

Aus dem
Institut für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München
kommissarischer Vorstand Prof. Dr. med. M. Graw

**IMMUNHISTOCHEMISCHE
UNTERSUCHUNGEN DER MASTZELLEN
AN GEHIRNEN VON SIDS-FÄLLEN**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ines Magdalena Krammer
aus
Traunstein

2011

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. A. Büttner

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Peter Zill

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 27.01.2011

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
1.1. SIDS – das Sudden Infant Death Syndrome.....	1
1.1.1. Definition und Historie	1
1.1.2. Epidemiologie und Statistik	3
1.1.3. Ätiologie.....	9
1.1.4. SIDS und Nervensystem	13
1.1.4.1. Schlaf-Wach-Rhythmus.....	13
1.1.4.2. Chemische Neuropathologie.....	16
1.1.4.3. Klinische Pathophysiologie	19
1.1.4.4. Anatomische Pathologie	20
1.2. Mastzellen.....	23
1.2.1. Vorkommen und Morphologie.....	23
1.2.2. Einteilung und Komponenten der Mastzellen.....	24
1.2.3. Funktionen.....	27
1.2.3.1. Immunsystem.....	27
1.2.3.2. Angiogenese.....	28
1.2.3.3. Gewebe-Remodeling	29
1.2.3.4. Mastzellen im peripheren Nervensystem.....	30
1.2.3.5. Mastzellen im Gehirn.....	31
1.2.4. Ausgewählte Krankheitsbilder	32
1.2.4.1. Allergisches Asthma bronchiale	32
1.2.4.2. Entzündliche demyelinisierende Krankheiten am Beispiel Multiple Sklerose	34
1.2.4.3. Andere entzündliche Erkrankungen.....	35
1.2.5. Immunhistochemische Marker der Mastzellen	36
1.3. Fragestellung	38
2. Material und Methoden	39
2.1. Untersuchungsmaterial	39
2.2. Antikörper.....	42
2.3. Untersuchungen	42
2.3.1. Neuropathologische Untersuchungen	42
2.3.2. Immunhistochemische Untersuchungen	42
2.3.3. Morphometrie.....	45
2.3.3.1. Graue Substanz	45
2.3.3.2. Weiße Substanz.....	47
2.3.4. Statistische Auswertung	48

3. Ergebnisse	49
3.1. Morphologische Befunde	49
3.2. Immunhistochemische Befunde	50
3.2.1. Telenzephalon, Graue Substanz	50
3.2.2. Telenzephalon, Weiße Substanz	51
3.2.3. Hippocampus.....	53
3.2.4. Kleinhirn (Cerebellum)	53
3.2.5. Thalamus	55
3.2.6. Basalganglien und Capsula interna	56
3.2.7. Regionen und Kerngebiete des Hirnstamms	57
4. Diskussion	59
4.1. Strukturgleichheit	59
4.2. Methode	60
4.3. Ergebnisse.....	61
5. Zusammenfassung	65
6. Literaturverzeichnis	66
7. Anhang	79
7.1. Daten der SIDS-Fälle.....	79
7.2. Daten der Kontrollfälle	80
7.3. Todesursachen der Kontrollfälle	81
7.4. Ergebnisse.....	82
7.4.1. Vergleich der Parameter von SIDS- und Kontrollfällen	82
7.4.2. Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchungen.....	83
7.5. Chemikalien.....	84
7.6. Abkürzungsverzeichnis	85
8. Danksagung	89
9. Lebenslauf	90

1. Einleitung

1.1. SIDS – das Sudden Infant Death Syndrome

1.1.1. Definition und Historie

Das Sudden Infant Death Syndrome (SIDS), oder in der deutschen Terminologie der „plötzliche Kinds-“ oder „Säuglingstod“, bleibt bis zum heutigen Tag ein Mysterium hinsichtlich der Ätiologie. Trotz intensiver Forschung konnte bisher keine ursächliche Krankheit bzw. Fehlfunktion bestimmter lebenswichtiger Abläufe oder Organe gefunden werden. Trotzdem musste für dieses Phänomen eine einheitliche Definition gefunden werden, da frühere Bezeichnungen wie „cot death“, „crib death“ (Krippentod) und „sudden and unexpected death in infancy“ (plötzlicher und unerwarteter Tod in der Kindheit) als inakzeptabel befunden wurden. So einigte man sich 1963 bei der First Conference on Causes of Sudden Deaths in Infants in Amerika auf die Bezeichnung „sudden death syndrome“ [Wedgewood und Benditt 1965].

Sechs Jahre später, auf der Second Conference on Causes of Sudden Deaths in Infants definierte Beckwith das SIDS erstmals als „plötzlichen Tod jedes Säuglings oder Kleinkindes, der unerwartet eintritt und bei dem sich durch eine sorgfältige postmortale Untersuchung keine adäquate Todesursache nachweisen lässt“. Im Prinzip ist diese Beschreibung bis heute gültig und wurde nur durch wenige Kriterien ergänzt, z.B. durch zusätzlichen Untersuchungen auf verschiedenen Ebenen [Bergman et al. 1970, Byard und Krous 2003]. So wird in den USA der plötzliche Kindstod seit 1991 durch das National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) als „der plötzliche Tod eines Kindes unter ei-

nem Jahr“ definiert, „der nach einer genauen Untersuchung des Falles, einschließlich einer ausführlichen Autopsie, Untersuchungen am Todesort und Nachprüfung der klinischen Anamnese ungeklärt bleibt“ [Willinger et al. 1991].

Um eine internationale Vergleichbarkeit zu gewährleisten wurde 2004 durch eine internationale Gruppe ein neuer Definitionsvorschlag erarbeitet, der genauere Kriterien zur klinischen Vorgeschichte, zu Ermittlungsumfang und -tiefe und den Todesumständen enthält. Diese allgemeinen Empfehlungen zu Untersuchung, Befundbewertung und Klassifikation ebneten somit den Weg für eine international gültige Definition [Krous et al. 2004].

Oft sind jedoch trotz genauer Autopsie und anderen weiterführenden Untersuchungen viele Krankheiten, die unter Umständen zum Tod eines Kleinkindes führen können, nicht immer offensichtlich, wie z.B. Asphyxie oder angeborene Herzfehler. Zuerst sollten also mit den zur Verfügung stehenden Mitteln alle anderen Möglichkeiten ausgeschlossen werden, bevor SIDS als die Todesursache eines Babys festgelegt wird; der plötzliche Kindstod bleibt daher nach wie vor eine Ausschlussdiagnose [Byard und Krous 2003, Sparks und Hunsaker 2002].

Schon im Alten Testament wird erstmals ein Fall erwähnt, der nach dem heutigen Wissensstand und im Hinblick auf die Geschichte auch ein plötzlicher Kindstod gewesen sein kann: Im „Buch der Könige“ wird vermutet, dass eine Frau sich versehentlich in der Nacht auf das Kind legte und es dadurch keine Luft mehr bekam. Die Ansicht, dass Eltern ihre Kinder versehentlich im Schlaf erstickten, da sie in demselben Bett schliefen, wurde bis ins 20. Jahrhundert hinein vertreten. Um diesem Unglücksfall vorzubeugen, wurden damals metallene oder hölzerne „Käfige“ entwickelt, die in der Nacht über die schlafenden Kinder gestülpt werden sollten. Diese Überzeugung ging soweit, dass im Florenz des

18. Jahrhunderts ein Kindstod in der Exkommunikation der Eltern resultierte, wenn diese keinen solcher sog. „arcuccios“ für das Kind verwendet hatten [Byard 1994, Byard und Cohle 1994, Byard und Hilton 1997].

Zu jenen Zeiten war der plötzliche Kindstod jedoch noch keine Diagnose an sich und erst in den letzten Jahrzehnten wurde immer mehr Wert gelegt auf die Untersuchung der genaueren Todesumstände. Es wurden Autopsien durchgeführt, erst spärlich, in der heutigen Zeit jedoch verpflichtend, und nach und nach Theorien über den rätselhaften Tod der Kleinkinder aufgestellt. Zusammengefasst wurden diese Theorien im sog. „triple risk model“, welches das Zusammenspiel von prädisponierenden Faktoren, Stress und verborgenen Anfälligkeiten beschreibt, die in Kombination das Risiko für den Kindstod erhöhen können [Byard 1991, Byard und Krous 2001, Fleming et al. 2000].

1.1.2. Epidemiologie und Statistik

Frühere Daten zur Häufigkeit des plötzlichen Kindstodes sind schwer zu bewerten, da die Kriterien und Definitionen noch relativ jung sind und sich lange Zeit einem ständigen Wandel unterzogen; sogar heutzutage sind die Statistiken nicht uneingeschränkt vertrauenswürdig, da z.B. in Deutschland bis in die 1990er Jahre nur ca. 50 % aller unerwartet verstorbenen Säuglinge überhaupt obduziert wurden [Kleemann et al. 1997].

In den westlichen Nationen ist der plötzliche Kindstod in den letzten Jahren zur häufigsten postneonatalen Todesursache avanciert [Penning 2006], obwohl die Gesamtzahlen gesunken sind: Bis vor zwölf Jahren lag die Zahl der an plötzlichem Kindstod verstorbenen Kleinkinder relativ konstant bei ca. 2 von 1 000 Lebendgeborenen. In den letzten Jahren ist

jedoch weltweit ein Rückgang der Mortalität zu beobachten [Penning 2006, Bajanowski und Poets 2004].

So sind im Jahr 2008 in Deutschland laut dem Statistischen Bundesamt nur noch 215 Kinder an plötzlichem Kindstod verstorben, davon 131 Jungen und 84 Mädchen. Diese Zahlen entsprechen insgesamt 0,32 an SIDS verstorbenen Babys pro 1 000 Lebendgeborene bzw. 0,37 Jungen und 0,25 Mädchen pro 1 000 Lebendgeborene des jeweiligen Geschlechts [Statistisches Bundesamt 2010].

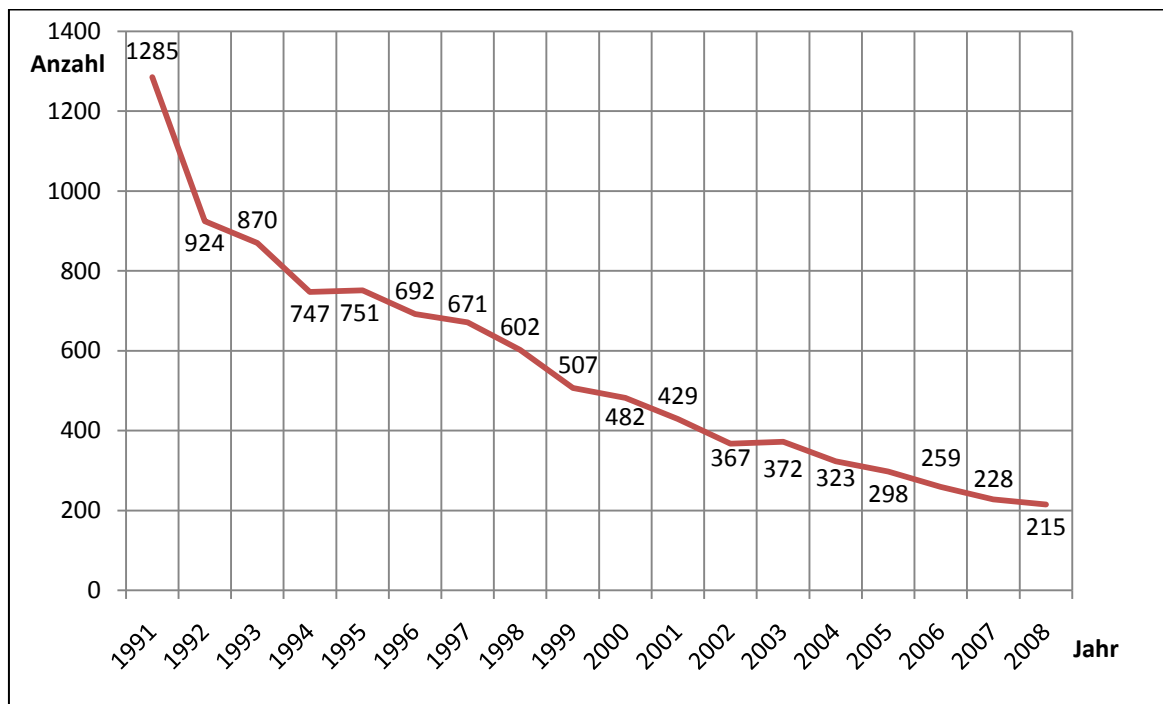


Abb. 1: SIDS-Fälle in Deutschland 1991 bis 2008

Diagramm nach Daten der Mortality Database der World Health Organization (1991 bis 2001) und des Statistischen Bundesamtes (2002 bis 2008)

Fraglich ist dabei, worauf der Rückgang zurückzuführen ist: auf genauere Untersuchungen bei fraglichen Kindstodesfällen, wobei sich im Vergleich zu früher häufiger eine andere, spezifische Todesursache finden lässt, oder auf die Reduktion der Risikofaktoren (s.u.), woran in den letzten Jahren v.a. durch Aufklärung der Eltern intensiv gearbeitet wurde [Sparks und Hunsaker 2002].

SIDS tritt in der Regel im ersten Lebensjahr auf während die Kinder schlafen. Dabei herrschen verschiedene Ansichten darüber, ob auch schon im ersten Lebensmonat von plötzlichem Kindstod gesprochen werden kann. Kommt es im zweiten Lebensjahr eines Kleinkindes zu einem entsprechenden Todefall wird dieser jedoch per definitionem (s.o.) nicht als plötzlicher Kindstod bezeichnet [Sparks und Hunsaker 2002, Penning 2006].

Der Altersgipfel der an SIDS verstorbenen Kinder liegt bei zwei bis vier Monaten [Penning 2006], wobei 90 % der betroffenen Kinder jünger als sechs Monate sind [Willinger et al. 1991] und ein Großteil bis zum Todeszeitpunkt objektiv gesund zu sein scheint [Buckley et al. 2001]. Die erhöhte Sterberate in diesem Zeitraum wird häufig darauf zurückgeführt, dass die von der Mutter übertragenen Antikörper (IgG) schon abgebaut sind, während das eigene Immunsystem der Babys sich in diesem Lebensabschnitt noch in der Entwicklung befindet und somit das Infektionsrisiko steigt [Zinka et al. 2004, Althoff 1977, Bell et al. 1996]. So ist auch zu beobachten, dass in Gebieten mit erhöhten Infektionsraten SIDS häufiger auftritt und außerdem ein Zusammenhang zwischen gesteigerten SIDS-Raten und Keuchhustenepidemien besteht [Rognum 2000].

Darüber hinaus spielen sowohl die Jahreszeit als auch das Geschlecht des Kindes eine Rolle: So steigt die Häufigkeit von SIDS-Fällen in Herbst und Winter; Erklärungsversuche dafür fußen auf der allgemein höheren Infektionsrate in den kälteren Monaten [Zinka et al. 2004, Douglas et al. 1996, Gupta et al. 1996]. Desweiteren sind männliche Babys häufiger betroffen als weibliche (ca. 60 % zu 40 %):

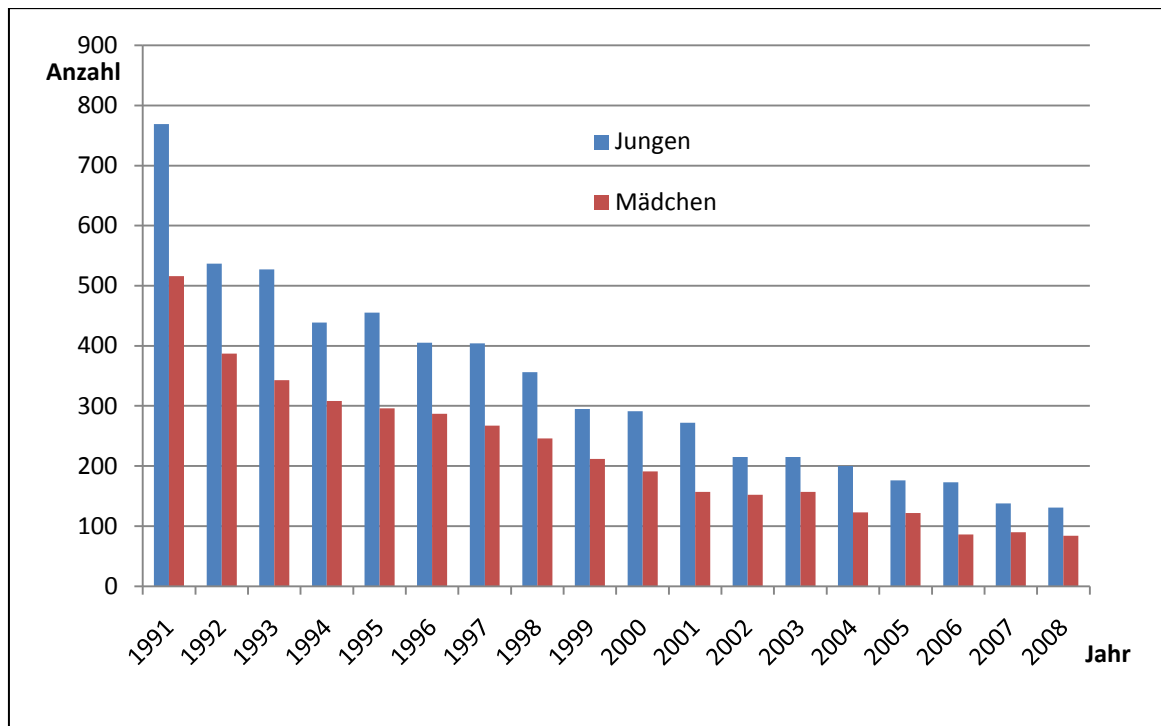


Abb. 2: Geschlechterverhältnis beim plötzlichen Kindstod in Deutschland 1991 bis 2008
 Diagramm nach Daten der Mortality Database der World Health Organization (1991 bis 2001)
 und des Statistischen Bundesamtes (2002 bis 2008)

Dabei muss berücksichtigt werden, dass Jungen bei sämtlichen Todesursachen im Säuglingsalter überrepräsentiert sind und somit keine Kausalität zugrunde gelegt werden kann [Zinka et al. 2004, Sparks und Hunsaker 2002].

Es werden in der Literatur weitere zahlreiche Risikofaktoren genannt, welche vermutlich den plötzlichen Kindstod begünstigen, aber nicht als direkte Ursache anzusehen sind: Häufig werden die Kinder in Bauchlage aufgefunden, weshalb 1994 vom U.S. Public Health Service in Zusammenarbeit mit der American Academy of Pediatrics, der SIDS Alliance und der Association of SIDS and Infant Mortality Programs die sog. „back-to-sleep“-Kampagne initiiert wurden, die Eltern überzeugen sollte, darauf zu achten, dass die Kinder auf dem Rücken schlafen. Die Kampagne war von Erfolg gekrönt indem die Anzahl der an SIDS verstorbenen Kinder deutlich abnahm [American Academy of Pediatrics 1992, Gib-

son et al. 1995, Zinka et al. 2004]. Auch in Deutschland wurde in Nordrhein-Westfalen im Jahr 1991 eine Aufklärungskampagne durchgeführt mit dem Effekt, dass auch hier die Fallzahlen deutlich sanken [Bajanowski und Poets 2004, Schlaud et al. 1999]. Erklärungsversuche dafür, warum das Schlafen auf dem Bauch so riskant für die Babys ist, reichen von einer erhöhten Anzahl von Mikroorganismen in der Nasenschleimhaut über Kohlendioxid-Rückatmung, Asphyxie in Abhängigkeit von der Schlafposition, reduzierter Aufwachreaktion bis hin zu veränderter Gehirndurchblutung [Stanley und Byard 1991, Zinka et al. 2004]. Nach den erfolgreichen Initiativen gegen die Bauchlage bei Säuglingen wurde zusätzlich auch das Schlafen in Seitenlage als relativer Risikofaktor bewertet, da die Möglichkeit besteht, dass das Kind auf den Bauch rollt und somit die oben genannten Gefahren entstehen [Scragg und Mitchell 1998, Mitchell et al. 1999, Oyen et al. 1997].

In diesem Zusammenhang wurde auch die Ausstattung von Kinderbetten kritisiert und anstatt der Verwendung von Decken und großen Kissen wurde empfohlen, die Kinder zur Risikoreduktion in einem eigenen Bett mit härterer Matraze, einem Schlafsack und ohne Kuscheltiere schlafen zu lassen [Kemp et al. 1994, Kleemann 1996, Mitchell et al. 1996, Penning 2006]. Desweiteren ist bei übermäßig ausgestaffierten Kinderbetten die Gefahr der Überhitzung nicht zu unterschätzen; die Opfer werden nicht selten durchgeschwitzt und mit erhöhten Temperaturen (bis zu 40 °C) aufgefunden [Bajanowski und Poets 2004, Penning 2006].

Auch Frühgeborene (vor der 37. Schwangerschaftswoche) sind einem erhöhten SIDS-Risiko ausgesetzt, ebenso werden Untergewicht bei Neugeborenen (weniger als 2 500 g Geburtsgewicht), Gelbsucht des Säuglings und Apgar Scores¹ kleiner sieben nach einer und nach fünf Minuten als Faktoren gewertet, die die Gefahr erhöhen, an plötzlichem Kindstod zu versterben. Auch gewisse klinische Zeichen wurden mit SIDS in Verbindung

¹ Apgar Score: Punktesystem zur Beurteilung des klinischen Zustandes von Neugeborenen, der die Komponenten Herzfrequenz, Atmung, Reflexauslösbarkeit, Muskeltonus und Hautfarbe beinhaltet.

gebracht: Spätere Opfer wiesen gehäuft schon postnatal Tachypnoe, Bradykardie oder Tachykardie und Hypothermie oder Fieber auf [Hoffman et al. 1988, Lewak et al. 1979, Sparks und Hunsaker 2002].

Eigenschaften und Verhaltensweisen der (werdenden) Mutter sind in diesem Bezug ebenfalls nicht zu vernachlässigen: Nikotinkonsum und/oder Drogenabusus während der Schwangerschaft, niedriges Gewicht der Mutter (weniger als 50 kg), geringe Gewichtszunahme während der Schwangerschaft (weniger als 10 kg), Anämie, Alter unter 20 Jahren und bestimmte Infektionskrankheiten, wie z.B. sexuell übertragbare Krankheiten oder Harnwegsinfekte, können als Risikofaktoren gewertet werden [Hoffman et al. 1988, Lewak et al. 1979], ebenso wie ein geringer sozio-ökonomischer Status der Mutter [Byard und Cohle 1994]. Auch Säuglinge, die nicht gestillt werden, oder im Bett der Mutter bzw. Eltern schlafen (insbesondere bei rauchenden Müttern) sind einem erhöhten Risiko ausgesetzt [Carpenter et al. 2004, Vennemann et al. 2005].

In verschiedenen Studien konnten darüber hinaus ein Zusammenhang mit der ethnischen Herkunft nachgewiesen werden [Adams 1985, Bulterys 1990, Oyen et al. 1990, Irwin et al. 1992, Mitchell et al. 1993]. Auch der National Vital Statistics Report des Center for Disease Control and Prevention aus den USA zeigt, dass die Todesraten von an SIDS verstorbenen Kindern in der nativen amerikanischen Bevölkerung am höchsten sind (124 Fälle pro 100 000 Lebendgeborene), gefolgt von schwarzen (108,8/100 000) und weißen Populationen (50,5/100 000). Am geringsten sind die SIDS-Raten bei Asiaten (27,7/100 000), Mexikanern (24,8/100 000) und Süd-/Mittelamerikanern (19,9/100 000) [Matthews und MacDorman 2006].

Außerdem entstand in den 1970ern eine Diskussion über eine mögliche familiäre Häufung von SIDS, angeregt durch einen von Steinschneider veröffentlichten Artikel [1972], in dem er mehrere Fälle innerhalb einer Familie beschrieb. Im Jahr 1994 und somit 22 Jahre später wurde jedoch die Mutter der angeblichen SIDS-Opfer wegen Mordes an ihren Kindern verurteilt und Steinschneiders Theorie, die besagte, dass ein genetischer Defekt die Kinder für Apnoe-Episoden anfällig macht, von der Fachwelt verworfen. Schon früher erklärte DiMaio [1988] die These über das gehäufte Vorkommen von SIDS in einer Familie als falsch und entwarf folgende Faustregel: Der erste plötzliche Kindstod in einer Familie kann als solcher gewertet werden (wenn die Kriterien der NICHD erfüllt sind), ein folgender sollte als unbekannte Todesursache diagnostiziert und ein dritter SIDS-Fall als Mord verurteilt werden [Sparks und Hunsaker 2002, Pinholster 1994].

1.1.3. Ätiologie

Wie bereits erwähnt gibt es für die Ätiologie des plötzlichen Kindstodes bis heute keine zufriedenstellende Erklärung. Dessen ungeachtet entstehen seit Jahrzehnten zahlreiche Theorien zu diesem Thema: Die momentan Gängigste behauptet, dass ein SIDS-Kind im Schlaf eine Reihe von pathophysiologischen Ereignissen durchlebt, wie Hypoxie, Hyperkapnie und Azidose, die eine zentrale Apnoe und Atemstillstand triggern und in tödlicher Dysrhythmie mit Schock gipfeln [Sparks und Hunsaker 2002].

Einige Studien beschreiben, dass betroffene Kinder an veränderten Schlafgewohnheiten, Atempausen während des Schlafens, Störungen beim Aufwachen, verändertem Herzrhythmus sowie an einer gestörten Koordination und Kontrolle über diese untereinander verbundenen Funktionen leiden und postulieren diese Symptome als wahrscheinliche Me-

chanismen, die bei SIDS zum Tod führen [Sturner et al. 1980, Harper et al. 1981, Schulte et al. 1982, Schechtman et al. 1992, Kahn et al. 1992, Schechtman et al. 1996, Sparks und Hunsaker 2002].

Auch die sog. ALTE (apparent life-threatening events), früher auch als „near-miss-SIDS“ betitelt, also „beinahe-Kindstodesfälle“, weisen in diese Richtung, obwohl neueste Thesen behaupten, dass zwischen Kontrollfällen und SIDS-Opfern keine signifikanten Unterschiede bezüglich all dieser Faktoren bestehen [Sparks und Hunsaker 2002, Goto 1999]. Bei solchen ALTE werden die Kinder extrem blass, leblos, zyanotisch oder im Apnoe-Zustand aufgefunden und in der Regel erfolgreich reanimiert, wobei eine Ursache für den lebensbedrohlichen Zustand oft nicht gefunden wird [Byard 1991, Bajanowski und Poets 2004]. Es entbrannten folglich Diskussionen darüber, ob die ALTE ein Zeichen für ein erhöhtes Risiko für einen späteren plötzlichen Kindstod darstellen, doch die Mehrheit der SIDS-Opfer hatte zuvor keine solche Episode erlebt und umgekehrt lag die Inzidenz der ALTE-Kinder für einen nachfolgenden plötzlichen Kindstod bei unter 1 % [Byard 1991, Byard und Cohle 1994, Bajanowski und Poets 2004].

Ein weiterer Erklärungsversuch zur Ätiologie basiert auf der „Anaphylaxie-Hypothese“: Vor 50 Jahren wurde erstmals behauptet, dass die betroffenen Kinder eine allergische Reaktion durchleben, die letztendlich zum Tod führt [Parish et al. 1960]. Die am meisten diskutierten Allergene waren dabei bestimmte Protein-Komponenten in Kuhmilch: Es wurde vermutet, dass bei den Kindern während des Schlafes eine Regurgitation der Milch in die Luftröhre eine anaphylaktische Reaktion hervorruft. Diese Theorie verknüpft sich wiederum mit der Diskussion um die Schlafposition, da der eben beschriebene Vorgang beim Schlafen auf dem Bauch leichter ablaufen kann als in Rückenlage [Parish et al. 1960, Coombs und Holgate 1990, Buckley et al. 2001]. Für die „Anaphylaxie-Hypothese“ spre-

chen erstens die Ähnlichkeiten in der Lungen-Pathologie von anaphylaktischem Schock, chronischer Überempfindlichkeit und dem plötzlichen Kindstod, wie z.B. Ödeme, Petechien, Infiltration des Gewebes durch Entzündungszellen (Eosinophile) und ein Verlust der Architektur des Atemwegsepithels [Holgate et al. 1994, Coombs et al. 2000]. Zweitens wurden ähnliche anaphylaktische Symptome wie bei den SIDS-Kindern auch im Tierversuch mit Meerschweinchen gefunden, die an Kuhmilch gewöhnt waren und denen diese anschließend in leicht narkotisiertem Zustand in die Luftröhre appliziert wurde [Holgate et al. 1994, Parish et al. 1960, Devey et al. 1976].

In den 1980er Jahren wurden außerdem Theorien über einen Zusammenhang von SIDS und bakteriellen Infektionen aufgestellt. Vor allem toxinproduzierende Clostridien wurden als Ursache für den plötzlichen Kindstod genannt, wobei kontaminierter Honig als Infektionsweg vermutet wurde [Arnon et al. 1981, Sonnabend et al. 1985]. In einer nachfolgenden Studie konnte diese These jedoch nicht belegt werden [Byard et al. 1992]. Auch *Escherichia coli* stand unter dem Verdacht, SIDS zu verursachen, wenngleich auch diese zeitweise sehr populäre Behauptung nicht gehalten werden konnte [Byard und Krous 2003].

Zum dritten wurde *Helicobacter pylori* in einer Studie von Kerr im Jahr 2000 als ein weiterer möglicher Auslöser des SIDS bezeichnet [Kerr et al. 2000], doch auch diese Veröffentlichung konnte genaueren Nachforschungen nicht standhalten, so dass sich letztendlich auch die „Bakterien-Hypothese“ als Ursache für den plötzlichen Kindstod nicht durchsetzen konnte.

Weitere mögliche Ursachen des SIDS wurden intensiv untersucht, jedoch konnten keine endgültigen Nachweise zur Verifizierung erbracht werden. So war und ist bis heute eine populäre These, dass der plötzliche Tod eines Kindes mit seiner Matratze zusammenhängt; entweder aufgrund giftiger Gase (u.a. Phosphor, Arsen) aus dem Gewebe [Sprott 2004] oder wegen dem Pilz *Scopularis brevicaulis*, der schädliches Antimon und Phosphor produzieren soll [Richardson 1994]. Doch keine dieser Behauptungen konnte tatsächlich bewiesen werden [Byard und Krous 2003].

Ebenso populär waren Theorien, die den plötzlichen Kindstod mit vorangehenden Impfungen (insbesondere mit dem Impfstoff gegen Diphtherie, Tetanus und Keuchhusten) der Kleinkinder in Zusammenhang brachten, nachdem 1979 in Tennessee, USA zwei Babys innerhalb von 24 Stunden nach einer Impfung an SIDS verstorben waren [Centers for Disease Control and Prevention 1979]. Infolgedessen wurden diesbezüglich mehrere Studien erarbeitet, die jedoch keine Kausalität belegen konnten [Byard und Krous 2003, Walker et al. 1987, Byard et al. 1991, Cherry et al. 1988].

Zusammenfassend ist zu sagen, dass im Lauf der Zeit zahlreiche Theorien zur Ätiologie des plötzlichen Kindstodes entstanden sind und zu diesem Thema zunehmend intensive Forschung betrieben wird. Trotzdem kann wohl nie eine genaue Ursache gefunden werden, da das Sudden Infant Death Syndrome multifaktorielle Hintergründe hat und vermutlich als Resultat einer unglücklichen Verkettung von prädisponierenden Faktoren beim Kind und epidemiologischen Risiken zu werten ist [Goldwater 2003].

1.1.4. SIDS und Nervensystem

1.1.4.1. Schlaf-Wach-Rhythmus

Auf der Suche nach Ursachen des SIDS wird mit besonderer Intensität im Bereich des Gehirns geforscht, da sich viele Theorien bzgl. der Ätiologie (Arrhythmie, Nicht-Erwachen bei kritischen Situationen, Apnoe und Hypoxie) auf Unregelmäßigkeiten bei kardiopulmonalen Funktionen und im Schlaf-Wach-Rhythmus der SIDS-Kinder stützen. Infolgedessen spielen Schlaf und Erwachen sowie deren Regulation eine wichtige Rolle.

Der Schlaf an sich wird allgemein eingeteilt in einen REM (rapid eye movement)- und einen NREM (non-REM)-Schlaf, wobei beim Säugling zu Beginn NREM- und REM-Phasen etwa gleich lang sind. Im Verlauf der ersten Lebensmonate verschiebt sich das Gleichgewicht zugunsten des NREM-Schlafes und ein zirkadianer Rhythmus entwickelt sich. Im gleichen Zeitraum verändern sich auch Funktionen, die das Herz und die Atmung betreffen. Das Gehirn erfährt eine immense Entwicklung u.a. auch hinsichtlich der genannten Systeme und das Hirngewicht wird fast verdoppelt. Angesichts dessen ist es nachvollziehbar, dass schon kleinste Irritationen in dieser vulnerablen Periode extreme Folgen nach sich ziehen können [Kinney et al. 1992]. Laut Hoffman et al. [1988] lagen bei fast der Hälfte der SIDS-Fälle geringfügige gastrointestinale oder bronchiale Erkrankungen in den letzten zwei Lebenswochen vor. Diese Tatsache lässt den Verdacht aufkommen, dass harmlose Krankheiten in Kombination mit anderen Risikofaktoren zum plötzlichen Kindstod beitragen können.

Darüber hinaus wurde diskutiert, ob die betroffenen Kinder möglicherweise an einem Defekt in autonom regulierten Funktionen leiden, da im Vorfeld bei einem Großteil der Opfer Unregelmäßigkeiten bei Herzfrequenz und Atmung festgestellt wurden, was wiederum die Theorie einer zentralen neuronalen Dysfunktion unterstützt [Kinney et al. 1992].

Weitere Forschungen beziehen sich auf die life-threatening events (s.o.), wie Arrhythmie, Verlegung der oberen Atemwege [Schwartz et al. 1988] oder Hypoglykämie infolge eines metabolischen Defekts [Harpey et al. 1990], und dem vermuteten Unvermögen der Kinder, zu erwachen, wenn sie im Schlaf eines der genannten Ereignisse erleiden [Kinney et al. 1992]. Die Tatsache, dass bei einem Großteil der an SIDS verstorbenen Kinder intrathorakale Petechien bei der Obduktion gefunden werden, weist darauf hin, dass zumindest agonal eine gewisse obstruktive Apnoe auftritt [Abu-Osbu et al. 1981, Kinney et al. 1992]. Die Theorie besagt, dass jedes Kind Formen von ALTE im Schlaf erlebt, doch während die meisten in solchen Situationen aufwachen und sich die Herz- und/oder Atemaktivität wieder normalisiert, ist dies den SIDS-Kindern nicht möglich und [Kinney et al. 1992].

Daher wird in der Forschung ein besonderes Augenmerk auf Hirnregionen gelegt, die in Zusammenhang mit der Regulation von autonomen kardiopulmonalen Funktionen sowie von Schlaf und Erwachen stehen. Für die Kontrolle der Atem- und Herztätigkeiten treten dabei Regionen im Hirnstamm in den Vordergrund, insbesondere die *Formatio reticularis* (FR) der ventralen Medulla, der *Nucleus tractus solitarii* (NTS), der dorsale *Nucleus motorius* des Nervus vagus sowie der *brachiale Komplex* der Pons, da in diesen Kernen die gemeinsame Endstrecke für Kreislauf- und Atemzentrum zusammenläuft [Millhorn und Eldridge 1986, Moss et al. 1986].

Für das Erwachen ist in erster Linie das ARAS, das aufsteigende retikuläre Aktivierungssystem verantwortlich, das aus Neuronengruppen der FR im Hirnstamm (serotoninerge und noradrenerge Projektionen), dem basalen Vorderhirn (cholinerge Projektionen) und dem Hypothalamus (histaminerge Projektionen) hervorgeht [Vanderwolf und Stewart 1988, Foote und Morrison 1987, McCormick 1989].

Der NREM-Schlaf wird hingegen durch Neuronengruppen in folgenden Hirnregionen reguliert: *Area postrema*, NTS, angrenzende Bereiche der FR, anteriore Hypothalamus-

Bereiche und basales Vorderhirn. Auch diese Nervenzellgruppen kooperieren mit dem Ziel NREM-Schlaf, während zusätzlich andere Neurone aus der FR via Gamma-Amino-Buttersäure (GABA) Nervenzellen des ARAS, das ja das Erwachen einleitet, inhibieren [Chase und Roth 1990, Vertes 1990]. Der REM-Schlaf dagegen ist gekennzeichnet durch mehrere Ereignisse, unter anderem die „rapid eye movements“, also die schnellen Augenbewegungen an sich, kortikale Aktivierung und Muskelatonie, die durch bestimmte Neuronengruppen im Hirnstamm reguliert werden [Vertes 1990].

In diesem Zusammenhang zog auch die Epiphyse und das dort produzierte Hormon Melatonin die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich. Sparks und Hunsaker [1988] fanden heraus, dass bei SIDS-Kindern die Zirbeldrüse deutlich kleiner ist als bei Kindern mit bekannter Todesursache [Sparks und Hunsaker 1988, Kinney et al. 1992]. Melatonin, ein wichtiger Botenstoff im Rahmen der Schlaf-Wach- und zirkadianen Rhythmik, ist insbesondere in der Kontrolle des REM-Schlafes involviert, indem es die serotoninergeren Neurone im Hirnstamm reguliert, die normalerweise während des REM-Schlafes nicht aktiv sind. In den ersten diesbezüglichen Theorien wurde vermutet, dass im REM-Schlaf Reize, die eine gewisse ZNS-Aktivität auch während des Schlafes aufrecht erhalten, das Gehirn nicht erreichen und Störungen im REM-Schlaf ein Erwachen erschweren und somit prädisponierend für SIDS sein können [Vertes 1986]. Bei Messungen der Melatonin-Werte in Blut und Liquor zeigte sich, dass bei SIDS-Kindern die Melatonin-Konzentration in beiden Flüssigkeiten deutlich geringer war als bei Kontrollfällen [Sturner et al. 1990].

1.1.4.2. Chemische Neuropathologie

Weitere Untersuchungen stützen sich auf Messungen von Enzymen und Botenstoffen in Gehirn und Liquorflüssigkeit.

So wurde festgestellt, dass Beta-Endorphin im Liquor von SIDS-Kindern signifikant erhöht ist im Gegensatz zu Kindern mit bekannter Todesursache, woraus sich schließen lässt, dass Beta-Endorphine (Peptide, die unter anderem Apnoe induzieren können) in der Ätiologie eine Rolle spielen können. Darüber hinaus wurden parallel die Beta-Endorphin-Werte im NTS gemessen, wobei ein inverser Zusammenhang festgestellt wurde: Niedrige Werte im NTS bedingten hohe Werte im Liquor, womit auch die Frage nach der Herkunft des quantitativ erhöhten Beta-Endorphins in der Gehirnflüssigkeit erklärt war [Coquerel et al. 1992, Storm et al. 1994].

Auch Studien über Interleukin-6 (IL-6), Hypoxanthin, Interleukin-1 β (IL-1 β) und Tumornekrosefaktor α (TNF α) im Liquor wurden veröffentlicht, mit dem Ergebnis, dass IL-6- und Hypoxanthin-Werte bei den SIDS-Kindern signifikant erniedrigt waren im Vergleich zu Kontrollfällen. Dies wurde von den Autoren auf eine Stimulation des Immunsystems zurückgeführt. Die Werte der Entzündungsmarker IL-1 β und TNF α zeigten jedoch keine Unterschiede im Vergleich zu den Kontrollen [Vege et al. 1998].

Bei Messungen von pH und Laktat (Milchsäure) im Gehirn wurde herausgefunden, dass die meisten SIDS-Kinder vermutlich schnell sterben und keine signifikante Hypoxie unmittelbar vor dem Tod erleben, da die Werte der untersuchten Fälle größtenteils denen der Kontrollgruppe entsprachen, die keine Hypoxie vor dem Tod erlitten hatten (geringe Laktat- und hohe pH-Werte) [Butterworth und Tennant 1989].

Desweiteren wurden im Bereich des Hypothalamus die Konzentrationen von Serotonin (5-HT), Tryptophan (5-HT-Vorläufer) und 5-Hydroindol-Essigsäure (5-HIAA, Nebenprodukt des 5-HT-Katabolismus) sowie die Enzymaktivitäten von Cholinacetyltransferase

(ChAT, Enzym zur Acetylcholin-(ACh)-Synthese), Acetylcholinesterase (AChE, Enzym zum ACh-Abbau) und Monoaminoxidase A (MAO-A) und B (MAO-B) (Abbau von 5-HT) gemessen mit dem Ergebnis, dass sowohl die 5-HT-Konzentration als auch die ChAT-Aktivität reduziert war, während die MAO-A-Aktivität erhöht war. Es liegt dabei auf der Hand, dass die erniedrigten 5-HT-Werte mit der Erhöhung der MAO-A-Aktivität zusammenhängen, doch ob dies als Folge oder Ursache für SIDS zu werten ist, bleibt ungeklärt [Sparks und Hunsaker 1991a].

Schon in den 1980er Jahren wurden außerdem Aktivitäten der Dopamin-beta-Hydroxylase (DBH) sowie die Katecholamin-metabolisierenden Enzyme Tyrosinhydroxylase (TH), DOPA-Decarboxylase (DD) und Katechol-O-Methyl-Transferase (COMT) in Thalamus, Hypothalamus, Putamen und Nucleus caudatus gemessen und mit den Ergebnissen von Kontrollen verglichen [Ozand und Tildon 1983]. Dabei wurden für DD- und COMT-Aktivitäten keine Unterschiede zu den Kontrollen festgestellt, während die Aktivität von TH erhöht und von DBH erniedrigt war. Im Gegensatz dazu wurde jedoch von Kalaria et al. [1993] herausgefunden, dass in den Basalganglien von SIDS-Kindern verminderte TH- und ChAT-Aktivität sowie geringere Dopamin-Konzentration vorherrscht. Auch hierbei wird von den Autoren die These favorisiert, dass dies in Zusammenhang mit Apnoe und Hypoxie unmittelbar vor dem Tod steht [Kalaria et al. 1993].

Weitere Forschungen festigten die These, dass SIDS-Kinder unter einer kardiopulmonalen Dysfunktion leiden: Denoroy et al. [1980] zeigten, dass im Hirnstamm von SIDS-Kindern erniedrigte Aktivitäten von Phenylethanolamin-N-Methyltransferase (PNMT, Adrenalin-synthetisierendes Enzym) und DBH auftraten. Diese Daten und noch weitere aus Follow-up-Studien derselben Arbeitsgruppe verstärken die Theorie, dass bei SIDS-Kindern in bestimmten Regionen des Hirnstammes, die für die Kontrolle von kardiopulmonalen Funkti-

onen zuständig sind, Störungen vorliegen könnten [Denoroy et al. 1980, Denoroy et al. 1987, Chigr et al. 1989].

Im Hinblick auf die Kontrolle der Atmung gerieten auch die Neuropeptide Enkephalin und Substanz P (Gegenspieler im Bereich der zentralen Atemkontrolle) ins Visier der Forscher [Sparks und Hunsaker 2002]. In ersten Studien von Bergström et al. [1984] wurden zwar keine Unterschiede bei den Werten von Met-Enkephalin in Medulla, Pons, Hypothalamus und Cortex im Vergleich zu Kontrollen gefunden, jedoch war die Konzentration von Substanz P in der Medulla von SIDS-Kindern signifikant erhöht. In späteren Veröffentlichungen wurde außerdem dargestellt, dass in der Pons von SIDS-Kindern mehr Substanz-P-immunoreaktive Nervenfasern vorkommen als in Kontrollen [Takashima et al. 1994], obwohl eine jüngere Studie zu dem Ergebnis kommt, dass bzgl. Substanz P kein Unterschied zwischen Fällen und Kontrollen besteht [Jordan et al. 1997].

Weiterhin wurden Werte von Somatostatin, Beta-Endorphin und Neurotensin (Apnoe-Induktoren) gemessen und man stellte fest, dass diese bei Säuglingen, die an plötzlichem Kindstod verstorben waren, fast im gesamten Hirnstammbereich deutlich erhöht waren; ebenso wurden mehr Bindungsstellen für Neurotensin und Serotonin gefunden [Chigr et al. 1992, Coquerel et al 1992]. Auch diese Ergebnisse wurden als weiteres Indiz für die Theorie gewertet, die eine kardiorespiratorische Dysfunktion als (Teil-)Ursache für das Sudden Infant Death Syndrome zugrunde legt [Chigr et al. 1992].

1.1.4.3. Klinische Pathophysiologie

Ein Ziel der SIDS-Forschung war und bleibt natürlich, einen aussagekräftigen Marker zu finden, der schon zu Lebzeiten eines Kleinkindes dessen Risiko, an plötzlichem Kindstod zu sterben, quantifizieren kann. Zu diesem Zweck führten Clancy und Spitzer 1985 EEG-Messungen (Elektro-Enzephalographie) an „Risiko-Kindern“ (Babys, die ALTE überlebt hatten, Geschwister von SIDS-Opfern und Kinder mit neurologischen Beeinträchtigungen, die unter Apnoe litten) durch. Insbesondere die ersten zwei Gruppen wiesen jedoch eine normale kortikale Aktivität auf, so dass kein Zusammenhang mit der SIDS-Pathogenese zugrunde gelegt werden konnte [Clancy und Spitzer 1985].

Desweiteren wurden frühe akustisch evozierte Potenziale² (FAEP bzw. BAEP, brain stem auditory evoked potentials) bei ALTE-Säuglingen und SIDS-Geschwistern mit denen von gleichaltrigen unauffälligen Babys verglichen [Nodar et al. 1980, Pettigrew und Rahilly 1985]. Erhöhte FAEP kamen bei fast allen Kleinkindern vor, die ALTE erlebt hatten [Nodar et al. 1980]. Diese und weitere Studien-Ergebnisse wurden von den Autoren als Zeichen einer verzögerten Entwicklung in der neuronalen Verschaltung im Hirnstamm interpretiert [Pettigrew und Rahilly 1985]; als ein SIDS-Marker intra vitam konnten jedoch auch die FAEP nicht etabliert werden [Sparks und Hunsaker 2002].

² FAEP: neurologische Untersuchung zur Beurteilung der zentralen akustischen Bahn im Hirnstamm.

1.1.4.4. Anatomische Pathologie

Auch pathologisch-anatomisch wurden im Rahmen von Forschungen im Lauf der letzten Jahrzehnte deutliche Unterschiede zwischen SIDS-Kindern und Vergleichsfällen offensichtlich.

Die erste Studie zum Hirngewicht kam zu dem Ergebnis, dass die Gehirne von Kindern, die an SIDS verstorben waren, schwerer als normal sind. Die Autoren räumten jedoch selbst die Unzuverlässigkeit der Vergleichswerte ein, da sie in der Regel von Kindern stammten, die an einer schweren Krankheit verstorben waren und der Umkehrschluss ebenso bedeuten könnte, dass die Gehirne dieser Kinder im Vergleich zum „Normalgewicht“ zu leicht waren [Shaw et al. 1989]. Mehrere nachfolgende Studien zu diesem Thema konnten dementsprechend vorlegen, dass die Hirngewichte von SIDS-Kindern nicht signifikant erhöht waren bzw. dass die Hirngewichte von Babys, die an plötzlichem Kindstod verstorben sind, eher als Normwerte angesehen werden können als die von Säuglingen, die verschiedenen anderen Krankheiten erlegen waren [u.a. Falck und Rajs 1995, Kinney et al. 1991].

Gliosen³ im Zusammenhang mit dem plötzlichen Kindstod wurden zuerst von Naeye [1976] erwähnt. Diese Narben in der *Formatio reticularis* im Hirnstamm von SIDS-Kindern wurden als eine Folge chronischer Hypoxie während wiederholten und/oder einmalig längeren Apnoe-Phasen unmittelbar vor dem plötzlichen Tod interpretiert, woraus sich das Bild einer reaktiven Gliose ergeben würde [Naeye 1976]. Folgestudien zu diesem Thema kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen: Einige konnten ebenfalls Astrogliosen nachweisen [u.a. Kinney et al. 1983, Becker 1990], andere wiederum nicht [u.a. Oehmi-

³ (Astro-)Gliose: erhöhte Anzahl von Gliazellen bzw. Astrozyten (zerebrale Stützzellen) in einem geschädigten Bereich des Gehirns.

chen et al. 1989, Ambler et al. 1981], wobei hier die Vergleichbarkeit daran scheitert, dass von den jeweiligen Arbeitsgruppen unterschiedliche, z.T. nicht genau definierte Hirnregionen untersucht und verschiedene Färbungen, Kontrollen und quantitative Methoden angewandt wurden [Kinney et al. 1992]. Doch die Tatsache, dass bei einigen SIDS-Kindern in voneinander unabhängigen Studien Gliosen gefunden wurden, könnte darauf hinweisen, dass ein Teil der Opfer entweder an chronischer Hypoxie (s.o.) oder aber an einer grundlegenden, unbekanntem und nicht-hypoxischen Verletzung des Hirnstamms litt. Desweiteren könnten die Gliosen zufällige Läsionen sein, die nicht in Zusammenhang mit dem plötzlichen Kindstod stehen [Kinney et al. 1992].

In diesem Zusammenhang erregte 1999 eine Veröffentlichung besonderes Aufsehen, die behauptete, dass der Grad der Gliose proportional zur Anzahl gerauchter Zigaretten der Mutter während der Schwangerschaft sei [Storm et al. 1999].

Auch in Bezug auf dendritische Fortsätze von Neuronen wurden Normabweichungen im Hirnstamm von SIDS-Kindern festgestellt. So fanden Quattrochi et al. [1985] eine erhöhte Dichte von dendritischen Fortsätzen in bestimmten Kerngebieten des Hirnstamms, wobei auch hier eine Korrelation zu Atmung und Aufwachreaktion vermutet wurde.

In weiteren Studien wurde dargestellt, dass bei Säuglingen allgemein noch vor der Geburt eine entwicklungsbedingte Vermehrung der dendritischen Fortsätze stattfindet und eine rapide Dezimierung der Dendriten erfolgt, sobald die Kinder auf der Welt sind. Infolgedessen sahen die Autoren in den resistenten Fortsätzen bei SIDS-Kindern ein Zeichen verzögerter Entwicklung in Atemkontrollzentren des Hirnstamms [Takashima et al. 1985, Takashima und Becker 1985]. Auch die Reduktion von Fortsätzen von Motoneuronen im zervikalen spinalen Vorderhorn und im Nucleus nervi hypoglossi war Gegenstand weiterer Un-

tersuchungen, wobei hier keine Unterschiede zwischen SIDS-Opfern und gleichaltrigen Kontrollen auftraten [Takashima et al. 1990].

Untersuchungen, die die weiße Substanz betreffen, kamen zu dem Ergebnis, dass auch bzgl. der Markbildung Störungen in den Gehirnen von SIDS-Kindern zu beobachten sind. Kinney et al. [1991] stellten Verzögerungen in der Myelinisierung fest, obwohl die markbildenden Oligodendrozyten ausreichend entwickelt und zahlreich präsent waren. Dabei wurde weiterhin beschrieben, dass sowohl Regionen, in denen die Myelinisierung schon vor der Geburt beginnt, als auch solche, in denen das Mark erst postnatal gebildet wird, von der Hypomyelinisierung betroffen sind. Daraus folgt, dass die ursächliche Störung schon im vorgeburtlichen Zeitrahmen beginnt und auch in der Neugeborenen-Phase anhält [Kinney et al. 1991, Kinney et al. 1992]. Besonders betroffen sind dabei pyramidale und zerebelläre Strukturen und (para)limbische Areale, während (viszero)sensorische Bahnen und die weiße Substanz im parietalen und okzipitalen sensorischen Lobus von der mangelnden Myelinisierung ausgespart blieben [Kinney et al. 1991, Kinney et al. 1992]. Interessant wird diese Entdeckung wenn man bedenkt, dass laut Schechtman et al. [1992] bei Kindern, die später an SIDS sterben, die Bewegungsfähigkeit im Vergleich zu nicht betroffenen Kindern eingeschränkt ist. Darüber hinaus sind limbisch-paralimbische Regionen in kardiopulmonale Funktionen involviert und auch bei Fasern des ARA-Systems, das bei der Aufwachreaktion eine wichtige Rolle spielt, wurde eine verminderte Markscheidenbildung nachgewiesen. Die möglichen Ursachen für die Hypomyelinisierung werden auch hier wieder als eventuelle Folgen einer Hypoxie interpretiert [Kinney et al. 1992].

Einen weiteren interessanten Ansatz liefern auch Sparks und Hunsaker, die 1991 erste Forschungsergebnisse zum Zusammenhang zwischen SIDS und Alz-50⁴ veröffentlichten. Sie fanden eine erhöhte Anzahl von Alz-50-immunreaktiven Neuronen im Hippocampus von SIDS-Kindern im Vergleich zu Kontrollfällen und folgerten daraus, dass die Vermehrung dieser speziellen Neurone bei SIDS-Fällen eine degenerative Veränderung in Kombination mit Apoptose bedeutet, entsprechend der Alzheimer-Krankheit oder dem Down-Syndrom [Sparks und Hunsaker 1991b, Sparks et al. 1996].

1.2. Mastzellen

1.2.1. Vorkommen und Morphologie

Mastzellen wurden zuerst von Paul Ehrlich im Jahr 1878 beschrieben. Nach Überlieferungen hielt er die intrazellulären Granula fälschlicherweise für Phagozytosematerial oder Nährstoffe und benannte die Zelle nach dem griechischen Wort für „Brust“ (μαστός bzw. mastos) in der Annahme, dass die Mastozyten andere Zellen mit Hilfe der Granula ernährten [Crivellato et al. 2004].

Mastzellen gehören als sog. Entzündungszellen zu den Leukozyten und entstehen aus hämatopoetischen Stammzellen. Sie treten noch vor ihrer endgültigen Reifung aus dem Knochenmark in den Blutkreislauf ein, wo sie als agranuläre Vorläuferzellen zirkulieren und sich schließlich in verschiedene Gewebe verteilen um dort als lokales Reservoir zu

⁴ Alz-50: Antikörper, der Antigen-Protein erkennt, das in bestimmten Neuronen von Alzheimer- und Down-Syndrom-Patienten gebildet wird [Wolozin et al. 1986].

dienen, bevor sich ihre endgültige Reifung vollzieht [Gurish und Austen 2001, Rodewald et al. 1996].

Sie kommen in allen Lebewesen mit Blutkreislauf und dabei wiederum in nahezu allen durchbluteten Geweben vor, besonders zahlreich in der Milz, aber ebenfalls häufig in peripheren Geweben wie Epithelien, der Haut, den Atemwegen und dem Gastrointestinaltrakt sowie in der Nähe von Blut- und Lymphgefäßen, Nerven, glatter Muskulatur und mukösen Drüsen [Galli 2005, Crivellato et al. 2004].

Unter dem Lichtmikroskop erscheinen die Zellkörper rund bis länglich mit einem Durchmesser von 8 bis 20 µm. Der einzelne Kern ist rund oder oval und enthält zahlreiche Einschlüsse, die sich elektronenmikroskopisch in Lipidkörper und sekretorische Granula unterscheiden lassen [Crivellato et al. 2004].

1.2.2. Einteilung und Komponenten der Mastzellen

Die Mastzellen werden entsprechend der Hauptkomponenten der Sekretgranula in drei verschiedene Untergruppen eingeteilt: Die Granula der MCT-Zellen enthalten hauptsächlich die Protease Tryptase und befinden sich v.a. in der respiratorischen und intestinalen Mucosa, während MCTC-Zellen neben Tryptase auch Chymase und andere Proteasen wie Carboxypeptidase A und Cathepsin G beinhalten und am häufigsten in Bindegeweben von Haut, Myokard, Lymphknoten, Konjunktiva, Synovia und der Mucosa im Intestinalbereich vorkommen. Einen dritten Mastzell-Typus stellen MCC-Zellen dar, die zwar Chymase, aber keine Tryptase exprimieren, und sich am häufigsten in Submucosa und Mucosa von Dünndarm und Kolon finden [Irani et al. 1986, Irani und Schwartz 1994, Crivellato et al. 2004]. Die neutralen Serinproteasen Tryptase und Chymase spalten Interleukine, verschie-

denste Neuropeptide des Bronchial- und Intestinalsystems sowie Kollagen und andere Matrixkomponenten; Tryptase scheint darüber hinaus als Wachstumsfaktor für Fibroblasten, Endothelzellen und Muskelzellen zu fungieren [Blair et al. 1997, Gruber et al. 1997, Schwartz et al. 1987, Metcalfe et al. 1997].

Neben den Proteasen enthalten die Mastzellen auch den Entzündungsmediator Histamin (ein biogenes Amin), der sich an Proteoglykane (v.a. Heparin, aber auch Chondroitinsulfate) gebunden in den Granula befindet. Histamin spielt bei der allergischen Reaktion Typ I (IgE-vermittelt, Soforttyp) eine wichtige Rolle, indem es Vasodilatation, Vasopermeabilität, die Kontraktion von bronchialer und intestinaler glatter Muskulatur sowie die Mukusproduktion beeinflusst [Crivellato et al. 2004]. Heparin dagegen ist ein potentes Antikoagulans, das antikallikreine und antikomplementäre Wirkungen hat und dem weiterhin angiogene Eigenschaften zugeschrieben werden [Ribatti et al. 1987].

Ein weiterer Bestandteil der Granula sind ca. 30 verschiedene Zytokine: Unter anderem wird Tumornekrosefaktor α (TNF α) produziert, der auf verschiedenen Wegen zahlreiche proinflammatorische Effekte hervorruft, wie z.B. die Anregung neutrophiler Granulozyten [Walsh et al. 1991, Kenny et al. 1993]. Weitere Zytokine der Mastzelle sind mehrere Interleukin-Untergruppen (u.a. IL-1, -4, -5, -6, -8), die die Kommunikation der Leukozyten untereinander und zu anderen Immunzellen koordinieren [Crivellato et al. 2004].

Die verschiedenen Rezeptoren auf der Oberfläche der Mastzellen stellen ebenfalls einen wichtigen Faktor dar. Im Rahmen der allergischen Sofortreaktion ist der Fc ϵ RI-Rezeptor von Bedeutung, der die Fc-Region von Immunglobulin E (IgE) bindet und somit die Mastzelle aktiviert [Crivellato et al. 2004]. Desweiteren werden zahlreiche Adhäsionsmoleküle,

wie z.B. β 1- und α v β 3-Integrine, und Rezeptoren für chemotaktische⁵ Faktoren (z.B. Chemokinrezeptor CCR3) exprimiert, die sich ebenfalls auf die Mastzellaktivierung auswirken und die Verteilung der Zellen innerhalb von Geweben kontrollieren [Vliagoftis und Metcalfe 1997, Ra et al. 1994].

Die Rezeptor-Tyrosinkinase c-Kit treibt nicht nur die terminale Reifung der Mastzellen voran, sondern beeinflusst darüber hinaus Aktivierung, Degranulation und Überleben der Mastzellen [Valent und Bettelheim 1992, Crivellato et al. 2004].

Mastzellen tragen außerdem Urokinase-Rezeptoren auf der Oberfläche. Diese stehen vermutlich mit anderen Zellfunktionen, wie z.B. der Angiogenese (s. Absatz 1.3.3.2.), in Relation, da Urokinase in verschiedene damit zusammenhängende Abläufe, etwa Fibrinolyse und Migration von Fibroblasten und Endothelzellen, mit eingebunden ist [Crivellato et al. 2004, Gruber et al. 1995].

Es ist anzumerken, dass die genannten Oberflächenmoleküle und Granula-Komponenten keinesfalls bei allen Mastzellen in gleicher Verteilung und Häufigkeit anzufinden sind. Die Zusammensetzung unterscheidet sich vielmehr nicht nur zwischen verschiedenen Spezies, sondern auch innerhalb eines Lebewesens je nach Lokalisation der Zellen. Wie schon erwähnt werden die Mastzellen nach den Proteasen eingeteilt, die sie in ihren Granula enthalten [Irani und Schwartz 1994], doch nicht nur die Quantität und Qualität der Proteasen unterscheidet die Mastzellen: So werden z.B. in der Atemwegsmucosa von Rhinitis-Patienten von den MCT-Zellen vorwiegend IL-5 und -6 und nur geringfügig IL-4 ausgeschüttet, während die MCTC-Zellen fast nur IL-4 und wenig IL-5 und -6 sezernieren. Diese und ähnliche Beobachtungen werfen die Vermutung auf, dass die Untergruppen der Mastzellen sich nicht nur in ihren Kapazitäten bzgl. der Interleukinproduktion sondern infolgedessen auch in ihren Rollen in der Entzündungsreaktion unterscheiden. Um dieses

⁵ Chemotaxis/Chemokine: Chemotaxis beschreibt die gerichtete Beeinflussung der Fortbewegung von Zellen entlang eines Konzentrationsgefälles von bestimmten Glykoproteinen, den Chemokinen.

Phänomen der über die normale Ausdifferenzierung hinausgehenden Spezialisierung zu beschreiben, spricht man von einer „Heterogenität der Mastzellen“, die sich in verschiedenen Geweben in der unterschiedlichen Zusammensetzung von Proteasen, Zytokinen, Oberflächenmarkern und der Reaktion auf externe Stimuli niederschlägt [Kitamura 1989, Galli 1990, Bradding et al. 1995, Crivellato et al. 2004].

1.2.3. Funktionen

1.2.3.1. Immunsystem

Die am längsten bekannte Funktion der Mastzellen besteht in der Erstantwort bei allergischen Reaktionen vom Typ I. Der in dieser Hinsicht wichtigste Mastzellrezeptor ist der FcεRI-Rezeptor, der mit hoher Affinität die Fc-Region von IgE bindet, das bei Kontakt mit einem spezifischen Antigen von den Plasmazellen sezerniert wird. Nach Bindung von Antigen an die FcεRI-gebundenen Antikörper vernetzen sich die Rezeptoren, was zur Ausschüttung großer Mengen der in den Mastzellgranula enthaltenen Entzündungsmediatoren führt. Diese wirken wiederum auf andere Effektorzellen des Immunsystems und die Entzündungskaskade nimmt ihren Lauf [Crivellato et al. 2004, Ishizaka und Ishizaka 1984, Serafin und Austen 1989].

Die Mastzellen wirken jedoch auch in einer zweiten Welle im Inflammationsprozess: Aktivierte Mastzellen schütten nicht nur Histamin, Interleukine, Proteasen und TNFα aus, sondern produzieren darüber hinaus Prostaglandine und Leukotriene aus in den Lipidkörpern gespeicherter Arachidonsäure [Crivellato et al. 2004, Dvorak 1991], die ebenfalls zur Entzündungsreaktion beitragen. Desweiteren wird die Expression bestimmter Gene angeregt, so dass die de-novo-Synthese von Zytokinen, Chemokinen und TNFα beginnt und die

Mastzellen somit eine Wirkung über die Sofortreaktion hinaus besitzen [Crivellato et al. 2004]. Es werden auch IgE-unabhängige Funktionen der Mastzellen erforscht, die ebenfalls zur Aktivierung von immunkompetenten Zellen und zur Initiierung des Entzündungsprozesses beitragen [Stassen et al. 2002].

Zusammenfassend ist zu sagen, dass Mastzellen sowohl dem erworbenen als auch dem angeborenen Immunsystem zuzurechnen sind [Mekori und Metcalfe 2000] und dabei eine Art Sentinel-Position⁶ innehaben in Bezug auf die Reaktion gegen verschiedenste Parasiten, Bakterien und unter Umständen sogar Viren. In diesem Zusammenhang fanden Marone et al. [2000] heraus, dass menschliche Mastzellen durch die HIV-1 Proteine gp120 und Tat aktiviert werden und somit in Zukunft bei der AIDS-Bekämpfung von Bedeutung sein könnten.

1.2.3.2. Angiogenese

Seit nicht allzu langer Zeit wird den Mastzellen auch im Rahmen der Angiogenese eine tragende Rolle zugeschrieben. Die Wachstumsfaktoren, deren diesbezügliche Aufgaben nicht nur das Sprießen neuer Gefäße, sondern auch Migration, Proliferation und Überleben von Endothelzellen beinhalten, werden von vielen Zellen gebildet: embryonale Zellen (Zellen des Endoderm, Astrozyten, Müller-Zellen), Zellen des Immunsystems (Makrophagen, T-Lymphozyten, Plasmazellen, Neutrophile, Eosinophile), Fibroblasten sowie Tumorzellen. Für eine Beteiligung der Mastzellen bei der Gefäß-Neogenese spricht die Tatsache, dass sie sich häufig in der Nähe von Kapillaren und Lymphgefäßen befinden und auch

⁶ Sentinel-Position: Wächter-Position, entsprechend dem Sentinel-Lymphknoten-Konzept im Rahmen der Erkennung und Therapie bestimmter bösartiger Krebserkrankungen (z.B. Brustkrebs).

vermehrt im Zuge der Angiogenese bei Hämangiomen, rheumatoider Arthritis, Polypen, Wundheilung und Ovulation auftreten [Dvorak 1991, Crivellato et al. 2004].

Es ist bekannt, dass die Mediatoren, die unter anderem in den Mastzellen exprimiert werden, verschiedene Wirkungen in der Angiogenese aufweisen: Neben den oben genannten Zytokinen werden in den Mastzellen auch Fibroblast Growth Factor 2 (FGF-2) sowie Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) produziert, die positiv auf die Neubildung von Gefäßen einwirken [Qu et al. 1995, Grützkau et al. 1998]. Auch Histamin, Heparin und die Protease Tryptase wirken angiogen, indem sie die Proliferation von vaskulären Endothelzellen anregen und die Ausbildung und Formation neuer Gefäße begünstigen; Tryptase insbesondere bei der Vaskularisierung von Tumoren (B-Zell Non-Hodgkin-Lymphom, Multiples Myelom, Myelodysplastische Syndrome, chronische lymphatische Leukämie und malignes Melanom) [Ribatti et al. 1987, 1999, 2002, 2003, Sörbo et al. 1994]. Zusätzlich haben auch noch weitere Mastzell-Zytokine wie $\text{TNF}\alpha$, Transforming (oder Tumor) Growth Factor β (TGF- β) und IL-8 nachweislich Einfluss auf physiologische und tumorassoziierte Angiogenese [Blair et al. 1997].

1.2.3.3. Gewebe-Remodeling

Auch im Umbau von verschiedenen Geweben haben Mastzellen bzw. die von ihnen gebildeten Mediatoren zahlreiche Funktionen: Die verschiedenen Zytokine und Wachstumsfaktoren wie Histamin, Heparin, Tryptase, FGF-2, $\text{TNF}\alpha$ und TGF- β stimulieren hier sowohl Fibrose als auch die Proliferation von Myofibroblasten; Tryptase und FGF-2 außerdem die Vermehrung von Fibroblasten [Ruoss et al. 1991, Artuc et al. 2002]. TGF- β wirkt darüber hinaus positiv auf die Wundheilung durch Induktion bzw. Vereinfachung von gerichteter Zellmigration, Angiogenese, Aufbau von Granulationsgewebe sowie chemotaktischer An-

lockung von Mastzellen. Diese sind damit in der Lage, den Faktor selbst zu bilden als auch auf ihn zu reagieren [Gruber et al. 1994, Taipale et al. 1995]. Desweiteren beeinflusst der Platelet-derived Growth Factor (PDGF), der von den Mastzellen in Wundgewebe sezerniert wird, den Heilungsprozess von Anfang an [Rouss et al. 1991, Artuc et al. 2002].

Tryptase stimuliert nicht nur Fibroblasten zur Synthese und Ausschüttung von Kollagen und Kollagenase, sondern spaltet auch Fibronectin und Kollagen Typ IV [Cairns und Walls 1997]. Außerdem ist Tryptase in der Lage, die Proliferation glatter Muskelzellen in den Atemwegen voranzutreiben, was bei Krankheiten wie z.B. bronchialem Asthma im Zusammenhang mit Hyperplasie der glatten Muskulatur von Bedeutung ist [Berger et al. 2001]. Auch Chymase wirkt auf das Gewebe-Remodeling ein indem es Kollagen Typ IV spaltet und dermal-epidermale Verbindungen auflöst [Crivellato et al. 2004].

1.2.3.4. Mastzellen im peripheren Nervensystem

Schon länger ist bekannt, dass Mastzellen in der Nähe von Nerven und Nervensträngen verschiedenster Organe gehäuft auftreten [Stead et al. 1987, Crivellato et al. 1991]. In weiterführenden Studien wurde gezeigt, dass eine elektrische Nervenstimulation die Degranulation von Gewebsmastzellen provoziert und dieser Effekt durch Atropin oder Capsicain unterbunden werden kann [Javed et al. 1992]. Schon 1980 zeigten Foreman und Jordan, dass Neurotransmitter und -peptide bei Mastzellen die Degranulation induzieren können. Die Mastzellen selbst sind umgekehrt in der Lage, auf Nervenfasern einzuwirken: entweder durch Ausschüttung von Histamin, das die Wechselwirkungen zwischen Mastzellen und Nerven verstärkt, oder durch Sekretion der Proteasen Tryptase und Chymase, welche durch Spaltung von Neuropeptiden deren Effekte verringern [Foreman und Jordan 1980].

Ein weiterer Faktor im Zusammenhang zwischen dem Nerven-Netzwerk und den Mastzellen ist der Nerve Growth Factor (NGF), der ähnlich dem TGF- β die Mastzellen beeinflusst und gleichsam von ihnen selbst produziert wird. Die Effekte von NGF auf Mastzellen beinhalten Stimulation von Proliferation, Differenzierung, Überleben und Mediatorsekretion [Matsuda et al. 1991]. So zog beispielsweise eine Injektion von NGF in junge Ratten eine Vermehrung und Vergrößerung der Mastzellen im peripheren Gewebe nach sich [Aloe und Levi-Montalcini 1977]. Außerdem ist nachweislich im Rahmen von autoimmunen oder entzündlichen Vorgängen (v.a. bei Patienten mit multiplen Allergien) vermehrt NGF im Blutkreislauf vorhanden, was vermuten lässt, dass der Faktor in diesem Zusammenhang eine Rolle spielt [Bonini et al. 1996].

1.2.3.5. Mastzellen im Gehirn

Eine Studie von Dropp aus dem Jahr 1979 zeigt, dass im Gegensatz zu früheren Ergebnissen unter physiologischen Umständen durchaus Mastzellen im Gehirn von Menschen vorkommen [Dropp 1979]. Es stellte sich heraus, dass in 79 % der von ihm untersuchten 97 Gehirne Mastzellen in verschiedenen Hirnregionen auftraten, und zwar insbesondere in der Epiphyse, dem Hypophysenstiel, der Area postrema, dem Thalamus, dem Plexus choroideus und den Leptomeningen um Epiphyse und Hypophysenstiel [Dropp 1979]. Eine weitere interessante Entdeckung war, dass die Zellen v.a. bei Personen im jungen Alter (bis 19 Jahre) gehäuft aufzufinden waren und im Laufe des Alterns sich die Anzahl der Mastzellen verringerte. Unterschiede zwischen den Geschlechtern konnten nicht nachgewiesen werden, mit Ausnahme der Area postrema, wo bei Männern mehr Mastzellen als bei Frauen gefunden wurden. Ebenso gab es keine Differenzen zwischen gesunden und

verletzten (z.B. infolge Apoplex, Lobotomie) Gehirnen oder solchen, die an erworbenen oder angeborenen Enzephalopathien gelitten hatten [Dropp 1979].

Dropp [1979] fand weiterhin heraus, dass in den von ihm untersuchten fetalen Gehirnen keine Mastzellen auftraten. Ab einem Alter von ca. 3 Monaten waren zuerst in der Epiphyse Mastzellen zu finden, ab 14 Monaten zusätzlich im Hypophysenstiel und im Alter von 3,5 Jahren auch in der Area postrema und dem Plexus choroideus. Lambracht-Hall et al. [1990] zeigten dementsprechend, dass die Mastzellen während der Entwicklung via Blutgefäße ins Gehirn einwandern.

Auch wird den Mastzellen seit Kurzem eine Funktion in der Regulation der Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke eingeräumt; die beiden diesbezüglichen Untersuchungen wurden bislang jedoch nur an Tieren (Ratten bzw. Tauben) vollzogen [Esposito et al. 2001, Zhuang et al. 1996].

1.2.4. Ausgewählte Krankheitsbilder

1.2.4.1. Allergisches Asthma bronchiale

Das allergische Asthma (extrinsisches Asthma) wird durch Allergene in der Umwelt getriggert im Gegensatz zum intrinsischen bzw. nicht-allergischen Asthma, das durch Infekte, Medikamente oder andere toxische Stoffe hervorgerufen wird. Beiden Typen des Asthmas sind die drei Hauptcharakteristika der Erkrankung gemeinsam: bronchiale Entzündung, Hyperreaktivität und endobronchiale Obstruktion, zu deren Entstehung sowohl genetische Veranlagung als auch die jeweiligen Auslöser beitragen. Klinische Leitsymptome sind die in verschiedenem Ausmaß und anfallsweise auftretende Atemnot sowie ein expiratorischer Stridor [Herold 2007].

Beim allergischen Asthma wird durch Allergenexposition entweder eine IgE-vermittelte Soforttyp-Reaktion (Allergie Typ I) oder eine Spätreaktion (late-phase allergic response, LPR) nach 6 - 12 Stunden ausgelöst; eine Kombination beider Reaktionen ist möglich (sog. dual reaction) [Herold 2007, Metcalfe et al. 1997].

Bei der Sofortreaktion ist insbesondere der oben bereits erwähnte FcεRI-Rezeptor involviert, der v.a. von Mastzellen exprimiert wird. Wie schon beschrieben wird die Ausschüttung von Histamin, Heparin, Proteasen, Prostaglandinen und Leukotrienen sowie diversen Zytokinen aus den Mastzellgranula durch Bindung von spezifischem Antigen an die Rezeptor-assoziierten IgE-Moleküle aktiviert. Im Falle des Asthmas führen diese Mediatoren zur Entzündung des Bronchialsystems; darüber hinaus werden bronchiale Hyperreaktivität und Obstruktion begünstigt [Galli 1997]. Es muss in diesem Zusammenhang erwähnt werden, dass nicht nur Mastzellen den betreffenden FcεRI-Rezeptor exprimieren, sondern auch verschiedene andere Zellen wie Basophile, Eosinophile, dendritische Zellen, Epithelzellen, Makrophagen und Monozyten [Page et al. 2001]. Trotz dieser Masse an FcεRI-Rezeptor-präsentierenden Zellen spielen die Mastzellen die Hauptrolle in der allergischen Sofortreaktion, da sie zahlenmäßig in den kritischen Geweben überwiegen und im Vergleich am meisten Mediatoren aufweisen, die Bronchospasmus induzieren können [Page et al. 2001].

Die Spätreaktion sowie die chronischen Bronchialentzündung werden von den Mastzellen wie folgt beeinflusst: Die im Rahmen der Sofortreaktion ausgeschütteten Mediatoren führen zur - für die Spätreaktion charakteristischen - Leukozyteninfiltration des betroffenen Gewebes. So übt beispielsweise Histamin chemotaktische Wirkung auf Leukozyten aus und auch Interleukine sind in der Lage, andere entzündungsspezifische Zellen zu aktivieren [Metcalfe et al. 1997]. Mastzellen und ihre Mediatoren nehmen also im Bronchialgewebe

von Asthmatikern sowohl bei der frühen als auch bei der späten und chronischen Entzündungsreaktion einen großen Stellenwert ein.

1.2.4.2. Entzündliche demyelinisierende Krankheiten am Beispiel Multiple Sklerose

Schon vor über 100 Jahren wurde über das Vorkommen von Mastzellen bei entzündlichen Hirnerkrankungen berichtet [Neumann 1890].

Die Multiple Sklerose (Enzephalomyelitis disseminata) stellt eine chronisch-entzündliche Krankheit mit unbekannter Ätiologie und multifaktorieller Genese aus diesem Formenkreis dar, bei der zahlreiche Demyelinisierungs-Herde im zentralen Nervensystem auftreten. Im Zusammenhang mit dem vermutlich autoimmun bedingten Entmarkungsprozess wird auch die Partizipation von Mastzellen diskutiert, da sie sowohl in aktiven Entzündungsherden wie auch in chronischen, vernarbenden Plaques aufgefunden wurden [Johnson und Krenger 1992, Olsson 1974]. Dabei kann die Präsenz von Mastzellen in den nicht aktiven Herden im Rahmen einer sekundären Narbenbildung erklärt werden, während in aktiv-entzündlichen Gebieten ein Beitrag zur Entzündung durch Ausschüttung von entsprechenden Mediatoren in Betracht gezogen werden muss [Prineas und Wright 1978, Johnson und Krenger 1992].

Darüber hinaus weisen experimentelle Studien auf einen Einfluss der Mastzellen bei entzündlichen Hirnerkrankungen im Allgemeinen und insbesondere bei Multipler Sklerose hin: So wurde herausgefunden, dass Mastzellen myelinolytische Proteasen ausschütten und außerdem bestimmte Myelin-Proteine die Mastzelldegranulation stimulieren [Johnson et al. 1988, Dietsch und Hinrichs 1991].

Zu diesem Thema wurden desweiteren zahlreiche Tierversuche durchgeführt, wobei als äquivalentes Krankheitsbild die experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis (EAE) bei Ratten induziert wurde. In den Experimenten ließ eine erhöhte Anzahl von Mastzellen im betroffenen Gewebe auf eine Beteiligung bei der EAE schließen; ebenso die Tatsache, dass die betreffenden Entmarkungsherde sich v.a. im Bereich physiologisch bevorzugter Lokalisationen von Mastzellen im Gehirn fanden. Dementsprechend zeigen sich bei der Multiplen Sklerose erste Läsionen in der Regel an Orten mit hoher Mastzellendichte (submeningeal und periventrikulär) [Prineas und Wright 1978, Johnson und Krenger 1992, Orr 1988].

Um die Frage zu klären, ob die Mastzellen bei der Pathogenese eine zentrale oder eher zufällige bzw. sekundäre Rolle spielen, wurden im Tierversuch Mastzellstabilisatoren (Nedocromil) als Therapieversuch gegeben. Dabei trat die gewünschte Wirkung insofern ein, als dass sich eine Milderung der Krankheitssymptome und Senkung der Inzidenz zeigte. Eine primäre Mastzellebeteiligung ist damit jedoch nicht endgültig bewiesen, da die Medikamente möglicherweise auch bei anderen involvierten Zellpopulationen positive Effekte bewirkt haben könnten [Seeldrayers et al. 1989, Dietsch und Hinrichs 1989].

1.2.4.3. Andere entzündliche Erkrankungen

Auch bei zahlreichen anderen Krankheiten besteht eine Verbindung zu Mastzellen und ihren Funktionen; dabei bestreiten Erkrankungen mit entzündlichem Hintergrund den Großteil. So zeigen sich Zusammenhänge zwischen Mastzellfunktionen und Pathologie nicht nur bei Asthma und Multipler Sklerose, sondern auch bei atopischer Dermatitis (Neurodermitis), koronarer Herzerkrankung, Neurofibromatose, allergischer Konjunktivitis, chronischer Prostatitis, chronischer Rhinitis, Fibromyalgie, interstitieller Zystitis, Osteoarthritis und rheumatoider Arthritis [Theoharides und Kalogeromitros 2006].

Allen gemeinsam ist dabei die Unabhängigkeit der Mastzellaktivierung von FcεRI-Rezeptoren. Stattdessen wirken andere Faktoren als Trigger für die Mediatorausschüttung, wie Anaphylatoxine, Superantigene, Neuropeptide und Zytokine. Bei Krankheiten, die durch Stress verschlimmert werden (wie z.B. Neurodermitis, koronare Herzerkrankung), sind außerdem das Corticotropin-releasing Hormone CRH und ähnliche Peptide für die Mastzelldegranulation verantwortlich [Theoharides und Kalogeromitros 2006].

Auch bei der Neurofibromatose, einer Erbkrankheit, die makroskopisch durch das Auftreten von sog. Café-au-lait-Flecken und Neurofibromen⁷ gekennzeichnet ist, wurden vermehrt Mastzellen innerhalb dieser Tumore gefunden [Johnson et al. 1989]. Die Behandlung mit Mastzellstabilisatoren verringerte hier den typischen Juckreiz und verlangsamte das Tumorwachstum [Riccardi 1987].

Darüber hinaus werden Mastzellen mit der Genese von Urtikaria und Angioödemem [Holgate 1991] sowie Kopfschmerzen und Migräne [Liberski und Prusinski 1982, Moskowitz 1984, Theoharides 1983] in Verbindung gebracht.

1.2.5. Immunhistochemische Marker der Mastzellen

Die Herausforderung, Mastzellen spezifisch anzufärben, bestand, seitdem sie von Paul Ehrlich 1879 zum ersten Mal beschrieben wurden. Ursprünglich wurde dafür das Prinzip genutzt, dass basische Komponenten ionische Verbindungen mit den sulfatierten Glykosaminoglykanen in den Mastzell-Granula bilden. Die dabei verwendeten Färbungen beinhalteten Toluidinblau (metachromatisch), Alcianblau und Safranin (orthochromatisch), fluoreszierende Farben (Acridinorange, Berberinsulfat) sowie Avidin in Verbindung mit

⁷ Neurofibrom: Zelltumor ausgehend von Schwann'schen Zellen des Nervensystems.

Enzymen oder fluoreszierenden Komponenten [Walls et al. 1990a]. Es ist zu bemerken, dass die Ergebnisse stark mit den jeweils verwendeten Fixiermethoden korrelierten und darüber hinaus keine der genannten Färbemethoden spezifisch für Mastzellen war, so dass etwa bei lang andauerndem Verweilen der zu färbenden Schnitte in beispielsweise Toluidinblau auch Eosinophile und Lymphozyten die Farbe aufnahmen und somit das Ergebnis verfälscht wurde [Walls et al. 1990a, Walls et al. 1990c].

Erste immunzytochemische Methoden bezogen sich auf Antikörper gegen IgE oder Proteoglykane, wobei auch hier die gewünschte Spezifität nicht erreicht werden konnte [Walls et al. 1990a]. Im Jahr 1984 erprobten Rimmer et al. sieben verschiedene monoklonale Antikörper, die gegen undefinierte Komponenten in den Mastzell-Granula gerichtet waren, sich aber auch an andere, nicht-hämatopoetische Zellen banden [Rimmer et al 1984, Walls et al. 1990a]. Ein weiterer monoklonaler Antikörper, der eigentlich im Hinblick auf akute myeloische Leukämie (AML) entwickelt wurde, zeigte Spezifität für ein Membranantigen, das sich aber sowohl auf Mastzellen als auch auf B-Lymphozyten findet [Gadd und Ashman 1985, Mayrhofer et al. 1987]. Schwartz entwickelte 1985 den ersten monoklonalen Antikörper, der gezielt gegen die Mastzell-Tryptase gerichtet war, dem wohl wichtigsten Enzym in Hinblick auf die immunzytochemische Unterscheidung von Mastzellen und anderen Zellen [Schwartz 1985]. Bei den erwähnten Methoden mit monoklonalen Antikörpern konnte die Quantität der Mastzellen in Formaldehyd-fixiertem und in Paraffin gebettetem Gewebe jedoch nicht beurteilt werden [Walls et al. 1990a].

Walls et al. veröffentlichten 1990 zwei Untersuchungen zu monoklonalen Antikörpern (AA1, AA3 und AA5) in Verbindung mit einer Immunoperoxidase-Färbung, die spezifisch gegen Mastzell-Tryptase gerichtet waren und deren Potenz sich sowohl auf Formaldehyd- als auch Carnoy-fixierte Proben erstreckte. Alle drei Antikörper wurden aus Mäusen ge-

wonnen; die besten Ergebnisse wurden dabei mit dem AA1-Antikörper erzielt. Im Rahmen dieser Studien wurde durch ELISA⁸ festgestellt, dass alle drei Antikörper Epitope eines bestimmten Areals auf dem tetrameren Tryptase-Molekül erkennen [Walls et al. 1990a, Walls et al. 1990b]. Dieses Verfahren ist im Prinzip bis heute im Gebrauch.

1.3. Fragestellung

Ausgehend von Berichten über eine mögliche entzündliche Komponente bei der Pathogenese des plötzlichen Kindstodes ist das Ziel der vorliegenden Arbeit die quantitative Analyse der Mastzellen in Gehirnen einer Gruppe an SIDS verstorbenen Kindern verglichen mit einer Kontrollgruppe. Ihre Identifizierung erfolgte mithilfe eines Antikörpers gegen Tryptase. Es soll die Frage geklärt werden, ob ein signifikanter Unterschied im Auftreten von Mastzellen zwischen beiden Gruppen besteht. In der Diskussion soll das Ergebnis interpretiert und ein möglicher Zusammenhang anhand der klinisch-ärztlichen Befunde sowie der vorliegenden Literaturergebnisse untersucht werden.

⁸ ELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay): empfindliche Methode zum Nachweis bestimmter Moleküle mit Nutzung der Antigen-Antikörper-Reaktion.

2. Material und Methoden

2.1. Untersuchungsmaterial

Es wurden die Gehirne von 53 Kindstodesfällen aus dem Institut für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München ausgewertet. Die Gewebeproben der asservierten Gehirne wurden nach 14-tägiger Fixierung in 4%igem gepufferten Formalin, Wässern unter fließendem Wasser, Dehydratation, Einbettung in Paraffin und anschließendem Schneiden in 5 µm dicke Scheiben untersucht.

Die dabei untersuchten Hirnregionen umfassten folgende Areale:

- Lobus frontalis, graue Substanz (fro-co)
- Lobus fronto-orbitalis, graue Substanz (froorb-co)
- Lobus parietalis, graue Substanz (par-co)
- Lobus occipitalis, graue Substanz (occ-co)
- Lobus temporalis, graue Substanz (tem-co)

- Lobus frontalis, weiße Substanz (fro-wm)
- Lobus fronto-orbitalis, weiße Substanz (froorb-wm)
- Lobus parietalis, weiße Substanz (par-wm)
- Lobus occipitalis, weiße Substanz (occ-wm)
- Lobus temporalis, weiße Substanz (tem-wm)

- Hippocampus:
 - CA1-Region (hip-ca1), Nummer 1 in Abb. 3
 - CA4-Region (hip-ca4), Nummer 4 in Abb. 3
 - Körnerzellschicht des Gyrus dentatus (hip-gr), Nummer 8 in Abb. 3

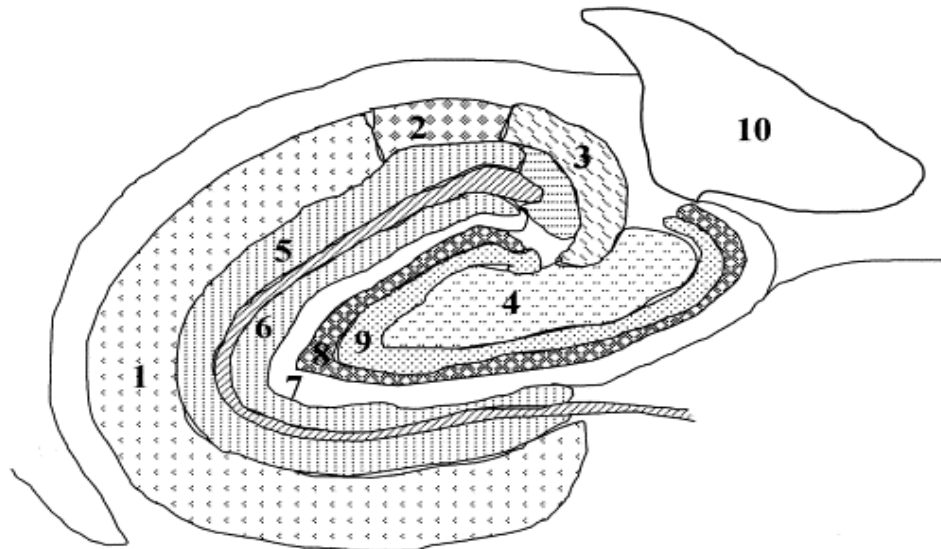


Abb. 3: Struktur des menschlichen Hippocampus in koronarer Schnittführung
1: CA1-Region, 2: CA2-Region, 3: CA3-Region, **4: CA4-Region** (Felder des Cornu Ammonis),
 5: Stratum radiatum des Cornu Ammonis, 6: Stratum moleculare des Cornu Ammonis,
 7: Stratum moleculare des Gyrus dentatus, **8: Stratum granulosum des Gyrus dentatus**,
 9: Polymorphe Schicht, 10: Fimbrien
 Aus: Klimek et al. 1999

- Cerebellum, Cortex (kh-co)
- Cerebellum, weiße Substanz (kh-wm)
- Cerebellum, Nucleus dentatus (kh-dent)
- Thalamus (thal)
- Nucleus caudatus (caud)
- Putamen (put)
- Capsula interna (caint)

- Mesenzephalon (mes)
- Pons (pons)
- Medulla oblongata (med)
- Nucleus olivaris inferior (olv)

Die zu untersuchenden Gehirne stammten von 20 an SIDS verstorbenen Kindern und 33 Kontrollfällen. Die Diagnose „plötzlicher Kindstod“ wurde dabei gemäß internationaler Standards gestellt, d.h. nachdem die Kinder sorgfältig obduziert waren und sowohl bei der Suche nach pathogenen Keimen als auch bei der toxikologischen Untersuchung keine pathologischen Befunde erhoben werden konnten.

Die 20 SIDS-Fälle setzten sich aus 11 Mädchen und 9 Jungen im Alter bis 7 Monate zusammen mit einem Durchschnitt von 5,6 Monaten; ihr Gewicht betrug im Mittel 6,15 kg (1,5 - 8,5 kg). Die Körperlänge reichte von 43 bis 74 cm, der Mittelwert betrug 64,88 cm. Beim Wiegen des Gehirns wurden Werte zwischen 205 g und 963 g erzielt (durchschnittlich 752,59 g). Die postmortalen Liegezeiten reichten von 6 bis 69 Stunden, im Mittelwert also rund 35 Stunden.

Die Kontrollgruppe umfasste 33 Kinder (19 Mädchen, 14 Jungen) im Alter bis 7 Jahre. Im Durchschnitt waren die Opfer zum Todeszeitpunkt 16,4 Monate alt, wogen 7,56 kg (1,3 – 35,2 kg) und waren 70,17 cm groß (41 – 145 cm). Die Gehirne in dieser Gruppe wogen durchschnittlich 839,31 g (166 – 1 553 g) und die postmortale Liegezeit betrug im Mittel etwa 31 Stunden (6 -120 Stunden).

2.2. Antikörper

Die Färbung der Mastzellen wurde mit monoklonalem Antikörper der Firma DakoCytomation durchgeführt. Es handelt sich dabei um Monoclonal Mouse Anti-Human Mast Cell Tryptase, Klon AA1, Isotyp IgG1 Kappa, wobei der Antikörper in flüssiger Form als Zellkulturüberstand, dialysiert gegen 0,05 mol/L Tris/HCl, pH 7,2 vorlag.

2.3. Untersuchungen

2.3.1. Neuropathologische Untersuchungen

Bei den neuropathologischen Untersuchungen zeigten sich keine auffälligen Befunde (Prof. Dr. Büttner, Institut für Rechtsmedizin der Universität Rostock, persönliche Mitteilung).

2.3.2. Immunhistochemische Untersuchungen

Das Prinzip einer immunhistochemischen Färbung besteht darin, dass Antikörper an Antigene (in der Regel definierte Zell- oder Gewebestrukturen) binden und der so entstandene Antigen-Antikörperkomplex von bestimmten Enzymmarkern erkannt wird, die mit dem Komplex eine weitere Bindung eingehen und somit das zu färbende Ziel sichtbar machen. Dieses Verfahren wurde bei der vorliegenden Arbeit durch die modifizierte Avidin-Biotin-Complex-(ABC-)Methode umgesetzt [Boehnisch 2003]. Dabei werden die Gewebsschnitte

zuerst durch eine Serum-Lösung blockiert und anschließend dem primären Antikörper (grün in Abb. 4), in diesem Fall monoklonalem Maus-Antikörper gegen Tryptase, das als Antigen (dunkelblau in Abb. 4) wirkt, ausgesetzt. Nachdem dieser an die Tryptase gebunden ist, werden die Schnitte mit einem biotinyliertem Sekundärantikörper (hellblau/gelb in Abb. 4) bedeckt, der an den ersten Antigen-Antikörper-Komplex bindet. Zuletzt bindet Peroxidase-konjugiertes Streptavidin (pink/rot in Abb. 4) an das Biotin aus dem letzten Schritt und ermöglicht so eine Farbreaktion.

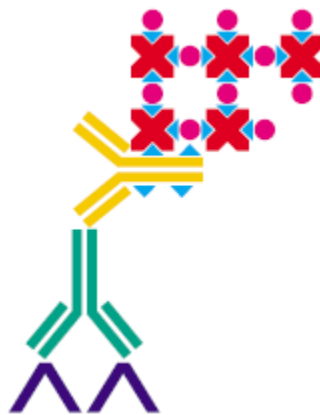


Abb. 4: ABC-Methode

Der Avidin-Biotin-Komplex reagiert mit dem biotinyliertem Sekundärantikörper.

Aus: Boehnisch 2003

Die Visualisierung der Komplexe erfolgte durch Diaminobenzidin-(DAB)-Chromogen, welches die stattgehabten Antigen-Antikörper-Bindungen auch lichtmikroskopisch durch Bildung eines bräunlichen Präzipitats sichtbar macht.

Bevor die Färbungen adäquat durchgeführt werden konnten, musste eine Verdünnungsreihe erstellt werden, um die optimale Antikörper-Konzentration herauszufinden.

Bei jeder einzelnen Färbung, die alle Hirnschnitte eines kompletten Falles bzw. eines Kontrollfalles einschloss, wurde zusätzlich jeweils eine Positivkontrolle (Tonsillen) mitgeführt.

Im Speziellen wurden die auf Objektträger Paraffin-fixierten Schnitte der zu untersuchen-
den Hirnareale nach folgenden Einzelschritten behandelt:

1. Entparaffinierung: 2 x 10 Min. in Xylol
2. Rehydratation in absteigender Alkoholreihe:
2 x 100%, 2 x 90%, 2 x 80%, 1 x 70%, Aqua dest. für jeweils 1 Min.
3. Hintergrundreduktion durch Gewebebehandlung mit 3%iger Wasserstoffperoxid-
Lösung für 10 Min. zur Eliminierung der endogenen Peroxidaseaktivität
4. Spülen in Aqua dest. für 5 Min.
5. Waschen in phosphate buffered saline (PBS) Puffer GIBCO™ für 10 Min.
6. Blockierung: Neutralisieren elektrisch geladener Gewebsbestandteile durch 10%iges
nicht-immun-Serum (gebrauchsfertiges Reagens A, Histostain-Plus® Kit, Zymed®) für
5 Min. in der Feuchtkammer
7. Abkippen des Serums
8. Inkubation mit dem Primärantikörper (monoklonale Antikörper gegen Mastzell-
Tryptase) für 1 Stunde bei Raumtemperatur in der Feuchtkammer, Verdünnung: 1:100
in Zymed® Antibody Diluent
9. Waschen in PBS-Puffer für 10 Min.
10. Inkubation mit biotinyliertem Sekundärantikörper (gebrauchsfertiges Reagens B,
Histostain-Plus Kit®, Zymed®) für 15 Min. in der Feuchtkammer
11. Waschen in PBS-Puffer für 10 Min.
12. Inkubation mit Streptavidin-Peroxidase-Konjugat (gebrauchsfertiges Reagens C, Histo-
stain-Plus Kit®, Zymed®) für 15 Min. in der Feuchtkammer
13. Waschen in PBS-Puffer für 15 Min.
14. Inkubation mit DAB-Chromogen-Lösung (3,3'-DiaminobenzidinTetrahydrochlorid
Substrat; Zymed®) für 5 Min. in geöffneter Feuchtkammer

15. Waschen in Aqua dest. für 10 Min.
16. Gegenfärbung mit Mayers Hämalaun für 10 Min.
17. Bläuen unter fließendem Wasser für 10 Min.
18. Dehydration in aufsteigender Alkoholreihe:
1 x 70%, 1 x 80%, 1 x 90%, 2 x 100% für jeweils 1 Min.
19. Einlegen in Xylol für 10 Min.
20. Einschließen der Gewebeschnitte in Histofluid

2.3.3. Morphometrie

Die mikroskopische Auswertung erfolgte unter einem Labor-Mikroskop der Marke Zeiss unter 400-facher Vergrößerung mit einem Messraster. Pro Gesichtsfeld wurde die Gesamtzahl an Mastzellen ermittelt. Dabei geschah die Auszählung ohne Kenntnis über die Qualität der Gewebeschnitte, also ohne Wissen bzgl. der Zugehörigkeit zu Fall- oder Kontrollgruppe.

2.3.3.1. Graue Substanz

Die Großhirnrinde wurde dabei nach dem „systematic row sampling“ ausgewertet [Weis 1991]. Dabei beginnt die Auszählung an der pialen Oberfläche des Cortex; im ersten Gesichtsfeld werden alle angefärbten Mastzellen gezählt. Anschließend wird das nächste Messfeld ausgewertet, das sich an das Erste angrenzend, entsprechend der Schichtung der grauen Substanz, vertikal in Richtung weißer Substanz befindet. So wird weiter verfahren, bis diese erreicht ist. Die ausgewerteten Gesichtsfelder bilden die erste vertikale Reihe (vertical row).

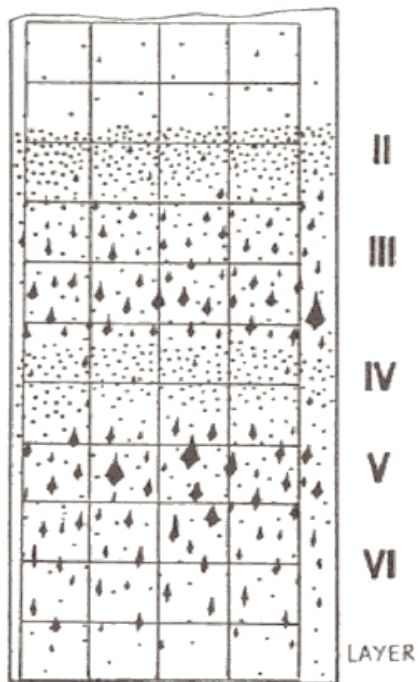


Abb. 5: Vertikale Reihe der grauen Substanz
 Aus: Weis 1991

Die nächste Reihe wird genau neben der Ersten angesetzt und ebenfalls bis zur weißen Substanz nach unten fortgesetzt. In dieser Weise werden fünf vertikale Reihen ausgewertet.

Bei der Auswertung wurde dabei die „Regel der verbotenen Linien“ berücksichtigt, d.h. dass Mastzellen, die den linken und/oder oberen Rand des auszuwertenden Feldes schneiden, in die Auswertung miteinbezogen wurden; nicht jedoch diejenigen Zellen, welche die rechte und/oder untere Begrenzungslinie berührten [Weis 1991].

2.3.3.2. Weiße Substanz

Die weiße Substanz sowie Kleinhirn, Hirnstamm und Strukturen von subkortikaler grauer Substanz (Thalamus, Basalganglien, Substantia nigra) wurden nach dem Prinzip des „random systematic sampling“ beurteilt. Dabei wird das erste Messfeld zufällig gewählt und die folgenden vier Felder määndernd ausgewertet, so dass zusammen fünf Felder pro Hirnregion in die Auswertung einfließen [Weis 1991].

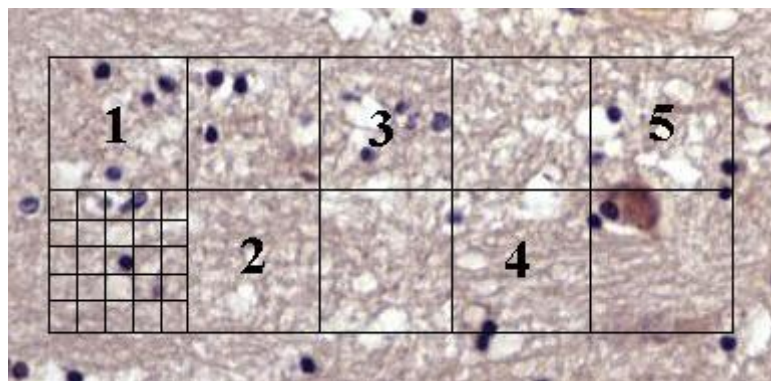


Abb. 6: Schema des „Random Systematic Sampling“
Ausgewertet wird määndernd, also die Gesichtsfelder 1-5.

Mit Hilfe der beiden Sampling-Methoden wurden die gefärbten Gewebsschnitte von Fällen und Kontrollen ausgewertet.

Als nächstes wurde die Mastzellichte als Zellzahl pro definierter Messfläche anhand folgender Formel bestimmt:

$$\text{Zelldichte (n/mm}^2\text{)} = \frac{\text{Anzahl der immunpositiven Mastzellen}}{\text{Anzahl der Gesichtsfelder} \times \text{Gesichtsfeldfläche}^*}$$

* Gesichtsfeldfläche = 0,315 mm x 0,315 mm = 0,099225 mm²

2.3.4. Statistische Auswertung

Nach Erhebung der Daten am histologischen Schnitt erfolgte die Eingabe der Parameter in eine Datenmatrix. Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte unter Verwendung des SPSS-Programms (Statistical Package for the Social Sciences). Neben dem Student's t-test für unabhängige Stichproben kamen der nicht-parametrische Mann-Whitney-Test sowie Varianzanalysen (ANOVA, analysis of variance) und die Berechnung von Korrelationskoeffizienten nach Pearson zur Anwendung. Dabei gelten p-Werte von unter 0,05 als statistisch signifikant.

Zur graphischen Darstellung der Daten wurde das Programm Microsoft Excel 2007 verwendet.

3. Ergebnisse

3.1. Morphologische Befunde

In Hinsicht auf die Parameter Größe, Gewicht, Hirngewicht und postmortale Liegezeit bestand zwischen Fall- und Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied.

Die Mittelwerte betragen bzgl. der Größe und des Gewichts der verstorbenen Kinder 64,88 cm bzw. 6,15 kg in der SIDS-Gruppe im Gegensatz zu 70,17 cm und 7,56 kg in der Kontrollgruppe, p-Werte 0,37 (Größe) und 0,40 (Gewicht) (s. Tabelle 7.4.1. im Anhang).

Auch die Hirngewichte unterschieden sich nicht signifikant: Sie lagen bei durchschnittlich 752,59 g (SIDS) und 839,31 g (Kontrollen) mit einem p-Wert von 0,25. Ähnliches zeigte sich bei den Mittelwerten der postmortalen Liegezeit: 34,80 Stunden bei den SIDS-Kindern gegen 31,04 Stunden bei den Kontrollfällen, p-Wert 0,47 (s. Diagramm Abb. 7 und Tabelle 7.4.1. im Anhang).

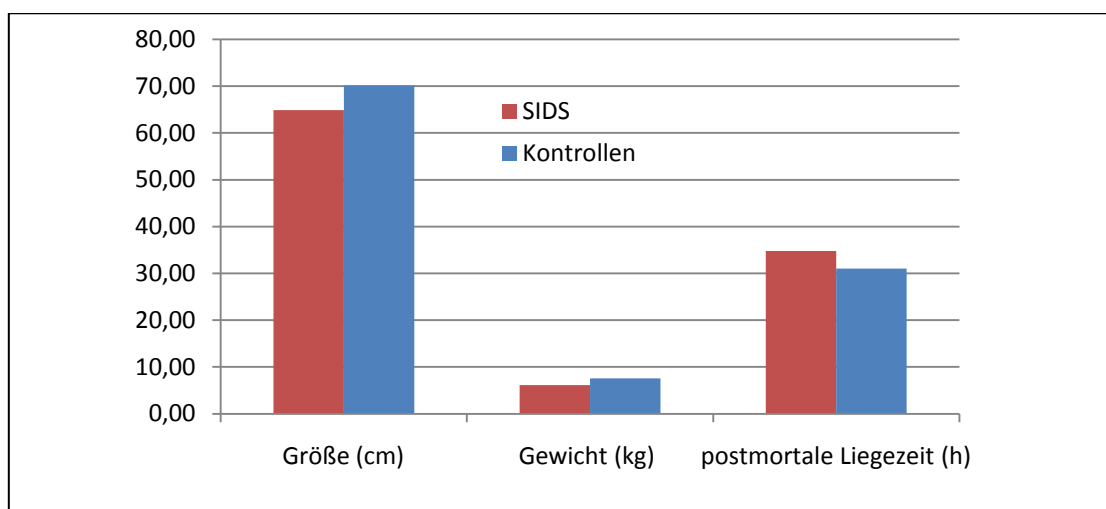


Abb. 7: Vergleich zwischen SIDS-Fällen und Kontrollen
hinsichtlich der Parameter Größe, Gewicht und postmortale Liegezeit.

3.2. Immunhistochemische Befunde

Die immunhistochemischen Untersuchungen der Hirnschnitte der an SIDS verstorbenen Kleinkinder zeigten im Vergleich zu auf andere Weise verstorbenen Kindern in keinem der untersuchten Hirnareale einen signifikanten Unterschied (s. Tabelle 7.4.2. im Anhang).

3.2.1. Telenzephalon, Graue Substanz

Es wurde mit der beschriebenen Methode des „systematic row sampling“ die graue Substanz des Lobus frontalis, fronto-orbitalis, temporalis, parietalis und occipitalis ausgewertet. Sowohl frontal als auch fronto-orbital waren bei den SIDS-Fällen keinerlei Mastzellen angefärbt; bei den Kontrollfällen betrug die Anzahl der Mastzellen im Durchschnitt 0,60 pro mm² frontal und 0,15 pro mm² fronto-orbital. Die berechneten p-Werte ergaben 0,10 (frontal) und 0,21 (fronto-orbital) und erwiesen somit keine Signifikanz.

Occipital erreichte der Durchschnitt an gefärbten Mastzellen in der SIDS-Gruppe 0,16/mm² und 0,60/mm² in der Kontrollgruppe mit einem p-Wert von 0,10.

Auch bei den frontalen und parietalen Schnitten konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden: Durchschnittlich zeigten sich nur 0,08 Mastzellen/mm² (parietal) bzw. 0,25/mm² (temporal) in der SIDS-Gruppe und 0,25/mm² (parietal) bzw. 0,98/mm² (temporal) in der Kontrollgruppe mit einem p-Wert von parietal 0,52 und temporal 0,39 (s. Diagramm Abb. 11 und Tabelle 7.4.2. im Anhang).

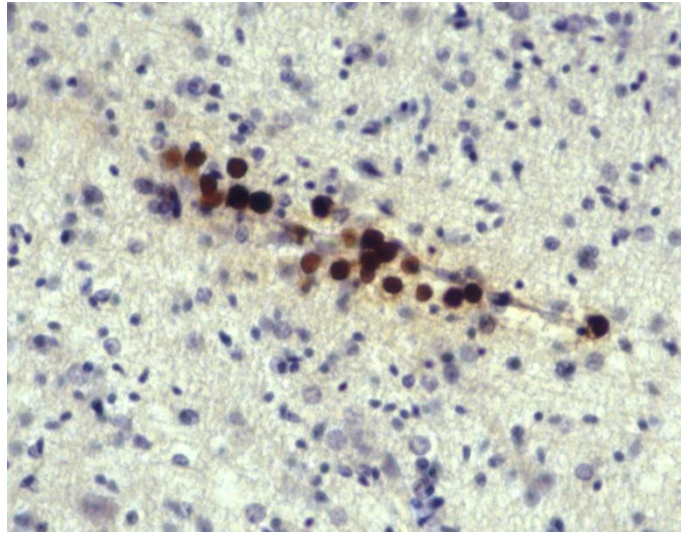


Abb. 8: Immunhistochemische Darstellung von Mastzellen im parietalen Kortex eines SIDS-Falles
(Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung 200x)

3.2.2. Telenzephalon, Weiße Substanz

Auch die weiße Substanz wurde an den genannten Hirnregionen ausgewertet, jedoch nach dem Schema des oben definierten „random systematic sampling“. Entsprechend der grauen Substanz zeigten sich auch hier in den frontalen und fronto-orbitalen sowie zusätzlich in occipitalen Regionen keine Mastzellen in der SIDS-Gruppe, während sich in der Kontrollgruppe 0,63 Mastzellen/mm² frontal (p-Wert 0,10), 0,18/mm² fronto-orbital (p-Wert 0,29) und 0,22/mm² occipital (p-Wert 0,13) fanden.

Parietal wurden in der SIDS-Gruppe im Durchschnitt 0,08 Mastzellen/mm² im Gegensatz zu 1,09/mm² bei der Kontrollgruppe gezählt, p-Wert 0,15, und temporal 0,34/mm² im Unterschied zu 1,04/mm², p-Wert 0,23 (s. Diagramm Abb. 11 und Tabelle 7.4.2. im Anhang).

Sowohl bei der Auswertung der weißen als auch der grauen Substanz konnten also keine signifikanten Unterschiede ausgearbeitet werden; auffallend ist jedoch, dass in der SIDS-Gruppe im Gegensatz zu den Kontrollen in allen fünf bearbeiteten Hirnregionen nur sehr wenige Mastzellen in den Proben zu finden waren.

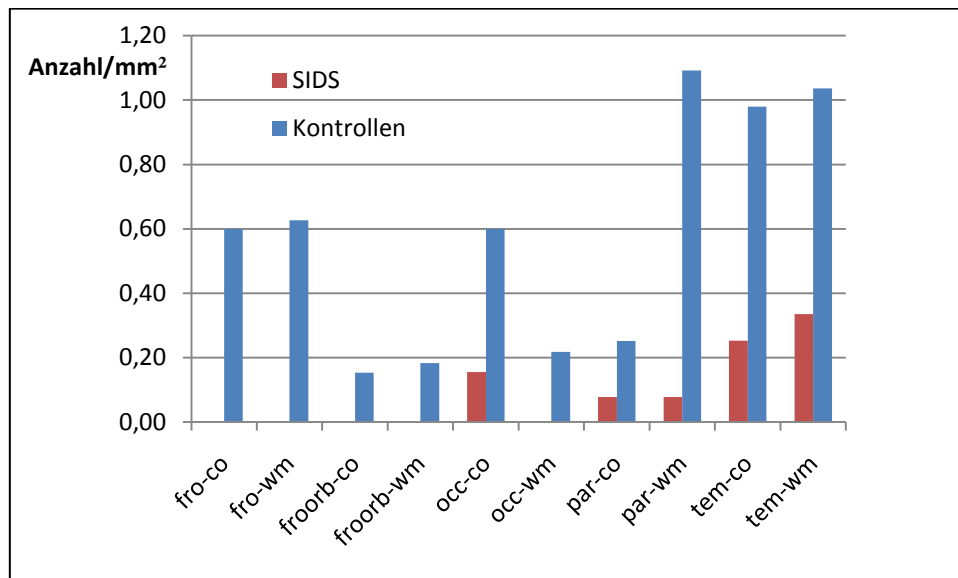


Abb. 9: Mittelwerte der Mastzellen im Großhirn in Anzahl/mm²

Vergleich zwischen SIDS-Fällen und Kontrollen.

-co: graue Substanz, -wm: weiße Substanz

Übrige Abkürzungen s. Absatz 2.1.

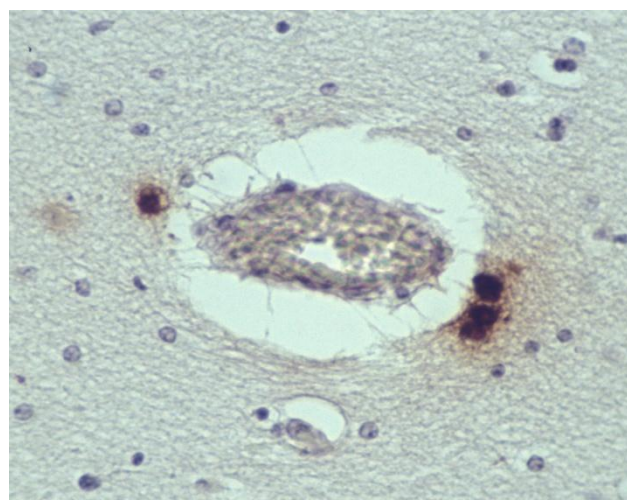


Abb. 10: Immunhistochemische Darstellung von Mastzellen in der temporalen weißen Substanz eines SIDS-Falles

(Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung 200x)

3.2.3. Hippocampus

In der Hippocampus-Formation wurden drei Bereiche näher untersucht: die CA1- und CA4-Region sowie die Körnerzellschicht des Gyrus dentatus (s. Abb. 3 in Absatz 2.1.). Einzig in der CA4-Region der Kontrollgruppe konnten dabei Mastzellen gefunden werden (0,03/mm²); die p-Werte betragen somit 0,40 (CA1), 0,25 (CA4) und 0,47 (Körnerzellschicht des Gyrus dentatus) (s. Tabelle 7.4.2. im Anhang).

3.2.4. Kleinhirn (Cerebellum)

Bei den Kleinhirn-Schnitten wurden analog dem Telenzephalon die graue und weiße Substanz getrennt bewertet; zusätzlich wurde der Nucleus dentatus in die Betrachtung miteinbezogen. Die Ergebnisse der bisher beschriebenen Hirnregionen zeigten sich auch hier wieder: Im Vergleich zu den Kontrollen fand sich in der SIDS-Gruppe eine deutlich reduzierte Anzahl von Mastzellen. So wurden in der SIDS-Gruppe 0,54 Mastzellen/mm² in der weißen Substanz, 0,23/mm² im Ncl. dentatus und keine Mastzellen im Kleinhirnkortex aufgefunden. Entsprechend wurden in der Kontrollgruppe eindeutig höhere Durchschnitte erreicht: 0,05/mm² (Cortex), 0,65/mm² (weiße Substanz) und 1,26/mm² (Ncl. dentatus). Die p-Werte ergaben dabei 0,21 beim Cortex, 0,29 bei der weißen Substanz und 1,0 beim Ncl. dentatus. Somit konnte auch hier keinerlei Signifikanz aufgezeigt werden (s. Diagramm Abb. 11 und Tabelle 7.4.2. im Anhang).

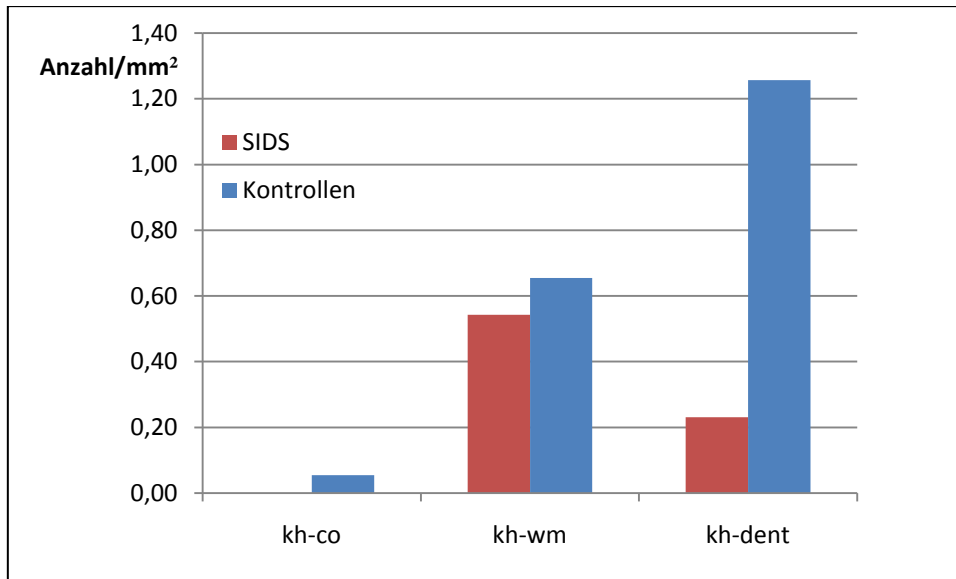


Abb. 11: Mittelwerte der Mastzellen im Kleinhirn in Anzahl/mm²
 Vergleich zwischen SIDS-Fällen und Kontrollen.
 kh: Kleinhirn, -co: Cortex, -wm: weiße Substanz, -dent: Ncl. dentatus

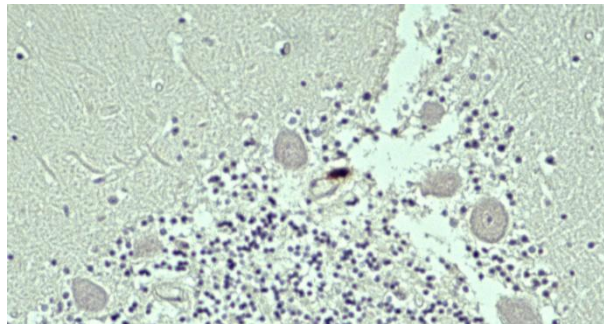


Abb. 12: Immunhistochemische Darstellung einer einzelnen Mastzelle im Kleinhirnkortex eines Kontrollfalles
 (Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung 100x)

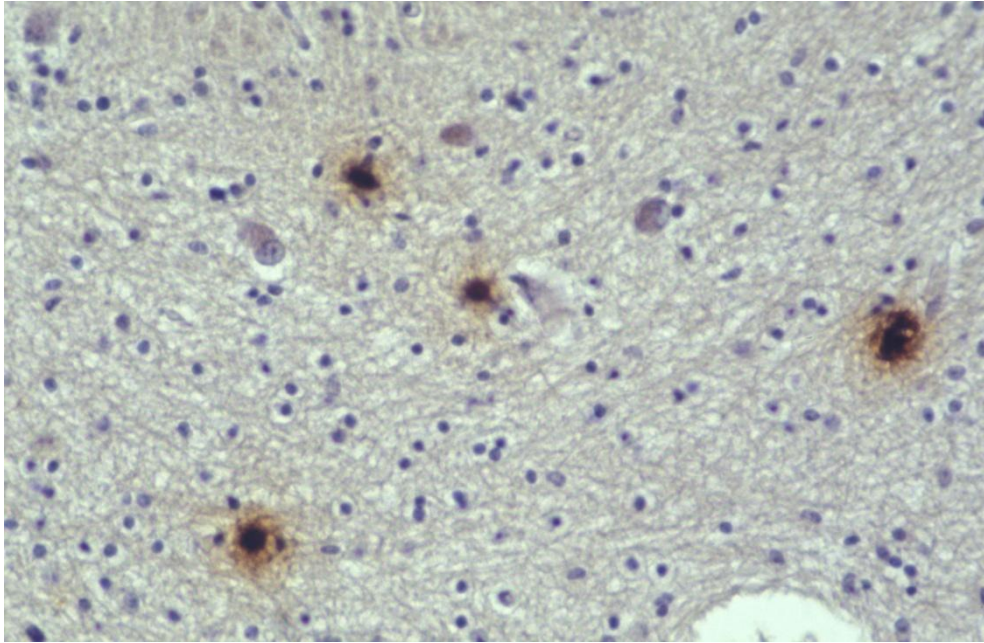


Abb. 13: Immunhistochemische Darstellung von Mastzellen im Bereich des Ncl. dentatus im Kleinhirn eines SIDS-Falles

(Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung 200x)

3.2.5. Thalamus

Im Bereich des Thalamus, der als größter Teil des Zwischenhirns (Diencephalon) eine besonders wichtige Verbindung zum Großhirncortex darstellt, wurden in beiden Gruppen relativ hohe Durchschnittswerte erreicht: So fanden sich in der SIDS-Gruppe 1,01 Mastzellen/mm² im Gegensatz zu 2,45/mm² in der Kontrollgruppe, mit einem p-Wert von 0,16 (s. Diagramm Abb. 15 und Tabelle 7.4.2. im Anhang).

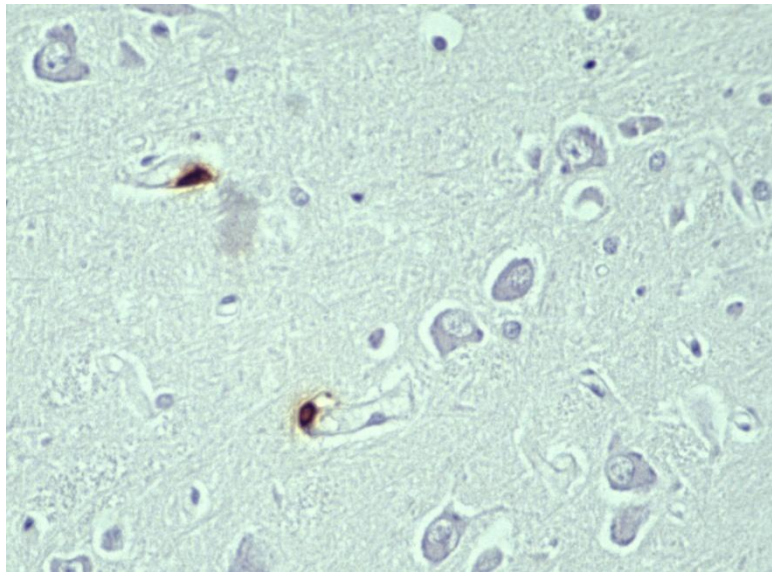


Abb. 14: Immunhistochemische Darstellung von Mastzellen im Thalamus eines Kontrollfalles

(Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung 200x)

3.2.6. Basalganglien und Capsula interna

Auch im Rahmen der Untersuchung der subkortikalen Kerngebiete (Putamen, Nucleus caudatus) und der längsten Projektionsbahn des ZNS, der Capsula interna, konnten keine signifikanten Unterschiede herausgestellt werden. In der Gruppe der SIDS-Fälle wurden in keinem der genannten Gebiete Mastzellen gefunden während in der Kontrollgruppe im Putamen durchschnittlich immerhin 2,51 Mastzellen/mm² (p-Wert 1,0), im Ncl. caudatus 0,46/mm² (p-Wert 0,80) und in der Capsula interna 0,80/mm² (p-Wert 0,10) aufgefunden wurden (s. Diagramm Abb. 15 und Tabelle 7.4.2. im Anhang).

3.2.7. Regionen und Kerngebiete des Hirnstamms

Der Hirnstamm setzt sich anatomisch aus Mittelhirn (Mesenzephalon), der Brücke (Pons) und dem verlängerten Mark (Medulla oblongata oder Myelenzephalon) zusammen. Neben diesen Regionen wurde außerdem der Ncl. olivaris untersucht.

Im Mesenzephalon erreichte die durchschnittliche Mastzellanzahl in der SIDS-Gruppe 0,08/mm² im Gegensatz zu 0,35/mm² in der Kontrollgruppe (p-Wert 0,37), während die übrigen untersuchten Hirnstammanteile die einzigen Bereiche darstellen, in denen die Mastzellanzahl in der SIDS-Gruppe diejenige der Kontrollgruppe übersteigt. So wurden in der Pons 1,47 Mastzellen/mm² in der SIDS-Gruppe gefunden, dagegen 1,13/mm² in der Kontrollgruppe (p-Wert 0,52). Medulla oblongata und Ncl. olivaris stellten in der Kontrollgruppe die einzigen Regionen dar, in denen keine Mastzellen gefunden wurden; in der SIDS-Gruppe jeweils 0,08/mm² in Medulla oblongata und Ncl. olivaris mit p-Werten von 0,15 bzw. 1,0 (s. Diagramm Abb. 15 und Tabelle 7.4.2. im Anhang).

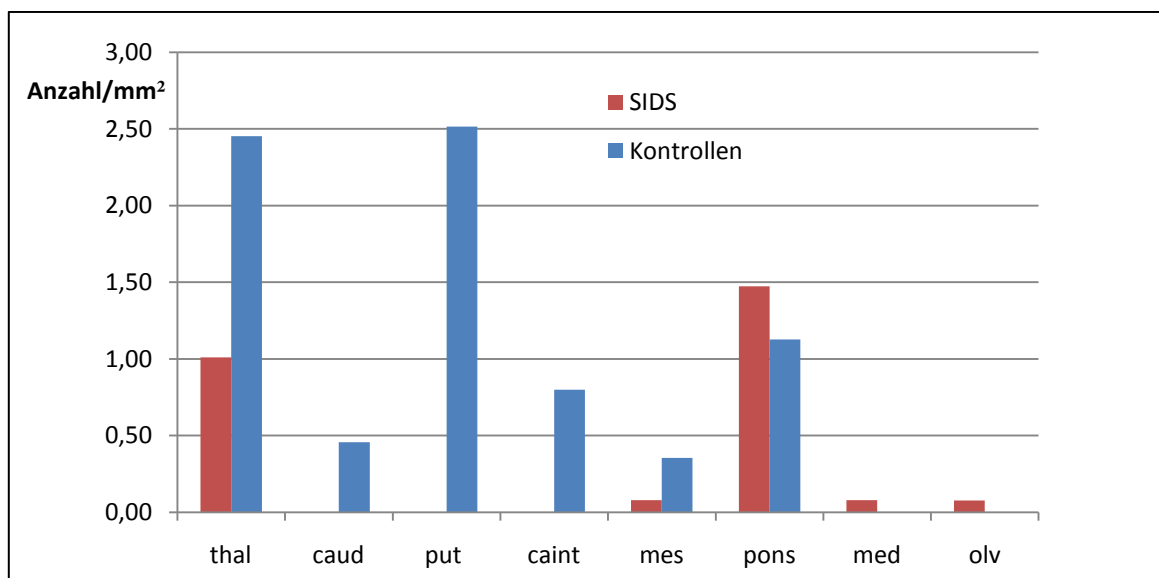


Abb. 15: Mittelwerte der Mastzellen in Anzahl/mm²

Vergleich zwischen SIDS-Fällen und Kontrollen.

thal: Thalamus, caud: Ncl. Caudatus, put: Putamen, mes: Mesenzephalon,
pons: Brücke, med: Medulla oblongata, olv: Ncl. olivaris

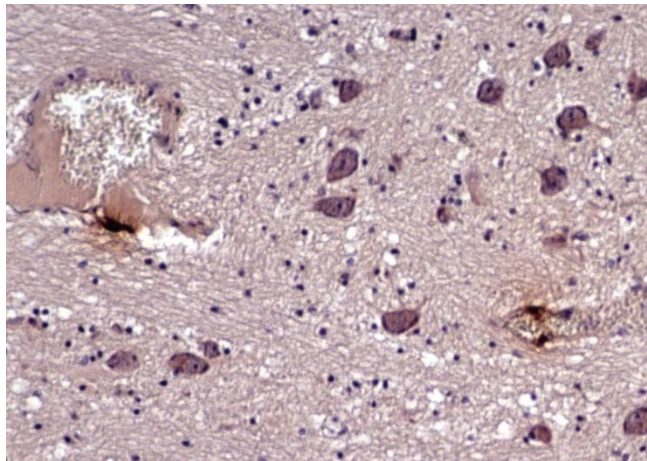


Abb. 16: Immunhistochemische Darstellung von Mastzellen in der Pons eines SIDS-Falles
(Gegenfärbung mit Hämalaun, Originalvergrößerung 100x)

4. Diskussion

4.1. Strukturgleichheit

Es galt, in den beiden zu untersuchenden Gruppen ähnliche Gegebenheiten vorauszusetzen, damit ein Vergleich zwischen den SIDS- und den Kontrollfällen überhaupt möglich bzw. aussagekräftig sein könnte. Die beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant in den Parametern Größe, Gewicht, Hirngewicht und postmortale Liegezeit (s. Absatz 3.1. und Tabelle 7.4.1. im Anhang).

Der einzige Unterschied zwischen den beiden Gruppen bestand darin, wie die einzelnen Kinder zu Tode gekommen waren, wobei in der SIDS-Gruppe definitionsgemäß der plötzliche Kindstod nach Ausschluss aller anderen Möglichkeiten als Todesursache festgestellt wurde, während in der Kontrollgruppe verschiedene andere natürliche und nicht-natürliche Umstände zum Tode geführt hatten (s. Tabelle 7.3. im Anhang).

Nicht außer Acht zu lassen ist die Tatsache, dass in der Kontrollgruppe auch Fälle von Kindern, die älter als ein Jahr waren, mit in die Berechnungen einfließen (Fallnr. 21 - 33; s. Tabelle 7.2. im Anhang). In der Kontrollgruppe spielt das Alter eine untergeordnete Rolle, da es sich bei den Todesursachen nicht um plötzlichen Kindstod, sondern um jeweils andere handelt und somit die Festlegung einer Altersgrenze entfällt, während SIDS per definitionem nur bis zum ersten Lebensjahr als solches zu bezeichnen ist. In der Kontrollgruppe sollte dagegen ein breites Vergleichsspektrum erreicht werden, so dass auch ältere Kinder mit einbezogen wurden.

4.2. Methode

Um genaue und verlässliche Ergebnisse zu erzielen, muss darauf geachtet werden, störende und potenziell artefaktbildende Faktoren im Rahmen einer immunhistochemischen Färbung möglichst gering zu halten..

Schon im Vorlauf der eigentlichen Färbung ist es wichtig, dass das Intervall zwischen Todeszeitpunkt und Obduktion möglichst kurz gehalten wird, da somit die Gefahr der Autolyse der Organe, insbesondere des Gehirns, minimiert werden kann. Wie schon erwähnt unterschieden sich die postmortalen Liegezeiten der untersuchten Fälle jedoch nicht signifikant zwischen den Gruppen (s. Tabelle 7.4.1. im Anhang) und selbstverständlich wurden nur beurteilbare Gehirne berücksichtigt. Desweiteren wurde gewährleistet, dass nach der Entnahme des Gehirns die Fixierungszeit in Formalin von annähernd gleicher Dauer war.

Der erste Schritt im Rahmen der Färbung bestand in der genauen Exploration der exakten Antikörper-Konzentration, die mit Hilfe einer Verdünnungsreihe ermittelt wurde. Eine mitgeführte Positivkontrolle ermöglichte eine Beurteilung der Reaktionsspezifität.

Um die etablierte und sensitive Färbemethode unter minimaler Fehlerquote durchführen zu können, müssen während des Färbvorgangs alle vorgegebenen Inkubationszeiten, Verdünnungen und pH-Werte exakt eingehalten werden. Eine erschöpfende Dokumentation erleichtert zusätzlich das genaue und konzentrierte Arbeiten.

Die Gefahr der Ergebnis-Verfälschung durch schwer zu beeinflussende exogene Faktoren, wie Raum- oder Reagentientemperatur, konnte durch parallele Färbeserien der beiden Gruppen an jeweiligen Tagen und Aufbewahrung der verwendeten Materialien in jeweils entsprechender Temperatur (z.B. Kühlschrank) auf ein tolerables Maß reduziert werden.

Auch bei der mikroskopischen Auswertung wurde äußerst sorgfältig gearbeitet, um Fehler bei der Auszählung der Zellen zu vermeiden. Die Arbeit erfolgte dabei immer an dem ge-

nannten Mikroskop an einem festen Arbeitsplatz unter konstanter Beleuchtung und genauer Dokumentation.

Da die beschriebenen Fehlerquellen zum Teil unumgänglich und daher allen ähnlich angelegten Studien gemein sind, kann ihnen im Rahmen der Ergebnisse wohl keine größere Bedeutung zugemessen werden.

4.3. Ergebnisse

Zum Thema SIDS und Mastzellen wurden in der Vergangenheit einige Studien veröffentlicht, die zum Teil die Hypothese, dass ein Zusammenhang zwischen SIDS und einer anaphylaktischen Reaktion der Opfer besteht, unterstützen oder auch widerlegen.

Eine Studie von Nishio und Suzuki [2004], die Serum-Tryptase von 21 SIDS-Kindern und 14 Kontrollfällen quantifizierten, kommt zu dem Befund, dass Anaphylaxie in der Ätiologie des plötzlichen Kindstods keine Rolle spielt. Ähnlich der hier vorliegenden Ergebnisse fanden sie keine signifikant erhöhten Tryptase-Werte in den untersuchten Fällen. Edston et al. [1999] stellten eine weitere Studie an, in der neben Tryptase- auch IgG-Werte gemessen wurden, um einen konkreteren Zusammenhang zum Thema Allergien nachzuweisen. In 40 % der Fälle konnte dabei ein erhöhter Tryptase-Wert, in 33 % erhöhte IgG-Werte gefunden werden, jedoch statistisch ohne kausalen Zusammenhang.

Im Gegensatz dazu fanden Buckley et al. [2001] in ihrer Studie eine signifikante Erhöhung von β -Tryptase (wird v.a. im Rahmen einer anaphylaktischen Reaktion ausgeschüttet) im Serum von SIDS-Kindern. Die Werte von α -Tryptase (wird konstant von den Mastzellen

ausgeschüttet) waren jedoch nicht erhöht und ebenso wurde in Messungen der IgG-Werte kein Unterschied zu Kontrollen gefunden.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Holgate et al. [1994] sowie Platt et al. [1994] schon früher, als sie ebenfalls Tryptase-Werte aus den Sera von SIDS-Kindern mit Kontrollen verglichen. Beide Studien wollen einen Zusammenhang zwischen SIDS und Anaphylaxie sehen, da in beiden Fällen die Tryptase-Werte der SIDS-Fälle höher waren als bei den Kontrollen.

In allen genannten Arbeiten wurden jedoch Tryptase-Werte aus dem Serum bestimmt im Gegensatz zur Tryptase- und damit Mastzellanfärbung in Hirngewebe wie in der vorliegenden Arbeit; desweiteren wurden andere Messmethoden (Radioimmunoassays) verwendet. Eine zu dieser vergleichbare Arbeit in Hinsicht auf Material und Methodik konnte nicht gefunden werden.

Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen in ihrer Gesamtheit die Hypothese, dass es keinen kausalen Zusammenhang zwischen SIDS und einer vorangehenden anaphylaktischen Reaktion der Opfer gibt.

Es muss jedoch bedacht werden, dass der plötzliche Kindstod nach wie vor eine Ausschlußdiagnose ist und es theoretisch auch unterschiedliche andere, unerkannte Todesumstände geben kann. In diesem Fall hätte die Mastzell- und Tryptase-Quantifizierung unter Umständen keinerlei Relevanz oder Kausalität.

Es ist weiterhin eine Tatsache, dass in den Studien, die einen gewissen Zusammenhang zwischen Anaphylaxie und SIDS sahen, keineswegs alle SIDS-Opfer erhöhte Tryptase-Werte im Gegensatz zu den Kontrollfällen aufweisen. Sollte also eine anaphylaktische bzw. allergische Reaktion zum plötzlichen Kindstod beitragen, so kann dies keineswegs auf alle Fälle übertragen werden und somit maximal eine Teilhabe an der Ätiologie darstel-

len. Dies erhärtet die nach wie vor populärste Hypothese im Zusammenhang mit den Ursachen für SIDS: Dem Geschehen liegt eine multifaktorielle Genese zugrunde, die nicht nur nach wie vor unergründet scheint, sondern sich außerdem möglicherweise bei jedem Opfer aus anderen Faktoren zusammensetzt.

Weiteren Anlass zur Diskussion bietet die Qualität der Mastzellproteasen: In der vorliegenden wie auch in den oben genannten Arbeiten wurde Tryptase als Mastzellmarker bestimmt. Theoretisch besteht aber entsprechend der Einteilung der Mastzellen nach ihren Proteasen auch die Möglichkeit, dass bestimmte Mastzellen (MCC-Zellen) nicht in die Wertung miteinfließen, da sie in ihren Granula keine Tryptase enthalten.

In Bezug darauf könnte ein Ansatz für zukünftige Studien im Zusammenhang mit SIDS sein, die exakte Zusammensetzung von Mastzellen im Gehirn genauer zu betrachten und somit die Theorie zu bestätigen oder zu widerlegen, dass sich erhöhte Werte von nicht-Tryptase-haltigen Mastzellen im Gehirn finden lassen.

In jedem Fall muss auch die Rolle der Blut-Hirn-Schranke in diesem Zusammenhang noch näher beleuchtet werden. Dass Mastzellen die Blut-Hirn-Schranke durchwandern können, ist unumstritten [u.a. Silver et al. 1996, Silverman et al. 2000]. Doch inwiefern spielt der plötzliche Kindstod eine Rolle für die Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke, so dass man von Veränderungen der Permeabilität auf veränderte Mastzell-Werte schließen könnte? In einer Arbeit von Esposito et al. [2001] wird dargelegt, dass die Blut-Hirn-Schranke durch akuten Stress verändert wird: Die Permeabilität steigt und damit wird die Schranke durchlässiger für Zellen und Moleküle verschiedenster Art. In der Studie werden darüber hinaus Mastzellen als derjenige Faktor genannt, der die Permeabilität am stärksten beeinflusst. Dies würde bedeuten, dass die Blut-Hirn-Schranke umso durchgängiger wird (unter ande-

rem auch für die Mastzellen selbst), je mehr Mastzellen sich im Blutkreislauf befinden. Jedoch bleibt in diesem Zusammenhang zu klären, inwiefern die SIDS-Opfer an akutem Stress in der Endphase leiden. Sollten sie jedoch keinerlei agonalen Stress durchleben, kann davon ausgegangen werden, dass die Anzahlen der Mastzellen im Gehirn sich nicht außerhalb der Normwerte befinden. Diese These könnte, ganz unabhängig von anaphylaktischen Reaktionen, auch erklären, dass sich in einigen der oben genannten Studien im Serum der SIDS-Opfer vergleichsweise hohe Tryptase-Werte fanden; die Gehirne wurden dabei jedoch nicht genauer untersucht. Die Theorie könnte auch die vergleichsweise höheren Werte bei den Kontrollfällen verständlich machen: Je nachdem durch welchen Umstand diese Kinder zu Tode gekommen sind, wäre es möglich, dass sich durch akuten Stress, gewissermaßen im Todeskampf, auch die Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke dahingehend verändert hat, dass u.a. auch vermehrt Mastzellen ins Gehirn eingewandert sind, unabhängig davon, wie hoch oder niedrig die Werte im Serum waren.

Da jedoch die Ursache für den plötzlichen Kindstod an sich noch nicht geklärt ist, können diese Zusammenhänge erst durch weitere Forschung zu befriedigenden Ergebnissen führen, z.B. indem man bei SIDS-Opfern und auch Kontroll-Fällen sowohl die Mastzellen im Serum als auch im Gehirn-Gewebe, entsprechend der vorliegenden Arbeit, untersucht, wobei durchaus die Möglichkeit besteht, dass diese relativ zueinander deutlich differieren.

5. Zusammenfassung

Um einen tieferen Einblick in die Ätiologie des Sudden Infant Death Syndrome zu bekommen, sollte in der vorliegenden Arbeit ein Zusammenhang zwischen einer fraglichen vorausgehenden anaphylaktischen Reaktion und dem plötzlichen Kindstod näher beleuchtet werden. Zu diesem Zweck wurden Gehirne von 20 SIDS-Opfern und 33 Kontrollfällen histologisch bearbeitet, indem in bestimmten Gehirnregionen die Anzahl von Mastzellen mittels monoklonalem Antikörper gegen Tryptase, einer Protease in den Granula der Mastzellen, bestimmt wurde. Die Ergebnisse der beiden Gruppen wurden ausgewertet und statistisch verglichen.

Es zeigte sich in keiner der 24 bearbeiteten Hirnregionen ein signifikanter Unterschied in der Quantität der Mastzellen zwischen den beiden untersuchten Gruppen. Im Kontext ähnlicher Studien zu diesem Thema verstärkt dieses Ergebnis die weitläufig anerkannte Theorie, dass dem plötzlichen Kindstod ein multifaktorielles Geschehen vorausgeht, das zwar anaphylaktische Reaktionen beinhalten kann, aber keinesfalls muss und sich wahrscheinlich in jedem individuellen Fall aus verschiedenen Komponenten zusammensetzt, die in Kombination zum Tod des Säuglings führen können und im Einzelfall vermutlich schwer zu ergründen sind.

In zukünftigen Forschungen zu diesem Thema könnte es hilfreich sein, einen Vergleich zwischen Mastzell-Werten im Serum und im Hirngewebe zu erstellen, da diese unter Umständen deutlich differieren und somit auch die Bedeutung der Blut-Hirn-Schranke in den Fokus der Untersuchungen eingebracht werden könnte. Auch eine Untersuchung der genauen Mastzellkomponenten im Gehirn könnte im Hinblick auf die Tryptase-spezifische Anfärbung von Interesse sein.

6. Literaturverzeichnis

- Abu-Osbu YK, Mathew OP, Thach BT:** An animal model for airway sensory deprivation producing obstructive apnea with postmortem findings of sudden infant death syndrome. *Pediatrics* 1981, 68:796-801.
- Adams MM:** The descriptive epidemiology of sudden infant deaths among natives and whites in Alaska. *Am J Epidemiol* 1985, 122: 637- 643.
- Althoff H:** Erweiterte Sektions- und Untersuchungsmethoden der Nasen-Rachenregion zum Nachweis pathomorphologischer Befunde bei plötzlichen Kindstodesfällen. *Z Rechtsmedizin* 1977, 79: 205-215.
- Aloe L, Levi-Montalcini R:** Mast cells increase in tissues of neonatal rats injected with the nerve growth factor. *Brain Res* 1977, 133: 358-366.
- Ambler MW, Neave C, Sturner WQ:** Sudden and unexpected death in infancy and childhood: neuropathological findings. *Am J Forensic Med Pathol* 1981, 2: 23-30.
- American Academy of Pediatrics, Task Force on Infant Positioning and SIDS:** Positioning and SIDS. *Pediatrics* 1992, 89: 1120-1126.
- Arnon SS, Damus K, Chin J:** Infant botulism: epidemiology and relation to sudden infant death syndrome. *Epidemiol Rev* 1981, 3: 45-66.
- Artuc M, Steckelings M, Henz BM:** Mast cell-fibroblast interactions: human mast cells as source and inducer of fibroblast and epithelial growth factors. *J Invest Dermatol* 2002, 118: 391-395.
- Bajanowski T, Poets C:** Der plötzliche Säuglingstod. Epidemiologie, Ätiologie, Pathophysiologie und Differenzialdiagnostik. *Dtsch Arztebl* 2004, 101: A 3185-3190.
- Becker LE:** Neural maturational delay as a link in the chain of events leading to SIDS. *Can J Neurol Sci* 1990, 17: 361-371.
- Bell S, Crawley BA, Oppenheim BA, Drucker DB, Morris JA:** Sleeping position and upper airways bacterial flora: relevance to cot death. *J Clin Pathol* 1996, 49: 170-172.
- Berger P, Perng TW, Thabrew H, Compton SJ, Cairns JA, McEuen AR, Marthan R, Tunon De Lara JM, Walls AF:** Tryptase and agonists of PAR-2 induce the proliferation of human airway smooth muscle cells. *J Appl Physiol* 2001, 91: 1372-1379.
- Bergman AB, Beckwith JB, Ray CG (Hrsg):** Sudden infant death syndrome. Proceedings of the Second International Conference on causes of sudden death in infants. University of Washington Press, Seattle, 1970, 17-18.
- Bergström L, Lagercrantz H, Terenius L:** Post-mortem analysis of neuropeptides in brains from sudden infant death victims. *Brain Res* 1984, 323: 279- 285.
- Blair RJ, Meng H, Marchese MJ, Ren S, Schwartz LB, Tonnesen MG:** Human mast cells stimulate vascular tube formation. Tryptase is a novel, potent angiogenic factor. *J Clin Invest* 1997, 99: 2691-2700.

- Boehnisch T:** Handbuch immunchemische Färbemethoden. 3. Auflage. DakoCytomation GmbH, Hamburg 2003, S. 34-37.
- Bonini SE, Lambiase A, Bonini S, Angelucci F, Magrini L, Manni L, Aloe L:** Circulating nerve growth factor levels are increased in human with allergic diseases and asthma. Proc Natl Acad Sci USA 1996, 93: 10955-10960.
- Bradding P, Okayama Y, Howarth PH, Church MK, Holgate ST:** Heterogeneity of human mast cells based on cytokine content. J Immunol 1995, 155: 297-307.
- Buckley MG, Variend S, Walls AF:** Elevated Serum concentrations of β -tryptase, but not α -tryptase, in Sudden Infant Death Syndrome (SIDS). An investigation of anaphylactic mechanisms. Clin Exp Allergy 2001, 31: 1696-1704.
- Bulterys M:** High incidence of sudden infant death syndrome among northern Indians and Alaska natives compared with southwestern Indians: possible role of smoking. J Community Health 1990, 15: 185-194.
- Butterworth J, Tennant MC:** Postmortem human brain pH and lactate in sudden infant death syndrome. J Neurochem 1989, 53: 1494-1499.
- Byard RW:** Possible mechanisms responsible for sudden infant death syndrome. J Pediatr Child Health 1991, 27: 147-157.
- Byard RW:** Is co-sleeping in infancy a desirable or dangerous practice? J Pediatr Child Health 1994, 30: 198-199.
- Byard RW, Bourne AJ, Burnell RH, Robertson D:** Lack of evidence of an association between DTP vaccination and sudden infant death syndrome (letter). Med J Aust 1991, 155: 135-136.
- Byard RW, Cohle SD:** Sudden Death in Infancy, Childhood and Adolescence. Cambridge: Cambridge University Press, 1994.
- Byard RW, Hilton J:** Overlaying, accidental suffocation and sudden infant death. J SIDS Infant Mort 1997; 2: 161-165.
- Byard RW, Krous HF (Hrsg):** Sudden Infant Death Syndrome: Problems, Progress and Possibilities. Arnold, London, 2001.
- Byard RW, Krous HF:** Sudden Infant Death Syndrome: Overview and Update. Pediatr Dev Pathol 2003; 6: 112 -127.
- Byard RW, Moore L, Bourne AJ, Lawrence AJ, Goldwater PN:** Clostridium botulinum and sudden infant death syndrome: a 10 year prospective study. J Paediatr Child Health 1992, 28: 156-157.
- Cairns JA, Walls AF:** Mast cell tryptase stimulate the synthesis of type I collagen in human lung fibroblasts. J Clin Invest 1997, 99: 1313-1321.
- Carpenter RG, Irgens LM, Blair PS, England PD, Fleming P, Huber J, Jorch G, Schreuder P:** Sudden unexplained infant death in 20 regions in Europe: case control study. Lancet 2004, 363: 185-191.

- Centers for disease Control and Prevention.** DTP vaccination and sudden infant deaths – Tennessee. *MMWR* 1979, 28: 131-132.
- Chase MH, Roth T (Hrsg.):** Slow wave sleep: Its measurement and functional significance. Proceedings of an International Symposium, Santa Monica 1990. University of California 1990: 1-260.
- Cherry JD, Brunell PA, Golden GS, Karzon DT:** Report on the taskforce on pertussis and pertussis immunization – 1988. *Pediatrics* 1988, 81: 939-984.
- Chigr F, Najimi M, Jordan D, Denoroy L, Pearson J, Tommasi M, Gilly R, Kopp N:** Immunohistochemical absence of adrenergic neurons in the dorsal part of the solitary tract nucleus in sudden infant death. *C R Acad Sci III* 1989, 309: 543-549.
- Chigr F, Jordan D, Najimi M, Denoroy L, Sarrieau A, de Broca A, Rostene W, Epelbaum J, Kopp N:** Quantitative autoradiographic study of somatostatin and neurotensin binding sites in medulla oblongata of SIDS. *Neurochem Int* 1992, 20: 113-118.
- Clancy RR, Spitzer AR:** Cerebral cortical function in infants at risk for sudden infant death syndrome. *Ann Neurol* 1985, 18: 41-47.
- Coquerel A, Buser M, Tayot J, Pfaff F, Matray F, Proust B:** Beta-endorphin and neurotensin in brainstem and cerebrospinal fluid in the sudden infant death syndrome. *Neurochem Int* 1992, 20: 97-102.
- Coombs RRA, Holgate ST:** Allergy and cot death: with special focus on allergic sensitivity to cows' milk and anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 1990, 20: 359-366.
- Coombs RRA, Parish WR, Walls AF:** Sudden infant death syndrome. Could a healthy infant succumb to inhalation anaphylaxis during sleep leading to cot death? Cambridge Publications 2000, Cambridge.
- Crivellato E, Beltrami CA, Mallardi F, Ribatti D:** The mast cell: an active participant or an innocent bystander? Review. *Histol Histopathol* 2004, 19: 259 -270.
- Crivellato E, Damiani D, Mallardi F, Travan L:** Suggestive evidence for a microanatomical relationship between mast cells and nerve fibres containing substance P, calcitonin gene related peptide, vasoactive intestinal polypeptide, and somatostatin in the rat mesentery. *Acta Anat (Basel)* 1991, 141: 127-131.
- Denoroy L, Kopp N, Gay N, Bertrand E, Pujol JF, Gilly R:** Activities of enzymes synthesizing catecholamines in areas of the brain stem in sudden infant death. *C R Seances Acad Sci D* 1980, 291: 245-248.
- Denoroy L, Gay N, Gilly R, Tayot J, Pasquier B, Kopp N:** Catecholamine synthesizing enzyme activity in brainstem areas from victims of sudden infant death syndrome. *Neuropediatrics* 1987, 18: 187-190.
- Devey ME, Anderson KJ, Coombs RRA, Henschel MJ, Coates ME:** The modified anaphylaxis hypothesis for cot death: anaphylactic sensitization in guinea pigs fed cows' milk. *Clin Exp Immunol* 1976, 26: 542-548.

- Dietsch GN, Hinrichs DJ:** The role of mast cells in the elicitation of experimental allergic encephalomyelitis. *J Immunol* 1989, 142: 1476-1481.
- Dietsch GN, Hinrichs DJ:** Mast cells proteases liberate stable encephalitogenic fragments from intact myelin. *Cell Immunol* 1991, 135: 541-548.
- DiMaio VJ:** SIDS or murder? *Pediatrics* 1988, 81: 747-748.
- Douglas AS, Alexander E, Allan TM, Helms PJ:** Seasonality of birth in sudden infant death syndrome. *Scot Med J* 1996, 41: 39-43.
- Dropp JJ:** Mast cells in the human brain. *Acta Anat* 1979, 105: 505-513.
- Dvorak AM:** Basophil and mast cell degranulation and recovery. In: Harris JR (Hrsg.): *Blood Cell Biochemistry*, Vol. 4. Plenum Press, New York 1991.
- Esposito P, Gheorghe D, Kandere K, Pang X, Connolly R, Jacobson S, Theoharides TC:** Acute stress increases permeability of the blood-brain-barrier through activation of brain mast cells. *Brain Res* 2001, 888: 117-127.
- Falck G, Rajs J:** Brain weight and sudden infant death syndrome. *J Child Neurol* 1995, 10: 123-126.
- Fleming P, Bacon C, Blair P, Berry PJ (Hrsg):** Sudden Unexpected Deaths in Infancy: The CESDI SUDI Studies 1993-1996. The Stationery Office, London, 2000.
- Foote SL, Morrison JH:** Extrathalamic modulation of cortical function. *Ann Rev Neurosci* 1987, 10: 67-95.
- Foreman JC, Jordan CC:** Comparison of the activities of some peptides in human skin and as histamine releasing agents. *Proc Br Pharmacol Soc (Lond)* 1980, C57: 55.
- Gadd SJ, Ashman LK:** A murine monoclonal antibody specific for a cell-surface antigen expressed by a subgroup of human myeloid leukaemias. *Leukoc Res* 1985, 9: 1329-1336.
- Galli SJ:** New insight into "the riddle of mast cells": microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. *Lab Invest* 1990, 62: 5-33.
- Galli SJ:** Complexity and redundancy in the pathogenesis of asthma: Reassessing the roles of mast cells and T cells. *J Exp Med* 1997, 186: 343-347.
- Galli SJ, Kalesnikoff J, Grimbaldston MA, Piliponsky AM, Williams CMM, Tsai M:** Mast cells as "tunable" effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annu Rev Immunol* 2005, 23: 749-786.
- Gibson E, Cullen JA, Spinner S, Rankin K, Spitzer AR:** Infant sleep position following the new AAP guidelines. *American Academy of Pediatrics. Pediatrics* 1995, 96: 69-72.
- Goldwater PN:** Sudden infant death syndrome: a critical review of approaches to research. *Arch Dis Child* 2003, 88: 1095-1100.

- Goto K, Maeda T, Mirmiran M, Ariagno R:** Effects of prone and supine position in sleep characteristics in preterm infants. *Psychiatry Clin Neurosci* 1999, 53: 315-317.
- Gruber BL, Kew RR, Jelaska A, Marchese MJ, Garlick J, Ren S, Schwartz WB, Korn JH:** Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *J Immunol* 1997, 158: 2310-2317.
- Gruber BL, Marchese MJ, Kew RR:** Transforming growth factor- β 1 mediates mast cell chemotaxis. *J Immunol* 1994, 152: 5860-5867.
- Gruber BL, Marchese MJ, Kew RR:** Angiogenic factors stimulate mast cell migration. *Blood* 1995, 86(7): 2488-2493.
- Grützkau A, Krüger-Krasagakes S, Baumeister H, Schwarz C, Kögel H, Welker P, Lippert U, Henz BM, Möller A:** Synthesis, storage, and release of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor (VEGF/VPF) by human mast cells: implications for the biological significance of VEGF206. *Mol Biol Cell* 1998, 9: 875-884.
- Gupta R, Helms PJ, Jolliffe IT, Douglas AS:** Seasonal variation in sudden infant death syndrome and bronchiolitis – a common mechanism? *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 154: 431-435.
- Gurish MF, Austen KF:** The diverse Roles of mast cells. *J Exp Med* 2001, 194: 1-5.
- Harper RM, Leake B, Hoffman H, Walter DO, Hoppenbrouwers T, Hodgman J, Sterman MB:** Periodicity of sleep states is altered in infants at risk for the sudden infant death syndrome. *Science* 1981, 213: 1030-1032.
- Harpey JP, Charpentier C, Paturneau-Jouas M:** Sudden infant death syndrome and inherited disorders of fatty acid beta-oxidation. *Metabolic problems of the newborn. Biol Neonate* 1990, 58 Suppl 1:70-80.
- Herold G (Hrsg.):** *Innere Medizin. Köln, 2007: 318-321*
- Hoffman JJ, Damus K, Hillman L, Krongrad E:** Risk factors for SIDS. Results of the National Institute of Child Health and Human Development SIDS Cooperative Epidemiological Study. *Ann NY Acad Sci* 1988, 533: 13-30.
- Holgate ST:** The mast cell and its function in allergic disease. *Clin Exp Allergy* 1991, 21 Suppl 3: 11-16.
- Holgate ST, Walters S, Walls AF, Lawrence S, Shell DJ, Variend S, Fleming PJ, Berry PJ, Gilbert RE, Robinson C:** The anaphylaxis hypothesis of sudden infant death syndrome (SIDS): mast cell degranulation in cot death revealed by elevated concentrations of tryptase in serum. *Clin Exp Allergy* 1994, 24: 1115-1122.
- Irani AM, Schwartz LB:** Human mast cell heterogeneity. *Allergy Proc* 1994, 15: 303-308.
- Irani AM, Schechter NM, Craig SS, De Blois G, Schwartz LB:** Two types of human mast cell that have distinct neutral protease composition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986, 83: 4464-4468.
- Irwin KL, Mannino S, Daling J:** Sudden infant death syndrome in Washington State: Why are Native American infants at greater risk than white infants? *J Pediatr* 1992, 121: 242-247.

- Ishizaka T, Ishizaka K:** Activation of mast cells for mediator release through IgE receptor. *Prog Allergy* 1984, 34: 188-235.
- Javed NH, Wang YZ, Cooke HJ:** Neuroimmune interactions: role for cholinergic neurons in intestinal anaphylaxis. *Am J Physiol* 1992, 263: G847-852.
- Johnson MD, Kamso-Pratt J, Federspiel CF, Whetsell WO jr:** Mast cell and lymphoreticular infiltrates in neurofibromas. Comparison with nerve sheath tumors. *Arch Pathol Lab Med* 1989, 114: 1263-1270.
- Johnson D, Krenger W:** Interactions of mast cells with the nervous system – recent advances. *Neurochem Res* 1992, 17: 939-951.
- Johnson D, Seeldrayers PA, Weiner HL:** The role of mast cells in demyelination. 1. Myelin proteins are degraded by mast cell proteases and myelin basic protein and P2 can stimulate mast cell degranulation. *Brain Res* 1988, 444: 195-198.
- Jordan D, Kermadi I, Rambaud C, Bouvier R, Dijoud F, Martin D, Kopp N:** Autoradiographic distribution of brainstem substance P binding sites in humans: ontogenic studies and relation to sudden infant death syndrome (SIDS). *J Neural Transm* 1997, 104: 1101-1105.
- Kahn A, Groswasser J, Rebuffat E, Sottiaux M, Blum D, Foerster M, Franco P, Bochner A, Alexander M, Bachy A et al.:** Sleep and cardiorespiratory characteristics of infant victims of sudden death: a prospective case-control study. *Sleep* 1992, 15: 287-292.
- Kahn A, Franco P, Scaillet S, Groswasser J, Dan B:** Development of cardiopulmonary integration and the role of arousability from sleep. *Curr Opin Pulm Med* 1997, 3: 440-444.
- Kalaria RN, Fiedler C, Hunsaker JC 3rd, Sparks DL:** Synaptic neurochemistry of human striatum during development: changes in sudden infant death syndrome. *J Neurochem* 1993, 60: 2098-2105.
- Kemp JS, Nelson VE, Thach BT:** Physical properties of bedding that may increase sudden infant death syndrome in prone-sleeping infants. *Pediatr Res* 1994, 36: 7-11.
- Kenny PA, McDonald PJ, Finlay-Jones JJ:** The effect of cytokines on bactericidal activity of murine neutrophils. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1993, 7: 271-279.
- Kerr JR, Al-Khattaf A, Barson AJ, Burnie JP:** An association between sudden infant death syndrome (SIDS) and *Helicobacter pylori* infection. *Arch Dis Child* 2000, 83: 429-434.
- Kinney HC, Brody BA, Finkelstein DM, Vawter GF, Mandell F, Gilles FH:** Delayed central nervous system myelination in the sudden infant death syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 1991, 50: 29-48.
- Kinney HC, Burger PC, Harrell FE jr, Hudson RP jr:** "Reactive gliosis" in the medulla oblongata of victims of the sudden infant death syndrome. *Pediatrics* 1983, 72: 181-187.
- Kinney HC, Filiano JJ, Harper RM:** The Neuropathology of the sudden infant Death syndrome. A review. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992, 51: 115-126.

- Kitamura Y:** Heterogeneity of mast cells and phenotypic type change between subpopulations. *Annu Rev Immunol* 1989, 7: 59-76.
- Kleemann WJ, Vock R, Bajanowski T:** Obduktionsfrequenz bei plötzlichen Säuglingstodesfällen in der Bundesrepublik Deutschland in den Jahren 1985 bis 1989. *Rechtsmed* 1997, 7: 72-75.
- Kleemann WJ, Schlaud M, Poets CF, Rothämel T, Tröger HD:** Hyperthermia in sudden infant death. *Int J Legal Med* 1996, 109: 139-142.
- Klimek V, Rajkowska G, Luker SN, Dilley G, Meltzer HY, Overholser JC, Stockmeier CA, Ordway GA:** Brain Noradrenergic Receptors in Major Depression and Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1999, 21: 69-81.
- Krous HF, Beckwith JB, Byard RW, Rognum TO, Bajanowski T, Corey T, Cutz E, Hanzlick R, Keens TG, Mitchell EA:** Sudden infant death syndrome and unclassified sudden infant deaths: a definitional and diagnostic approach. *Pediatrics* 2004; 114: 234-238.
- Lambracht-Hall M, Dimitriadou V, Theoharides TC:** Migration of mast cells in the developing rat brain. *Brain Res Dev Brain Res* 1990, 56: 151-159.
- Lewak L, vandenBerg BJ, Beckwith JB:** Sudden infant death syndrome risk factors. *Clin Pediatr* 1979, 18: 404-410.
- Liberski PP, Prusinski A:** Further observations on the mast cells over the painful region in cluster headache patients. *Headache* 1982, 22: 115-117.
- Marone G, Florio G, Triggiani M, Petraroli A, de Paulis A:** Mechanisms of IgE elevation in HIV-1 infection. *Crit Rev Immunol* 2000, 20: 477-496.
- Mathews TJ, MacDorman MF:** Infant Mortality Statistics from the 2003 Period Linked Birth/Infant Death Data Set. *Natl Vital Stat Rep* 2006, 54: 1-30.
- Matsuda H, Kannan Y, Ushio H, Kiso Y, Kanemoto T, Suzuki H, Kitamura Y:** Nerve growth factor induces development of connective tissue-type mast cells in vitro from murine bone marrow cells. *J Exp Med* 1991, 174: 7-14.
- Mayrhofer G, Gadd SJ, Spargo LD, Ashman LK:** Specificity of a mouse monoclonal antibody raised against acute myeloid leukaemia cells for mast cells in human mucosal and connective tissues. *Immunol Cell Biol* 1987, 65(Pt 3): 241-250.
- McCormick DA:** Cholinergic and noradrenergic modulation of thalamocortical processing. *Trends Neurosci* 1989, 12: 215-221.
- Mekori YA, Metcalfe DD:** Mast cells in the innate immunity. *Immunol Rev* 2000, 173: 131-140.
- Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA:** Mast cells. *Physiol Rev* 1997, 77: 1033-1079.
- Millhorn DE, Eldridge FL:** Role of ventrolateral medulla in regulation of respiratory and cardiovascular systems. *J Appl Physiol* 1986, 61: 1249-1263.

- Mitchell EA, Thach BT, Thompson JMD, Williams S:** Changing infants' sleep position increases risk of sudden infant death syndrome. New Zealand Cot Death Study. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1999, 153: 1136-1141.
- Mitchell EA, Scragg L, Clements M:** Soft cot mattresses and the sudden infant death syndrome. *N Z Med J* 1996, 109: 206-207.
- Mitchell EA, Stewart AW, Scragg R, Ford RPK, Taylor BJ, Becroft DMO, Thompson JMD, Hassall IB, Barry DMJ, Allen EM, Roberts AP:** Ethnic differences in mortality from sudden infant death syndrome in New Zealand. *BMJ* 1993, 306: 13-16.
- Moskowitz MA:** The neurobiology of vascular head pain. *Ann Neurol* 1984, 16: 157-168.
- Moss IR, Denavit-Saubie M, Eldridge FL, Gillis RA, Herkeham M, Lahiri S:** Neuromodulators in respiratory control. *Fed Proc* 1986, 45: 2133-2147.
- Naeye RL:** Brain-stem and adrenal abnormalities in the sudden-infant-death syndrome. *Am J Clin Pathol* 1976, 66: 526-530.
- Neumann J:** Über das Vorkommen der sogenannten "Mastzellen" bei pathologischen Veränderungen des Gehirns. *Arch Pathol Anat Physiol* 1890, 122:378.
- Nishio H, Suzuki K:** Serum tryptase levels in sudden infant death syndrome in forensic autopsy cases. *Forensic Sci Int* 2004, 139: 57-60.
- Nodar RH, Lonsdale D, Orlowski JP:** Abnormal brainstem potentials in infants with threatened sudden infant death syndrome. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1980, 88: 619-621.
- Oehmichen M, Linke P, Zilles K, Saternus KS:** Reactive astrocytes and macrophages in the brainstem of SIDS-victims? Eleven age- and sex-matched SIDS and control cases. *Clin Neuropathol* 1989, 8: 276-283.
- Olsson Y:** Mast cells in plaques of multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1974, 50: 611-618.
- Orr EL:** Presence and distribution of nervous system-associated mast cells that may modulate experimental autoimmune encephalomyelitis. *Ann N Y Accad Sci* 1988, 540: 723-726.
- Oyen N, Bulterys M, Welty TK, Kraus JF:** Sudden unexplained infant deaths among American Indians and whites in North and South Dakota. *Pediatr Perinat Epidemiol* 1990, 4: 175-183.
- Oyen N, Markestad T, Skaerven R, Irgens LM, Helweg-Larsen K, Alm B, Norvenius G, Wennergren G:** Combined Effects of sleeping position and prenatal risk factors in sudden infant death syndrome: The Nordic Epidemiological SIDS Study. *Pediatrics* 1997, 100: 613-621.
- Ozand PT, Tildon JT:** Alterations of catecholamine enzymes in several brain regions of victims of sudden infant death syndrome. *Life Sci* 1983, 32: 1765-1770.
- Page S, Ammit AJ, Black JL, Armour CL:** Human mast cell and airway smooth muscle cell interaction: implications for asthma. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001, 281: L1313-L1323.

- Parish WE, Barrett AM, Coombs RRA:** Inhalation of milk by sensitized guinea pigs in the conscious and anaesthetized state. *Immunology* 1960, 3: 307- 324.
- Parish WE, Barrett AM, Coombs RRA, Gunther M, Camps FE:** Hypersensitivity to milk and sudden death in infancy. *Lancet* 1960, 2: 1106-1110.
- Penning R:** Rechtsmedizin systematisch. Uni-Med Verlag, Bremen 2006: 50/51.
- Pettigrew AG, Rahilly PM:** Brainstem auditory evoked responses in infants at risk in sudden infant death syndrome. *Early Hum Dev* 1985, 11: 99-111.
- Pinholster G:** SIDS paper triggers a murder charge. *Science* 1994, 264: 197-198.
- Platt MS, Yunginger JW, Sekula-Perlman A, Irani AM, Smialek J, Mirchandani HG, Schwartz LB:** Involvement of mast cells in sudden infant death syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 1994, 94: 250-256.
- Prineas JW, Wright RG:** Macrophages, lymphocytes, and plasma cells in the perivascular compartment in chronic multiple sclerosis. *Lab Invest* 1978, 38: 409-421.
- Qu Z, Liebler JM, Powers MR, Galey T, Ahmadi P, Huang XN, Ansel JC, Butterfield JH, Planck SR, Rosenbaum JT:** Mast cells are a major source of basic fibroblast growth factor in chronic inflammation and cutaneous hemangioma. *Am J Pathol* 1995, 147: 564-573.
- Quattrochi JJ, McBride PT, Yates AJ:** Brainstem immaturity in sudden infant death syndrome: a quantitative rapid Golgi study of dendritic spines in 95 infants. *Brain Res* 1985, 325: 39-48.
- Ra C, Yasuda M, Yagita H, Okumura K:** Fibronectin receptor integrins are involved in mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol* 1994, 94(3 Pt 2): 625-628.
- Ribatti D, Polimeno G, Vacca A, Marzullo A, Crivellato E, Nico B, Lucarelli G, Dammacco F:** Correlation of bone marrow angiogenesis and mast cells with tryptase activity in myelodysplastic syndromes. *Leukaemia* 2002, 16: 1680-1684.
- Ribatti D, Roncali L, Nico B, Bertossi M:** Effects of exogenous heparin on the vasculogenesis of the chorioallantoic membrane. *Acta Anat (Basel)* 1987, 130: 257-263.
- Ribatti D, Vacca A, Nico B, Quondamatteo F, Ria R, Minischetti M, Marzullo A, Herken R, Roncali L, Dammacco F:** Bone marrow angiogenesis and mast cell density increase simultaneously with progression of human multiple myeloma. *Br J Cancer* 1999, 79: 451-455.
- Ribatti D, Vacca A, Ria R, Marzullo A, Nico B, Filotico R, Roncali L, Dammacco F:** Neovascularization, expression of fibroblast growth factor-2, and mast cells with tryptase activity increase simultaneously with pathological progression in human malignant melanoma. *Eur J Cancer* 2003, 39: 666-674.
- Riccardi VM:** Mast-cell stabilization to decrease neurofibroma growth. Preliminary experience with ketotifen. *Arch Dermatol* 1987, 123: 1011-1016.
- Richardson BA:** Sudden infant death syndrome: a possible primary cause. *J Forensic Sci Soc* 1994, 34: 199-204.

- Rimmer EF, Tuberville V, Horton MA:** Human mast cells detected by monoclonal antibodies. *J Clin Pathol* 1984, 37: 1249-1255.
- Rodewald HR, Dessing M, Dvorak AM, Galli SJ:** Identification of a committed precursor for the mast cell lineage. *Science* 1996, 271: 818-822.
- Rognum TO:** Immunologische und mikrobiologische Untersuchungen. In: Kurz R, Kenner T, Poets C (Hrsg): *Der plötzliche Säuglingstod. Ein Ratgeber für Ärzte und Betroffene.* Springer Verlag, Heidelberg 2000: 82-91.
- Ruoss SJ, Hartmann T, Caughey GH:** Mast cell tryptase is a mitogen for cultured fibroblasts. *J Clin Invest* 1991, 88: 493-499.
- Schechtman VL, Harper RM, Wilson AJ, Southall DP:** Sleep state organization in normal infants and victims of the sudden infant death syndrome. *Pediatrics* 1992, 89: 865-870.
- Schechtman VL, Lee MY, Wilson AJ, Harper RM:** Dynamics of respiration patterning in normal infants and infants who subsequently died of the sudden infant death syndrome. *Pediatr Res* 1996, 40: 571-577.
- Schlaud M, Eberhard C, Trumann B, Kleemann WJ, Poets CF, Tietze KW, Schwartz FW:** Prevalence and determinants of the prone sleeping position in infants. Results from two cross-sectional studies on risk factors for SIDS in Germany. *Am J Epidemiol* 1999, 150: 51-57.
- Schulte FJ, Albani M, Schnizer H, Bentele K:** Neuronal control of neonatal respiration – sleep apnea and the sudden infant death syndrome. *Neuropediatrics* 1982, 13: 3-14.
- Schwartz LB:** Monoclonal antibodies against human mast cell tryptase demonstrate shared antigenic sites on subunits of tryptase and selective localization of the enzyme to mast cells. *J Immunol* 1985, 134: 526-531.
- Schwartz LB, Irani AA; Roller K, Castells MC, Schechter NM:** Quantitation of histamine, tryptase and chymase in dispersed human T and TC mast cells. *J Immunol* 1987, 138: 2611-2615.
- Schwartz PJ, Southall DP, Valdes-Dapena M:** The sudden infant death syndrome: Cardiac and respiratory mechanisms and interventions. *Ann NY Acad Sci* 1988, 533: 1-474.
- Scragg RKR, Mitchell EA:** Side sleeping position and bed sharing in the sudden infant death syndrome. *Ann Med* 1998, 30: 345-349.
- Seeldrayers PA, Yasui D, Weiner HL, Johnson D:** Treatment of experimental allergic neuritis with nedocromil sodium. *J Neuroimmunol* 1989, 25: 221-226.
- Serafin WE, Austen KF:** Mediators of immediate hypersensitivity reactions. *N Engl J Med* 1989, 317: 30-34.
- Shaw CM, Siebert JR, Haas JE, Alvord EC jr:** Megalencephaly in sudden infant death syndrome. *J Child Neurol* 1989, 4: 39-42.
- Silver A, Silverman AJ, Vitković L, Lederhendler I:** Mast cells in the brain: evidence and functional significance. *Trends Neurosci* 1996, 19: 25-31.

- Silverman AJ, Sutherland AK, Wilhelm M, Silver R:** Mast cells migrate vom blood to brain. *J Neurosci* 2000, 20: 401-408.
- Sonnabend OA, Sonnabend WF, Krech U, Molz G, Sigrist T:** Continuous microbiological and pathological study of 70 sudden and unexpected infant deaths: toxigenic intestinal clostridium botulinum infection in 9 cases of sudden infant death syndrome. *Lancet* 1985, 1: 237-241.
- Sörbo J, Jakobsson A, Norrby K:** Mast cell histamine is angiogenic through receptors histamine 1 and histamine 2. *Int J Exp Pathol* 1994, 75: 43-50.
- Sparks DL, Davis DG, Bigelow TM, Rasheed K, Landers TM, Liu H, Coyne CM, Hunsaker JC 3rd:** Increased ALZ-50 immunoreactivity in sudden infant death syndrome. *J Child Neurol* 1996, 11: 101-107.
- Sparks DL, Hunsaker JC 3rd a:** Sudden infant death syndrome: altered aminergic-cholinergic synaptic markers in hypothalamus. *J Child Neurol* 1991a, 6: 335-339.
- Sparks DL, Hunsaker JC 3rd :** Increased ALZ-50-reactive neurons in the brains of SIDS infants: an indicator of greater neuronal death? *J Child Neurol* 1991b, 6: 123-127.
- Sparks DL, Hunsaker JC 3rd:** Neuropathology of sudden infant death (syndrome): literature review and evidence of a probable apoptotic degenerative cause. *Childs Nerv Syst* 2002, 18: 568-592.
- Sparks DL, Hunsaker JC 3rd:** The pineal gland in sudden infant death syndrome. Preliminary observations. *J Pineal Res* 1988, 5: 111-118.
- Sprott TJ:** Cot Death – Cause and prevention experiences in New Zealand 1995-2004. *J Nutr Environment Med* 2004, 14: 221-232.
- Stanley FJ, Byard RW:** The association between the prone sleeping position and SIDS: an editorial overview. *J Pediatr Child Health* 1991, 27: 325-328.
- Stassen M, Hültner L, Schmitt E:** Classical and alternative pathways of mast cell activation. *Crit Rev Immunol* 2002, 22: 115-140.
- Statistisches Bundesamt:** Todesursachen in Deutschland. Gestorbene in Deutschland an ausgewählten Todesursachen 2008/2007/2006/2005/2004/2003/2002. Fachserie 12 Reihe 4. Statistisches Bundesamt, Wiesbaden 2010/2008/2007/2006/2005/2004.
- Stead RH, Tomioka M, Quinonez G, Simon GT, Felten SY, Bienenstock J:** Intestinal mucosal mast cells in normal and nematode-infected rats intestines are in intimate contact with peptidergic nerves. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987, 84: 2975-2987.
- Steinschneider A:** Prolonged apnea and the sudden infant death syndrome: clinical and laboratory observation. *Pediatrics* 1972, 50: 646-654.
- Storm H, Nylander G, Saugstad OD:** The amount of brainstem gliosis in sudden infant death syndrome (SIDS) victims correlates with maternal cigarette smoking during pregnancy. *Acta Paediatr* 1999, 88: 13-18.

- Storm H, Rognum TO, Reichelt KL:** Inverse relationship between beta-endorphin immunoreactivity in cerebrospinal fluid and nucleus tractus solitarius in sudden infant death. *Eur J Pediatr* 1994, 153: 381-386.
- Sturner WQ, Lipsitt LP, Oh W, Barrett J, Truex RC:** Abnormal heart rate response during newborn sucking behavior study: subsequent sudden infant death syndrome with cardiac conduction abnormality. *Forensic Sci Int* 1980, 16: 201-212.
- Sturner WQ, Lynch HJ, Deng MH, Gleason RE, Wurtman RJ:** Melatonin concentrations in the sudden infant death syndrome. *Forensic Sci Int* 1990, 45: 171-180.
- Taipale J, Lohi J, Saarinen J, Kovanen PT, Keski-Oja J:** Human mast cell chymase and leukocyte elastase release latent transforming growth factor- β 1 from the extracellular matrix of cultured human epithelial and endothelial cells. *J Biol Chem* 1995, 270: 4689-4696.
- Takashima S, Becker LE:** Developmental abnormalities of medullary "respiratory centers" in sudden infant death syndrome. *Exp Neurol* 1985, 90: 580-587.
- Takashima S, Mito T, Becker LE:** Dendritic development of motor neurons in the cervical anterior horn and hypoglossal nucleus of normal infants and victims of sudden infant death syndrome. *Neuropediatrics* 1990, 21: 24-26.
- Takashima S, Mito T, Becker LE:** Neuronal development in the medullary reticular formation in sudden infant death syndrome and premature infants. *Neuropediatrics* 1985, 16: 76-79.
- Takashima S, Mito T, Yamanouchi H:** Developmental brain-stem pathology in sudden infant death syndrome. *Acta Paediatr Jpn* 1994, 36(3): 317-320.
- Theoharides TC:** Mast cells and migraines. *Perspect Biol Med* 1983, 26: 672-675.
- Theoharides TC, Kalogeromitros D:** The critical role of mast cells in allergy and inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2006, 1088: 78-99.
- Valent P, Bettelheim P:** Cell surface structures on human basophils and mast cells: biochemical and functional characterization. *Avd Immunol* 1992, 52: 324-333.
- Vanderwolf CH, Stewart DJ:** Thalamic control of neocortical activation: a critical re-evaluation. *Brain Res Bull* 1988, 20: 529-538.
- Vege A, Rognum TO, Aasen AO, Saugstad OD:** Are elevated cerebrospinal fluid levels of IL-6 in sudden unexplained deaths, infectious deaths and deaths due to heart/lung diseases in infants and children due to hypoxia? *Acta Paediatr* 1998, 87: 819-824.
- Vennemann MM, Findeisen M, Butterfass-Bahloul T, Jorch G, Brinkmann B, Köpcke W, Bajanowski T, Mitchell EA:** Modifiable risk factors for SIDS in Germany: Results of GeSID. *Acta Paediatr* 2005, 94: 655-660.
- Vertes RP:** A life-sustaining function for REM sleep: A theory. *Neurosci Biobehav Rev* 1986, 10: 371-376.
- Vertes RP:** Brainstem mechanisms of slow-wave sleep and REM sleep. In: Klemm WR, Vertes RP (Hrsg): *Braistem mechanisms of behaviour*. John Wiley and Sons, New York 1990: 535-583.

- Vliagofftis H, Metcalfe DD:** Cell adhesion molecules in mast cell adhesion and migration. In: Adhesion molecules in allergic diseases. Bochner BS (Hrsg), Marcel Dekker, Inc. New York 1997: 151-172.
- Walker AM, Jick H, Perera DR, Thompson AS, Knauss TA:** Diphtheria-tetanus-pertussis immunization and sudden infant death syndrome. *Am J Pub Health* 1987, 77: 945-951.
- Walls AF, Jones DB, Williams JH, Church MK, Holgate ST:** Immunohistochemical identification of mast cells in formaldehyde-fixed tissue using monoclonal antibodies specific for tryptase. *J Pathol* 1990a, 162: 119-126.
- Walls AF, Bennett AR, McBride HM, Glennie MJ, Holgate ST, Church MK:** Production and characterization of monoclonal antibodies specific for human mast cell tryptase. *Clin Exp Allergy* 1990b, 20: 581-589.
- Walls AF, Roberts JA, Godfrey RC, Church MK, Holgate ST:** Histochemical heterogeneity of human mast cells: disease-related differences in mast cell subsets recovered by bronchoalveolar lavage. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990c, 92: 233-241.
- Walsh LJ, Trinchieri G, Waldorf HA, Whitaker D, Murphy GF:** Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor alpha, which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991, 88: 4220-4224.
- Wedgewood RJ, Benditt ER (Hrsg):** Sudden death in infants. Proceedings of the Conference on Causes of Sudden Death in Infants. September 1963, Seattle, WA. US PHS Publication No 1412, Washington, DC, 1965.
- Weis S:** Morphometry in the neurosciences. In: Wenger E, Dimitrov L (Hrsg.): Digital image processing and computer graphics: Theory and application. R. Oldenbourg, München-Wien 1991: 306-326.
- WHO Statistical Information System (WHOSIS),** Mortality Database, Infant Deaths Germany 1991-2001. <http://www.who.int/whosis/database/mort/table2.cfm>, am 8.9.2008
- Willinger M, Hoffman HJ, Hartford RB:** Infant sleep position and risk for sudden infant death syndrome: report of meeting held January 13 and 14, 1994, National Institutes of Health, Bethesda, MD. *Pediatrics* 1994, 93: 814-9.
- 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.
- Wolozin BL, Pruchnicki A, Dickson DW, Davies P:** A neuronal antigen in the brains of Alzheimer patients. *Science* 1986, 232: 648-650.
- Zhuang X, Silverman AJ, Silver R:** Brain mast cell degranulation regulates blood-brain barrier. *J Neurobiol* 1996, 31: 393-403.
- Zinka B, Rauch E, Penning R, Graw M:** Sudden Infant Death (SID). Gibt es den plötzlichen Säuglingstod? *Pädiatrie hautnah* 2004, 1: 41-45

7. Anhang

7.1. Daten der SIDS-Fälle

Nr.	Alter (Mon.)	Geschlecht (M/W)	Größe (cm)	Körpergewicht (kg)	Hirngewicht (g)	postmortale Liegezeit (h)
1	NG	W	43	1,5	205	12
2	NG	W	49	2,7	335	33
3	NG	W	50	3,3	nb	10
4	NG	W	53	3,3	407	6
5	1	W	54	4,9	464	29
6	1	M	56	4,1	487	7
7	1	M	57	4,8	530	65
8	1	W	58	4,6	545	8
9	1	M	61	5,2	566	54
10	3	W	57	4,3	499	26
11	3	W	58	5,1	622	6
12	3	W	60	5,3	632	23
13	3	M	62	6,3	717	45
14	3	M	63	6,3	763	6
15	3	W	71	8,5	852	69
16	3	M	72	5,4	708	72
17	4	M	60	4,4	643	24
18	5	W	65	6,7	676	10
19	7	M	73	8,2	941	23
20	10	M	74	7,7	963	28

Anmerkungen: nb: nicht bekannt
NG: Neugeborenes

7.2. Daten der Kontrollfälle

Nr.	Alter (Mon.)	Geschlecht (M/W)	Größe (cm)	Körpergewicht (kg)	Hirngewicht (g)	postmortale Liegezeit (h)
1	NG	W	41	1,3	166	33
2	NG	W	51	3,6	383	26
3	1	M	45	2,0	330	6
4	1	W	55	4,1	482	10
5	2	W	56	3,9	580	59
6	2	M	62	5,9	674	38
7	3	M	52	3,9	527	5
8	3	M	63	6,3	977	41
9	4	M	57	4,1	554	36
10	4	W	65	6,8	730	108
11	4	W	67	5,4	761	55
12	4	M	68	5,8	735	48
13	5	W	65	7,0	821	29
14	5	M	68	7,3	816	6
15	5	W	69	7,1	801	30
16	5	M	70	7,9	830	120
17	6	M	58	3,9	388	6
18	10	W	65	5,5	836	76
19	11	M	78	8,6	1 054	78
20	12	M	78	nb	nb	41
21	13	M	85	10,7	1 313	13
22	14	W	82	9,3	1 177	31
23	16	W	84	11,3	1 195	7
24	24	W	90	11,2	1 131	14
25	24	W	90	13,3	1 136	23
26	29	W	91	11,3	913	7
27	36	M	88	12,5	1 307	54
28	48	W	104	14,5	nb	9
29	48	W	111	17,6	1 403	42
30	72	W	118	19,5	1 314	70
31	84	W	125	24,5	1 379	9
32	84	W	127	24,4	1 393	90
33	nb	M	145	35,2	1 553	9

Anmerkungen: nb: nicht bekannt
 NG: Neugeborenes

7.3. Todesursachen der Kontrollfälle

Nr.	Todesursache
1	Frühgeburt
2	HSV-Infektion
3	Amöben-Enzephalitis
4	Williams-Beuren-Syndrom
5	anatomisch nicht eindeutig
6	Enzephalitis
7	fraglicher Zusammenhang mit vorangegangener Impfung
8	Infekt
9	Epilepsie
10	Meningokokken-Infektion
11	Infektion mit HHV 6
12	anatomisch nicht eindeutig
13	fraglicher Zusammenhang mit vorangegangener Impfung
14	Tötung
15	fraglicher Zusammenhang mit vorangegangener Impfung
16	anatomisch nicht eindeutig
17	Infekt
18	Kohlenmonoxid-Intoxikation
19	anatomisch nicht eindeutig
20	Shaken-Baby-Syndrom (Kindesmisshandlung)
21	Infekt
22	Infekt
23	fraglicher Zusammenhang mit vorangegangener Impfung
24	Waterhouse-Friedrichsen-Syndrom
25	Kawasaki-Syndrom
26	anatomisch nicht eindeutig
27	EBV-Infektion
28	Peritonitis
29	Kohlenmonoxid-Intoxikation
30	Stromtod
31	Tötung
32	Myokarditis
33	Tötung

7.4. Ergebnisse

7.4.1. Vergleich der Parameter von SIDS- und Kontrollfällen

	Kontrollen		SIDS		p-Wert
	MW	SEM	MW	SEM	
Größe (cm)	70,17	19,09	64,88	7,83	0,37
Gewicht (kg)	7,56	4,64	6,15	1,78	0,40
Hirngewicht (g)	839,31	358,35	752,59	210,51	0,25
postmortale Liegezeit (h)	31,04	26,01	34,80	25,37	0,47

Anmerkungen: MW: Mittelwert

SEM: Standardfehler des Mittelwertes

p-Wert: Signifikanzniveau

7.4.2. Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchungen

Region	Kontrollen		SIDS		p-Wert
	MW	SEM	MW	SEM	
fro-co	0,60	0,29	0,00	0,00	0,10
fro-wm	0,63	0,26	0,00	0,00	0,10
froorb-co	0,15	0,08	0,00	0,00	0,21
froorb-wm	0,18	0,11	0,00	0,00	0,29
occ-co	0,60	0,17	0,16	0,16	0,10
occ-wm	0,22	0,09	0,00	0,00	0,13
par-co	0,25	0,12	0,08	0,08	0,52
par-wm	1,09	0,62	0,08	0,08	0,15
tem-co	0,98	0,51	0,25	0,18	0,39
tem-wm	1,04	0,40	0,34	0,34	0,23
hip-ca1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40
hip-ca4	0,03	0,03	0,00	0,00	0,25
hip-gr	0,00	0,00	0,00	0,00	0,47
kh-co	0,05	0,04	0,00	0,00	0,21
kh-wm	0,65	0,27	0,54	0,47	0,29
kh-dent	1,26	0,40	0,23	0,23	1,00
thal	2,45	0,44	1,01	0,32	0,16
caud	0,46	0,17	0,00	0,00	0,80
put	2,51	0,62	0,00	0,00	1,00
caint	0,80	0,27	0,00	0,00	0,10
mes	0,35	0,21	0,08	0,08	0,37
pons	1,13	0,38	1,47	0,76	0,52
med	0,00	0,00	0,08	0,08	0,15
olv	0,00	0,00	0,08	0,08	1,00

Anmerkungen: Abkürzungen s. Absatz 2.1.

MW: Mittelwert

SEM: Standardfehler

MW und SEM in Anzahl Mastzellen/mm²

p-Wert: Signifikanzniveau

7.5. Chemikalien

Antikörper: Monoclonal Mouse Anti-Human Mast Cell Tryptase, Clone AA1,
Isotyp IgG1, Kappa; Code Nr. M7052
DakoCytomation, Glostrup, Dänemark

DAB-Lösung: Liquid DAB Substrate Kit, Kat. Nr. 00-2014
Zymed® Laboratories Inc., San Francisco, Kalifornien, USA

Diluent: Antibody Diluent, Ready-to-use, Kat. Nr. 00-3218
Zymed® Laboratories Inc., San Francisco, Kalifornien, USA

Formalin, 4%ig mit PBS gepuffert

Histostain® Plus Kit, Kat. Nr. 85-9043
Zymed® Laboratories Inc., San Francisco, Kalifornien, USA

PBS-Puffer: PBS-Tablets, Kat. Nr. 18912-014
GIBCO™, Auckland, Neuseeland

7.6. Abkürzungsverzeichnis

Fachliche Abkürzungen:

5-HIAA	5-Hydroxyindoleacetic Acid = 5-Hydroindol-Essigsäure
5-HT	5-Hydroxytryptamin = Serotonin
ABC-Methode	Avidin-Biotin-Complex-Methode
ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ALTE	Apparent life-threatening event
AML	akute myeloische Leukämie
ANOVA	analysis of variance
Aqua dest.	Aqua destillata = destilliertes Wasser
ARAS, ARA-System	aufsteigendes retikuläres Aktivierungs-System
BAEP	Brainstem Auditory Evoked Potentials
ChAT	Cholinacetyltransferase
COMT	Katechol-O-Methyl-Transferase
CRH	Corticotropin-releasing Hormone
DAB	Diaminobenzidin
DBH	Dopamin-beta-Hydroxylase
DD	Dopa-Decarboxylase
EAE	Experimentelle allergische Enzephalomyelitis
EBV	Epstein-Barr-Virus
EEG	Elektro-Enzephalographie/-gramm
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay

FAEP	frühe akustisch evozierte Potenziale
FGF-2	Fibroblast Growth Factor 2
FR	Formatio reticularis
GABA	Gamma Aminobutyric Acid = Gamma-Amino-Buttersäure
HCl	Wasserstoffchlorid = Salzsäure
HHV 6	Humanes Herpesvirus 6
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HSV	Herpes-simplex-Virus
IgE, IgG	Immunglobulin E/G
IL	Interleukin
LPR	late-phase allergic response = Spätreaktion beim allergischen Asthma
MAO-A/-B	Monoaminoxidase A/B
MCC	Mastcell-Chymase
MCT	Mastcell-Tryptase
MCTC	Mastcell-Tryptase-Chymase
MW	Mittelwert
Ncl.	Nucleus = Kern
NGF	Nerve Growth Factor
NICHD	National Institute of Child Health and Human Development
NREM	Non Rapid Eye Movement
NTS	Nucleus tractus solitarii
PBS	phosphate buffered saline = gepufferte Kochsalzlösung
PDGF	Platelet-derived Growth Factor

pH	pondus Hydrogenii (Maß für die Stärke der sauren bzw. basischen Wirkung einer wässrigen Lösung)
PNMT	Phenylethanolamin-N-Methyltransferase
p-Wert	Signifikanzniveau
REM	Rapid Eye Movement
SEM	standard error of the mean = Standardfehler des Mittelwertes
SIDS	Sudden Infant Death Syndrom = plötzlicher Kindstod
TGF- β	Transforming- (oder Tumor-) Growth Factor β
TH	Tyrosinhydroxylase
TNF α	Tumornekrosefaktor α
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (Puffersubstanz)
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
ZNS	Zentrales Nervensystem

Nicht-fachliche Abkürzungen:

bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
cm	Zentimeter
d.h.	das heißt
et al.	et alii = und andere
g	Gramm
h	Stunde(n)
kg	Kilogramm
L	Liter
µm	Mikrometer = 10 ⁻⁶ Meter
M	männlich
Min.	Minute
Mon.	Monat
nb	nicht bekannt
NG	Neugeborenes
s.	siehe
s.o. / s.u.	siehe oben / siehe unten
sog.	sogenannte/r/s
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
W	weiblich
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

8. Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Matthias Graw, Vorstand des Instituts für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München, für die Möglichkeit, die hier vorgelegten Untersuchungen durchführen zu können.

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Andreas Büttner, Direktor des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Rostock, danke ich sowohl für die stetige fachliche als auch auch überaus menschliche Unterstützung.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Serge Weis, Leiter des Bereichs Neuropathologie, Landesnervenklinik Wagner-Jauregg, Linz, für die Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei Frau Susanne Ring, Technische Assistentin am Institut für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München, bedanken, von der ich nicht nur in Hinsicht auf technische Fragen noch viel lernen konnte.

Auch meine Freunde und meine Familie standen mir zu jeder Zeit und in jeder Hinsicht mit Rat und Tat zur Seite – auch dafür herzlichen Dank!

9. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Ines Magdalena Krammer

Adresse: Äußerer Gang 2
86150 Augsburg

Geburtsdatum: 11. Oktober 1982

Geburtsort: Traunstein

Staatsangehörigkeit: deutsch

Eltern: Dr. Kristian Krammer, Geophysiker
Siglinde Krammer, Krankengymnastin

Ausbildung

Oktober 2003 bis Mai 2010 Studium der Humanmedizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität München

Mai 2010 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

August 2005 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

1993 – 2002 Annette-Kolb-Gymnasium, Traunstein

Juni 2002 Allgemeinen Hochschulreife

1989 – 1993 Grundschule, Bergen