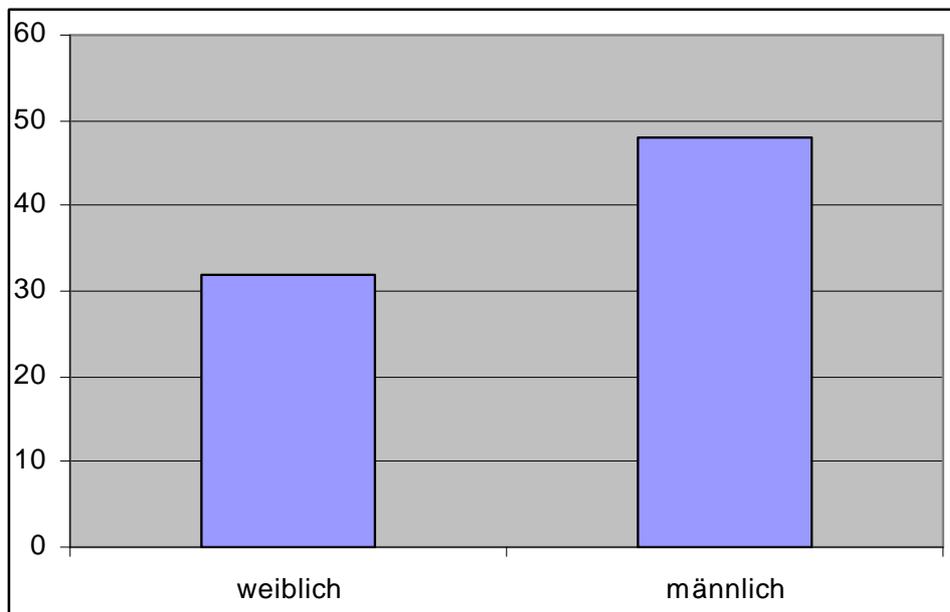


Abb. 12: Geschlechterverteilung. Y-Achse = Anzahl der Fälle. (n=80)

4.2. Jahreszeitliche Verteilung

Wie Abbildung 6 zeigt, finden sich im Gesamtkollektiv hinsichtlich der jahreszeitlichen Verteilung des Todes lediglich zwei auffällige Werte. Zum einen sieht man einen Einbruch der sonst relativ konstant verteilten Anzahl von plötzlichem Kindstod im Monat August, hier starben nur 2 Kinder (2,5% des Gesamtkollektivs). Im Abstand von 6 Monaten dazu findet sich im Februar ein Gipfel mit 11 Kindern (13,75%). In den Wintermonaten Oktober bis März verstarben

insgesamt 43 Kinder (53,75%). Betrachtet man zusätzlich die Monate September und April, ergibt sich eine Todesrate von 72,5% innerhalb der in Deutschland 8 vorwiegend kühlen Monate des Jahres. Somit zeigt auch das vorliegende Kollektiv die Tendenz zur schon lange bekannten Häufung der SIDS-Todesfälle auf der Nordhalbkugel in diesen Monaten (MITCHELL ET AL 1999, WEIGL ET AL 2003b). Dennoch kann man nicht sagen, dass sich demgegenüber in den warmen Monaten eine kontinuierlich niedrige Todesrate beobachten lässt. Juni und Juli weisen sogar mit 7 bzw. 9 Todesfällen eine gegenüber den anderen Monaten durchschnittliche bis leicht überdurchschnittliche Anzahl an Todesfällen auf. Allein durch die Monate Mai und August mit jeweils nur wenigen Todesfällen ergibt sich in den Sommermonaten insgesamt eine durchschnittlich niedrigere Todesfallzahl als in den oben erwähnten 8 kühlen Monaten.

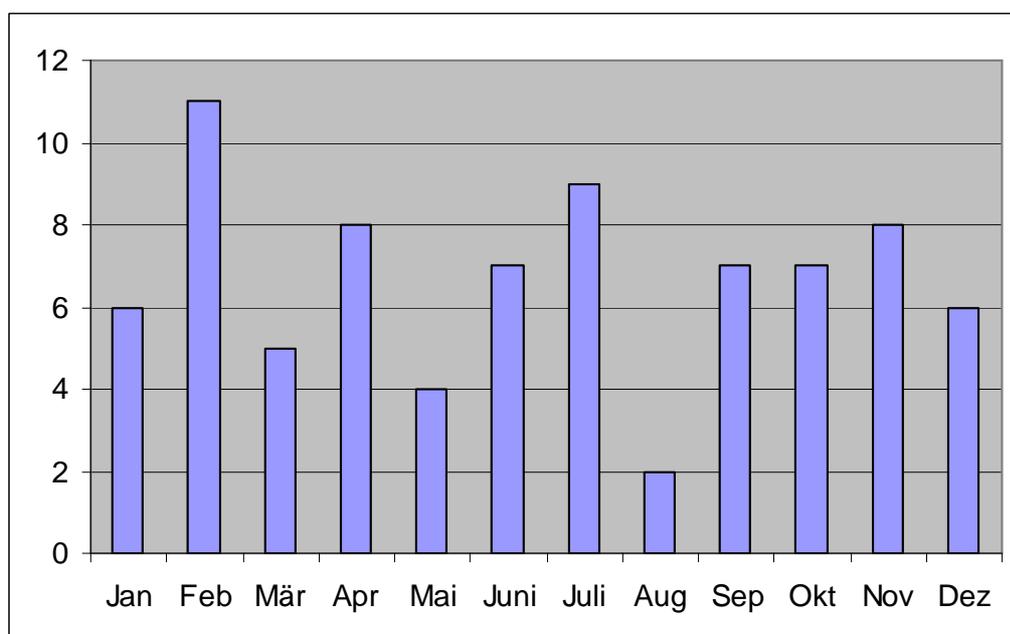


Abb. 13: Monatliche Verteilung aller SIDS-Fälle (n=80). Y-Achse = Anzahl

4.3. Auffindeposition

Bei der Auffindeposition nimmt die Bauchlage mit 37% den ersten Platz ein. In Rückenlage wurden 25% der Kinder gefunden, in Seitenlage befanden sich die Kinder zu 10%.

Da die Daten auf den Angaben des Notarztes und der Befragung der Eltern beruhen, gibt es in 27,5% der Fälle keine Angaben zur Lage des Kindes, als es gefunden wurde.

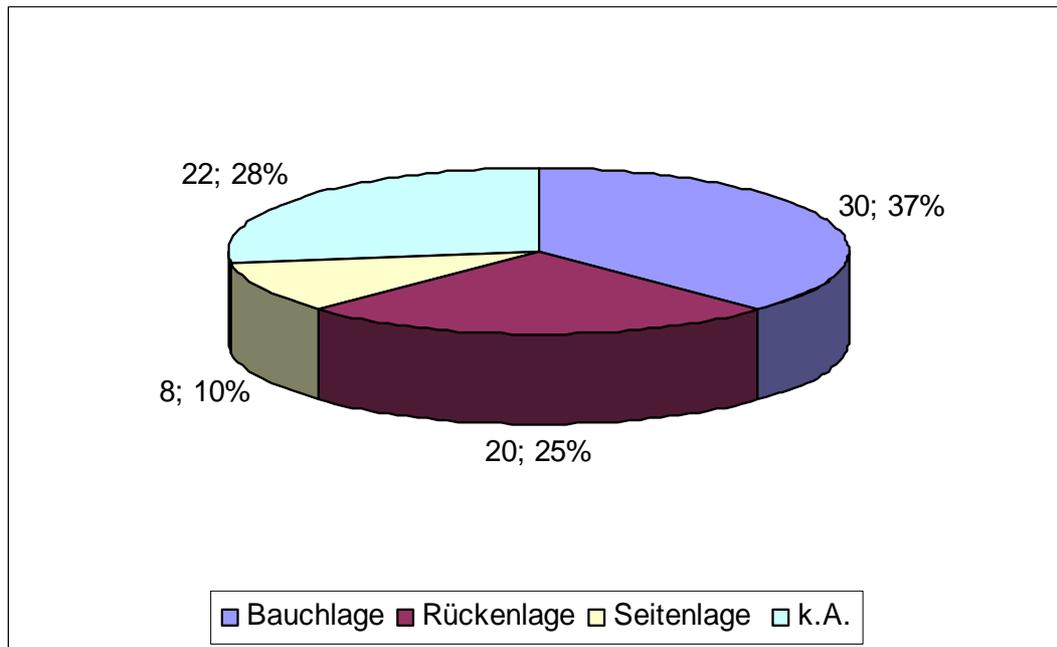


Abb. 14: Auffindeposition. Angaben bezeichnen den Absolutwert sowie den prozentualen Anteil am Gesamtkollektiv (n=80).

4.4. Altersverteilung

Im Schnitt verstarben die Kinder mit 4,69 Monaten, bezogen auf das gemischt-geschlechtliche Gesamtkollektiv. Die Statistik in Abb. 8 lässt einen deutlichen Gipfel im Alter von 2 Monaten erkennen. In diesem Lebensalter verstarben 22 Kinder, das entspricht mehr als einem Viertel der Gesamtgruppe. Mit 3 Monaten verstarben 12 Kinder (15%). Der bisher in der Literatur beschriebene Häufigkeitsgipfel zwischen dem 2. und 5 Lebensmonat findet sich somit auch in diesem Kollektiv wieder. Ferner wird aber noch vermehrt der Tod im Alter von 8 Monaten beobachtet, hier starben 10 Kinder (12.5%).

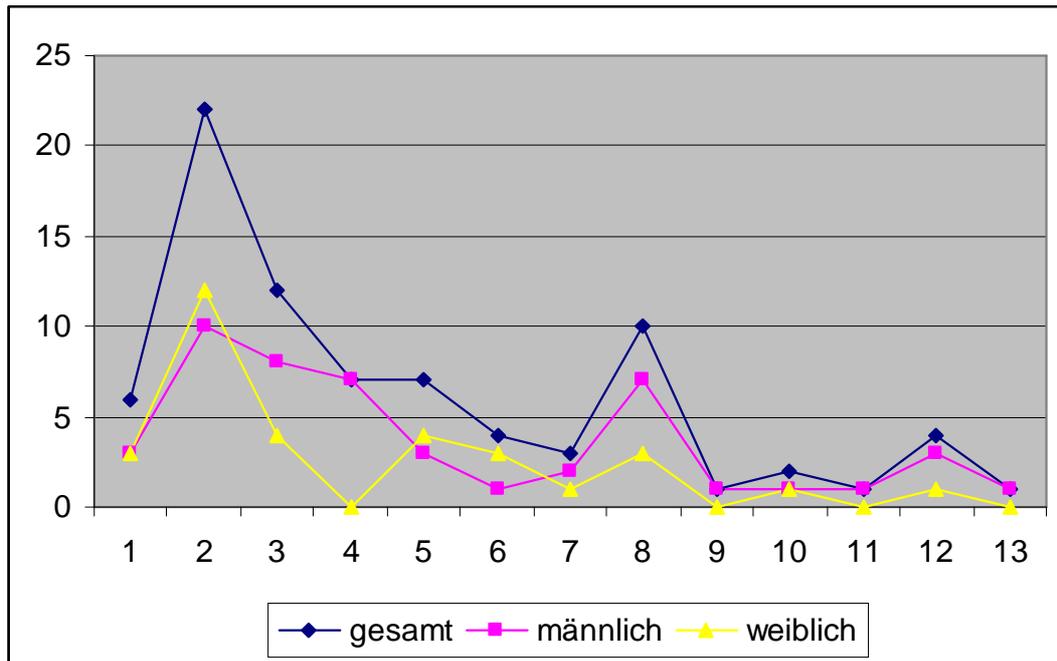


Abb. 15: Lebensalter in Monaten (x-Achse) zum Zeitpunkt des Todes. Y-Achse = Anzahl der Kinder. Gesamtkollektiv (n=80)

4.5. CD 68 Makrophagen

Die semiquantitative Auswertung der CD 68⁺-Makrophagen zeigte eine deutliche Tendenz zu einer generellen Erhöhung der Zellzahl im interstitiellen Lungengewebe. 70% aller Fälle wiesen dabei ein mittelgradig (++) oder stark erhöhtes (+++) Makrophagenvorkommen auf. 34 Fälle wurden der Kategorie (++) zugerechnet, 22 Fälle entfielen auf die Klasse (+++). 24 Fälle boten eine normale Zellzahl (+). In jedem der Fälle waren somit Makrophagen nachweisbar. In den meisten Fällen war zu erkennen, dass eine vermehrte Ausprägung der interstitiellen T-Lymphozyten und Leukozyten allgemein auch von einer Erhöhung der Makrophagen begleitet war. Demgegenüber fand sich in 10 Fällen aber auch eine Erhöhung der Makrophagendichte solitär ohne Nachweis anderer Marker. Eine verlässliche Korrelation zwischen Ausprägung der lymphozytären Infiltrate und Höhe der Makrophagenansammlung fand sich somit nicht. Auffällig war in fast allen Präparaten die vermeintliche Häufung von CD 68⁺ Makrophagen in den subpleuralen Abschnitten verglichen mit dem Gewebe der zentraleren Lungenabschnitte. Dies ist jedoch als Pseudoeffekt anzusehen, da im subpleuralen, atelektatischen Gewebe die Alveolarmakrophagen dichter beieinander liegen.

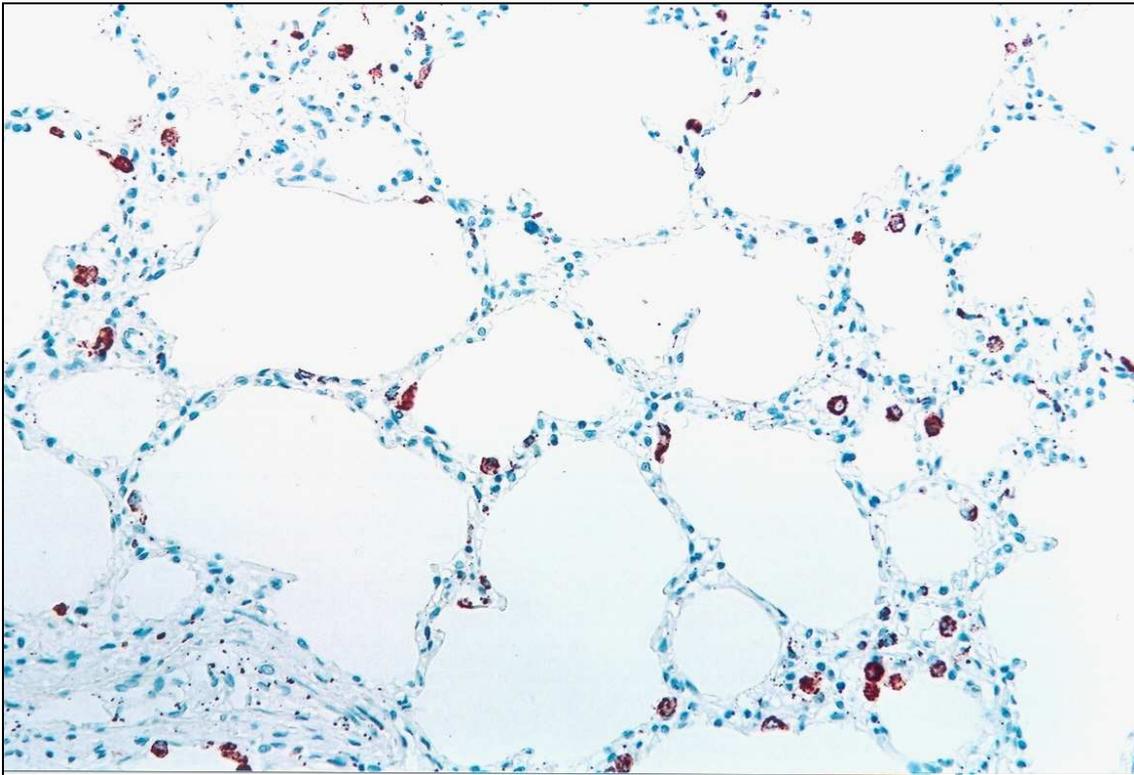


Abb. 16: Normalbefund für CD 68+ Makrophagen, x200

4.6. IgE

Für den Nachweis von menschlichem IgE wurden 24 Schnitte von 21 zufällig ausgewählten SIDS-Fällen immunhistochemisch gefärbt (Fälle 3, 5, 6, 9, 11, 12, 13, 19, 24, 27, 44, 50, 54, 62, 63, 64, 67, 68, 69, 73, 74, 80). In keinem der Fälle konnten IgE-positive Zellen nachgewiesen werden. Zur Veranschaulichung folgen 2 Abbildungen der Positivkontrollen.

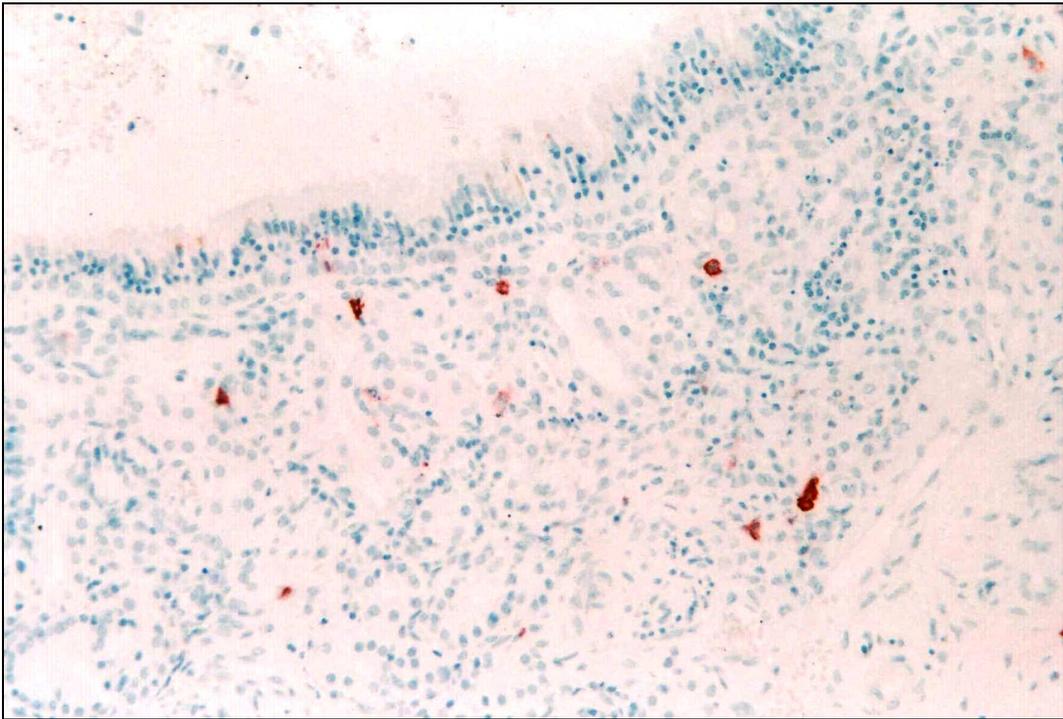


Abb. 17: Positivkontrolle für IgE in der Schleimhaut aus dem Sinus frontalis eines Erwachsenen, Vergrößerung x 200

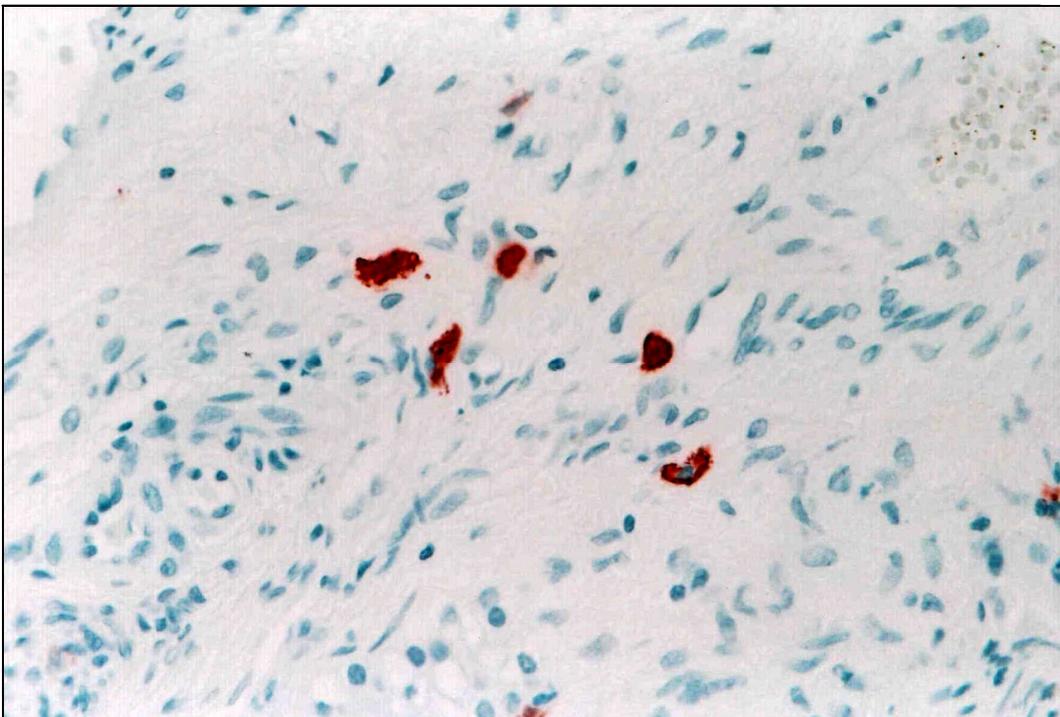


Abb 18: IgE-positive Zellen in einer der Positivkontrollen, Vergrößerung x 400

4.7. LCA-Leukozyten

Für diese Färbung konnten infolge technischer Schwierigkeiten nur 78 der 80 Fälle verwendet werden - von 2 Fällen war kein in Paraffin eingebettetes Originalmaterial mehr vorhanden, und die Nachschnitte eigneten sich aufgrund der langen Lagerungszeit im Formalin nicht mehr zu einer immunhistochemischen Analyse. Da dieser Marker alle kernhaltigen Zellen der hämatopoetischen Reihe anfärbt, ist die Interpretation der Zelldichte hier schwieriger als nachfolgend bei den T-Lymphozyten. Durch die Vielzahl der angefärbten Zelltypen wirkt das histologische Bild bei einer nur geringen Erhöhung jedes einzelnen Typs schnell kompakt und damit pathologisch. Im Rahmen der Einheitlichkeit bezeichnet die Kategorie (++) auch bei diesem Marker eine mäßige Erhöhung der Zelldichte. Dass sie aber in ihrer Bedeutung anders einzustufen ist als bei anderen Markern, wird in der Diskussion noch genauer erläutert werden. In der Auswertung wurden schließlich 19 Fälle der Kategorie (+) zugeordnet (24%), 31 (40%) der Kategorie (++) und 26 Fälle (33%) fielen in den Bereich (+++). Das Verteilungsmuster der Leukozyten in den Kategorien (++) und (+++) wurde zusätzlich nach „fokal“, „multifokal“ und „diffus“ unterschieden. In der Kategorie (++) ergab sich 19-mal eine fokale Zellanordnung, 3-mal eine Multifokalität und 7-mal eine diffuse Verteilung. In den 2 ergänzenden Fällen imponierte ein direkter Übergang vom Multifokalen ins Diffuse. Analog fand sich in der Klasse (+++) 5-mal eine fokale, 3-mal eine multifokale und 14-mal eine diffuse Verteilung. In 4 Fällen war der Übergang vom Multifokalen ins Diffuse hier ebenfalls deutlich.

Tab. 5: Aufschlüsselung des Verteilungsmusters in der LCA-Färbung

Klasse	Anzahl	fokal	multifokal	diffus	fließender Übergang
(+)	19				
(++)	31	19	3	7	2
(+++)	26	5	3	14	4

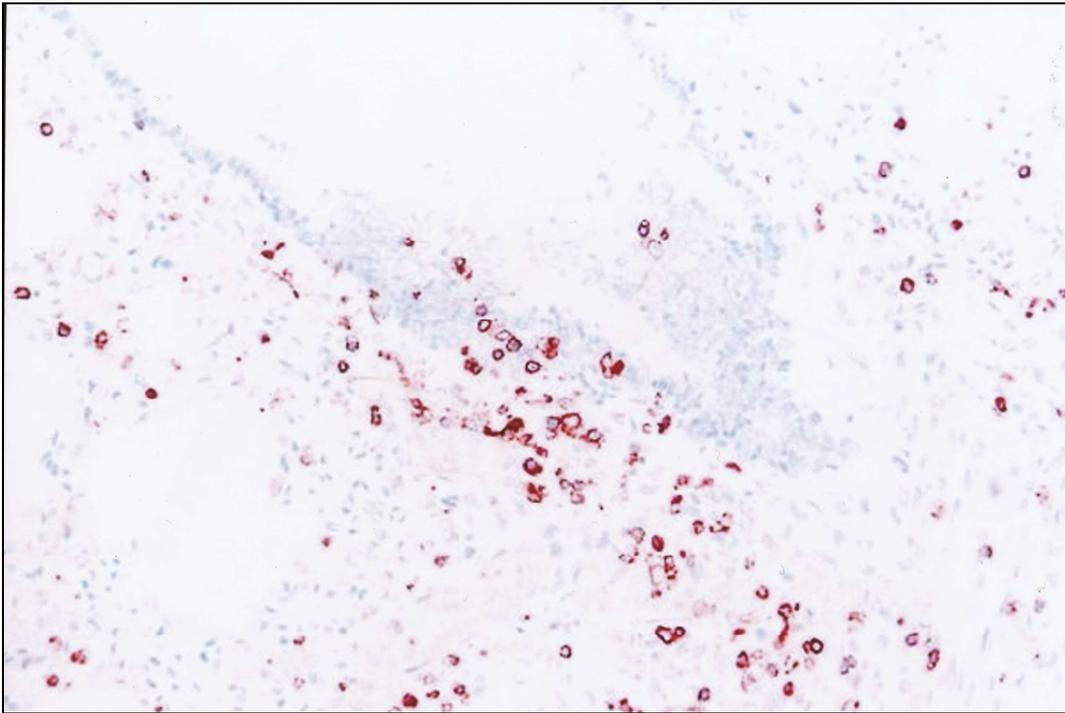


Abb. 19: Kleiner Fokus mit Leukozytenwanderung durch das Bronchialepithel (++)
Fall 45, LCA x200

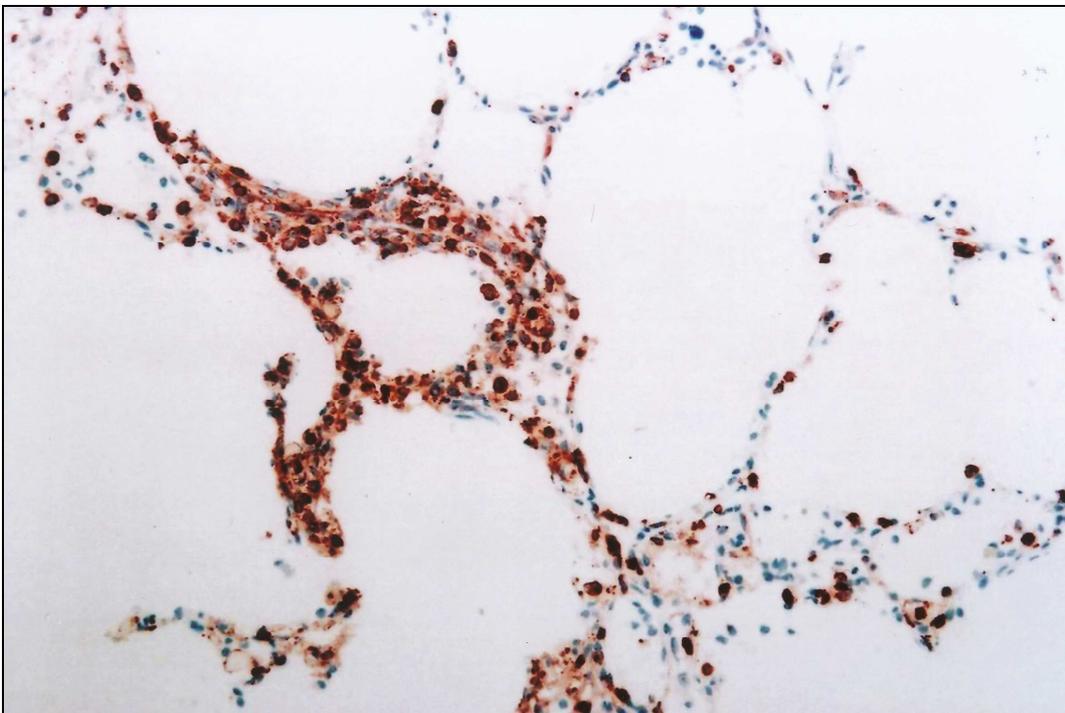


Abb. 20: Deutlicher interstitieller Fokus von LCA-positiven Zellen (+++). Fall 60,
LCA x200

4.8. CD 45 R0 T-Lymphozyten

Wie im vorhergehenden Abschnitt bereits beschrieben, bestand das Kollektiv für diese Untersuchung auch hier aus 78 Fällen, da sich das Material von 2 Kindern nicht mehr auf reproduzierbare Weise immunhistochemisch bearbeiten ließ. Die Auswertung der Färbung auf T-Lymphozyten ergab 4 Fälle ohne nachweisbare Lymphozyten (-) und 54 Fälle mit einer als normal einzustufenden Zelldichte (+). In 12 Fällen (15%) war die Zelldichte mittelgradig erhöht (++), und 8 Fälle (10%) wiesen ein stark bis sehr stark erhöhtes Vorkommen auf (+++). Wie beim LCA-Marker auch, wurde weiterhin das jeweilige Verteilungsmuster beurteilt. In der Klasse (++) gab es 4 Fälle mit fokalem Auftreten der Zellverdichtung, die übrigen 8 Fälle waren von multifokalen Infiltraten geprägt. In der Kategorie (+++) zeigten 2 Fälle ein fokales Muster, 4 eine multifokale, und 2 Fälle eine diffuse Verteilung. In einem der 4 multifokalen Fälle gab es im Randbereich eines Schnittes einen fließenden Übergang von „multifokal“ zu „diffus“. Eine exakte Einstufung war hier schwierig, wurde aber letztlich zugunsten des „Multifokalen“ gemacht, da kein weiterer Schnitt zur Verfügung stand, der das Anschlussgewebe zeigte.

Tab. 6: Verteilungsmuster in der CD45 R0 Färbung

Klasse	Anzahl	fokal	multifokal	diffus
(-)	4			
(+)	54			
(++)	12	4	8	
(+++)	8	2	4	2

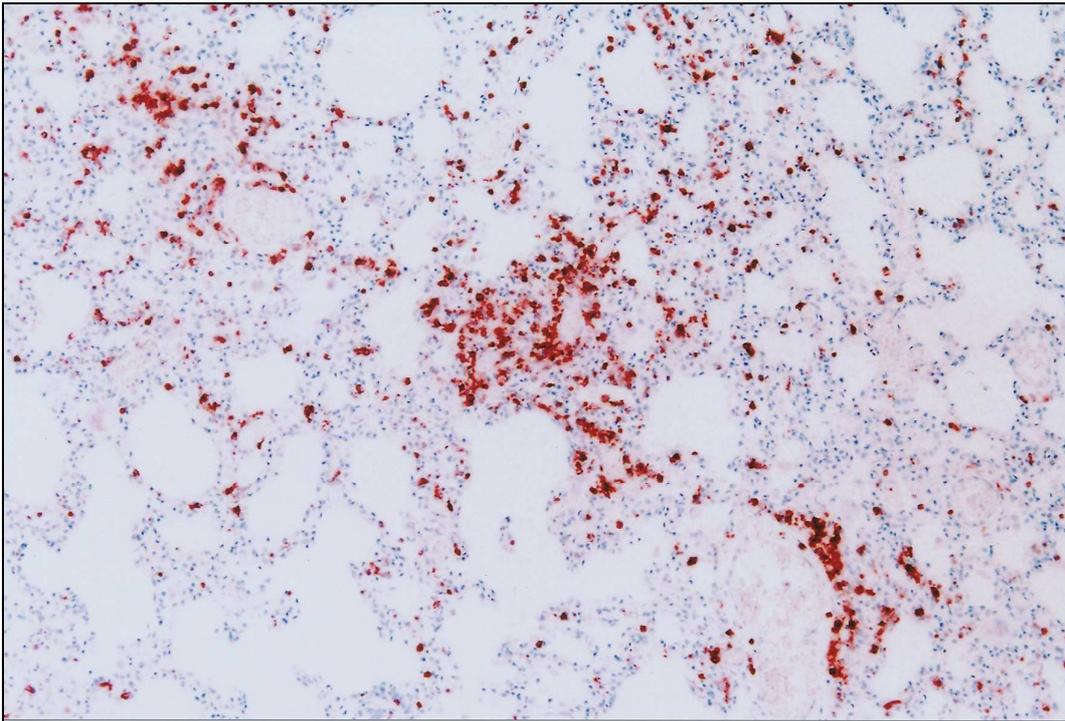


Abb. 21: Fokale lymphozytäre Pneumonie mit perifokalem Ödem (+++).
CD 45 R0 x200

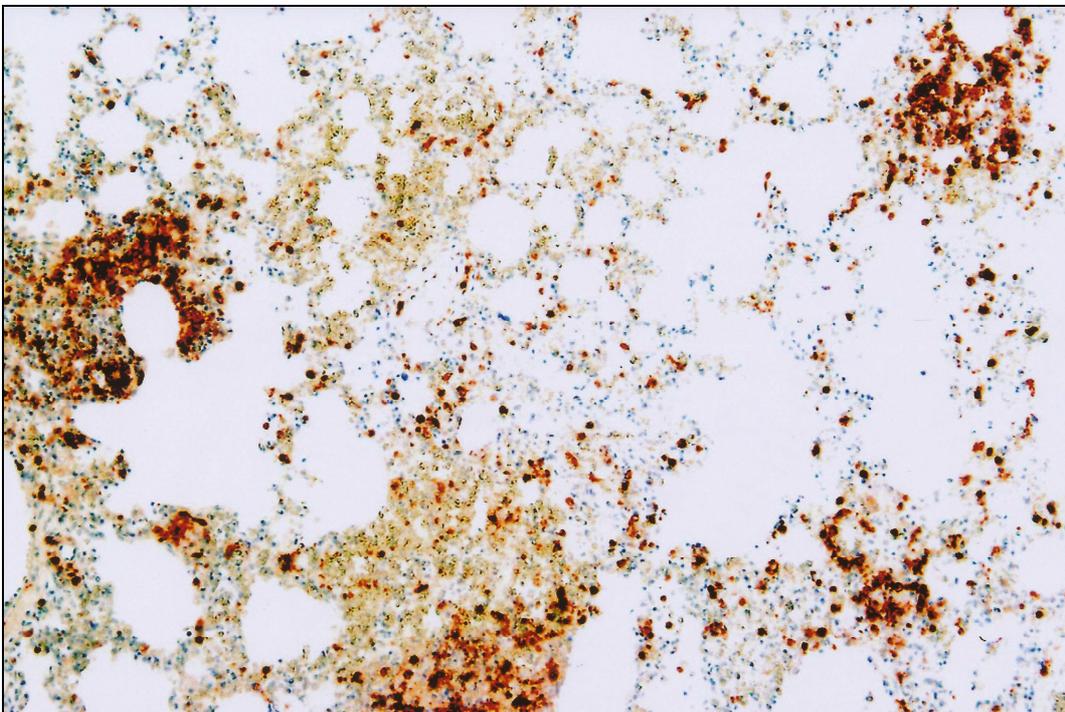


Abb. 22: Multifokale lymphozytäre interstitielle Pneumonie (+++). Fall 68,
CD 45 R0 x200

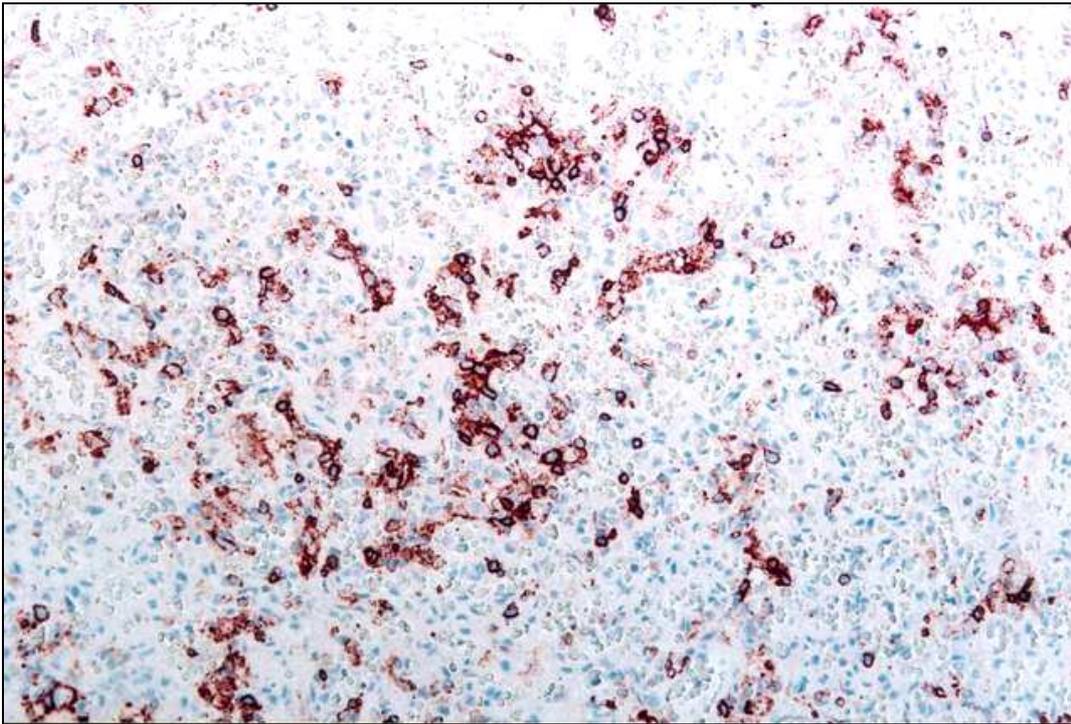


Abb. 23: Diffuse lymphozytäre Pneumonie. Fall 61, CD 45 R0 x200

4.9. BALT-Expression

Das BALT (bronchus associated lymphatic tissue) wurde noch einmal getrennt vom Vorkommen anderer Marker betrachtet. Hauptsächlich wurde dafür die CD 45 R0-Färbung verwendet, in Einzelfällen aber auch die HE-Färbung herangezogen. Dabei war zunächst von Interesse, ob das BALT überhaupt nachweisbar ist. In den Fällen mit einem deutlich erkennbaren BALT wurde ferner darauf geachtet, ob es gut demarkiert erscheint oder überschritten wird von Lymphozyten, die infolge eines Entzündungsprozesses ins Gewebe auswandern. Die Ergebnisse zeigten lediglich 11 Fälle (13,75%), in denen kein Bronchus assoziiertes lymphatisches Gewebe erkennbar war (Fälle Nr. 1, 8, 29, 30, 32, 39, 42, 45, 46, 47, 51). 6 Fälle waren aufgrund anderer Ursachen nicht zu beurteilen (7,5%). In 44 Fällen (55%) konnte das BALT deutlich erkannt werden, es war hier jeweils gut begrenzt (+). In 16 weiteren Fällen (20%) imponierte es deutlicher mit einer beginnenden Emigration von geringer Ausprägung (++). Die 3 verbleibenden Fälle (3,75%, Fälle Nr. 5, 12, 27) wiesen jeweils stark vergrößerte, knotige BALT-Zentren auf mit deutlicher Überschreitung der Grenzen.

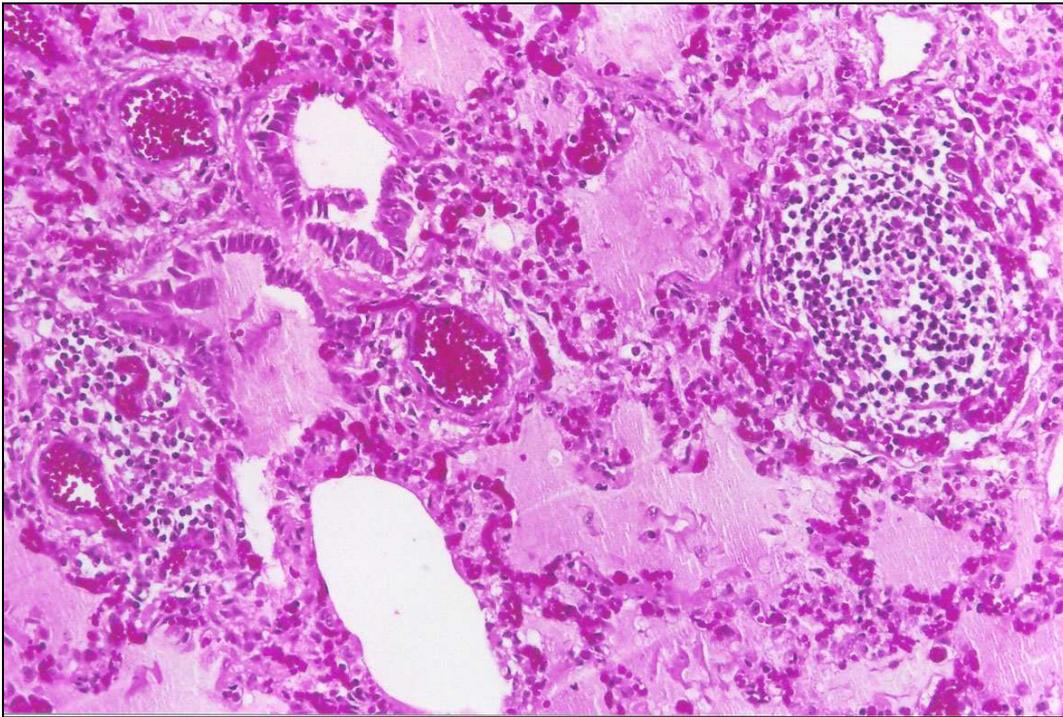


Abb. 24: Deutlich erkennbares, aber begrenztes BALT. Fall 31, HE x200

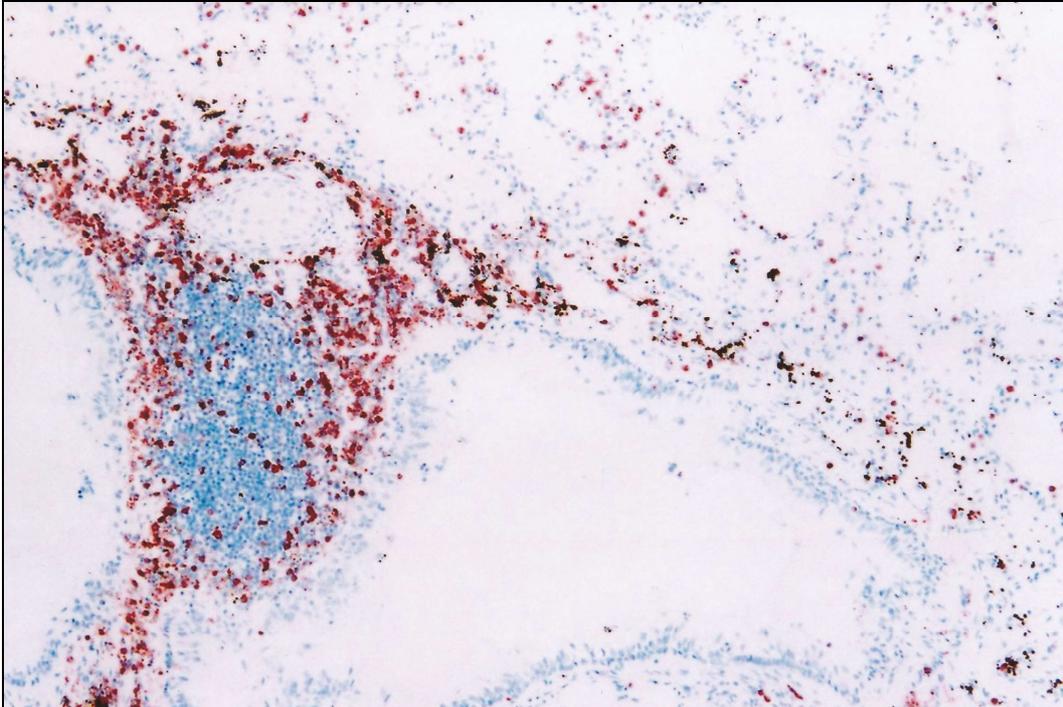


Abb. 25: Areal mit deutlichem BALT und einem Lymphozytenring, aus dem wenige Zellen ausgewandert sind. Fall 27, CD 45 R0 x100

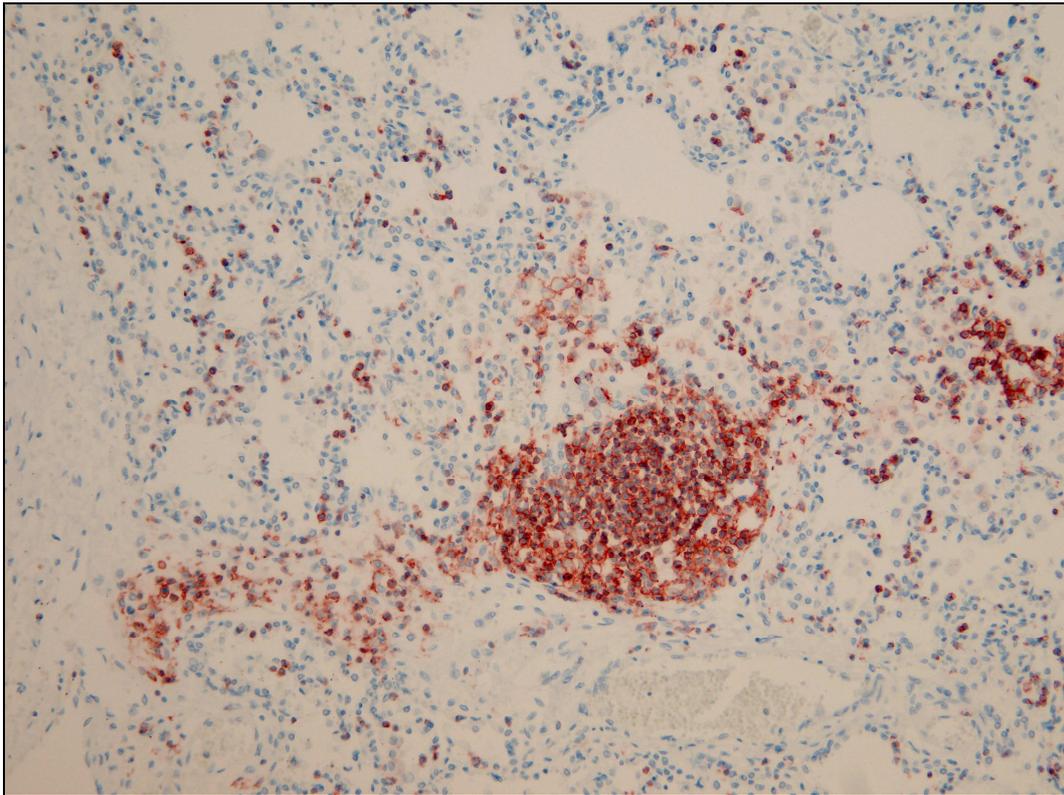


Abb. 26: BALT mit ausgewanderten Leukozyten. LCA x 200

4.10. E-Selektin

E-Selektin als frühzeitig auftretendes Zytokin innerhalb eines Abwehrprozesses stellt sich immunhistochemisch als feine Linie auf dem Inneren des Gefäßendothels dar. 44-mal war eine Expression vereinzelt aber deutlich erkennbar, so dass diese Fälle in die Klasse (+) eingestuft werden konnten. Eine ringförmige Darstellung in mehreren Gefäßen fand sich in 17 Fällen (++). Mit (+++) konnten 6 Fälle klassifiziert werden, denn sie wiesen die durchgehende und kräftige Expression in mehreren direkt benachbarten Gefäßen auf. In 9 Fällen war kein E-Selektin nachweisbar, und weitere 4 Fälle konnten aus technischen Gründen nicht ausgewertet werden. In einigen Fällen der Kategorien (++) und (+++) befanden sich die mit E-Selektin markierten Gefäße nur in der Nähe zu Bronchi, während im restlichen Interstitium kaum E-Selektin nachweisbar war. Das gleiche Phänomen gab es ebenfalls in Regionen rund um das Bronchus-assoziierte lymphatische Gewebe.

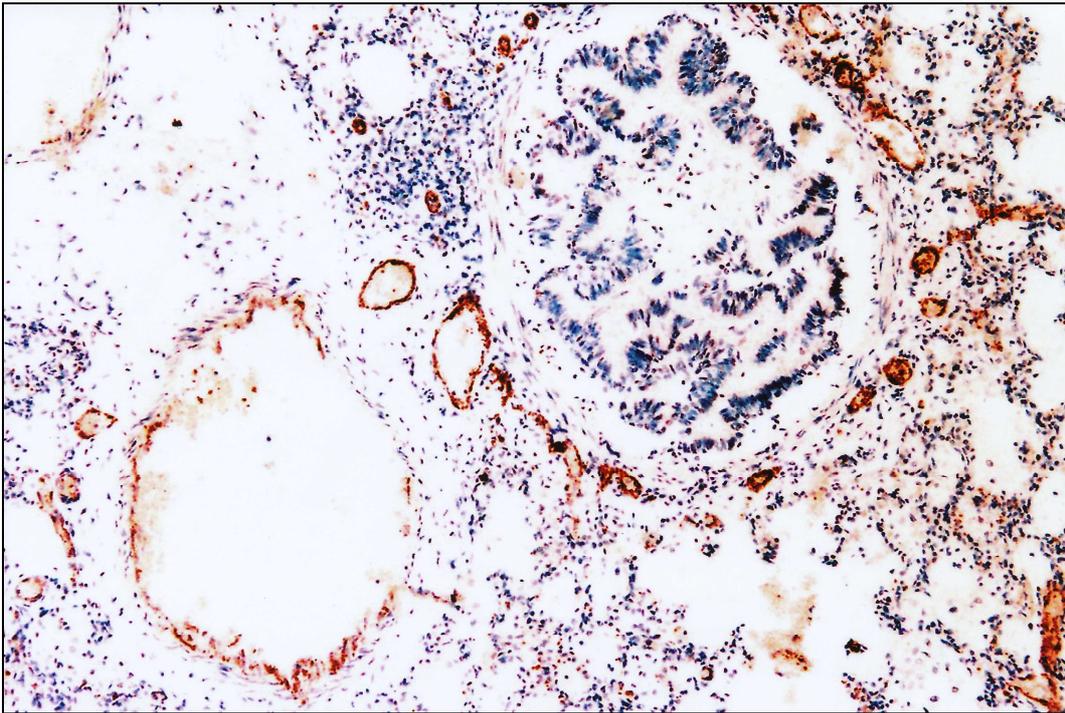


Abb. 27: Kräftige, ringförmige Expression von E-Selektin in benachbarten Gefäßen rings um einen Bronchus. Fall 33, E-Selektin x100

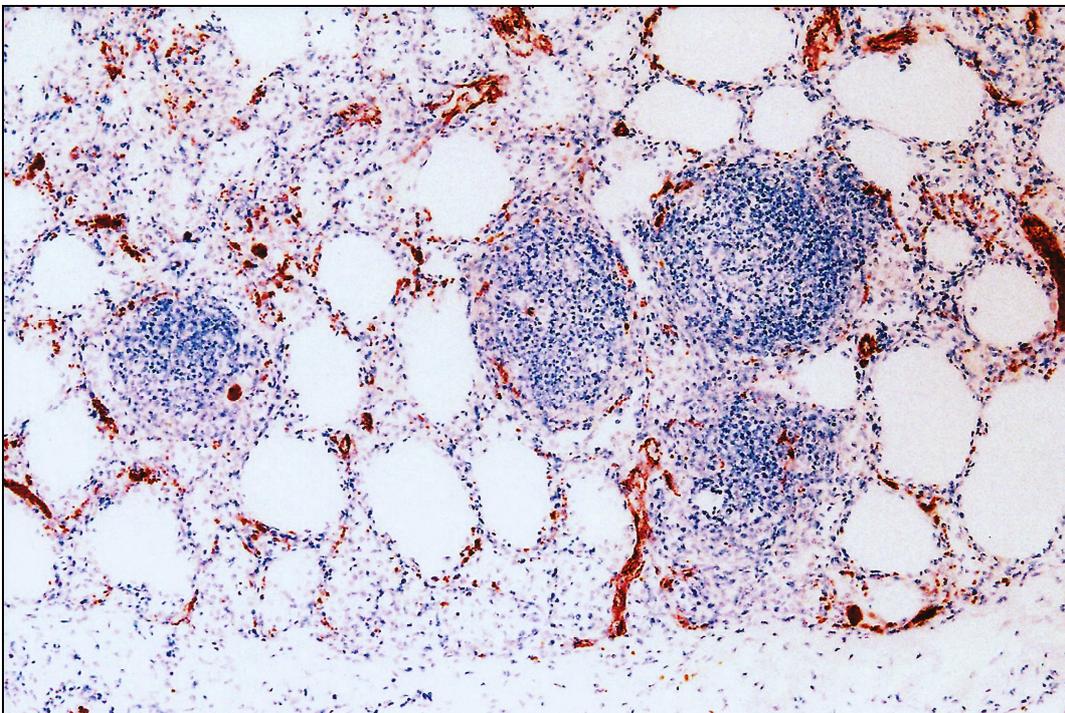


Abb. 28: Sehr kräftige E-Selektin-Expression in zahlreichen benachbarten Gefäßen rings um eine Gruppe von deutlich sichtbarem BALT. Fall 60, E-Selektin x100

Tabelle 7: Übersicht über die in CD 45 R0 pathologischen Fälle sowie die korrespondierende BALT- und E-Selektin-Expression

Fall-Nr.	S.-Nr.	CD 45 R0	BALT	E-Selektin
2	198/96	(++) multifokal	(+) deutlich	(+)
4	234/96	(++) fokal	(++) kräftig	(+/+++)
5	031/97	(++) fokal	(++) kräftig	(--)
12	067/98	(+++)	(+++)	(+)
13	124/98	(+++)	(+)	(++)
14	040/99	(++) fokal	(++) kräftig	(+)
21	024/00	(++) multifokal	(++) kräftig	(+)
24	085/00	(++) multifokal	(+) deutlich	(+)
28	252/00	(++) multifokal	(+) deutlich	(--)
30	014/01	(++) multifokal	(--)	(++)
38	299/01	(+++)	(++) kräftig	(+)
44	137/02	(+++)	(+)	(++)
46	166/02	(++) multifokal	(--)	(+)
59	237/03	(++) multifokal	(+) deutlich	(+)
60	245/03	(+++)	(++) kräftig	(+/+++)
61	261/03	(+++)	(++) kräftig	(+)
68	122/04	(+++)	(++) kräftig	(+++)
70	242/04	(++) fokal	(++) kräftig	(++)
75	180/05	(++) multifokal	(+) deutlich	(+++)
79	042/06	(+++)	(++) kräftig	(+++)

Tabelle 8: Korrelation zwischen E-Selektin und CD 45 R0 sowie LCA. E-Selektin der Kategorien (-) und (+) ist nur dann aufgeführt, wenn mindestens einer der beiden anderen Marker erhöht ist [CD 45 R0 (++) oder (+++), LCA (+++)].

Fall-Nr.	S.-Nr.	E-Selektin	CD 45 R0	LCA
27	243/00	(+++)	(+)	(++) fokal
60	245/03	(+++)	(+++)	(+++)
68	122/04	(+++)	(+++)	(+++)
73	070/05	(+++)	(+)	(+++)
75	180/05	(+++)	(++)	(+++)
79	042/06	(+++)	(+++)	(+++)
4	234/96	(++)	(++)	(+++)

Fall-Nr.	S.-Nr.	E-Selektin	CD 45 R0	LCA
13	124/98	(++)	(+++) diffus	(++) fokal
20	220/99	(++)	(+)	(+++) fokal --> diffus
29	013/01	(++)	(+)	(+++) diffus
30	014/01	(++)	(++) multifokal	(+++) multifokal
31	115/01	(++)	(+)	(++) fokal
32	162/01	(++)	(+)	(++) fokal
33	181/01	(++)	(+)	(+)
37	290/01	(++)	(+)	(++) fokal
44	137/02	(++)	(+++) multifokal -> diffus	(++) fokal
48	232/02	(++)	(-)	(++) fokal
49	268/02	(++)	(-)	(+++) fokal --> diffus
55	131/03	(++)	(+)	(+++) diffus
70	242/04	(++)	(++) fokal	(++) fokal
76	225/05	(++)	(+)	(++) diffus
77	276/05	(++)	(+)	(+)
78	025/06	(++)	(+)	(+)
5	031/97	(-)	(+++) fokal	(+)
10	174/97	(-)	(+)	(+++) fokal
11	246/97	(+)	(+)	(+++) multifokal
12	067/98	(+)	(+++) multifokal	(+++) fokal
14	040/99	(+)	(++) fokal	(+++) multifokal
18	172/99	(+)	(+)	(+++) fokal
21	024/00	(+)	(+++) multifokal	(+++) multifokal
24	085/00	(+)	(++) multifokal	(+++) diffus
25	188/00	(+)	(+)	(+++) diffus
28	252/00	(-)	(++) multifokal	(++) fokal
34	227/01	(+)	(+)	(+++) diffus
35	267/01	(+)	(+)	(+++) fokal --> diffus
38	299/01	(+)	(+++) fokal	(+++) diffus
46	166/02	(+)	(+++) multifokal	(++) fokal
50	276/02	(+)	(+)	(+++) diffus
51	312/02	(+)	(+)	(+++) diffus
54	099/03	(+)	(+)	(+++) diffus
56	144/03	(+)	(+)	(+++) fokal
59	237/03	(+)	(+++) multifokal	(+++) fokal
61	261/03	(+)	(+++) diffus	(+++) diffus

5. Diskussion

5.1. Material und Methoden

Auch wenn die Untersuchungen zu den Ursachen des Plötzlichen Kindstodes schon vor Jahrzehnten begonnen haben und inzwischen auf verschiedensten Ebenen nach den zugrunde liegenden Mechanismen gesucht wird, hat das Phänomen weiterhin Bestand. Dies mag teils daran liegen, dass der wissenschaftliche Fortschritt trotz aller Erfolge noch nicht weit genug gekommen ist, um mögliche Ursachen oder Faktoren zu detektieren und in einen Kontext zu bringen. Teils mangelte es aber auch über viele Jahre an einheitlichen Richtlinien, nach denen staatenübergreifend diagnostiziert und klassifiziert werden konnte. Dadurch kam es in der Folge zu Daten- und Materiallücken, die im Nachhinein nicht mehr zu ersetzen sind. Sie finden sich auch am vorliegenden Kollektiv. Es umfasst Material aus 11 Jahren, welches retrospektiv analysiert worden ist. Wie eingangs beschrieben, standen pro Fall zwischen 1 und 5 Lungenschnitten zur Verfügung. Diese Varianz in den verfügbaren Schnitten ist sicher ein Faktor, der die objektive Auswertung erschwert. Um wirklich vergleichbare und aussagekräftige Ergebnisse erhalten zu können, muss nach dem heutigen Wissensstand mindestens ein Querschnitt aus jedem Lungenlappen zur Verfügung stehen. Eher werden 2 Proben aus jedem Lappen empfohlen, eine davon peripher und eine zentral entnommen (BAJANOWSKI ET AL 2007). Auch die vorliegenden Ergebnisse bekräftigen diese Forderung. Interstitielle Infiltrate können sich fokal oder multifokal ansammeln, ohne dass die ganze Lunge betroffen sein muss. Und auch eine diffuse interstitielle Pneumonie kann lobär begrenzt, aber dennoch schwerwiegend sein. Steht gerade dieser betroffene Lappen nicht zur Verfügung, entgeht dem Untersucher der entscheidende pathologische Befund.

Eine weitere Grundvoraussetzung ist es, die entnommenen Gewebeproben zügig zu verarbeiten. Das beinhaltet eine schnellstmögliche Obduktion, mindestens aber binnen 48 Stunden nach Todeseintritt, um noch diagnostisch verwertbares Gewebe vorzufinden. Weiter sollte ausreichend zusätzliches Material entnommen, und nach der erforderlichen Zeit in der Fixationslösung sofort in Paraffin eingebettet werden, um spätere Untersuchungen zu ermöglichen. Ursprünglich enthielt das Kollektiv 104 Kinder mit der Diagnose SIDS. Es mussten jedoch 24 Fälle herausgenommen werden, bei denen keine der immunhistochemischen Untersuchungen mehr möglich war infolge zu langer Lagerung des Materials im Formalin. Gemäß den Vorgaben im *International*

Standardised Autopsy Protocol (ISAP) sollten weiterhin jeweils 2 Proben aus dem Lungenparenchym und der Region um die Trachealbifurkation bei $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ konserviert werden. Dieses Material stünde dann für spätere Untersuchungen wie Immunhistochemie, PCR oder genetische Testungen zur Verfügung, ohne dass Gewebe zwischenzeitlich beschädigt worden ist. Im Umgang mit der Immunhistochemie wurde schnell deutlich, dass dies ein einfach anzuwendendes Verfahren ist. Bisher kommt im Obduktionsalltag standardmäßig nur die HE-Färbung zum Einsatz, sie wird auch weiterhin als Routinefärbung empfohlen. Diese lässt aber beispielsweise bei einer mittelgradigen Infiltration des Lungeninterstitiums keine definitive Differenzierung zwischen einzelnen Zelltypen zu. Durch die Anwendung der zell- oder zellreihenspezifischen Marker in der Immunhistochemie sind eine eindeutige Identifikation und folglich eine optimale Auswertung jedoch möglich. Dies hat vor allem dann Bedeutung, wenn es um die differenzierte Betrachtung einzelner Strukturen geht. Verhilft dies zu einer Diagnose, rechtfertigt das Ergebnis sicher den höheren zeitlichen Aufwand und die zusätzlichen Kosten. Es bleibt also zu empfehlen, die Immunhistochemie mit ausgewählten Markern mindestens bei Verdachtsfällen unterstützend heranzuziehen.

Das gewählte semiquantitative Auswertungsverfahren ist definitionsgemäß nicht dazu geeignet, konkrete Werte für die einzelnen Kategorien anzugeben. Dazu müsste rein quantitativ mit der Zellzählung pro Gesichtsfeld gearbeitet werden. Wenn man sich aber, wie in der vorliegenden Arbeit, an der normalen Lungenhistologie als Referenz orientiert, sind die Ergebnisse dennoch aussagekräftig und für wissenschaftliche Untersuchungen brauchbar. Die Beurteilung und Eingruppierung wurde von zwei unabhängig arbeitenden Untersuchern vorgenommen. Im anschließenden Vergleich der Ergebnisse konnte in wenigen Fällen eine „Interobserver Variability“ beobachtet werden. Dieses Faktum ist bei der semiquantitativen Auswertung nicht zu verhindern, denn subjektive Eindrücke fließen vor allem in Abhängigkeit von persönlicher Erfahrung stets mit in die Bewertung ein. Besonders im Hinblick auf die Beurteilung der einzelnen Verteilungsmuster ist die semiquantitative Methode jedoch optimal geeignet. Die Zählung pro Gesichtsfeld mit anschließender Mittelung der Werte würde insbesondere bei fokalen oder multifokalen interstitiellen Pneumonien die tatsächlich vorliegende Pathologie falsch wiedergeben.

5.2. CD 68⁺ Makrophagen

Dieser Marker wurde am Lungengewebe angewendet, um zum einen die generelle Ausprägung der Makrophagendichte aufzuzeigen. Zum anderen sollte eine mögliche Korrelation zwischen dem Vorkommen leuko- und lymphozytärer interstitieller Infiltrate und CD 68⁺ Makrophagen untersucht werden. Damit sollte auch die Frage beantwortet werden, ob anhand des Makrophagenvorkommens auf die Schwere der Infiltrate geschlossen werden kann. Die Auswertung ergab schließlich eine deutliche Erhöhung der Makrophagendichte in 70% der Fälle. Dabei fand sich in 34 Fällen eine Erhöhung mittleren Grades (++) , 22 Fälle wiesen eine starke Erhöhung auf, die mit (+++) gekennzeichnet wurde. Alle restlichen Fälle zeigten eine als normal anzusehende Verteilung CD 68-positiver Makrophagen. 1994 beschrieb AOKI die Erhöhung der Dichte an Makrophagen als einen typischen Lungenbefund bei SIDS-Fällen. GRANDMAISON konnte 1999 in einem kleinen Kollektiv ebenfalls die Beobachtung machen, dass in Fällen von Plötzlichem Kindstod die Makrophagendichte gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht ist. Als mögliche Ursachen dafür sind bisher Infektionen, vorangegangene wiederholte Aspirationen oder dauerhaftes Passivrauchen genannt worden. VALDES-DAPENA (1993) hingegen ist zu der Ansicht gekommen, dass Säuglinge prinzipiell eine dickere Alveolarwand und eine höhere Zelldichte im Interstitium als Erwachsene aufweisen, und somit eine erhöhte Makrophagendichte keinen pathologischen Befund darstellt. Demgegenüber notierten DELANEY ET AL (2000) bei Makrophagenzählungen eine geringere Anzahl innerhalb der SIDS-Gruppe als bei den Kontrollen, allerdings mit nur marginal statistischer Signifikanz. Die stärkere Ansammlung von Makrophagen speziell in subpleuralen Abschnitten wurde auch von ENTRUP UND BRINKMANN (1990) beobachtet. Sie rechneten dieses Phänomen nicht zu den entzündungstypischen Lungenveränderungen. Da es sich in nahezu allen Fällen des vorliegenden Kollektivs finden ließ, ist davon auszugehen, dass es sich tatsächlich um eine unspezifische Anordnung handelt. Es sei zusätzlich darauf hingewiesen, dass der hier verwendete Marker für CD 68⁺ Makrophagen keine Aussage hinsichtlich der Aktivität der Zellen zu machen vermag. Im Lungengewebe befinden sich regulär zwei Typen ortständiger Makrophagen. Die Alveolarmakrophagen befinden sich in den Alveolarwänden, während die Histozyten zunächst inaktiv im lockeren interstitiellen Bindegewebe sitzen (JUNQUEIRA 1996). Letztere können sich unter dem Einfluss von Entzündungsreizen in aktive Gewebemakrophagen umwandeln. Zusätzlich können auch aktivierte Monozyten als sogenannte Exsudatmakrophagen aus dem Blut

ins Gewebe einwandern. Würde man also aktivierte Makrophagen in größerer Dichte nachweisen, wäre dies ein indirekter Beweis für das Vorliegen einer lokalen Entzündungsreaktion. Hierbei ist allerdings auch die Dauer und das Stadium einer Entzündung in Betrachtung zu ziehen, denn nicht in allen Phasen sind die Zellen in gleicher Zahl vorhanden. OGBUIHI UND ZINK haben 1989 Untersuchungen hinsichtlich der Aktivität suspekter Zellansammlungen im Interstitium durchgeführt, diese aber nicht als aktivierte Makrophagen identifizieren können. In Anbetracht der gewonnenen Ergebnisse aus dem vorliegenden Kollektiv kann zusammenfassend konstatiert werden, dass die immunhistochemische Markierung CD 68-positiver Makrophagen nicht dazu geeignet ist, eine prädiktive Aussage hinsichtlich der Schwere eines interstitiellen Infiltrates mit Leukozyten oder Lymphozyten zu machen.

5.3. IgE

Unter den zahlreichen Annahmen hinsichtlich der Ursachen des Plötzlichen Kindstodes findet sich auch die Hypothese eines überschießenden allergischen Geschehens in der Lunge. Dabei wurde vermutet, dass es entweder direkt über Hypoxie und Asphyxie zum Tode kommt, oder aber über toxische Zellschädigung durch Produkte aus eosinophilen Granulozyten. HOWAT konnte 1994 aufzeigen, dass sich im Lungengewebe von SIDS-Opfern dreimal mehr Eosinophile nachweisen ließen als in der Kontrollgruppe. In der Folge wurde vermutet, dass diese Eosinophilie IgE-vermittelt sei. Dies konnte allerdings in der Studie von BAXENDINE (1995) nicht bestätigt werden. Auch frühere Erkenntnisse von TURNER (1975), der über eine spezifische IgE-Antikörper-Erhöhung nach der Exposition gegenüber Hausstaubmilbe, *Aspergillus fumigatus* und β -Lactoglobulin berichtet hatte, waren in den Studien von CLARK ET AL (1979) sowie MIRCHANDINI (1984) nicht reproduzierbar. Etwa zur gleichen Zeit hatte BAUER (1978) direkte Immunfluoreszenzuntersuchungen zum Vorkommen von IgE in den Lungen von SIDS-Fällen durchgeführt, ohne jedoch ein signifikantes Ergebnis zu erhalten. Die Untersuchungen zum Nachweis von IgE in den Lungen des vorliegenden SIDS-Kollektivs wurden dennoch durchgeführt, da es insgesamt an den Bonner Fällen bisher keine ausführlichen Untersuchungen gegeben hatte. In Erwartung eines negativen Ergebnisses wurde nur eine zufällige Auswahl von Schnitten auf das Paraprotein gefärbt. Damit, dass sich in keinem einzigen Fall IgE nachweisen ließ, schließt sich das Bonner Kollektiv den Beobachtungen der vorgenannten Autoren an. Eine IgE-vermittelte Ursache für den Plötzlichen Kindstod scheint damit weiterhin sehr

unwahrscheinlich. Die Hypothese einer möglichen Beteiligung der Eosinophilen am Geschehen bleibt damit aber weiterhin unberührt. ROCHE konnte 1992 in den Lungen eines SIDS-Kollektivs eine wesentlich höhere Anzahl an Eosinophilen nachweisen als im Gewebe der Kontrollgruppe. Er hält es für möglich, dass sie zur Entstehung des Lungenödems beitragen, indem sie zytotoxische Stoffe wie freie Sauerstoffradikale und kationisches Protein sezernieren.

5.4. LCA⁺ Leukozyten

Wie bereits im Ergebnisteil angesprochen wurde, verhält sich die mikroskopische Auswertung der mit LCA markierten Leukozyten etwas anders als die der übrigen Marker. Lymphozyten, Leukozyten, Monozyten und Makrophagen werden gemeinsam vom Antikörper gegen das auf ihnen exprimierte LCA angefärbt. Bei nur einem leicht erhöhten Vorkommen jedes einzelnen Zelltyps lässt die Vielzahl dieser Zellen schnell ein sehr buntes und kompakt wirkendes Bild entstehen, das den Eindruck eines pathologischen Zustandes vermittelt. De facto muss man aber sagen, dass eine mäßige Erhöhung der Zelldichte (++) bei diesem Marker äußerst differenziert gesehen werden muss und nicht per se als krankhaft gewertet werden kann. Kinder im Alter des vorliegenden Kollektivs erkranken häufig an Atemwegsinfektionen. Der erste Schritt der Abwehr wird stets vom unspezifischen Teil des Immunsystems übernommen. Solange ein Kind im Säuglingsalter noch nicht über eine kompetente spezifische Abwehr verfügt, ist die unspezifische Abwehr besonders gefordert. So ist es also nicht verwunderlich, wenn sich in der Färbung auf LCA-tragende Leukozyten in vielen Fällen eine erhöhte Zelldichte nachweisen lässt. Sie ist hier eher nur als Indikator eines aktivierten Immunsystems, beispielsweise durch einen banalen Infekt, zu werten.

Eine Bedeutung hinsichtlich interstitieller Pneumonien erhält ein mäßig erhöhter LCA-Marker (++) nur dann, wenn in den entsprechenden Schnitten desselben Falles auch vermehrt CD 45 R0-positive T-Lymphozyten vorliegen. Sie deuten auf eine Infektion viralen Ursprungs hin. Dabei muss die Verteilung der T-Lymphozyten nicht der Stärke und dem Muster der Leukozyten gleichen, weshalb anhand der LCA-positiven Zellen nicht auf die Ausprägung des lymphozytären Infiltrates geschlossen werden kann. Die LCA-Erhöpfung generell sollte in solchen Fällen nur als Begleitreaktion bzw. Folge der Lymphozytenerhöhung gewertet werden.

Der Stellenwert einer solitären LCA-Erhöpfung der Kategorie (+++) bleibt ebenfalls strittig. Eigentlich dürfte sie aufgrund der stark erhöhten Zellzahl ohne ein gleichzeitig auffälliges

CD 45 R0 nur auf eine bakteriell verursachte Pneumonie hinweisen. Das Besondere am vorliegenden Kollektiv war allerdings, dass nur in einem einzigen Fall dieser Konstellation (Fall 34) eine eitrige Bronchitis nachgewiesen werden konnte. In allen anderen Fällen fanden sich keine intraalveolären Zellansammlungen, die auf ein bakterielles Geschehen hingedeutet hätten. Die mit LCA markierten Zellen befanden sich hierbei alle im Interstitium. 26 Fälle des Kollektivs wurden der Gruppe (+++) zugerechnet, wobei der Großteil eine diffuse Verteilung zeigte (14 Fälle). Es ist allerdings auch denkbar, dass die erhöhte Leukozytendichte nicht auf einer Infektion beruht, sondern durch einen bisher unbekanntem Mechanismus zustande kommt und damit Ausdruck eines abnorm funktionierenden Immunsystems ist.

5.5. CD 45 R0⁺ T-Lymphozyten

Akute interstitielle Pneumonien werden größtenteils von Viren verursacht und sind histologisch geprägt von einer lymphomonozytären Infiltration des Interstitiums. Diese Infiltrate wurden bereits mehrfach in unterschiedlich starker Ausprägung in SIDS-Kollektiven beobachtet (BERG UND KIJEWski 1978, ENTRUP UND BRINKMANN 1990, HOWAT 1994, LIGNITZ UND HIRVONEN 1989). Auch konnten Adenoviren und einige RNA-Viren direkt in Lungenproben nachgewiesen werden (BAJANOWSKI ET AL 1996; 2003). Interstitielle Pneumonien entstehen meist infolge einer Bronchitis oder Bronchiolitis, indem der Erreger in das tiefer gelegene Lungenparenchym deszendiert und dort eine entsprechende Abwehrreaktion auslöst. Eine wichtige Komponente dieser Immunantwort sind die IL-2 abhängigen T-Lymphozyten, die mit dem Marker CD 45 R0 immunhistochemisch dargestellt werden können. In der Diagnostik einer interstitiellen Pneumonie ist dieser Marker damit sicherlich der Aussagekräftigste von all denen, die an diesem Kollektiv verwendet wurden. IL-2 wird zusammen mit anderen Zytokinen infolge von Infektionsreizen durch die T-Helferzellen selbst gebildet und fungiert über einen positiven Rückkopplungsmechanismus als direkter Stimulator für die eigene Proliferation. Setzt man diesen Reaktionsablauf auch im vorliegenden Kollektiv voraus, spräche eine erhöhte T-Zell-Dichte für das Vorliegen eines akuten viralen Infektionsgeschehens. Geht man weiter davon aus, dass sich mit einer größeren sezernierten Zytokinmenge auch die Zellzahl proportional erhöht, würde dies einen Schluss auf die Schwere der Infektion zulassen. SGRIGNOLI ET AL konnten 1994 lymphozytäre interstitielle Infiltrate bei totgeborenen oder kurz nach der Geburt verstorbenen Feten bzw. Säuglingen nachweisen, die an einer intrauterinen Infektion gelitten hatten. Dabei war

die Intensität der Infiltrate signifikant positiv korreliert mit der Schwere der vorangegangenen Infektion. HOWAT ET AL (1997) hingegen sprechen sich für eine abnorme Entzündungsreaktion als Ursache des erhöhten T-Lymphozytenvorkommens aus. Er unterstützt die Hypothese einer überschießenden Entzündungsreaktion infolge einer von T-Lymphozyten vermittelten, fehlgesteuerten Interleukinproduktion.

16 Fälle dieses Kollektivs, die mit (++) oder (+++) klassifiziert wurden, wiesen die vermehrten Lymphozyteninfiltrate entweder multifokal oder diffus auf. Eine der interessantesten Fragen ist nun sicherlich, inwiefern diese pneumonischen Herde am jeweiligen Plötzlichen Kindstod mitgewirkt haben können. Es existiert bis dato keine Untersuchungsmethode, die zu entscheiden vermag, wann eine Organ- oder Gewebeschädigung schwerwiegend genug ist, um den Tod verursachen zu können.

Einzelne Foci können lokal zum Ödem oder zur Minderbelüftung mit unter Umständen nachgeschalteter Atelektasenbildung führen, sowie möglicherweise zu Diffusionsstörungen. Alle genannten Umstände können in einem normal funktionierenden Organismus vom restlichen Lungengewebe und einem intakten Immunsystem kompensiert werden. Bei einer multifokalen Ausprägung ist definitionsgemäß mehr Lungengewebe von den vorgenannten Mechanismen betroffen, allerdings weiterhin punktuell. Trotz restlich verbleibender Unsicherheit ist hier die Wahrscheinlichkeit höher, dass die geschädigten Lungenareale allein ausreichend sind, um den Tod zu verursachen. ESSBACH (1961) untersuchte ein Kollektiv von an interstitiellen Pneumonien verstorbenen Säuglingen. Er konnte beobachten, dass es neben den häufiger auftretenden Fällen mit diffusen Infiltrationen auch gelegentlich einige Kinder gab, bei denen die interstitiellen Infiltrate entweder klein- oder großherdig fokal vorhanden waren, oder sogar ein multifokal miliare Verteilungsmuster zeigten. Mit diesen Befunden stützt er die These, dass auch kleinere Veränderungen zum Tode führen könnten. Im Fall einer diffus lymphomonozytären Infiltration aber sind sicher folgende Mechanismen denkbar, die letztlich todesursächlich sein können:

- Eine Möglichkeit wäre die lokale Zellschädigung, die für sich allein oder in Kombination mit einem Lungenödem zur Ateminsuffizienz führen kann. Die folgende ödembedingt verstärkte Rechtsherzbelastung könnte dann zum Herzversagen führen.
- Zweitens ist eine virusbedingte intensive Zellschädigung möglich, bei der auch Viruszerfallsprodukte entstehen. Die Konsequenz dessen könnte ein toxisches Herzkreislaufversagen sein.

- Als dritte Variante ist denkbar, dass die Pneumonie als Streuherd fungiert und es zu einer kurzen Virämiephase kommt. An dieser Stelle muss jedoch kritisch angemerkt werden, dass alle Kinder des Kollektivs zum Zeitpunkt des Todes vermeintlich gesund gewesen sind. Sie haben also per definitionem keine typischen Symptome beispielsweise einer Sepsis oder einer manifesten Pneumonie aufgewiesen.
- Es besteht außerdem die Möglichkeit, dass die in der Lunge befindlichen Viren kardiotrop sind und auf hämatogenem Weg zum Herzen gelangen. Dort könnten sie durch Befall des Reizleitungssystems zu gravierenden Herzrhythmusstörungen mit letalem Ausgang führen. BAASNER ET AL (2003) fanden mittels PCR in Herzmuskelproben eines SIDS-Kollektivs Enteroviren sowie Parvovirus B19. Mit der gleichen Methode konnten DETTMAYER ET AL (2004) in ihren Untersuchungen zur virusbedingten Herzmuskelentzündung beim Plötzlichen Kindstod u. a. Adenoviren im Myokard einiger Kinder nachweisen, die als Erreger kindlicher Pneumonien bekannt sind und von BAJANOWSKI (1996) bereits früher auch im Lungengewebe nachgewiesen wurden. 2008 fanden DETTMAYER ET AL Cytomegalieviren gleichfalls im Myokard und in der Lunge.

Von Myokarditiden ist immerhin bekannt, dass sie lange Zeit stumm verlaufen können. Eine Beeinträchtigung des körperlichen Allgemeinzustandes des Kindes muss also nicht zwingend auftreten. Es bleibt aber weiterhin die Frage offen, wie es dazu kommt, dass ein Kind mit einer histologisch manifesten Pneumonie keine entsprechenden Symptome zeigt. Hier könnten beispielsweise die Hypothesen anderer Autoren ansetzen, die von einem genetisch begründeten Defekt des Immunsystems, beispielsweise in der Interleukinregulation, ausgehen. Bisher deuten die Untersuchungen eher darauf hin, dass die proinflammatorische Seite einer Abwehrreaktion überwiegt. VEGE ET AL (1995) fanden erhöhte IL-6-Spiegel im Liquor von SIDS-Opfern. IL-6 wirkt als endogenes Pyrogen und verursacht demzufolge Fieber. In den SIDS-Fällen, in denen die Kinder beim Auffinden eine deutlich erhöhte Temperatur aufgewiesen haben, könnte solch ein Mechanismus ursächlich gewesen sein. VEGE ET AL (2004) vermuten weiterhin, dass möglicherweise ein Polymorphismus im IL-10 Gen zusätzlich eine verminderte Produktion dieses antiinflammatorischen Zytokins bewirkt. Eine genetische Ursache halten auch GORDON ET AL (2002b) für möglich. Sie fanden im Blut von SIDS-Eltern eine höhere IL-1-Antwort auf Staphylokokkentoxine als bei den Kontrollen. IL-1 wirkt wie IL-6 proinflammatorisch. Doch auch wenn diese Ergebnisse eher dafür sprechen, dass bei SIDS-Opfern das proinflammatorische

System überwog, macht dies keine Aussage darüber, ob die Zielmechanismen tatsächlich wie in einem normalen Organismus reagiert haben. Es wäre ebenfalls möglich, dass das Immunsystem nur insuffizient auf die Zytokinstimulation antworten konnte, womit dann z.B. Fieber als Symptom hätte fehlen können.

Doch noch einmal zurück zu den möglichen Auswirkungen ausgeprägter lymphomonozytärer Infiltrate. Bisher haben nur wenige Autoren einen deutlichen histologischen Pneumoniefund als möglicherweise todesursächlich anerkannt, und das Thema wird weiterhin kontrovers diskutiert. ESSBACH (1961) beschreibt in der bereits weiter oben erwähnten Monographie die Kennzeichen einer interstitiellen Pneumonie unter Säuglingen, und hegt auch bei fokalen oder multifokalen Befunden keinen Zweifel an ihrer Todesursächlichkeit. Bei der Einordnung dieser Aussage muss man jedoch berücksichtigen, dass die von ihm untersuchten Kinder vermutlich vor dem Tod tatsächlich symptomatisch erkrankt waren. LIGNITZ UND HIRVONEN (1989) fanden in ihrem SIDS-Kollektiv von insgesamt 200 Fällen 46 Fälle mit ausgeprägter interstitieller Pneumonie, die nach ihrer Ansicht jeweils den Tod verursacht haben soll. Weitere 31 Fälle stufen sie aufgrund einer milderer Ausprägung der interstitiellen Infiltrate als „borderline cases“ ein. ENTRUP UND BRINKMANN untersuchten 1990 sowohl das lymphatische Gewebe als auch die Lungen des jeweils selben SIDS-Kollektivs. Die Befunde der lymphatischen Organe zeigten in größerem Umfang als in der Kontrollgruppe Zeichen eines akuten Infektionsgeschehens. Sie deuteten dies zumindest als Hinweis darauf, dass die nachgewiesene Pneumonie einen deutlichen Einfluss auf den Gesamtorganismus gehabt haben muss. Dass sie zum Tode geführt haben kann, halten sie grundsätzlich nicht für unmöglich, behalten sich aber vor, dies als Ausschlussdiagnose zu betiteln. Dem gegenüber schlussfolgerten KROUS ET AL (2003) anhand ihrer retrospektiven Analyse, dass mikroskopisch nachweisbare lymphozytäre Infiltrate nicht ausreichen, um todesursächlich zu sein. Allerdings bezogen sie sich in der Studie nur auf die oberen Atemwege und schlossen den unteren Respirationstrakt aus ihren Untersuchungen aus.

Dass einheitliche Kriterien zur Einordnung autoptischer Befunde lange Zeit fehlten, wird anhand der vorbeschriebenen Diskussion deutlich. Jetzt befindet sich die Forschung um den Plötzlichen Kindstod in einer Phase, die in den kommenden Jahren durch zunehmende internationale Zusammenarbeit zu einer wesentlichen Verbesserung der Koordination führen kann. Kapitel 1.6. beschäftigte sich bereits gesondert mit den neuerlich verfügbaren Empfehlungen zur Diagnostik.

5.6. BALT

Bereits im Jahr 1867 beschrieb Burdon-Sanderson das Gewebe, dessen Anatomie Klein 1875 erstmals zeichnerisch darstellte, und das viel später als *lymphoreticular aggregates* oder *bronchus-associated lymphatic tissue* (BALT) bezeichnet werden sollte (BIENENSTOCK 1984). Da das BALT nicht über einen nodalen Aufbau, periphere Sinus und ein zentrales Blutgefäß verfügt, unterscheidet es sich in seiner anatomischen Struktur deutlich von Lymphknoten. Es ist vielmehr charakterisiert durch ein retikuläres Gerüst, in dem hauptsächlich Lymphozyten und wenige Eosinophile, Makrophagen und Plasmazellen locker angesiedelt sind. Es ist häufig von Kapillaren durchzogen und verfügt über keine afferenten Lymphgefäße. Jedes Aggregat ist jedoch ans vegetative Nervensystem angeschlossen. BALT kommt als einzige lymphatische Struktur der Lunge nicht nur im Bindegewebe, sondern auch im Bereich der Alveolen vor, worin es sich zusätzlich von den Lymphknoten unterscheidet (EMERY UND DINSDALE 1973, BIENENSTOCK 1984). Dort wird das BALT hauptsächlich von Alveolarepithelzellen Typ I bedeckt, die frei von Mikrovilli sind. EMERY und DINSDALE (1974) betonen zusätzlich die Unterscheidung zwischen den zentral im Bindegewebe gelegenen und den peripheren Aggregaten. Sie hatten beobachtet, dass die zentralen Ansammlungen im Einzelfall Frühstadien in der Entwicklung zu Lymphknoten darstellen können, während das BALT der Alveolarwände zweifelsfrei als lymphoretikuläres Gewebe anzusehen ist. Doch auch wenn die Anatomie soweit gut bekannt ist, ist die Funktion des BALT bis heute nur unvollständig geklärt. Schon im 19. Jahrhundert fielen die Gemeinsamkeiten mit dem *gut-associated lymphatic tissue* (GALT), speziell den Peyerschen Plaques, auf, sodass in Analogie dazu dem lymphatischen Gewebe der Lunge eine wichtige Rolle bei immunologischen Prozessen zugesprochen wurde. Ein wichtiger Unterschied besteht allerdings darin, dass das GALT bei jedem Menschen von Geburt an vorhanden ist, während das bronchus-assoziierte lymphatische Gewebe keineswegs zeitlebens nachweisbar ist. Lange Zeit waren nur Ratten und Kaninchen für die Forschung auf diesem Gebiet eingesetzt worden, die zu 100% über BALT verfügen, und die Ergebnisse wurden so auf den Menschen übertragen. PABST und GEHRKE (1990) konnten aber zeigen, dass BALT nicht bei allen Säugern, einschließlich des Menschen, eine konstitutive Struktur ist. Vielmehr scheint das Vorkommen von BALT altersabhängig zu sein und die menschliche Lunge die Fähigkeit zu besitzen, infolge bestimmter Stimuli BALT zu formieren. Es stellt sich also die Frage, welchen Entwicklungsverlauf das BALT im menschlichen Organismus nimmt, und welche Stimuli zur

Bildung von BALT führen. Möglicherweise gibt es frühe Lebensphasen, in denen es tatsächlich physiologisch vorkommt. Dabei könnte es beispielsweise die Funktion einer Eintrittspforte für Antigene übernehmen, mit denen sich das Immunsystem während der Reifungsphase auseinandersetzt. Die Untersuchungen von EMERY und DINSDALE (1973) an 316 verstorbenen Kindern zeigten eine Zunahme von lymphoretikulären Aggregaten mit steigendem Alter. Totgeborene wiesen keinerlei alveoläres BALT auf, bis zur 10. Lebenswoche stieg die Nachweisbarkeit nur gering, danach aber sprunghaft an. Im Medianalter von 3 Jahren zeigten 86% der Kinder alveoläres BALT, 100% hatten entsprechendes Gewebe in der Nähe zu bronchialen Blutgefäßen. Im Gegensatz zum Vorkommen im Bindegewebe stellen diese peripher gelegenen Aggregate nachgewiesene erworbene Strukturen dar. In einer weitergehenden Studie derselben Autoren aus dem folgenden Jahr wurde gezeigt, dass die an Plötzlichem Kindstod verstorbenen Kinder eine erhöhte Anzahl an lymphozytären Aggregaten aufwiesen als die Kinder, denen eine definitive Todesursache zugeordnet werden konnte. TSCHERNIG ET AL (1995) kommen, was die Zunahme des BALT mit dem Alter betrifft, zu einem ähnlichen Ergebnis. Sie hatten ein Kollektiv von Plötzlichem Kindstod und eine Kontrollgruppe auf das Vorkommen von BALT hin untersucht. Es konnte beobachtet werden, dass sich die Wahrscheinlichkeit für den Nachweis von BALT bis zum Lebensalter von ca. 2 Jahren dem Faktor 1 annähert. Dabei zeigten das SIDS- und das Kontrollkollektiv einen parallelen Entwicklungsverlauf zueinander. Doch auch wenn die Kinder aus der SIDS-Gruppe gemessen am Alter jeweils eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit hatten, bronchus-assoziiertes lymphatisches Gewebe aufzuweisen, war die Nachweisfrequenz für das BALT insgesamt aber nicht signifikant erhöht. KROUS ET AL (2003) beobachteten in ihren Untersuchungen ein prominenteres BALT unter den Kindern der Kontrollgruppe, die ein Medianalter von 210 Tagen im Vergleich zu 88 Tagen innerhalb der SIDS-Fälle hatten. Im Kontrast konnten GOULD und ISAACSON (1993) ausnahmslos eine Assoziation zwischen einer Infektion und dem Nachweis von BALT in fetalen und kindlichen Lungen aufzeigen. Im Gegensatz zu Kindern weisen gesunde Erwachsene kein BALT mehr auf (PABST und GEHRKE 1990, PABST 1992). Bei Rauchern oder bei Patienten mit Lungenerkrankungen ist es teils wieder nachweisbar (BIENENSTOCK 1994, RICHMOND ET AL 1993). All die geschilderten Forschungsergebnisse lassen es damit durchaus möglich erscheinen, dass das BALT bei Kindern eine fast physiologisch zu nennende Funktion innehaben könnte, beispielsweise im Rahmen der Immunreifung. Mit fortschreitendem Lebensalter mag es sich beim Gesunden dann wieder verlieren, eventuell als Folge davon, dass seine Funktion aufgrund

der abnehmenden Zahl an unbekanntem Antigenen seltener benötigt wird. Beim Erwachsenen scheinen dann exogene oder endogene Faktoren wie Infektionen, Autoimmunerkrankungen oder Dauerstimulation durch z.B. Rauchen nötig zu sein, damit das BALT reaktiviert oder neu gebildet wird.

Was die Interpretation der eigenen Ergebnisse angeht, so fallen zunächst die 44 Fälle ins Auge, bei denen das bronchus-assoziierte lymphatische Gewebe gut zu erkennen war (+). Mit 55% des Gesamtkollektivs stellt dies einen großen Teil dar. Interessant ist auch die Korrelation dieser Gruppe mit den Ausprägungen der Marker LCA und CD45 R0. In 50% der Fälle ist das LCA solitär auffällig gewesen, während bei weiteren 14% sowohl LCA als auch CD45 R0 erhöht waren. 14 der 44 Fälle (32%) waren in CD45 R0 und LCA komplett unauffällig, von 2 Fällen fehlte das entsprechende Material. Von den 16 Fällen der BALT-Klassifizierung (++) hatten 10 Fälle (62,5%) gleichzeitig sowohl das LCA als auch die CD45 R0-positiven Lymphozyten erhöht, 2 Fälle (12,5%) zeigten nur ein auffälliges LCA, und 4 Fälle (25%) waren gänzlich unauffällig. In der Gruppe (+++) zeigten 2 der 3 Fälle auffällige Werte in den beiden anderen Färbungen, während im 3. Fall nur beim LCA eine erhöhte Zelldichte vorlag. Auch wenn die Gruppe (+++) sicher zu klein ist, um repräsentativ zu sein, lässt sich bei der Gesamtbetrachtung die Tendenz erkennen, dass das BALT tatsächlich stärker bei einer gleichzeitig erhöhten Lymphozytenrekrutierung (LCA und CD45 R0 auffällig) reagiert, als es dies bei einer unspezifischen Erhöhung der Leukozytendichte (nur LCA erhöht) tut. Mit Bezug auf die oben beschriebenen Ergebnisse der anderen Autoren bieten die eigenen Resultate Anhalt dafür, dass die Kategorie (+) möglicherweise den Zustand eines Kindes widerspiegelt, das lungengesund ist und/oder dessen Immunsystem sich gerade regulär mit neuen Antigenen auseinandersetzt, während das BALT der Kategorie (++) eher für eine mehr oder minder starke Exazerbation eines (viralen) infektiösen Geschehens steht. Sobald sich die Grenzen des BALT aber von auswandernden Zellen überschritten darstellen (+++), kann von einer Pneumonie ausgegangen werden.

5.7. E-Selektin

Erst die Forschungen auf Zell- und Molekularebene haben es ermöglicht, Proteine wie das E-Selektin zu identifizieren und in weiteren Untersuchungen deren Funktion in physiologischen und pathophysiologischen Prozessen zu erforschen. Nach heutigem Kenntnisstand scheint gesichert, dass das E-Selektin im Zusammenhang mit Entzündungsvorgängen eine tragende Rolle spielt. Zusammen mit P-Selektin und L-Selektin bildet es die Familie der Selektine. Diese formen mit den Integrinen (z.B. lymphocyte function-associated antigen [LFA]-1, Mac-1, very late activation antigen [VLA]-4) und der Immunglobulin Superfamilie (z.B. intercellular adhesion molecule [ICAM]-1, vascular cell adhesion molecule [VCAM]-1) eine Gruppe, die über Schlüsseleigenschaften für die Leukozytenrekrutierung und -migration verfügt. Selektine werden dann von Endothelzellen sezerniert, wenn es zuvor durch Endotoxine oder die Sekretion proinflammatorischer Zytokine und anderer Mediatoren (Proteasen, Wachstumsfaktoren, vasoaktive Stoffe und Komplementfaktoren) zur Endothelaktivierung gekommen ist (FRIES ET AL 1993). Vor allem das E-Selektin vermittelt daraufhin den ersten Zell-Zell-Kontakt zwischen den heranströmenden Leukozyten und dem Endothel, es kommt zum so genannten „rolling“ der Leukozyten an der Gefäßinnenwand. Das Endothel gibt daraufhin Signale ab, die die Leukozyten zu einer festeren Bindung an das Endothel stimulieren, beispielsweise über Moleküle wie VCAM-1. Diese feste Anheftung ist unabdingbare Voraussetzung für die nachfolgende Diapedese ins Interstitium. Neuere Forschungen lassen zusätzlich vermuten, dass vor allem das E-Selektin eine Markerfunktion speziell in der Sepsisdiagnostik post mortem übernehmen kann. Autoptische Untersuchungen von TSOKOS (2000, 2006) an menschlichem Lungengewebe haben ergeben, dass E-Selektin in allen Fällen mit einer Sepsis als gesicherter Todesursache stark exprimiert war. Bei entzündlich oder mechanisch bedingten Lungengewebsveränderungen hingegen zeigte sich bei den von ihm untersuchten Erwachsenen keine immunhistochemische Reaktion. Im Unterschied dazu konnte P-Selektin in Untersuchungen von ORTMANN UND BRINKMANN (1997) nach entzündlichem oder septischem Geschehen nicht nachgewiesen werden. Auch wenn bei den vorliegenden SIDS-Fällen allein aus Definitionsgründen nicht davon ausgegangen wird, dass eine Sepsis bestanden haben könnte, hat das Interesse an der möglichen Markerfunktion dazu geführt, dass die immunhistochemische Färbung auf E-Selektin dennoch angewendet worden ist. Weiter blieb die Überlegung bestehen, ob E-Selektin aufgrund seiner frühen Position in der Leukozytenrekrutierungskette nicht doch auch bei inflammatorischen

Prozessen exprimiert wird. Es sollte dabei vor allem untersucht werden, ob es eine Korrelation zwischen dem Nachweis von leuko- oder lymphozytären interstitiellen Infiltraten und der Expression von E-Selektin gibt. Wie Tabelle 8 verdeutlicht, zeigten sich in 5 der 6 Fälle mit kräftiger E-Selektin-Expression [Kategorie (+++)] auch mäßig oder stark erhöhte Zelldichten bei wenigstens einem der Marker CD 45 R0 und LCA. In der Kategorie (++) wiesen 9 von 17 Fällen auffällige Co-Marker auf (Fall-Nummern 4, 13, 20, 29, 30, 44, 49, 55, 70). Umgekehrt finden sich aber auch zahlreiche Fälle, in denen eine LCA- oder CD 45 R0-Erhöhung nicht von einem deutlichen E-Selektin-Befund begleitet wird.

Dafür sind verschiedene Erklärungsmodelle denkbar. E-Selektin ist nur zeitlich begrenzt nachweisbar, wobei die Angaben je nach Art des Experiments (in vivo Mensch/Tier, in vitro) differieren. KLEIN ET AL (1994) konnten an Zellkulturen beobachten, dass die Expression von E-Selektin 1-2 Stunden nach Stimulation mit Interleukinen beginnt, nach 3-6 Stunden ihr Maximum erreicht, und nach 24 Stunden wieder auf den Ausgangswert zurückgefallen ist (BEVILACQUA ET AL 1989). FRIES ET AL (1993) wiesen in Tiermodellen E-Selektin etwas länger nach, bis zu 2 Tagen nach LPS-Stimulation. KAYAL (1998) schließlich hat das Adhäsionsmolekül auch noch 3-4 Tage nach Beginn der Sepsissymptome immunhistochemisch darstellen können. Dass die Expression mit fortschreitender Zeit generell abnimmt, mag einerseits am physiologischen enzymatischen Abbau liegen, andererseits aber auch an der Abhängigkeit von der Stimulation durch Zytokine. Sinkt Letztere ab oder entfällt gänzlich, fehlt die treibende Kraft zur Produktion von E-Selektin (HUANG 1995, MÜLLER UND TSOKOS 2006). So kann im vorliegenden Kollektiv eine fehlende Expression bei gleichzeitig erhöhten Co-Markern bedeuten, dass sich das Entzündungsgeschehen nicht mehr im Initialstadium befindet. Konkret ausgedrückt könnte dies in all jenen Fällen gelten, die ein deutliches leuko- oder lymphozytäres Infiltrat aufweisen, jedoch kein oder minimal E-Selektin zeigen. Nach diesem Modell wäre es ebenfalls denkbar, dass in den Fällen mit nachgewiesenem E-Selektin ohne erhöhte Begleitmarker die Befunde ein ganz frühes Stadium wiedergeben, in dem die Leukozytenwanderung ins Gewebe noch nicht eingesetzt hat. Was also die Fälle betrifft, in denen entweder E-Selektin oder mindestens einer der Begleitmarker positiv ist, scheint das Modell schlüssig zu sein. Unklar ist, unter der Voraussetzung der Expressionsabnahme mit der Zeit, aber weiter die Interpretation der 5 zuerst erwähnten Fälle aus der Kategorie (+++). Keines der am Plötzlichen Kindstod verstorbenen Kinder hat definitionsgemäß Krankheitszeichen zum Zeitpunkt des Todes aufgewiesen. Bei allen Kindern waren aber neben dem dreifach positiven E-Selektin deutliche bis

stark ausgeprägte interstitielle Infiltrate nachweisbar, zu 80% auch lymphozytären Ursprungs. Entweder müssten die Befunde also genau den Moment des E-Selektin-Peaks wiedergeben, in dem es auch bereits zu einer ausgeprägten Leukozyteninfiltration gekommen war, oder die Entzündung lag schon länger vor und hat durch anhaltende Zytokinfreisetzung die Endothelzellen zur weiteren E-Selektin-Produktion stimuliert. Letztere Variante erscheint jedoch aufgrund der erwähnten Symptomfreiheit der Kinder eher ungewöhnlich. Ebenfalls zu diskutieren ist der Aussagegehalt der 44 Fälle, in denen E-Selektin vereinzelt nachweisbar war (+). 25-mal gab es dabei keine anderen erhöhten Begleitmarker. Hier fällt es schwer den Schluss zu ziehen, dass dies alles Fälle sein sollen, in denen der Beginn einer Lungenentzündung dargestellt wird. Möglicherweise verhält sich die Expression von E-Selektin beim Kind anders als beim Erwachsenen. Eventuell weist auch dieser Marker in den entsprechenden Fällen auf ein abnorm reagierendes Immunsystem hin. So könnte das E-Selektin exprimiert werden, obwohl sich die frühkindliche Abwehr im Kontakt mit ansonsten unspezifischen Antigenen im normalen Reifungsprozess befindet. Solange das E-Selektin nur im Endothel der Gefäße oder Kapillaren der Bronchuswände (und nicht der Alveolarwände) exprimiert wird, kann dies auch Ausdruck einer Bronchitis sein, die ja ein häufiges und zumeist harmloses Geschehen bei Kindern darstellt. Das nachgewiesene E-Selektin könnte aber auch das Ergebnis einer basalen Expression durch Endothelzellen sein (MÜLLER ET AL 2002). Zu keiner dieser Hypothesen wurden jedoch bisher Untersuchungen an kindlichem Gewebe durchgeführt, die sie stützen oder widerlegen könnten.

Zusammenfassend muss also letztlich kritisch hinterfragt werden, welche Aussagekraft dem E-Selektin in Fällen von Plötzlichem Kindstod überhaupt zugesprochen werden kann. Pathomorphologische Untersuchungen an menschlichen Lungengewebeproben hinsichtlich der Selektine hat es insgesamt bisher nur vereinzelt gegeben. Vielmehr stammen die meisten Forschungsergebnisse, wie MÜLLER UND TSOKOS (2006) konstatieren, aus in vitro Experimenten oder Untersuchungen an Tiermodellen. Damit ist nicht sicher, in welchem Umfang Erkenntnisse auch auf den Menschen übertragbar sind. Insbesondere finden sich keine Angaben zum Verhalten des E-Selektins im kindlichen Körper, die als Referenzen herangezogen werden könnten. Im Zusammenhang mit dem Phänomen des SIDS sind zum jetzigen Zeitpunkt keine Untersuchungen bekannt.

5.8. Relevante interstitielle Lungenpathologie

Hinsichtlich der Beurteilung des Interstitiums finden sich folgende Ergebnisse, die sich auf die immunhistochemischen Befunde in der CD45 R0-Färbung stützen:

4 Fälle waren ohne nachweisbare T-lymphozytäre Infiltrate. Alle 54 Fälle mit einer als normal einzustufenden Zelldichte (+) sowie die 4 Fälle mit einer mittelgradig erhöhten Zelldichte bei fokalem Auftreten (++) liefern hinsichtlich des Interstitiums keine pathologischen Befunde, sodass sie zweifelsfrei auf die Kategorie I SIDS/pure SIDS entfallen.

Die 8 Fälle der Klasse (++) und dem multifokalen Verteilungsmuster (Fallnummern 2, 21, 24, 28, 30, 46, 59, 75) werden der Kategorie II SIDS/Borderline SIDS zugerechnet.

Sämtliche 8 Fälle (Fallnummern 12, 13, 38, 44, 60, 61, 68, 79) der Klasse (+++) mit einer immunhistochemisch diagnostizierten fokalen, multifokalen oder diffusen lymphozytären Pneumonie sind gemäß den vorgenannten Kriterien als „Explained infant death“ zu werten. Sie können nicht länger dem SIDS-Kollektiv hinzugerechnet werden.

Somit präsentieren sich 16 von 78 Fällen mit teils manifesten, teils beginnenden schwerwiegenden entzündlichen Veränderungen im Sinne einer viralen interstitiellen Pneumonie.

Hier könnte man im nächsten Schritt die PCR als molekularpathologisches Verfahren anwenden, um einen exakten Virusnachweis zu ermöglichen. Perspektivisch wäre diese Methode eine ideale Ergänzung zum immunhistochemischen Verfahren. Hinsichtlich des Begriffes „Explained infant death“ sei noch einmal auf die Diskussion im Kapitel 5.5 verwiesen, wo die verschiedenen Varianten ausführlich erörtert wurden, wie der entsprechende Lungenbefund letztlich todesursächlich gewesen sein könnte.

Auch wenn die in Kapitel 1.6. vorgestellte Einteilung pathologischer Lungenbefunde einen deutlichen Fortschritt in der Diagnosefindung darstellt, so muss doch angemerkt werden, dass die Formulierungen weiterhin noch nicht präzise genug sind. Der subjektive Einfluss durch den

Untersucher wird somit auch weiterhin zu einem gewissen Grade in die Bewertung einfließen. Allerdings haben auch KROUS ET AL (2004) schon darauf hingewiesen, dass die derzeit gültigen Definitionen keineswegs statisch sind und in der Zukunft weiter verändert werden müssen. Gerade im Rahmen der länderübergreifenden Forschung müssen neu gewonnene Erkenntnisse stets mit berücksichtigt werden. In Bezug auf die Diagnostik sollte das Ziel sein, eine konkret formulierte und international bindende Übereinkunft zur Klassifizierung des plötzlichen Kindstodes zu erreichen.

6. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht das Vorkommen interstitieller Pneumonien an einem Kollektiv von 80 Kindern, die dem Plötzlichen Kindstod (SIDS) zugeordnet wurden. Mit der Immunhistochemie wird ein Verfahren benutzt, welches in der Wissenschaft gut etabliert ist, aber bisher nicht standardmäßig in der SIDS-Diagnostik eingesetzt wird. Dafür wurden in Paraffin fixierte Lungenproben mit verschiedenen immunhistochemischen Markern untersucht. Grundvoraussetzung für valide Aussagen ist das Vorliegen gut erhaltenen Gewebes, was unter anderem durch eine Obduktion binnen 48 Stunden post mortem mit zügiger Verbringung der Organproben in Paraffin gewährleistet werden kann. Ferner ist es notwendig, Material aus allen Lungenabschnitten standardisiert zu entnehmen, um eine mögliche Pathologie vollständig zu erfassen. Es zeigte sich, dass die Immunhistochemie ein zeitlich aufwändiges, aber technisch leicht anzuwendendes Verfahren ist, das durch die Markierung von einzelnen Zellen oder Zellreihen eindeutig interstitielle Infiltrate darstellt. Hierzu eignet sich besonders der Marker für CD45 R0 positive T-Lymphozyten. Die Markierungen CD68-positiver Makrophagen, LCA-positiver Leukozyten und des IgE haben weniger diagnostischen Wert in Bezug auf eine interstitielle Infiltration. Die Beurteilung des Bronchus-assoziierten lymphatischen Gewebes (BALT) ist hilfreich bei der Differenzierung zwischen einem aktiven lymphatischen System infolge unspezifischer Prozesse und einer viralen Pneumonie. Der Stellenwert des E-Selektins in der Pneumoniediagnostik an SIDS-Kindern bleibt nach diesen Untersuchungen ungesichert. Im untersuchten Kollektiv finden sich insgesamt 16 Fälle mit schwerwiegenden inflammatorischen Veränderungen des Lungeninterstitiums. So zeigen sich 8 Fälle mit einer ausgeprägten immunhistochemisch nachweisbaren interstitiellen Pneumonie. Der jeweils gravierende Befund rechtfertigt hier die Revidierung der Ausschlussdiagnose „SIDS“ zugunsten eines „Explained infant death“ („Erklärter Kindstod“) infolge einer massiven (viralen) interstitiellen Pneumonie. Die weiteren 8 Fälle weisen Infiltrate auf, deren Ausmaß zumindest auf eine beginnende interstitielle Pneumonie deutet. Sie werden zur Gruppe des „Borderline-SIDS“ („Grenzfall-SIDS“) gerechnet. Hinsichtlich der Auswertung und Beurteilung der Befunde wurde deutlich, dass bisher nur Empfehlungen zu einheitlichen Diagnosekriterien existieren, diese jedoch noch nicht international flächendeckend umgesetzt sind. Auch sind die empfohlenen Kriterien noch nicht ausreichend exakt formuliert. Dies gibt in Grenzfällen noch immer Raum für Diskussionen, beispielsweise in Bezug auf die Todesursächlichkeit. Für die 8 Fälle des Kollektivs mit einer

ausgeprägten Pneumonie kommen mehrere todesursächliche Mechanismen in Frage. Denkbar sind beispielsweise eine Virämie mit konsekutiver Sepsis, eine respiratorische Insuffizienz bei (multi-) fokalem oder diffusem Lungenbefall und Lungenödem, oder das dadurch verursachte akute Rechtsherzversagen. Auch kommen eine Affektion des Reizleitungssystems am Herzen durch kardiotope Viren, welche die Lunge als Eintrittspforte haben, oder ein durch Viren- oder Zellzerfallsprodukte hervorgerufenes toxisches Herzkreislaufversagen in Frage. Was die weiteren 8 Fälle mit beginnender Pneumonie betrifft, so sind diese interstitiellen Infiltrate gemäß den verfügbaren Empfehlungen zu diagnostischen Kriterien allein nicht als todesursächlich anzusehen. Es ist aber nicht auszuschließen, dass sich das Kind, beispielsweise in Anlehnung an das Modell der multifaktoriellen Genese des SIDS, gerade in einer anderweitig vulnerablen Phase befunden haben könnte, in der bereits diese mäßig stark ausgeprägten entzündlichen Veränderungen zum Tode beigetragen haben könnten. Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass mit den vorliegenden immunhistochemischen Untersuchungen bei einer beachtlichen Anzahl von Fällen eine Lungenpathologie unterschiedlichen Ausmaßes nachgewiesen werden konnte, obwohl die Kinder in einem Zustand vermeintlich völliger Gesundheit, also ohne jegliche objektivierbare Krankheitssymptome, verstorben waren. Damit empfiehlt sich die Immunhistochemie als zuverlässige und richtungweisende Methode in der Diagnosefindung bei plötzlich und unerwartet verstorbenen Kindern.

7. Anhang

7.1. Literaturverzeichnis

Abzug MJ, Beam AC, Gyorkos EA, Levin MJ. Viral pneumonia in the first month of life. *Pediatr Infect Dis J* 1990; 9: 881-885.

Althoff H. Der plötzliche und unerwartete Säuglingstod – derzeitige Standortbestimmung. *Beitr gerichtl Med* 1978; 36: 127-146.

Althoff H. Sudden Infant Death Syndrome. Stuttgart - New York: G. Fischer Verlag, 1980.

Althoff H. Der Plötzliche Kindstod. Eine interdisziplinäre Aufgabe. *Dtsch Ärztebl* 1986; 83: 3529-3532.

Althoff H, Wehr K, Michels S, Prajnar D. Zur Problematik schädigender Umwelteinflüsse beim Plötzlichen Kindstod (SIDS). *Zeitschrift für Rechtsmedizin* 1987; 98: 103-110.

Aoki Y. Histopathological findings of the lung and trachea in Sudden Infant Death Syndrome: Review of 105 cases autopsied at Dade County Medical Examiner Department. *Jpn J Legal Med* 1994; 48; 3: 141-149.

Baasner A, Dettmeyer R, Graebe M, Rissland J, Madea B. PCR-Based Diagnosis of Enterovirus and Parvovirus B19 in Paraffin-Embedded Heart Tissue of Children with Suspected Sudden Infant Death Syndrome. *Lab Invest* 2003; 83: 1451-1455.

Bajanowski Th, Wiegand P, Cecchi R, Pring-Åkerblom P, Adrian T, Jorch G, Brinkmann B. Detection and significance of adenoviruses in cases of sudden infant death. *Virchows Arch* 1996; 428: 113-118.

Bajanowski Th, Rolf B, Jorch G, Brinkmann B. Detection of RNA viruses in sudden infant death (SID). *Int J Legal Med* 2003; 117: 237-240.

Bajanowski Th, Poets C. Der Plötzliche Säuglingstod. Epidemiologie, Ätiologie, Pathophysiologie und Differenzialdiagnostik. *Dtsch Ärztebl* 2004; 101:A 3185-3190.

Bajanowski T, Vege Å, Byard RW, Krous HF, Arnestad M, Bachs L, Banner J, Blair PS, Borthne A, Dettmeyer R, Fleming P, Gaustad P, Gregersen M, Grøgaard J, Holter E, Isaksen CV, Jorgensen JV, de Lange C, Madea B, Moore I, Morland J, Opdal SH, Råsten-Almqvist P, Schlaud M, Sidebotham P, Skullerud K, Stoltenburg-Didinger G, Stray-Pedersen A, Sveum L, Rognum TO. Sudden infant death syndrome (SIDS)-standardised investigations and classification: Recommendations. *For Sci Int* 2007; 165: 129-143.

Barbey I. Der plötzliche und unerwartete Kindstod. *Bundesgesundheitsblatt* 1978; 21: 5-13.

- Bauer G. Immunfluoreszenzuntersuchungen an Lungen beim SIDS. Beitr 1978; 36: 147-151.
- Baxendine JA, Moore IE. Pulmonary Eosinophilia in Sudden Infant Death Syndrome. J Pathol 1995; 177: 415-421.
- Beal S, Blundell HK. Recurrence incidence of sudden infant death syndrome. Arch Dis Child 1988; 63: 924.
- Beckwith JB. Discussion of terminology and definition of the sudden infant death syndrome. In: Bergman AB, Beckwith JB, Ray CG, eds., Sudden infant death syndrome. Proceedings of the Second International Conference on the causes of the Sudden Death in infants. Seattle: University of Washington Press, 1970: 14-22.
- Beckwith JB. The sudden infant death syndrom. A new theory. Pediatrics 1975; 55: 583-584.
- Bentley A. Bacterial toxins and sudden unexpected death in a young child. For Sci Int 1997; 88: 141-146.
- Berg S, Kijewski S. Histologische Befunde an 224 Fällen von plötzlichem Säuglingstod im norddeutschen Raum. Beiträge zur gerichtlichen Medizin 1978; 36: 154-160.
- Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA Jr, Seed B. Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: An inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. Science 1989; 243: 1160-1165.
- Bienenstock J. Immunology of the lung and upper respiratory tract. Kap.3: Bronchus-associated lymphoid tissue. New York: McGraw-Hill Book Company, 1984: 97-112.
- Bienenstock J, Clancy R. Bronchial Mucosal Lymphoid Tissue. In: Ogra PL, ed., Handbook of mucosal immunology. San Diego: Academic Press Inc., 1994: 529-536.
- Björ O, Bråbäck L. A retrospective population based trend analysis on hospital admissions for lower respiratory illness among Swedish children from 1987 to 2000. BMC Public Health 2003; 3: 22.
- Blackwell CC, Weir DM. The role of infection in sudden infant death syndrome. FEMS Immunol Med Microbiol 1999; 25: 1-6.
- Brasfield DM, Stagno S, Whitley RJ, Cloud G, Cassell G, Tiller RE. Infant Pneumonitis associated with Cytomegalovirus, Chlamydia, Pneumocystis, and Ureaplasma: Follow-up. Pediatrics 1987; 79: 76-83.
- Bratzke H. Plötzlicher Kindstod. Med Welt 1986; 37: 223-226.
- Bratzke H. Der plötzliche Tod im Säuglingsalter – ein Beitrag aus rechtsmedizinischer Sicht. Notarzt 1987; 3: 89-91.

Brinkmann B. Plötzlicher Säuglingstod. Westfälische Studie 1990-1994: Schlußbericht. Duisburg: Ministerium für Arbeit, Gesundheit und Soziales des Landes Nordrhein-Westfalen, 1996.

Byard RW, Krous H. Sudden Infant Death Syndrome. New York: Oxford University Press, 2001.

Clark JW, Yunginger JW, Bonnes PA, Ray CG, Saltzstein SL. Serum IgE antibodies in sudden infant death syndrome. *J Pediatr* 1979; 95: 85-86.

Daltveit AK, Irgens LM, Oyen N, Skjaerven R, Markestad T, Alm B, Wennergren G, Norvenius G, Helweg-Larsen K. Sociodemographic risk factors for sudden infant death syndrome: associations with other risk factors. The Nordic Epidemiological SIDS Study. *Acta Paediatr* 1998; 87: 284-290.

de Jonge GA, Engelberts AC, Koomen-Liefiting AJM, Kostense PJ. Cot death and prone sleeping in the Netherlands. *Br Med J* 1989; 289: 722.

Delaney K, Hanzlick R, Wolfe M. Pulmonary Macrophage Counts in Deceased Infants. *Am J Forensic Med Pathol* 2000; 21: 315-318.

Dettmeyer R, Schlamann M, Madea B. Immunohistochemical techniques improve the diagnosis of myocarditis in cases of suspected sudden infant death syndrome (SIDS). *For Sci Int* 1999; 105: 83-94.

Dettmeyer R, Baasner A, Schlamann M, Haag C, Madea B. Coxsackie B3 Myokarditis in 4 Cases of Suspected Sudden Infant Death Syndrome: Diagnosis by Immunohistochemical and Molecular-Pathologic Investigations. *Path Res Pract* 2002; 198: 689-696.

Dettmeyer R, Baasner A, Schlamann M, Padosch SA, Haag C, Kandolf R, Madea B. Role of Virus-Induced Myocardial Affections in Sudden Infant Death Syndrome: A Prospective Postmortem Study. *Ped Res* 2004; 55: 947-952.

Dettmeyer R. Plötzlicher Kindstod (Sudden Infant Death Syndrome; SIDS). Neue Aspekte zur Bedeutung der virusbedingten Herzmuskelentzündung. Aachen: Shaker Verlag, 2004.

Dettmeyer R. *Medizin & Recht für Ärzte. Grundlagen, Fallbeispiele, Medizinrechtliche Fragen.* Berlin – Heidelberg - New York: Springer-Verlag, 2. Auflage 2006.

Dettmeyer R, Sperhake JP, Müller J, Madea B. Cytomegalovirus-induced pneumonia and myocarditis in three cases of suspected sudden infant death syndrome (SIDS): Diagnosis by immunohistochemical techniques and molecularpathologic methods. *For Sci Int* 2008; 174: 229-233.

Dittmann V, Pribilla O. Zur Epidemiologie des plötzlichen Säuglingstodes im Lübecker Raum. *Z Rechtsmed* 1983; 90: 277-292.

Douglas AS, Helm PJ, Jolliffe IT. Seasonality of sudden infant death syndrome in mainland Britain and Ireland 1985-95. *Arch Dis Child* 1998; 79: 269-270.

Douglas AS, Helm PJ, Jolliffe IT. Seasonality of sudden infant death syndrome (SIDS) by age at death. *Acta Paediatr* 1998; 87: 1033-1038.

Durand DJ, Espinoza AM, Nickerson BG. Association between prenatal cocaine exposure and sudden infant death syndrome. *J Pediatr* 1990; 117: 909-911.

Dyregrov K. Bereaved parents` experience of research participation. *Soc Sci Med* 2004; 58: 391-400.

Eisenmenger W, Henn RHE. Der plötzliche Kindstod. *Kriminalistik* 1974; 28: 264-266.

El Ahmer OR, Raza MW, OgilvieMM, Elton RA, Weir DM, Blackwell CC. Binding of bacteria to HEp-2 cells infected with influenza A virus. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 23: 331-341.

Emery JL, Dinsdale F. The postnatal development of lymphoreticular aggregates and lymphnodes in infants`lungs. *J Clin Pathol* 1973; 26: 539-545.

Emery JL, Dinsdale F. Increased incidence of lymphoreticular aggregates in lungs of children found unexpectedly death. *Arch Dis Child* 1974; 49: 107-111.

Entrup M, Brinkmann B. Histologische Lungenbefunde beim plötzlichen Kindstod. *Zeitschrift für Rechtsmedizin* 1990; 103: 425-433.

Ess SM, Schaad UB, Gervaix A, Pinosch S, Szucs TD. Cost-effectiveness of a pneumococcal conjugate immunisation program for infants in Switzerland. *Vaccine* 2003; 21: 3273-3281.

Essbach H. *Paidopathologie. Kyemathopathien Neogonopathien Thelamonopathien. Lehrbuch und Atlas.* Leipzig: Thieme Verlag, 1961: 335-349.

Essery SD, Raza M, Zorgani AA, MacKenzie D, James V, Weir DM, Busuttil A, Hallam N, Blackwell C. The protective effect of immunisation against diphtheria, pertussis and tetanus (DPT) in relation to sudden infant death syndrome. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 25: 183-192.

Ezaki T. Antigen retrieval on formaldehyde-fixed paraffin sections: its potential drawbacks and optimization for double immunostaining. *Micron* 2000; 31: 639-649.

Farha T, Thomson AH. The burden of pneumonia in children in the developed world. *Paediatric Respiratory Reviews* 2005; 6: 76-82.

Ford RP, Taylor BJ, Mitchell EA, Enright SA, Stewart AW, Becroft DM, Scragg R, Hassall IB, Barry DM, Allen EM, Roberts AP. Breastfeeding and the Risk of Sudden Infant Death Syndrome. *Int J Epidemiol* 1993; 22: 885-890.

Fries JWU, Williams AJ, Atkins RC, Newman W, Lipscomb MF, Collins T. Expression of VCAM-1 and E-Selektin in an in vivo Model of endothelial Activation. *Am J Pathol* 1993; 143; 3: 725-737.

Gesundheitsberichterstattung des Bundes, 2006: Gestorbene Säuglinge ab 1980 mit der Diagnose Plötzlicher Kindstod nach ICD-10: R95. www.gbe-bund.de (Zugriffsdatum 23.07.2006).

Gilbert R. The changing epidemiology of SIDS. *Arch Dis Child* 1994; 70: 445-449.

Gordon AE, Saadi A, MacKenzie DAC, Molony N, James V, Weir DM, Busuttill A, Blackwell C. The protective effect of breastfeeding in relation to sudden infant death syndrome (SIDS): III. Detection of IgA antibodies in human milk that bind to bacterial toxins implicated to SIDS. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 25: 175-182.

Gordon AE, El Ahmer OR, Chan R, Al Madani OM, Braun JM, Weir DM, Busuttill A, Blackwell CC. Why is smoking a risk factor for Sudden Infant Death Syndrome? *Child Care Health Dev* 2002; 28 (Suppl. 1): 23-25.

Gordon AE, MacKenzie DAC, El Ahmer OR, Al Madani OM, Braun JM, Weir DM, Busuttill A, Blackwell CC. Evidence for a genetic component in Sudden Infant Death Syndrome. *Child Care Health Dev* 2002; 28 (Suppl 1): 27-29.

Gould SJ, Isaacson PG. Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in human fetal and infant lung. *J Pathol* 1993; 169: 229-234.

Grandmaison GL, Dorandeu A, Carton M, Patey A, Durigon M. Increase of pulmonary macrophages in sudden infant death syndrome. *For Sci Int* 1999; 104: 179-187.

Haas J, Taylor J, Bergmann A. Relationship between epidemiologic risk factors and clinicopathologic findings in the sudden infant death syndrome. *Pediatrics* 1993; 91: 106-112.

Haglund B, Cnattingius S. Cigarette smoking as a risk factor of sudden infant death syndrome: a population-based study. *Am J Public Health* 1990; 80: 29-32.

Hahn J. *Der plötzliche Kindstod*. Aachen: Shaker Verlag, 1995.

Harrison LM, Morris A, Telford DR, Brown SM, Jones K. The nasopharyngeal bacterial flora in infancy: effects of age, gender, season, viral upper respiratory tract infection and sleeping position. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 25: 19-28.

Hoffman HS, Hunter JC, Telford DR. Diphtheria-tetanus-pertussis immunisation and sudden infant death. *Pediatrics* 1987; 79: 598-611.

Howat WJ, Moore IE, Judd M, Roche WR. Pulmonary immunopathology of sudden infant death syndrome. *Lancet* 1994; 343: 1390-1392.

Howat WJ, Semper AE, Moore IE, Roche WR. Pulmonary production of cytokines in sudden infant death syndrome. *Biochem Soc Trans* 1997; 25: 298.

Huang K, Fishwild DM, Wu HM, Dedrick RL. Lipopolysaccharide-induced E-Selektin expression requires continuous presence of LPS and is inhibited by bactericidal/permeability-increasing protein. *Inflammation* 1995; 19: 389-404.

Irgens LM, Skjaerven R. Sudden infant death syndrome and post perinatal mortality in Norwegian birth cohorts 1967-1980. *Acta Paediatr Scand* 1986; 75: 523-529.

Jakeman KJ, Rushton DI, Smith H, Sweet C. Exacerbation of bacterial toxicity to infant ferrets by influenza virus: possible role in sudden infant death syndrome. *J Infect Dis* 1991; 163: 35-40.

Jokinen C, Heiskanen L, Juvonen H et al. Incidence of community-acquired pneumonia in the population of four municipalities in eastern Finland. *Am J Epidemiol* 1993; 137: 977-988.

Jonville-Bera AP, Autret E, Laugier J. Sudden infant death and diphtheria-tetanus-pertussis-polioomyelitis vaccination status. *Fundam Clin Pharmacol* 1995; 9: 263-267.

Jorch G, Schmidt-Troschke S, Bajanowski T, Heinecke A, Findeisen M, Nowack C, Rabe G, Freislederer A, Brinkmann B. Epidemiologische Risikofaktoren des Plötzlichen Kindstodes. *Monatsschr Kinderheilkd* 1994; 142: 45-51.

Junqueira LC, Carneiro J, Schiebler TH, Hrsg., Histologie. Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Berlin – Heidelberg – New York: Springer-Verlag, 1996.

Kandall SR, Gaines J. Maternal substance use and subsequent sudden infant death syndrome (SIDS) in offspring. *Neurotoxicol Teratol* 1991; 13: 235-240.

Kaplan DW, Baumann AE, Krous HF. Epidemiology of Sudden Infant Death Syndrome in American Indians. *Pediatrics* 1984; 74: 1041-1046.

Kayal S, Jaïs JP, Aguni N, Chaudière J, Labrousse J. Elevated circulating E-Selectin, intercellular adhesion molecule 1, and von Willebrand factor in patients with severe infection. *Am J Resp Crit Care Med* 1998; 157: 776-784.

Kenner T, Kerbl R. Mögliche Ursachen für den Plötzlichen Säuglingstod. Historische und theoretische Überlegungen. In: Kurz R, Kenner T, Poets C, Hrsg. *Der Plötzliche Säuglingstod. Ein Ratgeber für Ärzte und Betroffene*. Wien - New York: Springer-Verlag, 2000: 133-143.

Kerbl R, Kytir J, Sackl G, Ratschek M, Roll P, Kurz R. Der plötzliche Säuglingstod (SIDS) in Österreich. Wie verlässlich ist die Diagnose? *Wien Klin Wochenschr* 1995; 107: 237-241.

Kleemann WJ, Poets CF. Der Plötzliche Kindstod. Historische Betrachtungen. *pädiat prax* 1997; 52: 223-230.

Klein CL, Köhler H, Bittinger F, Wagner M, Hermanns I, Grant K, Lewis JC, Kirkpatrick CJ. Comparative studies on vascular endothelium in vitro. Cytokine effects on the expression of adhesion molecules by human umbilical vein, saphenous vein and femoral artery endothelial cells. *Pathobiology* 1994; 62: 199-208.

Kohlendorfer U, Kiechl S, Sperl W. Sudden Infant Death Syndrome: Risk Factor Profiles for Distinct Subgroups. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 960-968.

Kraus JF, Greenland S, Bulterys M. Risk Factors for Sudden Infant Death Syndrome in the US Collaborative Perinatal Project. *Int J Epidemiol* 2000; 18: 113-120.

Krous HF, Nadeau JM, Silva PD, Blackburne BD. A Comparison of Respiratory Syndromes and Inflammation in Sudden Infant Death Syndrome and in Accidental or Inflicted Infant Death. *The Am J Forensic Med Pathol* 2003; 24: 1-8.

Krous HF, Beckwith JB, Byard RW, Rognum TO, Bajanowski T, Corey T, Cutz E, Hanzlick R, Kenns TG, Mitchell EA. Sudden Infant death Syndrome and Unclassified Sudden Infant Deaths: A Definitional and Diagnostic Approach. *Pediatrics* 2004; 114: 234-238.

Krueger G. Meaning-making in the aftermath of sudden infant death syndrome. *Nurs Inq* 2006; 13: 163-171.

Kyle D, Sunderland R, Stonehouse M, Cummins C, Ross O. Ethnic differences in incidence of sudden infant death syndrome in Birmingham. *Arch Dis Child* 1990; 65: 830-833.

Kytir J, Paky F. Sudden-infant-death-syndrom (SIDS) in Österreich. Bedeutung sozialer Risikofaktoren für die postneonatale SIDS- und Non-SIDS-Mortalität. *Monatsschr Kinderheilkd* 1997; 145: 613-618.

Lignitz E, Hirvonen J. Inflammation in the lungs of infants dying suddenly. A comparative study from two countries. *For Sci Int* 1989; 42: 85-94.

Limerick S. Sudden infant death in historical perspective. *J Clin Pathol* 1992; 45 (Suppl):3-6.

Mage T, Donner M. The Cause of SIDS and Excess Male Infant Mortality. *Journal of Sudden Infant Death Syndrome and Infant Mortality*. 1996; 1: 99-107.

Malam JE, Carrick GF, Telford DR. Staphylococcal toxins and sudden infant death syndrome. *J Clin Pathol* 1992; 45: 716-721.

Malloy MH, Freeman DH. Sudden Infant Death syndrome among Twins. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1999; 153: 736-740.

Martin K. When a baby dies of SIDS: The parents` grief and search for reason. Edmonton: Qual Institute Press, 1999.

McClain ME, Shaefer SJM. Supporting Families After Sudden Infant death. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv* 1996; 34: 30-34.

McIntosh ED, Booy R. Invasive pneumococcal disease in England and Wales: what is the true burden and what is the potential for prevention using 7 valent pneumococcal conjugate vaccine? *Arch Dis Child* 2002; 86: 403-406.

Mirchandini HG, Mirchandini IH, House D. Sudden infant death syndrome: measurement of total and specific serum immunoglobulin E (IgE). *J Forensic Sci* 1984; 29: 425-429.

Mitchell EA. Further evidence supporting a causal relationship between prone sleeping and SIDS. *J Paediatr Child Health* 1992; 28: 9-12.

Mitchell EA, Tuohy PG, Brunt JM, Thompson J, Clements MS, Stewart AW, Ford RPK, Taylor BJ. Risk Factors for Sudden Infant Death Syndrome Following the Prevention Campaign in New Zealand: A Prospective Study. *Pediatrics* 1997; 100: 835-840.

Mitchell EA, Thach BT, Thompson JM, Williams S. Changing infant's sleep position increases risk of sudden infant death syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1999; 153: 1136-1141.

Molz G. Plötzlicher Kindstod. *Ther Umsch* 1997; 54: 286-292.

Müller AM, Cronen C, Müller KM, Kirkpatrick CJ. Heterogeneous expression of cell adhesion molecules by endothelial cells in ARDS. *J Pathol* 2002; 198: 270-275.

Müller AM, Tsokos M. Pathology of Human Endothelium in Septic Organ Failure. In: Tsokos M, ed., *Forensic Pathology Reviews Vol.4*. Totowa: Humana Press Inc., 2006: 161-192.

Müller G. *Der Plötzliche Kindstod – Pathologische Anatomie und Dynamik*. Stuttgart: Thieme-Verlag, 1963.

Newbould MJ, Malam J, McMurray JM. Immunohistological localisation of staphylococcal toxic shock syndrome toxin in sudden infant death syndrome. *J Clin Pathol* 1989; 42: 935-939.

Niu MT, Salive ME, Ellenberg SS. Neonatal deaths after hepatitis B vaccine: the vaccine adverse event reporting system, 1991-1998. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1999; 153: 1279-1280.

Norvenius SG. Some medico-historic remarks on SIDS. *Acta Paediatr* 1993; 389 (Suppl.): 3-9.

Ogbuihi S, Zink P. Zelluläre Komponenten im Lungeninterstitium beim plötzlichen Kindstod – Immunhistochemische Charakterisierung. *Zeitschrift für Rechtsmedizin* 1989; 102: 133-142.

Ortmann C, Brinkmann B. The expression of P-Selectin in inflammatory and non-inflammatory lung tissue. *Int J Legal Med* 1997; 110: 155-158.

Pabst R, Gehrke I. Is the bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) an integral structure of the lung in normal mammals, including humans? *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990, 3: 131-135.

Pabst R. Is BALT a major component of the human lung immune system? *Immunology today* 1992; 13: 119-122.

Pearce J, Luke R, Bettelheim K. Sudden infant death syndrome: What questions should we ask? *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 25: 7-10.

Pearce J, Luke R, Bettelheim K. Extraintestinal *Escherichia coli* isolations from SIDS cases and other cases of sudden death in Victoria, Australia. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 25: 137-144.

Peterson DR, Chinn NM, Fisher LD. The sudden infant death syndrome: repetitions in families. *J Pediatr* 1980; 97: 265-267.

Poets CF, Schlaud M, Kleemann WJ, Rudolph A, Diekmann U, Sens B. Sudden infant death and maternal cigarette smoking: results from the lower saxony perinatal working group. *Eur J Pediatr* 1995; 154: 326-329.

Rajs J, Hammarqvist F. Sudden Infant Death in Stockholm. *Acta Paediatr Scand* 1988; 77: 812-820.

Rambaud C. Pathology of SIDS and New Understandings. *Ped Pulmonol* 1997; Suppl. 16: 120-122.

Råsten-Almqvist P, Eksborg S, Rajs J. Myocarditis and sudden infant death syndrome. *APMIS* 2002; 110: 469-480.

Remmele W, Hrsg. Pathologie. Band 3, Kapitel Atemwege und Lungen. Berlin – Heidelberg - New York: Springer-Verlag, 1997.

Richmond I, Pritchard GE, Ashcroft T, Avery A, Corris PA, Walters EH. Bronchus associated lymphoid tissue (BALT) in human lung: its distribution in smokers and non-smokers. *Thorax* 1993; 48: 1130-1134.

Riegel K. Plötzlicher Kindstod – ein Hauch von Prävention. *Münch Med Wschr* 1987; 129: 87-89.

Rintahaka PJ, Hirvonen J. The Epidemiology of Sudden Infant death Syndrom in Finland in 1969-1980. *For Sci Int* 1986; 30: 219-233.

Riße M. Tod im Neugeborenen- und Säuglingsalter. Medizinhistorische und forensisch-kriminalistische Aspekte. *Archiv für Kriminologie* 2002; 209: 169-179.

Roche WR. Immunopathology of SIDS. *J Clin Pathol* 1992; 45 (Suppl.): 46-48.

Rognum TO, Saugstad OD. Biochemical and immunological studies in SIDS victims. Clues to understanding of the death mechanism. *Acta paediatr* 1993; 389 (Suppl.): 82-85.

Rognum TO, Willinger M. The story of the „Stavanger definition”. In: Rognum TO, ed., Sudden Infant Death Syndrom. New trends in the nineties. Oslo: Scandinavian University Press, 1995: 21-25.

Rognum TO, Kleemann WJ. Obduktionsprotokolle. In: Kurz R, Kenner T, Poets C, Hrsg., Der Plötzliche Säuglingstod. Ein Ratgeber für Ärzte und Betroffene. Wien - New York: Springer-Verlag, 2000: 54-59.

Rognum TO, Arnestad M, Bajanowski T, Banner J, Blair P, Borthne A, Byard RW, Gaustad P, Gregersen M, Grøgaard J, Holter E, Isaksen CV, Jørgensen JV, Krous HF, de Lange C, Moore I, Mørland J, Opdal SH, Råsten-Almqvist P, Schlaud M, Sidebotham P, Skullerud K, Stoltenburg-Didinger G, Stray-Pedersen A, Sveum L, Vege Å. Consensus on Diagnostic Criteria for the Exclusion of SIDS. *Nordisk Rettsmedisin* 2003; 3-4: 62-73.

Roos R. Pneumonie bei Neugeborenen und jungen Säuglingen. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 1993; 141: 439-449.

Saternus KS, Walther G, Haffner HAT, Hrsg., Plötzlicher Kindstod – eine Folge der Bauchlage. In: Festschrift für Prof. H. Leithoff zum 65. Geburtstag. Heidelberg: Kriminalistik-Verlag, 1985.

Saternus KS, Grönig M, Doench K, Walter-Humke S. Der Plötzliche Kindstod – Sind wissenschaftliche Erhebungen an betroffenen Eltern ohne deren Betreuung ethisch vertretbar? *Ethik Med* 1997; 9: 187-193.

Sawaguchi T, Fujita Z, Sawagushi A. The epidemiological study on registered cases of SIDS in Tokyo: examination of the effect of autopsy on diagnosis of SIDS and the mortality statistics in Japan. *For Sci Int* 2000; 109: 65-74.

Scholle S, Zwacka G, Scheidt B, Glaser S, Oehme P, Rathsack R. Screeningprogramm zur Erfassung von Kindern mit einem erhöhten SIDS-Risiko (Plötzlicher und unerwarteter Kindstod). *Klin Pädiatr* 1989; 201: 377-381.

Scragg R, Mitchell EA, Taylor BJ, Stewart AW, Ford RPK, Thompson JMD, Allen EM, Becroft DM. Bed sharing, smoking, and alcohol in the sudden infant death syndrome. New Zealand cot death study group. *BMJ* 1993; 307: 1312-1318.

Sgrignoli AR, Yen DRL, Hutchins GM. Giant Cell and Lymphocytic Interstitial Pneumonia associated with fetal pneumonia. *Pediatric Pathology* 1994; 14: 955-965.

Siarakas S, Brown AJ, Murrell WG. Immunological evidence for a bacterial toxin aetiology in sudden infant death syndrome. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 25: 37-50.

Spiers PS. Short pregnancy interval, low birth weight and the sudden infant death syndrome. *Am J Epidemiol* 1976; 104: 15.

Statistisches Bundesamt Deutschland, 2007: Eheschließungen, Geborene und Gestorbene. www.stabu.de (Zugriffsdatum 16.05.2007).

Tonkin SL. Epidemiology of cot deaths in Auckland. *New Zea Med J* 1986; 99: 324-326.

Tschernig T, Kleemann WJ, Pabst R. Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in the lungs of children who had died from sudden infant death syndrome and other causes. *Thorax* 1995; 50: 658-660.

Tsokos M, Fehlauer F, Püschel K. Immunohistochemical expression of E-Selektin in sepsis-induced lung injury. *Int J Legal Med* 2000; 113: 338-342.

Tsokos M. Pathology of Sepsis. In: Rutty GN, ed., *Essentials of Autopsy Practice Vol.3*. London: Springer-Verlag, 2006: 39-85.

Turner KJ, Baldo BA, Carter RF, Kerr HR. Sudden infant death syndrome in South Australia. Measurement of IgE antibodies to three common allergens. *Med J Aust* 1975; 2: 855-859.

Valdes-Dapena M, ed. *Histopathology Atlas for the Sudden Infant Death Syndrome. Findings derived from the National Institute of Child Health and Human Development cooperative epidemiological study of sudden infant death syndrome (SIDS) risk factors*. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1997.

Vege Á, Rognum TO, Scott H, Aasen AO, Saugstad OD. SIDS cases have increased levels of interleukin-6 in cerebrospinal fluid. *Acta Paediatr* 1995; 84: 193-196.

Vege Á, Rognum TO. Sudden infant death syndrome, infection and inflammatory responses. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004; 42: 3-10.

Vennemann M, Findeisen M, Butterfaß-Bahloul T, Brinkmann B, Köpcke W, Bajanowski T, Richter A, Mitchell EA, the GeSID Group. Modifiable risk factors for SIDS in Germany: Results of GeSID. *Acta Paediatr* 2005; 94: 655-660.

Vennemann M, Findeisen M, Butterfaß-Bahloul T, Brinkmann B, Köpcke W, Bajanowski T, Richter A, Mitchell EA, the GeSID Group. Infection, health problems, and health care utilisation, and the risk of sudden infant death syndrome. *Arch Dis Child* 2005; 90: 520-522.

Wasielowski R v. Demaskierung von Gewebeeptopen nach Formaldehydfixierung durch Mikrowellenerhitzung: Einsatzmöglichkeiten in der Pathologie. *Med. Hochsch Hannover: Diss.*, 1995.

Watson E, Gardner A, Carpenter R. An Epidemiological and Sociological Study of unexpected death in Infancy in nine Areas of Southern England. *Med Sci Law* 1981; 21: 78-88.

Wedgewood RJ. Review of USA Experience. In: Camps FE, Carpenter RG, eds., *Sudden and unexpected death in infancy (Cot Deaths)*. Bristol: Wright and Sons Ltd., 1972: 28.

Weigl JA, Bader HM, Everding A, Schmitt HJ. Population-based burden of pneumonia before school entry in Schleswig-Holstein, Germany. *Eur J Paediatr* 2003; 162: 309-316.

Weigl J, Forster J, Berner R, Puppe W, Neumann-Häfelin D, Meyer CU, Zepp F, Schmitt HJ. Virale Atemwegsinfektionen mit saisonaler Häufung bei Kindern. Eine Übersicht mit Schwerpunkt auf Daten aus Deutschland. *Bundesgesundheitsblatt für Gesundheitsforschung und Gesundheitsschutz* 2003; 46: 9-19.

Weller TH, Coons HJ. Fluorescent antibody studies with agents of varicella and herpes zoster propagated in vitro. *Proc Soc Exptl Biol* 1954; 86: 789-794.

Wennergren G, Alm B, Oyen N, Helweg-Larsen K, Milerad J, Skjaerven R, Norvenius G, Lagercrantz H, Wennborg M, Daltveit AK, Markestad T, Irgens LM. The decline in the incidence of SIDS in Scandinavia and its relation to risk-intervention campaigns. *Acta Paediatr* 1997; 86: 963-968.

Willinger M, James LS, Catz C. Defining the sudden infant death syndrome (SIDS): deliberations of an expert panel convened by the National Institute of Child Health and Human Development. *Pediatr Pathol* 1991; 11: 677-684.