

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Institut für Neuropathologie  
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Werner Paulus -

Mikrogliazellen  
beim plötzlichen Kindstod

INAUGURAL - DISSERTATION  
zur  
Erlangung des doctor medicinae  
der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Petrick, Laima  
aus Kiel  
2006

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Heribert Jürgens

1. Berichterstatter PD Dr. med. Kathy Keyvani
  2. Berichterstatter PD Dr. med. Christian Rickert
- Tag der mündlichen Prüfung: 16.06.2006

---

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Institut für Neuropathologie

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Werner Paulus -

Referent: PD Dr. med. Kathy Keyvani

Koreferent: PD Dr. med. Christian Rickert

## **ZUSAMMENFASSUNG**

Mikrogliazellen beim plötzlichen Kindstod

Laima Petrick

Die Forschung zum plötzlichen Kindstod hat viele verschiedene Faktoren aufgedeckt, die auf unterschiedlichen Wegen zum SIDS (sudden infant death syndrome) Ereignis führen. In der vorliegenden Arbeit sind 23 Gehirne von SIDS-Fällen und 7 Gehirne von Kindern mit bekannten Todesursachen untersucht worden. In jedem Gehirn sind mikroskopisch 35 Regionen betrachtet worden. Die Anzahl an Mikrogliazellen, die dort aktiviert als Marker von Zellschädigung gelten, wurde dokumentiert. Nur in einer Region, dem Kerngebiet des zwölften Hirnnerven, der die Zungenmuskulatur innerviert und die oberen Atemwege tonisieren und damit offenhalten kann, fanden sich bei den Opfern des plötzlichen Kindstodes signifikant mehr Mikrogliazellen als bei den Kontroll-Fällen.

Eine unspezifische Reaktion wie die Zunahme der Mikrogliazellenpopulation kann über einen fehlerhaft abgelaufenen Prozess, der zum plötzlichen Kindstod führt, wenig aussagen. Jedoch weisen die hohen Mikrogliazellzahlen auf Zellstress in der Region des Nucleus hypoglossus hin und es ist möglich, dass eine pathologische Veränderung im Kern des zwölften Hirnnerven im Geschehen des plötzlichen Kindstodes eine Rolle spielt.

Tag der mündlichen Prüfung: 16.06.2006

---

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	7
Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit.....	7
Theoretischer Teil.....	8
SIDS - Definition.....	8
SIDS - Epidemiologie.....	10
SIDS - Ätiologie, Pathogenese und Risikofaktoren.....	11
Die angeborene Prädisposition.....	12
Intrauterine Schädigung.....	13
Nikotin.....	13
Tauchreflex.....	14
Bauchlage.....	14
Beeinträchtigung der Herzkreislauf- und Atmungskontrolle.....	15
Hypoxie.....	16
Fehlerhafte Embryogenese anatomischer Strukturen.....	16
Mitochondrien.....	16
Schlafapnoen.....	17
Infektionen.....	17
Autonomes Nervensystem.....	18
Hämoglobin.....	18
Immunhistochemie mit Ki-M1P.....	19
Mikroglia.....	19
2. Material und Methode.....	22
Studienpopulation.....	22
Herstellung und Auswertung histologischer Schnittpräparate.....	23
Immunhistochemie.....	26
Auswertung der Schnittpräparate.....	27
Datenverarbeitung und statistische Verfahrensweise.....	28
3. Ergebnis.....	29
Beschaffenheit des Patientengutes.....	29
Geschlecht.....	29
Alter.....	29
Hirngewicht.....	30

---

Auffindelage der SIDS-Kinder.....	31
Postmortem Intervall.....	31
Mikrogliazählung.....	32
Männlich/weiblich.....	32
Jünger/ älter als der Altersmedian.....	32
SIDS/ non-SIDS.....	34
4. Diskussion.....	36
Aktivierungsablauf.....	36
Aktivierungszeitplan.....	36
Morphologie.....	37
Oberflächenmarker/Makrophageneigenschaften.....	38
Mikroglia Aktivierung.....	39
Mikroglia – Neuronen Interaktion.....	41
Mikrogliaanzahl und Geschlecht.....	43
Mikrogliaanzahl und Alter.....	44
Mikrogliaanzahl und SIDS / non-SIDS.....	45
5. Literaturverzeichnis.....	48
6. Lebenslauf.....	60
7. Danksagung.....	61
Anhang I: Studienpopulation.....	62
Anhang II: Zuschnittschema.....	63
Anhang III: männlich / weiblich Prüfung auf signifikanten Unterschied der Mikrogliaanzahl.....	64
Anhang IV: Jünger/ älter als der Altersmedian Prüfung auf signifikanten Unterschied der Mikrogliaanzahl.....	67
Anhang V: SIDS/ non-SIDS Prüfung auf signifikanten Unterschied der Mikrogliaanzahl.....	70
Anhang VI: Zählungen.....	73

# 1. Einleitung

## **Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit**

Der plötzliche Säuglingstod (Sudden Infant Death Syndrome, SIDS) ist trotz merklichen Rückgangs im letzten Jahrzehnt weiterhin die führende Ursache für die Säuglingssterblichkeit in den industrialisierten Ländern [Nagler 2002]. Andere Ursachen die den Tod im Säuglingsalter bedingen wie Frühgeburtlichkeit, genetische Defekte, Infektionen, kongenitale Malformationen (zum Beispiel am Herzen, Gastrointestinaltrakt), spät erkannte Stoffwechselstörungen etc. sind in den Hintergrund gedrängt worden, dank Screeninguntersuchungen oder neuer therapeutischer Möglichkeiten.

Um eine erfolgreiche Prävention gegen den plötzlichen Säuglingstod betreiben zu können, muss die Ätiologie und Pathogenese erforscht werden. Trotz Bemühungen in verschiedenen Forschungsbereichen und vielfältiger Ansätze sind diese weiterhin nicht aufgedeckt.

Epidemiologische Untersuchungen brachten Erkenntnisse über mögliche Risikofaktoren ans Licht. Mit Aufklärung und Warnung der Erziehenden über diese Risikofaktoren, zum Beispiel das Schlafen in Bauchlage, führte die Prävention zu einer starken Abnahme der SIDS-Mortalität [Schellscheidt et al. 1997].

Weil immer noch keine pathognomonische Veränderung bekannt ist, die das SIDS-Syndrom endgültig erklärt und eine eindeutige Klassifikation zulässt, wird die SIDS-Diagnose immer noch nach Ausschluss aller anderen Todesursachen vergeben. Die Forschungsbemühungen kreisen um die Entstehung, Ursachen und Faktoren die damit im Zusammenhang stehen.

Für den deutschen Raum ist eine multizentrische Studie unter Leitung der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster initiiert worden. Ein Teil dieser Studie sind vergleichende morphologische Untersuchungen in der Neuropathologie, in deren Rahmen mögliche pathogenetische Mechanismen für SIDS erarbeitet werden.

Diese Arbeit vergleicht die akuten Veränderungen im Zentralen Nervensystem (ZNS) von Opfern des plötzlichen Kindstodes und Opfern anderer Todesursachen. Die

Veränderungen sind sichtbar an den Mikrogliazellen. Sie kommen besonders zahlreich vor in Regionen, wo sich krankhafte Prozesse abspielen. Aus der regionalen Verteilung dieser Zellen sollen in dieser Arbeit Hinweise auf das Krankheitsgeschehen beim plötzlichen Kindstod gesucht werden.

In diese Studie sind 23 SIDS-Fälle und 7 Kontroll-Fälle einbezogen. Für eine umfassende Betrachtung fließen alle Daten, die nebensächlich über die Fälle bekannt sind, grundsätzliche Ideen über das Forschungsthema SIDS sowie die aktuellen Ergebnisse daraus in die Arbeit mit ein. Grundlage dieser Arbeit ist die immunhistochemische Untersuchung der Mikrogliazellen in 35 verschiedenen Regionen und Kerngebieten des ZNS. In der Fachliteratur ist dieser Ansatz noch nicht zur Erforschung des SIDS untersucht worden.

Die Mikrogliazellen sind mit mannigfaltigen Fähigkeiten ausgestattet um die Gesundheit des ZNS zu erhalten. Sie sind äußerst sensible Marker für pathologische Prozesse im Gewebe und reagieren mit einer niedrigen Aktivierungsschwelle sofort auf Reizung.

Die Untersuchung der Mikrogliazellen unter Anwendung immunhistochemischer Verfahren ist ein fruchtbarer Ansatz um wertvolle Hinweise aufzudecken über die grundsätzlichen Mechanismen des plötzlichen Kindstodes. Die vorliegende Arbeit sucht Antworten zum Pathomechanismus des SIDS und Gemeinsamkeiten im ZNS der SIDS-Opfer, welche mit ihrem Tod in Verbindung stehen könnten.

## **Theoretischer Teil**

### **SIDS - Definition**

SIDS (Sudden infant death syndrome) ist von Beckwith in den 70er Jahren definiert worden, und diente seither als Grundlage bei der Diskussion dieses Syndroms. Diese Definition hat in die Lehrbücher Eingang gefunden. Der plötzliche Kindstod ist anzunehmen, wenn weder die Vorgeschichte noch die sorgfältige postmortem-Untersuchung des Kindes eine begründete Ursache für den Tod erkennen lassen. In Anbetracht der Fülle von Wissen über das Syndrom, welches seit dem hinzugekommen ist, muss die Definition damit Schritt halten, und verändert werden [Krous et al. 2004].



Seit den 90er Jahren gibt es eine obere Altersgrenze von einem Lebensjahr, die Überprüfung der Vorgeschichte und Untersuchung der Todesumstände als Erweiterung zur Definition [Willinger et al. 1991].

Da sich die Hinweise mehren, dass ursächlich Veränderungen des Hirnstammes und des Herzmuskels für SIDS-Todesfälle in Frage kommen, fordert die Forschungsgruppe von Maturri die Einbeziehung der tiefgründigen histologischen Untersuchung des Hirnstammes und des Myokards in die Diagnostik und Definition [Maturri et al. 2005b].

SIDS bleibt weiterhin eine Ausschlussdiagnose. Obwohl dem Syndrom hervorstechende Merkmale eigen sind, wie die besondere Altersverteilung und der Zusammenhang mit dem Schlaf, haben sich diese Zusätze in der gängigen Definition nicht etablieren können [Beckwith 2003].

Die Arbeitsgruppe um Krous schlägt eine Unterteilung vor, die eventuell in Zukunft eine Rolle spielen wird [Krous et al. 2004]. Der Vorteil würde sich in der Diagnose und Forschung zeigen, durch detailliertere Diagnosebedingungen und aussagekräftigere Statistik.

Folgende vier Gruppen würden danach unterteilt:

1. SIDS Fälle mit vollkommener Dokumentation der Abklärung aller erwarteten Missbildungen
2. SIDS Fälle mit unvollkommener Dokumentation der Befunde
3. Plötzliche Todesfälle mit ungewisser Vorgeschichte
4. Alle anderen Fälle, die nicht in die vorherigen Kategorien passen, ebenso Fälle von Wiederbelebung, die in Folge versterben

Die Definitionsbemühungen gehen dahin, die Diagnose SIDS immer besser zu spezifizieren, und SIDS nicht mehr als eine Art Sammelkorb für unerklärte Todesfälle bei Säuglingen anzusehen. Allerdings würde eine Vereinfachung der Definition die Forschungsbemühungen um eine diffizilere Betrachtung bremsen.

Gemeinsamer Nenner aller Erklärungsversuche ist bisher, dass die Kinder bis zum Tod klinisch neurologisch unauffällig waren. Es wird problematisch sein, ein gemeinsames anatomisch-pathologisches Korrelat zu finden, mit dem in Zukunft mit einer einfachen Untersuchung SIDS als Todesursache gesichert werden kann.

Dank der Forschung kristallisieren sich immer mehr Ursachen heraus, die zu den scheinbar unerklärlichen Todesfällen geführt haben. Nicht sicher bleibt SIDS nach Abzug aller erkennbaren Todesursachen bei Säuglingen eine eigene Entität.

### **SIDS - Epidemiologie**

In der BRD liegt die Inzidenz für SIDS bei etwa einem pro 1000 lebend geborenen Kindern [Schellscheidt u. Ott 1996]. Sie liegt in anderen Ländern sowohl über als auch unter der Inzidenz für Deutschland. In den USA sind 1998 2529 Kinder an SIDS gestorben, der mit 8,9 % dritt häufigsten Todesursache. Die häufigste Ursache waren kongenitale Fehlbildungen mit 22 % und an zweiter Stelle Frühgeburt bzw. zu niedriges Geburtsgewicht mit 14 % [Guyer et al. 1999].

Der plötzliche Kindstod kommt in allen Ländern vor und in allen sozialen Schichten. Auffallend ist die Tatsache, dass Jungen etwas öfter betroffen sind als Mädchen und eine jahreszeitliche Häufung beobachtet wird. Die Definition von SIDS bezieht sich auf den Zeitraum zwischen dem 29. und dem 365. Lebenstag, wobei zwischen dem zweiten und vierten Lebensmonat die meisten Todesfälle liegen. An SIDS verstorbene Säuglinge bekommen den ICD10-Code R95 zugeteilt (plötzlicher Tod ungeklärter Ursache).

Das Erfassen von SIDS-Fällen für eine präzise Statistik ist schwierig. Von der medizinischen Seite her sind mögliche Störfaktoren zum Beispiel die Formulierung der Definition und die Kodierungsumstände. Das Ausstellen des Todesscheines und die Obduktion können ebenfalls die Statistiken beeinflussen. Auch die Medienpräsenz des Themas SIDS und Präventionsbemühungen könnten die Inzidenz beeinflussen, in diesem Fall möglicherweise auch indirekt, über gesundheitsfördernde und unfallvermeidende Handhabung von Säuglingen.

Seit 1992 in den USA die Empfehlung gegeben wird zur Rückenlage bei Säuglingen, ist die Zahl der SIDS-Fälle auch dort weniger geworden. Dabei besteht die Gefahr, dass das Verhalten sich bei der Klassifizierung der Todesursachen verändert. Zunehmend wird der plötzliche Kindstod thematisiert so dass möglicherweise durch ein geschärftes Bewusstsein weniger Säuglingstodesfälle der Kategorie SIDS zugeordnet werden; die Gesamtzahl der Säuglingstodesfälle nahm in vielen Ländern seit 1992 nicht in dem Maße ab, wie die SIDS-Fälle [Malloy u. MacDorman 2005]. Interessanterweise fällt dieser Rückgang von Säuglingstodesfällen in vielen Ländern zeitlich mit der Warnung vor der Bauchlage zusammen [McKee et al. 1996].

### **SIDS - Ätiologie, Pathogenese und Risikofaktoren**

Bei Durchsicht der Literatur ist die Komplexität des plötzlichen Kindstodes zu erahnen. Die Forschung nähert sich den Antworten über das Syndrom in sehr zahlreichen Ansätzen; es scheint keine einheitliche Antwort möglich. Demnach könnte das Syndrom über eine Vielzahl von Entstehungswegen zustande kommen. Es bleibt eine Diagnose, die per Ausschluss aller bekannten, erklärbaren Ursachen gestellt werden darf.

Die Forschungsergebnisse weisen daraufhin, dass vielfältige Faktoren zu einer zunehmenden Toleranz für Hypoxämie führen und eine lebensrettende Weckreaktion, „arousal“, behindert ist. Wahrscheinlich liegt dieser gemeinsamen Endstrecke zum SIDS eine angeborene, eventuell genetische Prädisposition zugrunde. Die vielfältigen zum SIDS führenden Missbildungen in verschiedenen Regelkreisen des Organismus werden wahrscheinlich durch diverse Faktoren getriggert. Unwahrscheinlich ist die Annahme, dass es sich beim SIDS um den Ausgang eines einzigen, schwer wiegenden Ereignis handelt, bei völlig gesunden Kindern [Valdes-Dapena 1992]. Eine geeignete Theorie, die die Vielschichtigkeit des Syndroms zu umgreifen versucht, ist die „triple risk hypothesis“, die auf einer grundsätzlichen Verwundbarkeit, altersabhängigen Risikofaktoren und beschleunigenden Faktoren basiert [Voss et al. 2005]. Die grundsätzliche Verwundbarkeit könnte an der „Major Transformation“ liegen, in der fundamentale Umstellungen in den Regelkreisen des Säuglings stattfinden [Pechtl 1986]. Diese vielen Veränderungen sind störanfällig, und könnten mit dem plötzlichen Kindstod in Zusammenhang stehen.

### ***Die angeborene Prädisposition***

Der genetische Einfluß auf SIDS kann in zwei Kategorien unterteilt werden: Die erste beinhaltet Mutationen, die zum plötzlichen Kindstod führen. Die zweite schliesst Polymorphismen ein, die nur unter bestimmten Bedingungen im Tod des Kindes enden [Opdal u. Rognum 2004]. Diese Unterscheidung ist sinnvoll, da Todesfälle aus der ersten Kategorie nicht mehr SIDS zu geordnet werden, sondern erklärbare Todesfälle sind. Dabei bleiben alle Untersuchungen der Todesumstände dennoch nötig. In diese Kategorie passen u.a. Fettstoffwechselstörungen durch Mutationen der Acyl-CoA Dehydrogenase [Yokota et al. 1990] oder das Long-QT-Syndrom [Schwartz et al. 1998] [Skinner 2005], eine Shift-Mutation des „testis-specific Y-encoded-like protein“ [Grasberger u. Bell 2005], welches mit einer Hodenagenesie einhergeht und mit einem SIDS-Ereignis endet [Puffenberger et al. 2004]. In der zweiten Kategorie nennen Opdal und Rognum die angeborenen Veränderungen des Immunsystems, welche bei Infektion, also erst unter einem besonderen Einfluß, zum Tragen kommen. In diesem Bereich sind Mutationen des Komplementsystems aufgefallen [Campbell et al. 1990], Interleukin-10 Polymorphismus [Summers et al. 2000] und Serotonintransportergenveränderungen [Panigrahy et al. 2000]. Serotonin beeinflusst in vielfältiger Weise physiologische Vorgänge, zum Beispiel die Atem- und Herzkreislaufregulation und agiert zwischen Immun- und Nervensystem. Ihm wird somit eine regulierende Funktion im SIDS-Syndrom zugeschrieben [Kinney et al. 2001]. Auch in der mitochondrialen DNS sind Veränderung beschrieben worden, die beim SIDS eine Rolle spielen könnten. Sie sind nicht tödlich, weisen jedoch auf eine Instabilität des Moleküls hin, und lassen vermuten, dass weitere Mutationen an anderen Stellen anzunehmen sind [Opdal et al. 1999] [Opdal et al. 2002].

Wahrscheinlich wird es keine einzelne genetische Veränderung sein, die für alle SIDS-Fälle ursächlich ist. Die Forschungsergebnisse aus der Genetik könnten derart interpretiert werden, dass zu SIDS disponierende Umstände vererbt sind und in Kombination mit zum Beispiel einer banalen Virusinfektion, der Bauchlage oder zu hoher Umgebungstemperatur, letal werden [Vege u. Rognum 1999].

***Intrauterine Schädigung***

Einen Zusammenhang von SIDS und  $\alpha$ -Fetoprotein zeigt eine Arbeit von Smith et al. Die Zunahme des Markers korreliert mit eingeschränktem Wachstum des Föten und Frühgeburtlichkeit. Beides sind Risikofaktoren für SIDS [Smith et al. 2004].

Bei einer Untersuchung der Plazenten von SIDS-Opfern fiel eine verminderte Diffusionsfähigkeit auf. Aus der intrauterinen Gewöhnung gegenüber einer Hypoxie könnte die mangelhafte Weckreaktion bei Hypoxie in den ersten Lebensmonaten resultieren [Ansari et al. 2004].

Bei einigen SIDS-Opfern fanden sich Insulte, die sich pränatal ereignet haben [Obonai u. Takshima 1998] [Kinney et al. 2002]. Sie betrafen ZNS Regionen, die schon in anderen Arbeiten im Zusammenhang mit dem plötzlichen Kindstod beschrieben werden.

***Nikotin***

Die CO (Kohlenmonoxid) Belastung, ein Hauptbestandteil der schädlichen Wirkung von inhalativem Nikotinabusus, ist an Meerschweinchenfeteten ohne, und in Kombination mit postnataler Hyperthermie untersucht worden, und könnte bei der Ätiologie des plötzlichen Kindstodes relevant sein [Tolcos et al. 2000a]. Dabei zeigt sich eine Veränderung der Mengen von met-Enkephalin und 5-Hydroxytryptamin im ZNS bei Belastung durch die beiden Risikofaktoren und die Zunahme von saurem Gliafaser - Protein (GFAP). Die Autoren halten diese Einflüsse auf das sich entwickelnde Gehirn bei der Atem- und Kreislaufregulation des Neugeborenen für bedeutungsvoll.

An Ferkeln ist bewiesen, dass der Anstieg von Apoptosemarkern im Gehirn eine Folge postnataler Nikotinexposition ist [Machalani et al. 2005].

Neben Nikotin sind andere inhalative Noxen im Zusammenhang mit dem plötzlichen Kindstod untersucht worden. Es gibt eine Beziehung zwischen Luftverschmutzung und SIDS [Dales et al. 2004] [Klonoff-Cohen et al. 2005]. Dabei sind mehrere Bestandteile der Verschmutzung die gleichen wie im Zigarettenrauch. Man nimmt an, dass beide Quellen eine Behinderung der Kompensation von Hypoxämie verursachen. Eine Arbeit belegt, dass schon kurzweilige Nikotinexposition bei jungen Lämmern

die Sauerstoffsensitivität herabsetzt, und somit im Bezug zum plötzlichen Kindstod steht [Hafstrom et al. 2000]. Lewis und Bosque kommen zu dem Schluss, dass Kinder mit Nikotinanamnese im Mutterleib eine hohe Weckbarkeitsschwelle bei Hypoxie haben [Lewis u. Bosque 1995].

Das SIDS-Risiko für das Kind ist bei inhalativem Nikotinabusus der Mutter von der Gruppe um DiFranza quantifiziert worden, und wird von ihnen zwischen 3.3 und 6.0 Odds Ratio angegeben [DiFranza et al. 2004].

Für den intrauterinen, unbegründeten Tod ist eine signifikante Korrelation zur Nikotinbelastung belegt [Lavezzi et al. 2005]. Gleichzeitig werden dabei eine Hypoplasie des Nucleus arcuatus (eine wichtige Struktur des Hirnstamms bei der Atemregulation) und Veränderungen am Locus coeruleus festgestellt. Unter den Feten, die eine fehlende Somatostatinexpression im Nucleus hypoglossus zeigten, fand sich eine erhöhte Vorkommen von intrauteriner Nikotinbelastung.

### ***Tauchreflex***

Ein Erklärungsversuch zum plötzlichen Kindstod stützt sich auf den Tauchreflex [Maturri et al. 2005a]. Dieser scheint bei Menschen ein Atavismus zu sein, erfüllt aber bei tauchenden Vögeln und Amphibien eine sinnvolle Aufgabe. Durch plötzliches Eintauchen des Gesichtes in kaltes Wasser kann die Herzfrequenz abnehmen, vermittelt über den Nucleus ambiguus und die dorsalen Nuclei vagii.

### ***Bauchlage***

Lange Zeit wurde die Bauchlage im Schlaf als Risikofaktor für den plötzlichen Kindstod angesehen. Sie soll die Atem- und Kreislaufregulation behindern sowie die Weckreaktion bei beeinträchtigter Atmung [Hunt 1996].

Im Schlaf zeigt sich in Bauchlage eine Veränderung des Elektroenzephalogramms (EEG), hin zu langsameren Frequenzen als in anderen Schlafpositionen, so dass vermutet wird, dass dieser Mechanismus verknüpft ist mit der verminderten Weckreaktion in Bauchlage [Sahni et al. 2005].

Ebenfalls scheint es eine Wechselbeziehung zwischen der Schlafposition und einer gehinderten Thermoregulation zu geben. Beim Schlaf mit dem Gesicht zur Unterlage

können Säuglinge möglicherweise nicht so viel Wärme abgeben wie in Rückenlage [Tuffnell et al. 1995].

### ***Beeinträchtigung der Herzkreislauf- und Atmungskontrolle***

Genaue Untersuchungen des Nucleus tractus solitarius zeigten bei SIDS-Opfern jeweils signifikant mehr reaktive Astrozyten, nekrotische Zellen, reaktive Mikroglia und mehr Expression von Substanz P sowie vorhandene NMDA Rezeptor Immunoreaktivität [Biondo et al. 2004]. Daraus wird gefolgert, dass eine chronische hypoxische Läsion vorliegt, die die Funktion des Nucleus behindert. In Umständen der Hypoxie kann bei den SIDS-Opfern keine adäquate Ventilation aufrecht erhalten werden.

Es liegen Studienergebnisse vor, die signifikant mehr GFAP-positive Astrozyten im Hirnstamm, [Ozawa u. Takashima 2002], mehr Expression von Substanz P in Medulla und Pons, eine Verminderung von Tyrosinhydroxylase positiven, catecholaminergen Neuronen in der ventrolateralen Medulla, Nuclei vagii der Medulla oblongata und Basalganglien zeigen. Experimentell ist an Rattenföten die Nikotinexposition und der Zusammenhang mit Tyrosinhydroxylase-Immunoreaktivität untersucht worden und zeigte eine signifikante Verminderung im Nucleus tractus solitarius, dem dorsalen motorischen Nucleus vagus, Area postrema, Nucleus reticularis intermedius und der ventrolateralen Medulla; gleichzeitig eine Verminderung der Acetyltransferaseimmunoreaktivität im dorsalen motorischen Nucleus vagus und Nucleus hypoglossus [Tolcos et al. 2000b]. Zahlreiche Arbeiten beschäftigen sich mit den multiplen Auffälligkeiten der Neurotransmitter des Hirnstamms, die relevant sein könnten in der Herzkreislauf- und Atmungskontrolle [Panigrahy et al. 1997] [Harper et al. 2000]. Der Hirnstamm hat vielfältige Funktionen hinsichtlich der Herzkreislauf- und Atmungskontrolle und wird intensiv in Bezug auf SIDS untersucht.

Eine interessante Beobachtung ist die gesteigerte Mastzelldegranulation bei Familienmitgliedern von SIDS-Opfern und Kindern, die ein „apparent life threatening event“ (ALTE) überlebt haben [Gold et al. 2000]. Im schwersten Fall resultiert hieraus ein anaphylaktischer Schock bei massiver Mastzelldegranulation. Im Rahmen der Bedingungen der SIDS Diagnose wäre dies eine plausible Erklärung.

Für plötzliche Tode ist auch das genetisch verankerte Long-QT-Syndrom verantwortlich. Die Ausprägung kann unterschiedlich stark sein und sich erst im Erwachsenenalter manifestieren. Bis dahin können Genträger asymptomatisch sein und auch im Elektrokardiogramm normal erscheinen. Theoretisch kann so eine Genausstattung in einer Familie mehrere Tode bedingen; auch mehrere SIDS-Tode, bei scheinbar gesunden Eltern [Skinner 2005].

Auf molekularer Ebene stellt Staines die These auf, dass G-Protein-gekoppelte Rezeptoren defekt sein könnten [Staines 2005]. Diese Hypothese würde die Vielgestaltigkeit des SIDS mit einbeziehen. Die Rezeptoren regulieren diverse Substanzen, zum Beispiel Katecholamine, Histamin, Serotonin, Kalzium, Prostaglandine u.a.m., die dann fehlerhaft gesteuert würden.

### ***Hypoxie***

Es wurden viele Belege gefunden, dass die Hypoxie eine entscheidende Rolle im Komplex des SIDS spielt. Eindeutige Funde bei der Autopsie sind die Persistenz des braunen Fettgewebes bei den Opfern, Erythropoese in der Leber, Hyperplasie der Lamina muscularis in den kleinen Pulmonalarterien, Hirnstammgliose, Hyperplasie des Nebennierenmarks, unterentwickelte Chemorezeptoren der Carotisarterien und eine Hyperplasie der rechten Herzkammer [Naeye 1976] [Naeye et al. 1976a] [Naeye et al. 1976b] [Naeye et al. 1989] [Valdes-Dapena 1992].

### ***Fehlerhafte Embryogenese anatomischer Strukturen***

Auffallend ist, dass die Neuronendichte im Nucleus olivaris inferior bei SIDS signifikant geringer ist als bei den Kontrollen. Betrachtet man diese Strukturen und ihre Herkunft in der Ontogenese, fällt auf, dass Nucleus olivaris inferior, Nucleus arcuatus und Lamina granularis externa des Cerebellums Derivate der Rhombischen Lippe sind. In allen diesen Derivaten finden sich bei SIDS-Opfern Auffälligkeiten [Kinney et al. 2002].

### ***Mitochondrien***

SIDS-Tode kommen gelegentlich auch gehäuft in Familien vor. Die Inzidenz ist dabei höher bei Verwandten der Mutter als bei denen des Vaters. Dazu ist eine Hypothese



beschrieben worden, die davon ausgeht, dass mütterlich vererbte mitochondriale DNS Mutationen bei der SIDS Entstehung beteiligt sind [Oyen et al. 1996].

### ***Schlafapnoen***

Bekannt ist die Verknüpfung zwischen SIDS und dem Schlaf. Bei Untersuchung der Qualität des Schlafes an gesunden Kindern, die zuvor wach gehalten wurden, zeigten sich mehr obstruktive Apnoen und eine signifikante Erhöhung der Erweckschwelle [Franco et al. 2004]. Beides sind mögliche Risikofaktoren für SIDS. Diese Ansicht wird von vielen Forschergruppen bekräftigt. Sawaguchi fand eine Korrelation zwischen der Häufigkeit von obstruktiven Schlafapnoen und Apoptose der dorsalen Nuclei vagii der Medulla oblongata [Sawaguchi et al. 2003a]. Die gleiche Forschergruppe beschreibt später eine höhere Dichte an Tryptophanhydroxylase-positiven Neuronen in den Nuclei raphae bei SIDS-Opfern mit zentralen Apnoen, was zu der Annahme führt, dass serotoninerge Zellen das vegetative Nervensystem stören [Sawaguchi et al. 2003b].

### ***Infektionen***

Virusinfektionen stehen sehr wahrscheinlich im Zusammenhang mit SIDS. Bei beiden Ereignissen ist eine gleichläufige, jahreszeitliche Häufung bekannt. Studien, die von Heininger et al. beschrieben werden, fanden bei 48% von 244 SIDS Fällen im Vergleich zu 31% von 869 Kontrollen Zeichen von Infekt der oberen Luftwege in der letzten Woche vor dem Tod, beziehungsweise vor dem Interview bei den Kontrollen. Von den Infekten bei den SIDS-Kindern waren 5,1% durch den Erreger Bordetella pertussis ausgelöst [Heininger et al. 2004]. Durch die Virulenzfaktoren dieses Keims äußert sich die Klinik bei Säuglingen mit Apnoen. Eine Infektion mit dem Keim könnte unerkannt als SIDS-Fall klassifiziert werden. Viren könnten auch über einen anderen Angriffspunkt zum plötzlichen Kindstod führen. Bei SIDS-Fällen fanden sich zum Beispiel Enteroviren im Myokard, Leber und Milz, während Kontrollen frei von Viren waren [Dettmeyer et al. 2004]. Man nimmt an, dass es über Herzversagen oder Arrhythmie zum Tod kommt. Ein anderer Aspekt von Infektionen ist das Fieber. Ferkel haben bei der Erholung nach einer Phase erhöhter Körpertemperatur eine verminderte Reaktion auf Obstruktion der Atmung [Voss et al. 2005]. Dies könnte mit der Überwärmung als Risikofaktor für SIDS in Beziehung stehen. Die Obstruktion

der Atemwege durch Schwellung der Nasenschleimhäute ist bei Virusinfekten ein Wegbereiter für Hypoxämie.

### ***Autonomes Nervensystem***

Dass das vegetative Nervensystem eine Rolle spielt in der Pathogenese des SIDS, wird seit längerem vermutet. Es sind mehrere Gene und deren Mutationen beschrieben, welche die frühe embryonale Entwicklung des vegetativen Nervensystems steuern, und auffällig oft bei SIDS-Opfern vorkommen [Weese-Mayer et al. 2004]. In vielen Fällen von SIDS könnte der Pathomechanismus über die Triggerung von vagalen Reflexen geschehen, die dann auf Atmung und Herzkreislaufkontrolle Einfluss nehmen [Maturri et al. 2005a]. Eine viel untersuchte Fehlbildung des vegetativen Nervensystems ist die Hypoplasie des Nucleus arcuatus. Sie könnte ein fehlerhaftes Zusammenspiel zwischen der Kleinhirnkoordination, der Atmung, dem vegetativen Nervensystem, der Chemosensorik und der Weckreaktion bedingen [Filiano u. Kinney 1992]. Dies kommt verschärft im Schlaf zum tragen, bei Hyperkapnie und in heiklen Entwicklungsabschnitten, wie der „Major Transformation“ [Prechtel u. Hopkins 1986].

### ***Hämoglobin***

Laut der Arbeit von Richardson könnte ein niedriger Anteil von normalem Hämoglobin bei Geburt im Zusammenhang stehen, mit einem erhöhtem Risiko für SIDS. Die verspätete Reifung der Erythropoese könnte bei der Ätiologie eine Rolle spielen [Richardson et al. 2004]. Eine andere Studie betrachtet insbesondere die Hämoglobin F (HbF) Synthese zwischen der 42. und 49. Schwangerschaftswoche von Säuglingen, die als SIDS-gefährdet angesehen werden, und stellt einen erhöhten Wert fest [Bard et al. 2003]. Die Gruppe um Bard schlägt die HbF Synthese als Marker für Episoden von Hypoxie und SIDS-Risiko vor. Bei hohen Werten von HbF käme es zu Gewebshypoxie durch die hohe Sauerstoffaffinität dieser Hämoglobinuntergruppe. Somit könnte die HbF Synthese eine Gewöhnung gegenüber Hypoxie im Gewebe verursachen mit der Folge, dass die Weckreaktion spät, oder wie möglicherweise im Falle von SIDS, gar nicht ausgelöst wird.

### **Immunhistochemie mit Ki-M1P**

Ki-M1P ist ein monoklonaler Antikörper und bindet trotz Formalin/Paraffin Behandlung des Gewebes intensiv an Monozyten und sich daraus ableitenden Makrophagen bzw. Mikrogliazellen [Paulus et al. 1992]. Es ist eine besonders zuverlässige Markierung für diese Zellen in routinemäßig bearbeiteten Geweben. Neoplastische Gewebe sind ausgenommen. Grundsätzlich fallen lädierte Regionen des Gehirns durch noch intensivere granuläre Färbung der Mikrogliazellen und ihre quantitative Zunahme dort auf. Das ist für Läsionen sehr verschiedener Ursachen z.B. Herpes simplex Enzephalitis, Alzheimer Demenz, Morbus Parkinson etc., in der gleichen Arbeit beschrieben worden.

Weitere Qualitäten des verwendeten Antikörpers sind seine von der Lagerungszeit unabhängige Markierungsintensität und Fehlen von unspezifischer Hintergrundfärbung. Es gibt keine Kreuzreaktion mit GFAP-positiver Glia. Als monoklonaler Antikörper bindet Ki-M1P nur an eine der zahlreichen Determinanten des zu bestimmenden Antigens. Im Gegensatz dazu wäre ein polyklonaler Antikörper gegen mehrere Epitope gerichtet. Vorteile des monoklonalen Antikörpers sind dazu seine hohe Homogenität, keine Verunreinigung mit unspezifischen Antikörpern, die leichte Charakterisierbarkeit und keine chargenabhängigen Qualitätsschwankungen [Boenisch 2003].

Ki-M1P bindet an die Oberfläche von Mikrogliazellen und granulär im Zytoplasma [Wacker et al. 1990]. Ob es CD68 erkennt oder ein anderes Epitop, ist in der Literatur bisher nicht beschrieben. An Makrophagen des Lymphgewebes färbt sich mit dem Ki-M1P Antikörper das Zytoplasma. Per Elektronenmikroskopie können als Ki-M1P-Epitope periphere Lysosomen und „tingible bodies“ präzisiert werden [Larsen u. Feller 1996]. Man nimmt einen Zusammenhang des Antikörpers mit Phagozytose, bzw. damit verbundenen Prozessen an.

### **Mikroglia**

Die Neuronen des ZNS werden von Neuroglia umgeben, welche den Raum zwischen den Neuronen ausfüllt und sie zu den Blutgefäßen abtrennt [Zenker et al. 1985a]. Unter Neuroglia sind drei Hauptzelltypen zusammengefasst: Astrozyten (Makroglia),

Oligodendrozyten und Mikrogliazellen (Mesoglia, Hortega-Zellen). Im Gegensatz zu den Neuronen bleiben sie lebenslang teilungsfähig, bilden aber keine Synapsen.

Von den Mikrogliazellen sind vier morphologische Zustände bekannt. In pathologisch veränderten Gehirnen tritt vorübergehend eine, durch Aktivierung ausgelöste, amöboide, rund bis ovale Form mit verplumpten Fortsätzen auf. In der phagozytischen Form übernimmt sie Makrophagenaufgaben, wie zum Beispiel das Abräumen von Zelldebris nach lokaler Degeneration. Als vielverzweigte Zelle ist sie eine ruhende Zelle die bei Erwachsenen im ZNS vorherrscht. Im sich entwickelnden Gehirn finden sich vor allem amöboide Formen.

Über den Ursprung der Mikrogliazellen im ZNS gibt es mehrere Theorien. Rio-Hortega postulierte 1932 einen mesodermalen Ursprung der Mikrogliazellen, was in späteren Jahren bestätigt wird [Boya et al. 1987]. Andere Forscher kommen zum dem Schluss, dass Mikroglia aus dem Neuroektoderm stammt [Kitamura et al. 1984]. Eine dritte Anschauung ist die Abstammung von zirkulierenden Blutmakrophagen, die ins ZNS einwandern [Ling 1981]. Im Jahr 2001 wird die Ansicht vertreten, dass die amöboiden Mikrogliazellen des Gehirns in der Perinatalzeit aus zwei Quellen stammen: zum einen aus mesenchymalen Vorläuferzellen des Dottersacks, die später als Makrophagen der Pia mater wiederzufinden sind, und zum anderen aus zirkulierenden Blutmakrophagen [Kaur et al. 2001]. Im gesunden ZNS ist die Mikroglia langlebig. Im Gegensatz dazu werden die gefäßnahen Makrophagen regelmäßig mit neuen Zellen aus dem Knochenmark ergänzt [Hickey u. Kimura 1988] [Matsumoto u. Fujiwara 1987]. Im ZNS finden sich nach Knochenmarktransplantation im Parenchym Empfänger Mikroglia und in nicht parenchymalen Strukturen Mikroglia des Spender Genotyps [Carson 2002].

Mikroglia wird die Fähigkeit zugeschrieben, bei der Veränderung des extrazellulären Milieus involviert zu sein [Thomas 1992], also auch eine Rolle bei der Homöostase zu spielen.

In einigen ZNS Tumoren sind Mikrogliazellen aufgefallen, wobei ihre Funktion auch dort nicht umfassend geklärt ist. Man nimmt an, dass ein Zusammenspiel über Zytokine und Wachstumsfaktoren geschieht und der Tumor derart auf die Mikroglia Einfluss nimmt, dass diese die Eigenschaften des Tumors, wie Wachstum oder

Invasion, unterstützen [Watters et al. 2005]. In pleomorphen Fibromen der Haut fanden sich andererseits auch weniger Mikrogliazellen (durch Ki-M1P markiert), als in der umgebenden, gesunden Haut [Rudolph et al. 1999].

Die Zunahme der Zellpopulation ereignet sich bei Läsion des ZNS durch Proliferation der ortsständigen Mikroglia [Kato et al. 2003] und zu einem zahlenmäßig kleinerem Anteil durch Einwanderung von zirkulierenden Blutmakrophagen und deren anschließender Transformation, aber auch durch Migration aus umliegenden, nicht lädierten ZNS Bereichen [Ladeby et al. 2005]. Mikrogliazellen exprimieren einen hämatopoetischen Stammzellmarker, das CD34, wenn sie als ortsständige Makrophagen im ZNS proliferieren nach einem Läsionsreiz. Eingewanderte Blutmakrophagen zeigen diese Eigenschaft nicht. Ruhende Mikroglia exprimiert CD68 [Biondo et al. 2004].

In der Retina konnten weitere Subgruppen der Mikrogliazellen charakterisiert werden, die sich in ihrer Antigenexpression und Verteilung im Gewebe unterscheiden [Zhang et al. 2005].

Ein neuerer Mikroglia marker bindet an „human GLUT5“, einen Glucosetransporter der besonders für Fructose geeignet ist, jedoch weniger für Glucose [Horikoshi et al. 2002]. Dieser Glucosetransporter kommt ebenfalls in Dünndarm, Nieren und Hoden vor.

Aktiviert reagieren die Mikrogliazellen mit einer vorübergehenden Zunahme der Zellpopulation. Diese offensichtliche Veränderung könnte rasch genug eintreten, um im Fall des plötzlichen Kindstodes die anatomischen Gebiete zu erkennen zu geben, in denen sich die pathologischen Prozesse abspielen. Die hier vorliegende Arbeit ist diesem viel versprechenden Ansatz der quantitativen Verteilung der Mikrogliazellen im ZNS, gewidmet. Eine Zunahme der Mikroglia bei SIDS wird schon 1991 beschrieben [Esiri et al. 1991] Bei dieser Untersuchung von Gehirnen im Alter zwischen der achten Schwangerschaftswoche und dem achten Lebensmonat, fanden sich bei SIDS-Opfern perivaskulär im Parenchym auffällige Mikrogliazellen Ansammlungen und stark verzweigte Mikrogliazellen, die HLA-DR exprimierten.

## 2. Material und Methode

Diese Arbeit ist Teil der multizentrischen Studie des Bundesministeriums für Bildung und Forschung „Plötzlicher Säuglingstod“, die unter Förderung des Bundesministeriums für Forschung und Technologie steht. Die Leitung obliegt der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster [Findeisen et al. 2004].

Die an dieser Studie teilnehmenden rechtsmedizinischen Institute Münster, Hamburg und Hannover stellen das Patientengut zur Verfügung. Aus den jeweiligen Einzugsbereichen stammen die Materialien von Säuglingen, die in den Jahren 1998 bis 2001 verstarben. Die Patientendaten sind Befundarchiven der Studienzentrale und den Instituten für Rechtsmedizin und Neuropathologie entnommen.

Einschlusskriterien zu der BMBF-Studie waren für die SIDS-Fälle und die Kontrollgruppe der Todeszeitpunkt im Alter von 8 bis 365 Tagen, und die Zustimmung der Eltern zur Teilnahme an der Studie. Der Tod musste natürlich und unerwartet eingetreten sein.

Die Einzugsbereiche für die Studien deckten etwa 50% der Bundesrepublik Deutschland ab und repräsentieren gut die gesamte Republik betreffend der Geburten. Ebenso ist auch die Herkunft der Fälle aus Städten oder ländlichen Gebieten ausgeglichen. Alle teilnehmenden Zentren haben die Zustimmung der Ethikkommission.

### Studienpopulation

Es sind 30 Gehirne untersucht worden. 23 davon haben die Diagnose SIDS (9 Mädchen, 14 Jungen) und 7 sind Kontrollfälle (5 Mädchen, 2 Jungen) mit diversen Todesursachen. Eine genaue Auflistung findet sich im Anhang I. Die Geschlechtsverteilung ist nicht signifikant verschieden ( $p=0.133$ ).

Die Kontrollfälle wurden aus einem Pool von Vergleichsmaterial, der Standardgruppe, gewonnen. Die Standardgruppe setzte sich zusammen aus Fällen, die die COGRID-Kriterien (control group infant death) erfüllten. In einem gemeinsamen Projekt von 23 rechtsmedizinischen Instituten sind diese Kriterien 1993 in Münster erarbeitet worden und definieren unter den Eintrittskriterien den Todesfall aus nicht natürlicher Ursache

im Alter zwischen 8 Tagen und vollendetem ersten Lebensjahr. Dabei ist eine erfolglose Reanimation kein Ausschlußgrund. Die Autopsie wurde nach einem standardisierten Protokoll durchgeführt.

Für das Alter bei Todeseintritt errechnet sich ein Mittelwert von 141 Tagen bei SIDS-Fällen (Standardabweichung: 87 Tage), bei den Kontrollen 152 Tage (Standardabweichung: 82 Tage), und zeigt keinen signifikanten Unterschied ( $p=0.24$ ).

### **Herstellung und Auswertung histologischer Schnittpräparate**

Die Gehirne sind im Anschluss an die Autopsie für ca. 14 Tage in 10% gepuffertem Formalin fixiert worden. Aus den 30 Gehirnen wurden nach einem Zuschnittschema 20 Regionen zur weiteren routinemäßigen Verarbeitung ausgewählt und laufend durchnummeriert:

1. Gyrus frontalis superior/medialis, linke Hemisphäre
2. Gyrus temporalis superior/medialis, rechte Hemisphäre
3. Lobulus parietalis inferior, linke Hemisphäre
4. Gyrus occipitalis lateralis superior/inferior, rechte Hemisphäre
5. Neostriatum (Ncl. caudatus/Putamen), in höhe der Commissura anterior, linke Seite
6. Pallidum, rechte Seite
7. Thalamus und Substantia nigra, linke Seite
8. Hypothalamus, in Höhe der Corpora mamillaria, rechte Seite
9. Glandula pinealis
10. Periventriculäre weiße Substanz und Plexus choroideus, linke Seite, okzipital

11. Hippocampus, in Höhe des Corpus geniculatum laterale, rechte Seite
12. Vermis cerebelli
13. Kleinhirnrinde und Kleinhirnmark mit Nucleus dentatus, rechte Hemisphäre
14. Kleinhirnhemisphäre lateral, linke Hemisphäre
15. Mittelhirn, in Höhe der Colliculi inferiores
16. Pons, kraniale Hälfte
17. Pons, kaudale Hälfte
18. Medulla oblongata, kraniale Olivenhälfte
19. Medulla oblongata, kaudale Olivenhälfte
20. Rückenmark, zervikal

Die Gewebeblöcke wurden in Paraffin eingebettet und 10 µm dicke Schnitte mit Haematoxylin-Eosin (HE), nach Klüver-Barrera (Markscheidenfärbung) und Elastica-van Gieson (Bindegewebsfärbung) gefärbt.

Für die spezielle Markierung und Untersuchung der Mikroglia sind folgende Lokalisationen (Schnittebenen) im besonderen ausgewählt:

1. Gyrus frontalis superior/medialis
6. Pallidum
8. Hypothalamus
11. Hippocampus
13. Kleinhirnrinde und Kleinhirnmark mit Nucleus dentatus
15. Mittelhirn



16. Pons, kraniale Hälfte

18. Medulla oblongata, kraniale Olivenhälfte

19. Medulla oblongata, kaudale Olivenhälfte

Quantitativ beurteilt wurde die Präsenz von Mikrogliazellen von jedem der 30 Studienfälle in den angegebenen 9 Schnittebenen. Darin sind insgesamt 35 verschiedene, anatomisch definierte Kerngebiete oder Regionen betrachtet worden:

- 18 Regionen im Prosencephalon (Endhirn und Zwischenhirn): Marklager, Lamina multiformis, Lamina pyramidalis interna, Lamina granularis interna, Lamina pyramidalis externa, Lamina granularis externa, Lamina molecularis und die dem Frontalhirn aufliegende Leptomeninx; Nucleus caudatus, Putamen, Thalamus und Corpora mamillaria; Hippocampusformation mit den Abschnitten CA1 bis 3 und CA4, Fascia dentata, Area parasubicularis, Area presubicularis und Corpus geniculatum.
- 9 Regionen im Metencephalon (Kleinhirn und Brücke): Lamina alba, Nucleus dentatus, Stratum granulosum, Stratum ganglionare, Stratum moleculare, das bis zum Ende des zweiten Lebensjahres dem Kleinhirn aufliegende Stratum granulosum externum und die dem Kleinhirn aufliegende Leptomeninx; Nuclei pontis und Locus coeruleus.
- 8 Regionen des Rhombencephalon (Mittelhirn und Hirnstamm): Tractus pyramidalis, Nucleus olivaris inferior, Nucleus olivaris accessorius medialis, Lemniscus medialis, Nucleus dorsalis vagus, Nucleus arcuatus, Nucleus hypoglossus und Colliculi inferiores.

Die zur Verfügung stehenden Schnittpräparate stellten in einigen Fällen die untersuchten Strukturen nicht dar, oder waren unwiederbringlich verloren gegangen. Somit sind für einige der aufgezählten Bereiche nicht die geplanten Fallzahlen vorhanden.

Im Anhang II findet sich das Zuschnittschema, das hier verwendet wurde. Dort sind die Lokalisationen aufgeführt, und wenn es sich um paarige Strukturen handelte, die Entnahmeseite.

## **Immunhistochemie**

Die Schnittpräparate sind aus paraffineingebettetem und formalinfixiertem Material zum immunhistochemischen Nachweis von Mikroglia gefertigt worden. Die Gewebeschnitte von 2 µm Schnittdicke wurden mit einem Mikrotom (Lieferant E. Vieth, Wiesmoor, Deutschland) hergestellt. Für die Immunfärbung kam ein Immunfärbeautomat (DAKO Autostainer™, TechMate™ Horizon) zum Einsatz. Dieser erlaubte die Verwendung von Standardobjektträgern, und das Bearbeiten und Färben auf ihnen. Die hier verwendete Färbemethode ist die Labeled StreptAvidin-Biotin-Methode (LSAB-Methode). Avidin (Hühnereiweiß) und Streptavidin (*Streptomyces avidinii*) zeigen eine sehr hohe Affinität für das kleine Molekül Biotin.

Bei der Verwendung des aus Mäusen stammenden Ki-M1P Antikörpers war keine Vorbehandlung zur Antigendemaskierung nötig. Im Immunfärbeautomaten wurde nach der Kapillarspalt-Methode gearbeitet, was das Arbeiten mit kleinen Mengen an Reagenzien möglich machte. Nach der Entparaffinisierung konnte mit der immunhistochemischen Färbung begonnen werden.

Ab dem ersten Schritt kamen die Schnittpräparate immer wieder mit Pufferlösungen zur Spülung in Berührung, dem üblichen Färbeprotokoll entsprechend. Das Gewebe wurde mit dem unkonjugierten, 1:10 000 verdünnten Primärantikörper, dem Ki-M1P, inkubiert (freundlicherweise zur Verfügung gestellt durch Professor Radzun, Institut für Pathologie an der Universität Kiel, Deutschland). Der Sekundärantikörper war biotinyliert, also biotinmarkiert und band an den Primärantikörper. Der nächste Inkubationsschritt geschah mit Meerrettichperoxidase, die die endogene Peroxidaseaktivität blockierte. So wurde unspezifisches Anlagern im Gewebe des darauf folgenden peroxidase-konjugierten Streptavidin-Enzym-Konjugats, das aus dem Detektionssystem K5001 der Firma DAKO stammt, gemindert. Der Komplex ging eine bevorzugte Verbindung mit dem Biotin des Sekundärantikörpers ein. Dafür war von den 4 Valenzen die dem Streptavidin-Biotin-Komplex für eine Biotinbindung

zur Verfügung stehen, eine Valenz frei. Als Chromogen wurde DAB (3,3'-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid) genutzt. Es machte die Bereiche sichtbar, an die der Ki-M1P Antikörper gebunden hatte. Neben der immunhistochemischen Markierung bekam der Hintergrund der Schnitte zum Ende der Verarbeitung eine schwache HE Färbung.

### **Auswertung der Schnittpräparate**

Jeder Gewebeschnitt ist makroskopisch, sowie mit einem Mikroskop in aufsteigender Vergrößerung, eingehend betrachtet worden (Model BX-50 F4 vom Hersteller Olympus Optical Co., LTD. Japan). Die Bearbeitung der Schnitte ist absichtlich ohne Reihenfolge geschehen, wobei die Herkunft jeweils aus der Fall- oder Kontrollgruppe nicht am Material ersichtlich war, um eine Voreingenommenheit zu vermeiden. An Präparaten, die wie zum Beispiel die Medulla oblongata gleiche Strukturen bilateral präsentieren, sind beide Seiten gleichstark in die Zählung eingeflossen. Anhand von den HE gefärbten Schnitten ließen sich im Vergleich die jeweiligen Strukturen auf den sehr hellen immunhistochemisch gefärbten Schnitten identifizieren. Ki-M1P markierte Mikroglia erschien braun, der Hintergrund hell blau.

Die Mikrogliazellen der untersuchten Regionen wurden gezählt und unterteilt in gefäßassoziiert gelegene Zellen und gefäßferne, also im Parenchym liegende.

Jeweils 10 Gesichtsfelder sind bei einer 40-fachen Vergrößerung pro Struktur ausgezählt worden (zum Beispiel in der Großhirnrinde das Marklager, beim Kleinhirn die Lamina alba). Ein Gesichtsfeld entspricht einem high-power field=HPF. Bei Strukturen, die nicht ein ganzes HPF füllten, kam ein besonderes Okular (WH 10x-H/22 T2) mit einem Gitter zum Einsatz, welches eine definierte Fläche abgrenzte. Die eruierte durchschnittliche Mikrogliazahl pro Gitter wurde mit dem entsprechenden Faktor multipliziert, um hochzurechnen welcher Durchschnitt sich auf der Fläche eines HPF fände. Alle Daten aus der Zählung der Schnittpräparate finden sich im Anhang VI. Die Zahlen in der besonders fett gedruckten Säule im Anhang VI beziehen sich auf die durchschnittliche Mikrogliaanzahl pro HPF, damit die Strukturen miteinander vergleichbar sind.

## **Datenverarbeitung und statistische Verfahrensweise**

Die Einflüsse der Nebendaten der Fälle auf die Mikrogliaanzahl sind per Korrelation untersucht. Die Signifikanz der unterschiedlichen Mikrogliaanzahl zwischen den Gruppen ist mit dem Wilcoxon Rangsummentest geprüft. Es wird ein zweiseitiger Test gemacht und als Signifikanzniveau gilt 2,5% je Seite. Ebenfalls kommt der Chi-Test zur Anwendung bei der Überprüfung des Hirngewichts-, Alters- und Geschlechtsverteilung der 30 Fälle. Die Korrelationsberechnungen und der Chi-Test sind mit dem Programm Gnumeric Version 1.5.3

([www.gnome.org/projects/gnumeric](http://www.gnome.org/projects/gnumeric)) berechnet worden. Die Wilcoxon Rangsummentests wurden mit dem Programm Utest:(<http://eatworms.swmed.edu/~leon/stats/utest.html>) durchgeführt.

## 3. Ergebnis

### **Beschaffenheit des Patientengutes**

Die Zusatzinformation aller 30 in dieser Arbeit eingeschlossenen Patienten ist im Anhang I zu finden. Jeder Fall trägt eine Studiennummer der Studienzentrale, eine Leicheneröffnungsnummer des rechtsmedizinischen Institutes, eine Sektionsnummer des Institutes für Neuropathologie der Universitätsklinik Münster und eine durchlaufende Numerierung zur Identifikation.

In dieser Arbeit werden die folgenden Daten in die Auswertung mit einbezogen:

- Geschlecht
- Alter in Tagen zum Zeitpunkt des Todes
- Hirngewicht, formalinfixiert
- Auffindelage
- Postmortem Intervall
- Todesursache
- Mikrogliaanzahl

#### ***Geschlecht***

In der Gruppe der 23 SIDS-Fälle waren 9 weiblich (39,1%) und 14 männlich (60,9%). Von der Kontroll-Gruppe waren 5 weiblich (71,4%) und 2 männlich (28,6%).

Zusammengenommen sind unter den 30 Kindern 14 weiblich (46,7%) und 16 männlich (53,3%).

#### ***Alter***

Im Durchschnitt sind alle 30 Fälle  $151,5 \pm 86,6$  Tage alt.

Die Jungen sind  $135,6 \pm 91,2$  Tage,

die Mädchen  $169,5 \pm 80,4$  Tage im Durchschnitt alt.

Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Das Durchschnittsalter der SIDS-Kinder ist  $140,9 \pm 86,9$  Tage.

Die Jungen sind  $115,7 \pm 76,6$  Tage,

die Mädchen  $180,1 \pm 91,5$  Tage im Durchschnitt alt.

Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Das Durchschnittsalter der Kontroll-Kinder ist  $186,1 \pm 82,3$  Tage.

Die Jungen sind  $275,0 \pm 65,1$  Tage,

die Mädchen  $115,7 \pm 59,8$  Tage im Durchschnitt alt.

Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Für die Anzahl der Mikrogliazellen findet sich in keiner der 35 ausgezählten Regionen des ZNS eine Korrelation mit dem Alter der Säuglinge.

### ***Hirngewicht***

Das Durchschnittsgewicht des Hirns beträgt für alle 30 Fälle  $747 \pm 168$  g.

Die Gehirne der Jungen wogen im Durchschnitt  $772 \pm 172$  g,

bei den Mädchen  $719 \pm 167$  g.

Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Das Durchschnittsgewicht des Hirns beträgt für die SIDS-Fälle  $748 \pm 150$  g.

Die Gehirne der Jungen wogen im Durchschnitt  $740 \pm 129$ g,

bei den Mädchen  $837 \pm 142$  g.

Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Das Durchschnittsgewicht des Hirns beträgt für die Kontrollgruppe  $744 \pm 232$  g.

Die Gehirne der Jungen wogen im Durchschnitt  $1002 \pm 240$  g,

bei den Mädchen  $641 \pm 140$  g.

Diese Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Für die Anzahl der Mikrogliazellen findet sich in keiner der 35 ausgezählten Regionen des ZNS eine Korrelation mit dem Hirngewicht der Säuglinge.

#### ***Auffindelage der SIDS-Kinder***

In der Bauchlage sind 15 von den 23 SIDS-Fällen (65,2 %) aufgefunden worden.

Auf der Seite liegend fand sich ein Kind von den 23 SIDS-Fällen (4,4 %).

In Rückenlage wurden 7 von den 23 SIDS-Fällen (30,4 %) aufgefunden.

Diese Daten sind im Anhang I zu finden.

#### ***Postmortem Intervall***

Der Zeitraum der zwischen dem Tod und der Obduktion liegt, wird postmortem Intervall genannt. Im Falle des plötzlichen Kindstodes ist der Todeszeitpunkt nicht genau bekannt und das postmortem Intervall beginnt erst ab dem Moment des Auffindens des Kindes.

Bei den SIDS-Fällen beträgt das postmortem Intervall durchschnittlich 32,40 Stunden (32 Stunden und 24 Minuten), in der Kontrollgruppe 23,75 Stunden (23 Stunden und 45 Minuten).

Für die Gruppe der SIDS-Fälle und der Kontrollen gemeinsam errechnet sich ein postmortem Intervall von 30,11 Stunden (30 Stunden und 7 Minuten).

Für die Anzahl der Mikrogliazellen findet sich in keiner der 35 ausgezählten Regionen des ZNS eine Korrelation mit dem PMI der Säuglinge.

## **Mikrogliazählung**

Das Ergebnis aus der Mikrogliazählung könnte von Umständen wie dem Alter des Kindes, dem PMI oder dem Hirngewicht beeinflusst oder bedingt sein. Deshalb ist die ausgezählte Mikrogliaanzahl mit allen begleitenden Daten über die Studienfälle korreliert worden.

Es fand sich keine signifikante Korrelation der Mikrogliaanzahl und den bekannten Nebendaten der 30 Fälle. Somit sind die Daten aus der Zählung nicht durch die Umstände bedingt oder beeinflusst (siehe oben).

### **Männlich/weiblich**

Die 16 Jungen und 14 Mädchen, unabhängig, ob SIDS oder Kontrolle, werden im Wilcoxon-Rangsummentest auf signifikante Unterschiede der Menge an Mikrogliazellen miteinander verglichen. In folgenden Regionen ist die Mikrogliaanzahl bei den Mädchen höher als bei den Jungen:

- Locus coeruleus (gefäßfern),  $p=0,0230$
- Nucleus olivaris accessorius medialis,  $p=0,0240$

In keiner Region haben Jungen signifikant mehr Mikrogliazellen als Mädchen.

### **Jünger/ älter als der Altersmedian**

Die 30 Fälle, unabhängig ob SIDS oder Kontrolle, werden daher in zwei Gruppen aufgeteilt, die unter und über dem Altersmedian liegen. Mit dem Wilcoxon-Rangsummentest werden sie auf signifikante Unterschiede der Menge an Mikrogliazellen geprüft. In folgenden Regionen ist die Mikrogliaanzahl bei Kindern im Alter über dem Altersmedian höher:

- Frontalhirn Marklager
- Frontalhirn Lamina multiformis
- Frontalhirn Lamina pyramidalis interna



- Frontalhirn Lamina granularis interna
- Frontalhirn Lamina molecularis
- Nucleus caudatus
- Cerebellum Nucleus dentatus
- Cerebellum Stratum granulosum
- Cerebellum Stratum ganglionare
- Cerebellum Stratum moleculare
- Cerebellum Stratum granulosum externum
- Corpora mamillaria
- CA4 Region
- Fascia dentata
- CA 1 bis 3
- Area parasubicularis
- Corpus geniculatum
- Area presubicularis
- Nuclei pontis
- Locus coeruleus
- Nucleus olivaris inferior
- Nucleus olivaris accesorius medius
- Nucleus hypoglossus

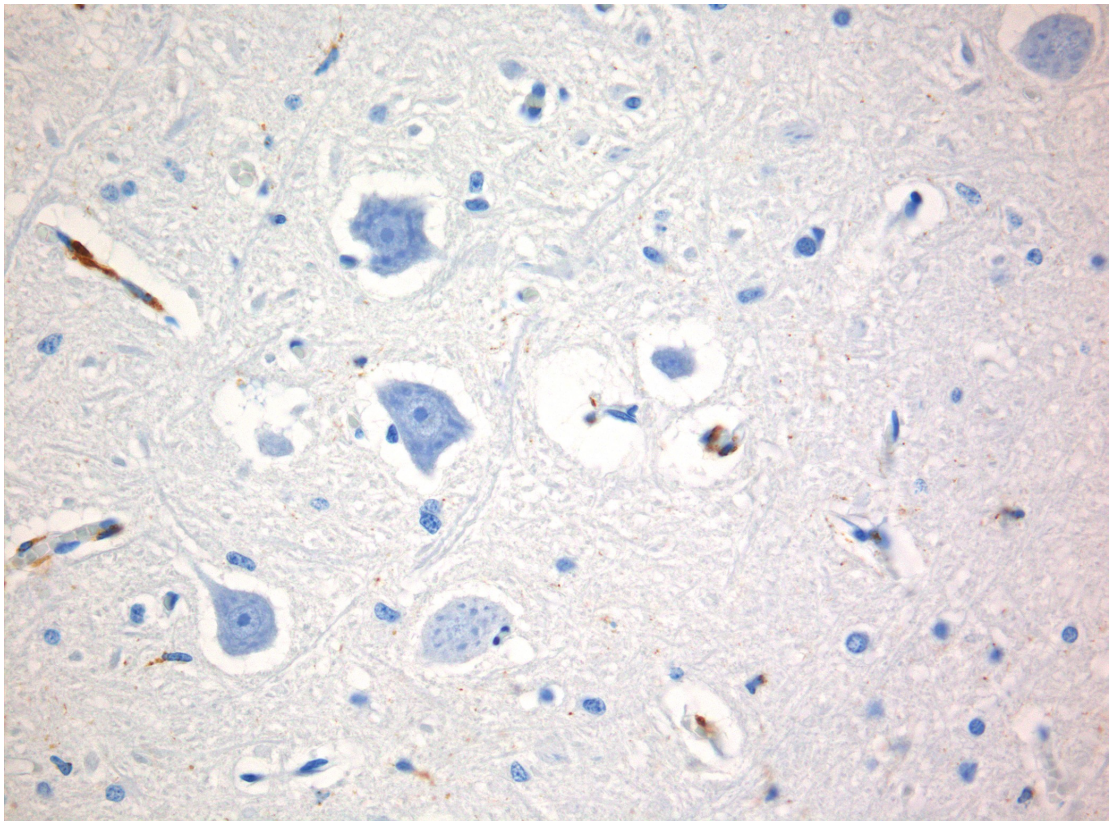
In den aufgeführten 23 von 35 ausgezählten Regionen finden sich bei den älteren Kindern unabhängig von der Todesursache signifikant mehr Mikroglia. In keiner Region haben jüngere Kinder signifikant mehr Mikroglia.

### **SIDS/ non-SIDS**

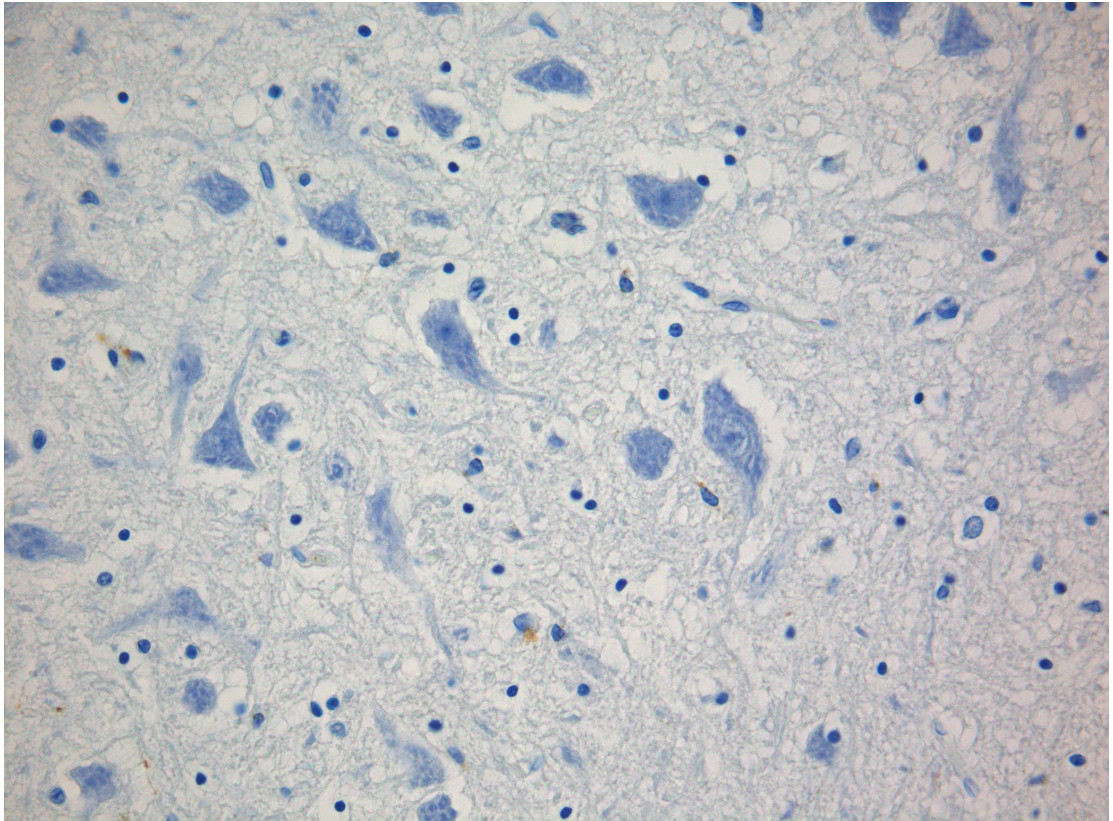
Im Vergleich der 23 SIDS und 7 non-SIDS Fälle durch den Wilcoxon-Rangsummentest finden sich bei den SIDS-Fällen signifikant mehr Mikrogliazellen als bei den Kontrollen nur in einer Region:

- Nucleus hypoglossus (gefäßassoziiert),  $p=0,014$

Die Abbildung 1 veranschaulicht den Fund. In keiner weiteren der 35 betrachteten Regionen findet sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Abbildung 2 zeigt im Gegensatz dazu den Nucleus hypoglossus bei einem non-SIDS Fall mit besonders wenigen Mikrogliazellen perivaskulär.



*Abbildung 1: Immunhistochemische Färbung der Mikrogliazellen im Nucleus hypoglossus. Schnittebene 19. SIDS - Fall, männlich 270 Tage alt, Sektionsnummer 226 / 99. SIDS - Fall mit besonders vielen braun markierten Mikrogliazellen im Bereich von Gefäßen. 40-fache Vergrößerung.*



*Abbildung 2: Immunhistochemische Färbung der Mikrogliazellen im Nucleus hypoglossus. Schnittenebene 19. non-SIDS - Fall, weiblich 121 Tage alt, Sektionsnummer 129 / 99. non-SIDS - Fall mit besonders wenigen braun markierten Mikrogliazellen im Bereich von Gefäßen. Todesursache Ileus / Exsikose. 40-fache Vergrößerung.*

## 4. Diskussion

Die Definition von SIDS beinhaltet eine unauffällige Autopsie der Opfer. Es ergibt sich somit kein pathognomonisches morphologisches Korrelat, das zur Diagnose SIDS führt. Auch im ZNS sind keine pathognomonischen Veränderungen bekannt, welche in allen Fällen zu erwarten sind. Die Forschung muss somit auch auf anderen Ebenen fortschreiten, um Antworten zum plötzlichen Kindstod zu erlangen. Durch ihre vielfältigen Fähigkeiten weisen Mikrogliazellen auf Hirnregionen hin, die im weitesten Sinne besonders beansprucht sind. Dies ist so ein viel versprechender Ansatz, dass unter der gleichen Prämisse wie in der vorliegenden Arbeit versucht wird, sich der Ätiologie der noch wenig erforschten Schizophrenie zu nähern [Wierzba-Bobrowicz et al. 2005]. Da die Mikrogliazellen eine niedrige Aktivierungsschwelle haben, und dann schnell mit einer vorübergehenden Zunahme der Zellpopulation reagieren, ist diese offensichtliche Veränderung im Fall des plötzlichen Kindstodes ein guter Marker, der die anatomischen Gebiete zu erkennen gibt, in denen sich die pathologischen Prozesse abspielen [Banati et al. 2004].

### **Aktivierungsablauf**

Die Mikrogliaaktivierung zeigt folgende Veränderungen: Migration zum Ort der Läsion, Hypertrophie der Zellen, ortsständige Proliferation, Veränderung bei der Genexpression, Präsentation des Major Histocompatibility Complex (MHC) II Antigens gegenüber infiltrierenden Lymphozyten und Phagozytose. Eine Rückkehr aus dem aktivierten Zustand in den ruhenden ist wahrscheinlich möglich [Hailer et al. 1996].

### **Aktivierungszeitplan**

Mikroglia Aktivierung geschieht schon nach wenigen Minuten nach beispielsweise einer Ischämie [Morioka et al. 1991]. Stence et al. veranschlagen für eine Aktivierung mehr Zeit, da der Austausch der Fortsätze knapp unter zwei Stunden beansprucht [Stence et al. 2001]. Laut Ladeby ist der Peak im Anstieg der Mikrogliaanzahl nach Läsion experimentell erst am dritten Tag zu erwarten [Ladeby et al. 2005]. Ein Sinken der Zellzahl ist etwa an Tag 14 zu erwarten. Im Bezug auf SIDS ist diese Beobachtung vereinbar mit einem Virusinfekt [Dettmeyer et al. 2004], der häufig vor

dem SIDS-Ereignis beobachtet wird. Bei entzündlichen Ereignissen ist eine Zeit von 30 Stunden bis zur Aktivierung der Mikrogliazellen beschrieben [Rinaman et al. 1993]. Auf eine periphere Nervenzerstörung reagieren im ZNS die Mikrogliazellen mit einer Latenz von 2 Tagen [Morioka u. Streit 1991]. Der in der Arbeit von Morioka beschriebene Versuchsaufbau lässt als mögliche Erklärung vermuten, dass das Signal der peripheren Schädigung retrograd bis zum ZNS gelangen muß, bevor eine Mikrogliaaktivierung nachweisbar ist. Es ist vorstellbar, dass diese Signalweiterleitung viel Zeit in Anspruch nimmt, die Mikrogliaaktivierung jedoch könnte durchaus in Minuten geschehen. Die Ergebnisse der Arbeit müssen nicht den vorher genannten Aktivierungszeiten widersprechen.

### **Morphologie**

Bei der Transformation von ruhenden, verzweigten Mikrogliazellen zu amöboid förmigen ist beobachtet worden, dass sie zunächst ihre „statischen“ Fortsätze einziehen, mit einer Geschwindigkeit von 0,5 bis 1,5  $\mu\text{m}/\text{min}$  und dann neue „bewegliche“ Fortsätze ausfahren [Stence et al. 2001]. Diese können mit einer höheren Geschwindigkeit von 4  $\mu\text{m}/\text{min}$  ausgestreckt und eingezogen werden. Die Fortbewegung ist mit 118  $\mu\text{m}/\text{h}$  im Gewebe möglich. Im Elektronenmikroskop lässt sich Vimentin, ein mesenchymtypisches Intermediärfilament, in aktivierten Mikrogliazellen erkennen. Möglicherweise könnte man die Bildung von Vimentin als Marker für die Aktivierung der Mikroglia sehen [Graeber et al. 1988a].

Morphologische Veränderungen an Mikrogliazellen lassen sich durch Interleukin (IL) 3 induzieren. Der Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender-Faktor (GM-CSF) und Kolonie-stimulierender-Faktor (CSF-1) bewirken bei Mikrogliazellen morphologische Veränderungen und Proliferation [Suzumura et al. 1990]. In dieser Studie wird zwischen amöboiden und verzweigten Mikrogliazellen nicht unterschieden, da Mikroglia je nach Milieuwechsel, beispielsweise durch Wanderung im Gewebe, zur Transformation fähig ist. Die morphologische Form die angenommen wird ist somit auch von der jeweiligen Gehirnregion beeinflusst [Hailer et al. 1997]. Dabei ändert sich auch die Ausstattung der Ionenkanäle auf ihrer Oberfläche [Boucsein et al. 2000]. Die Änderungen der Ionenströme lassen sich bei Ratten-Mikroglia experimentell zum Beispiel durch Lipopolysaccharide (LPS) induzieren, was einem biologischen Stressreiz entspricht [Norenberg et al. 1994].

Bei der Untersuchung von Stence wurde eine besondere Funktion der Mikrogliazellen festgestellt. Sie umfließen Strukturen und wandern ohne sie zu phagozytieren weiter. Das könnte Teil ihrer möglichen Rolle bei der Gewebeüberwachung sein. Auch ein Bezug zur Antigenpräsentation ist wahrscheinlich. Während dieses engen Kontaktes könnte es auch zum Austausch von schädlichen oder schützenden Substanzen kommen [Stence et al. 2001].

### **Oberflächenmarker/Makrophageneigenschaften**

CD68 ist ein Marker für ruhende und aktivierte Mikrogliazellen. Aktiviert können sie makrophagenspezifische Antigene tragen, wie das Fc und CR3 (Komplement Rezeptor 3) [Frei et al. 1988] [Suzumura u. Silberberg 1988] [Weinstein et al. 1990] [Finsen et al. 1993]. Als Gewebsmakrophage des ZNS hat Mikroglia die Fähigkeit andere Zellen zu beeinflussen und wiederum von immunkompetenten Zellen, wie Lymphozyten, Makrophagen oder B-Zellen, welche ins ZNS eingedrungen sind, beeinflusst zu werden. Dabei kann sie ein breites Spektrum von Reaktionen zeigen. Zum Beispiel kann sich die Population vermehren, oder eine Beeinflussung der nicht spezifischen Entzündungsreaktion stattfinden [Aloisi 2001] [Neumann 2001]. An Läsionen induzieren sie über die Astrozyten eine Narbenbildung. Sie bilden dafür Wachstumsfaktoren wie IL-1 und Mitogene, welche die eigene Population anwachsen lassen [Giulian et al. 1988a] [Giulian et al. 1988b]. Die Phagozytose von apoptotischen Zellen der Umgebung lässt sich in vitro unter Einfluss von IL-4 inhibieren. Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) steigert die Phagozytoseleistung [Chan et al. 2001]. Vielleicht als Folge ihrer Phagozytoseeigenschaften beinhalten Mikrogliazellen mehr Ferritin als andere Zellen des Gehirns [Kaneko et al. 1989].

Aktiviert Mikroglia exprimiert wie die Makrophagen folgende Marker: Fc-Rezeptor, CD11b, CD11c, CD68, F4/80 und CD45 [Kreutzberg 1996] [Ulvestad et al. 1994]. Eine CD14 Expression ist auf der Mikroglia induzierbar und kann daher nicht der Unterscheidung zu Makrophagen dienen [Becher u. Antel 1996]. CD45, CD64 und Fc- Rezeptor Expression sind Merkmale von Zellen aus dem Knochenmark. Auf den Mikrogliazellen spricht solch eine Rezeptorenausstattung für einen Ursprung ebenfalls aus dem Knochenmark [McGeer et al. 1993].

Mikroglia ist im aktivierten Zustand zum Sezernieren vielfältiger Stoffe angeregt. Sezerniert werden auf Makrophagen und T-Zellen chemotaktisch wirksame Stoffe wie zum Beispiel IFN- $\gamma$ -inducible protein 10 (IP-10), macrophage-inflammatory protein-1 (MIP-1), macrophage-inflammatory protein-2 (MIP-2), chemokine ligand 19 (CCL19), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), monocyte chemoattractant protein-2 (MCP-2). Nach einer Läsion ist die Sekretion dieser Stoffe die früheste Mikrogliaantwort. Die Mikrogliazellen reagieren in dieser Form unabhängig davon ob die Läsion bakteriell oder viral bedingt ist. Auch Veränderungen der Blut-Hirnschranke oder plötzliche Veränderung der Neuronalen Aktivität lösen die Sekretion dieser Stoffe aus [Aloisi et al. 2000] [Ransohoff 1999] [Streit 2000]. TNF- $\alpha$  ist ebenfalls ein Sekretionsprodukt der Mikrogliazellen [Kreutzberg 1996]. Von aktivierten Mikrogliazellen wird auch IL-18 synthetisiert, dessen Wirkung möglicherweise bei der ZNS Entwicklung eine Rolle spielt [Prinz u. Hanisch 1999]. Das ist anzunehmen, da IL-18 bei Mäusen nur während der frühen ZNS-Entwicklung nachweisbar ist.

Unter den sezernierten Stoffen können sich auch toxische befinden. Damit würde eine Degeneration von Neuronen die toxischen Eigenschaften von Mikrogliazellen induzieren und durch Mikroglia reziprok verstärkt werden [Walker u. Lue 2005]. Der vorhandene Schaden nähme erst durch die Mitwirkung der Mikroglia an Ausmaß zu.

### **Mikroglia Aktivierung**

Die Schwelle für Mikrogliaaktivierung ist sehr niedrig, was durch die besondere Ionenkanalausstattung bedingt ist. Die Zellen reagieren sehr sensibel auf Depolarisation [Kettenmann et al. 1993].

IFN- $\gamma$  aktiviert Mikroglia sowohl in vivo als auch in vitro. An Mikrogliazellen von Mäusen nimmt die Genexpression quantitativ zu unter IFN- $\gamma$  Einfluss. Die exprimierten Gene kodieren entzündungsfördernde Zytokine und Bausteine der MHC-gekoppelten Antigenpräsentation. IFN- $\gamma$  wirkt stimulierend auf die Signalwege für Antigenpräsentation, Proteinabbau, Aktinbindung, Zelladhäsion, Apoptose und Strukturen für Signalaufnahme und Weiterleitung der aktivierten Mikrogliazelle. Umgekehrt scheint es eine Minderung der Geneexpression zu bewirken, für Wege die

das Wachstum regulieren, den Fettstoffwechsel und die Lysosomenbildung [Moran et al. 2004].

Im nicht-aktivierten Zustand ist Mikroglia im ZNS MHC I und II negativ, und mithin nicht in der Lage Antigen zu präsentieren [Aloisi 2001] [Kreutzberg 1996]. Auslöser für eine Expression sind unter anderem zunehmendes Alter, Kontakt mit LPS oder ein stumpfes Trauma. Auch T-Zellen induzieren diese Aktivierung [Ford et al. 1996].

Auf entzündungsfördernde Faktoren wie LPS, TNF- $\alpha$  oder IL-1 antwortet Mikroglia mit der Synthese von IL-8. Diese Synthese lässt sich experimentell durch Vorbehandlung mit IL-4, IL-10, oder TGF unterdrücken [Ehrlich et al. 1998]. Mit der Vorbehandlung kann hemmender Einfluss genommen werden auf die Reaktion der Mikrogliazellen bei Entzündung. Das gleiche Prinzip gilt für LPS-aktivierte Mikrogliazellen die entzündungsfördernde Zytokine und NO abgeben. Diese beiden Sekretionsprodukte sind experimentell durch MSH und VIP inhibierbar [Delgado et al. 1998] [Kim et al. 2000]. Die Synthese von entzündungsfördernden Faktoren aus den Mikrogliazellen wird bewirkt mit der aus Neuronen freigesetzten Substanz P [Neumann 2001].

Im Zustand der Aktivierung erscheint eine „periphere Benzodiazepin Bindungsstelle“ auf den Mitochondrien von Mikroglia. Diese ist sowohl in vivo als auch in vitro zu beobachten, und kommt in den meisten Hirnbereichen im Ruhezustand nicht vor. Dass dieser Rezeptor bei Aktivierung de novo synthetisiert wird und in hoher Anzahl, weist auf wichtige Veränderungen bei der Transformation auch in den Mitochondrien hin. Besonders zahlreich sind diese „Benzodiazepin Rezeptoren“ auf der äusseren Membran vorhanden. Elektronenmikroskopisch lassen sich zirkuläre Cristae oder Ring- und U-förmige Membranen erkennen. Bei der Aktivierung nehmen die Mitochondrien eine nadelförmige Gestalt an [Banati et al. 2004]. Im gesunden Gehirn, ohne aktivierte Mikroglia, findet sich konstitutionell Mikroglia mit den oben beschriebenen Mitochondrien im Plexus choroideus, Ependym, zwischen perivaskulären Zellen, im Zentralkanal, eventuell in einigen Kerngebieten des Hirnstamms und in manchen Kleinhirnschichten. Ebenso gibt es sie in den zirkumventrikulären Organen, wie der Neurohypophyse und Area postrema, die nicht durch die Blut-Hirnschranke abgeschirmt werden [Kassiou et al. 2005].



### **Mikroglia – Neuronen Interaktion**

CD200 (OX2) ist ein weit verbreitetes Glykoprotein auf Zelloberflächen. Es interagiert mit dem strukturell ähnlichen CD200R Rezeptor, der auf myeloischen Zellen von Nagern exprimiert wird. Er spielt eine Rolle bei der Makrophagen Funktion [Wright et al. 2003]. So haben örtliche Wechselwirkungen hemmenden Einfluss auf die Aktivierung von Mikroglia. Die Mikrogliazellen tragen den CD200 Rezeptor; der hierzu benötigte Ligand stammt aus elektrisch aktiven Neuronen der Umgebung. In Anwesenheit des Liganden wird die MHCII Expression unterdrückt. Kommt es zu einer Störung der Funktion des Neurons mit nachlassender elektrischer Aktivität, werden Mikrogliazellen ohne den Liganden aktiviert. Ohne die hemmende Wirkung der intakten Neuronen wird die neurodegenerative Kaskade angestoßen [Neumann 2001] [Hoek et al. 2000]. An Mäusen, die keinen CD200 Rezeptor exprimieren, konnte eine Aktivierung von Mikroglia anhand der CD45, CR3 [Graeber et al. 1988b] und MHCII Expression bewiesen werden, obwohl es sich um gesunde Tiere handelte. Nach experimentell zugesetzter Läsion zeigte sich eine deutlich schnellere Aktivierung der Mikroglia ohne die hemmende Wirkung des CD200 Rezeptors [Neumann 2001]. Ebenso verhalten sich Neurotrophine wie Inhibitoren. Sie werden von Neuronen sezerniert, und unterdrücken die Interferon-induzierte MHC II Expression der Mikroglia [Neumann et al. 1998]. Gesunde, funktionierende Neurone inhibieren also die Aktivierung der Mikrogliazellen. Ein Nachlassen der Funktion, beispielsweise im Alter, Entzündung oder in der Nähe von Neurodegeneration, stellt die Ansprechbarkeit der Mikrogliazellen auf aktivierende Faktoren wieder her [Chang et al. 2001].

Die Forschergruppe um Flavin hat beschrieben, dass Mikroglia lösliche, neurotoxische Faktoren abgibt [Flavin et al. 1997]. Einer dieser Faktoren könnte Gewebsplasminogenaktivator (tPA) sein. Nach einem Stressreiz, zum Beispiel Kontakt mit bakteriellen Lipopolysacchariden (LPS), ist eine sehr rasche Sekretion von tPA aus Mikrogliazellen beobachtet worden [Rogove et al. 1999]. Eine maximale Sekretion findet nach 4 Stunden statt, und geht im Prozess der Mikrogliaaktivierung vielen Veränderungen bei der Genexpression voraus. Das tPA könnte parakrine Aufgaben dienen. Es wird angenommen, dass mikroglia sezerniertes tPA in der frühen Phase der Entzündung wie ein entzündungsförderndes Zytokin neurodegenerativ agiert [Rogove u. Tsirka 1998]. Eine gegensätzliche Fähigkeit wird dem nicht

proteolytischen tPA zugeschrieben. Auf Zn-induzierte Neuronendegeneration hat es einen protektiven Effekt [Kim et al. 1999]. Somit haben Mikrogliazellen neurotoxische aber auch neuroprotektive Eigenschaften [Streit et al. 1999]. Eine schädliche Wirkung wird auf schwer geschädigte Neuronen ausgeübt [Giulian et al. 1994], bei subletaler Schädigung ist die Wirkung jedoch neuroprotektiv [Kato et al. 1995]. Für die Neurodegeneration, und damit einen letalen Schaden, eventuell auch SIDS, ist eine Mikroglia proliferation nicht notwendig. Nur die Aktivierung, auch weniger Mikrogliazellen, ist ausreichend für einen Neuronenuntergang [Rogove et al. 2002].

Die gegensätzlichen Eigenarten von Neurotoxizität und Neuroprotektion beruhen möglicherweise nicht auf modulierbarer Genexpression, sondern auf Subtypen von Mikroglia [Kawahara et al. 2004]. Im Falle von Entzündung ist ein Subtyp als kaum neurotoxisch beschrieben. Der andere steigert die NO Synthese so weit, dass neben der Neurotoxizität durch Induktion von Apoptose eine Autoregulation der eigenen Population in Gang gesetzt wird. Dies hat zur Folge, dass der Gewebeschaden begrenzt wird, da auch die übermäßig NO-synthetisierenden Mikrogliazellen zu Grunde gehen.

Die Fähigkeit von Mikrogliazellen einen neuronalen Zelltod zu begünstigen ist wahrscheinlich während der Ontogenese von Vorteil. Bei der ZNS-Entwicklung müssen überflüssig gebildete Neuronen beseitigt werden [Streit 2001]. Eventuell gelingt nicht immer das Umschalten von frühen entwicklungsgeschichtlichen Eigenschaften auf andere, die später von Vorteil sind. Hierin könnte für einige Krankheiten des ZNS die Grundlage bestehen.

Für die Populationsvermehrung in geschädigten Regionen könnte eine Substanz aus den Neuronen verantwortlich sein. Aus lädierten Neuronen kann Fraktalkin freigesetzt werden, welches die Apoptose der Mikrogliazellen vermindert [Neumann 2001]. In der Region des Schadens steigt die Mikrogliaanzahl und die Expression des Fraktalkinrezeptors auf ihnen. Harrison stellt eine Abnahme der Fraktalkin Messenger-RNS fest und eine veränderte Expression des Proteins im Falle von neuronaler Störung. Fraktalkin wirkt proinflammatorisch und chemotaktisch. Es erhöht die Kalziumkonzentration in den Mikrogliazellen [Harrison et al. 1998].

Es ist bekannt, dass Mikroglia eine Entzündung im ZNS chronifizieren kann und damit zu Funktionsverlust und Absterben von Neuronen führt. Die Entzündung wird wahrscheinlich durch Sekretionsprodukte, wie Sauerstoffradikale und Stickstoffverbindungen aufrecht erhalten [Vilhardt 2005].

Die neuroprotektiven Prozesse regulieren Mikrogliazellen wahrscheinlich, indem sie trophische Faktoren sezernieren und Glutamat aus der Umgebung aufnehmen [Teismann u. Schulz 2004].

Die vielfältigen Interaktionen zwischen Mikrogliazellen und Neuronen lassen eine zweiseitige Kommunikation zwischen beiden Gewebetypen annehmen [Banati 2002].

Wie oben berichtet, sind vielfältige Wege möglich zur Mikrogliaaktivierung, wahrscheinlich auch ebenso viele Ebenen der Aktivierung und Möglichkeiten der Reaktion. Jedoch ist dies erst der Beginn der Forschung. Da die Zellen in unterschiedlichen Gehirnregionen unterschiedlich reagieren, die MHC Präsentation diverse Zustände vorweisen etc, ist kaum eine einheitliche Betrachtung des Komplexes „Mikroglia“ möglich. Vielmehr müsste bei der Untersuchung ihrer Eigenschaften auf Gegebenheiten jeder Hirnregion geachtet werden, um diese wandlungsfähigen Zellen nicht simplifiziert zu erfassen. Zukünftige Studien sollten mehr auf lokoregionale Gegebenheiten eingehen. So könnten sich besser definierte Eigenschaften der Zellen herauskristallisieren und gezielter in der Forschung anwenden lassen.

Die zahlreichen Wege, die in einer Mikrogliaaktivierung münden, bedeuten, dass es sich um eine unspezifische Reaktion handelt. Sie ist nicht aussagekräftig über den Prozess, der fehlerhaft abgelaufen ist, jedoch sind die hohen Mikrogliazellzahlen ein zwingender Hinweis, dass in der jeweiligen Region eine pathologische Situation vorliegt.

### **Mikrogliaanzahl und Geschlecht**

In einer Arbeit, die die Mikrogliaanzahl bei Mäusen untersucht hat, zeigt sich eine starke geschlechtsgebundene Tendenz [Mouton et al. 2002]. Von der Arbeitsgruppe um Mouton sind die Regionen C1 des Hippocampus und der Gyrus dentatus

untersucht worden. Weibliche Mäuse der jüngsten Gruppe im Alter von 3-4 Monaten haben im Vergleich mit gleichaltrigen männlichen Kontrollen 30% mehr Mikroglia. Im Alter von 13-14 Monaten und 20-24 Monaten haben die weiblichen Tiere im Durchschnitt 38 % mehr Mikrogliazellen als die männlichen Kontrolltiere.

In der vorliegenden Arbeit findet sich bei den Mädchen in zwei Regionen eine signifikant höhere Mikrogliaanzahl als bei den Jungen. In keiner Region haben Jungen signifikant mehr Mikrogliazellen als Mädchen.

Östrogen wirkt neuroprotektiv im Bezug auf neurodegenerative Erkrankungen, wie zum Beispiel Morbus Parkinson. LPS-aktivierte Mikroglia synthetisiert NO und TNF. Die Bildung dieser beiden Stoffe lässt sich experimentell durch eine Vorbehandlung mit Östrogen unterdrücken [Liu et al. 2005]. Wie oben beschrieben ist es möglich, dass Mikrogliazellen sich selbst in die Apoptose zwingen, wenn die eigene NO Sekretion einen Schwellenwert übersteigt. Für die Resultate an Mäusen und das Ergebnis aus dieser SIDS-Studie könnte angenommen werden, dass Östrogen vor der exzessiven NO Synthese bewahrt und so bei den weiblichen Fällen weniger Apoptose stattfindet. Gewebe, das unter „Östrogenschutz“ steht, kann eine höhere Population von Mikrogliazellen erlauben.

Für gezielte Fragestellungen wäre die quantitative Beurteilung der Mikrogliazellen in Zukunft wahrscheinlich fruchtbar, wenn zuvor für weibliche und männliche Säuglinge getrennte Normwerte ausgearbeitet werden könnten.

### **Mikrogliaanzahl und Alter**

In der Literatur sind altersabhängige Tendenzen bei Mäusen für die Mikrogliaanzahl beschrieben [Mouton et al. 2002]. Bei Mouton sind die Regionen C1 des Hippocampus und der Gyrus dentatus untersucht worden. Ältere Mäuse im Alter von 13-14 Monaten und 20-24 Monaten haben im Durchschnitt 20 % mehr Mikrogliazellen als junge Mäuse im Alter von 3-4 Monaten. Die ca 10 Monate älteren Mäuse haben im Vergleich mit den jüngsten Mäusen signifikant mehr Mikroglia.

Die Zunahme der Mikrogliaanzahl mit dem Alter ist auch für Affen beschrieben [Sheffield u. Berman 1998]. Die dafür untersuchten Gehirne stammen von Tieren im Alter von 2-5 Jahren (jugendliche Tiere), 5-11 Jahre (junge Erwachsene) und 11-19

Jahre (voll entwickelte Tiere). Bei der Gegenüberstellung aller Fälle dieser Arbeit über SIDS, unabhängig von der Todesursache, finden sich in 23 Regionen des Gehirns von 35 untersuchten Regionen, bei den älteren Kindern signifikant mehr Mikrogliazellen. In keiner Region haben jüngere Kinder signifikant mehr Mikroglia. Damit ist das Ergebnis dieser Fragestellung übereinstimmend mit den Resultaten der früheren Arbeiten, und bestätigt erneut, dass die Mikrogliaanzahl mit zunehmendem Alter steigt.

Um altersunabhängige Mikrogliaanzahlen zu finden, hätte eine Beurteilung in eng umrissenen Altersgruppen eindeutige Ergebnisse erzielt. Dafür wären jedoch sehr hohe Fallzahlen nötig.

### **Mikrogliaanzahl und SIDS / non-SIDS**

Im Vergleich der Gehirne von SIDS-Opfern mit Gehirnen von Kontrollfällen, ist besonders der Nucleus hypoglossus bemerkenswert. Dort finden sich bei den SIDS-Fällen signifikant mehr Mikrogliazellen in gefäßnahen Bereichen. In keiner Region haben die Kontrollen signifikant mehr Mikrogliazellen. Innerviert wird der Kern über den Tractus corticonuclearis durch Willkürimpulse aus der Hirnrinde. Die Innervation entspringt überwiegend der kontralateralen Großhirnhemisphäre. Ausserdem treten Afferenzen aus der Formatio reticularis lateralis der Brücke dazu. Es ist ein somatomotorischer Kern und liegt topographisch am nächsten der Medianebene neben den Nn. oculomotorii. Dem Nucleus hypoglossus entspringt der 12. Hirnnerv und versorgt die einzigen somatischen Muskeln des Kopfes:

- Zungenbinnenmuskulatur
- M. genioglossus und geniohyoideus (Protrudoren der Zunge)
- M. styloglossus und hyoglossus (Retraktoren der Zunge)

Der Kern ist etwa 18 mm lang und 1-2 mm breit [Zenker et al. 1985b]. Er setzt sich aus mehreren Zellgruppen zusammen, die den Vorderhornzellen entsprechen [Zenker et al. 1985c]. Im Unterschied zu den Vorderhornzellen bekommen die Kerne des Hypoglossus aber keine Einflüsse von primärafferenten Fasern. Die Einflüsse sind

erst nach Umschaltung möglich. Somit sind Reflexe immer di- oder polysynaptisch. Die Anteile des Kerns liegen so nah beieinander, dass Dendriten von einem zum anderen ziehen. Unklar ist, ob Neuriten ebenfalls ausgetauscht werden. Dendriten ziehen auch in die nahe gelegene *Formatio reticularis*. Die Axone bündeln sich und ziehen zwischen *Lemniscus medialis* und *inferiorer Olive* zum Austritt in den *Sulcus ventrolateralis*.

Veränderungen des *Nucleus hypoglossus* stehen im Zusammenhang mit einer Nikotinbelastung während des intrauterinen Lebens. Neben anderen Strukturen des Hirnstamms ist der *Nucleus Hypoglossus* bei Kindern von rauchenden Müttern häufiger fehlgebildet [Lavezzi et al. 2005].

Somatostatin wird von der Forschungsgruppe um Lavezzi als ein wichtiger Inhibitor der fetalen Atmung angesehen. Sofort nach Geburt verändert sich die inhibierende Aufgabe des Somatostatins in das Gegenteil, und Somatostatin übernimmt eine wichtige Rolle für die physiologische Atemregulation des Neugeborenen. Ein derartig radikaler Umschwung ist störungsanfällig. Eine unscheinbare funktionelle Abweichungen des *Nucleus hypoglossus* könnte bei SIDS und bei ungeklärten intrauterinen Todesfällen zu Grunde liegen. Eine derartige Anomalie im Bereich des *Nucleus hypoglossus* würde zu unerwünschten und folgenreichen Atembewegungen des Fetus beitragen, und im späteren Leben eine abnorme Atemregulation beim Säugling verursachen, die in irreversibler Apnoe endet [Lavezzi et al. 2004].

In Umständen der Anoxie reagieren Neugeborene *in vivo* mit der Erhöhung der Aktivität des *Nervus phrenicus*, und damit gekoppelt auch des *Nervus hypoglossus*, um eine lebensrettende Hyperventilation zu erreichen. Von den *Nervus hypoglossus* Fasern werden je nach Anstieg der Hypoxie mehr Fasern aktiviert und schneller zu maximaler Aktivität gesteigert [Hwang et al. 1983]. Der aus dem *Hypoglossuskern* stammende Hirnnerv scheint eine atemwegsstabilisierende Funktion zu haben. Bei Hunden bringt die Stimulation eine Versteifung der oberen Atemwege und damit eine Abnahme des Atemwegswiderstandes. Lädert erhält der Nerv die Muskelspannung nicht, die oberen Atemwege kollabieren, und der Atemwegswiderstand nimmt beträchtlich zu [Oliven et al. 1996].

Die hohe Mikrogliaanzahl im Nucleus hypoglossus bei den SIDS-Opfern lässt Interpretationen in mehrere Richtungen zu. Zum Beispiel könnte eine Läsion die Funktion des Hirnnervenkerns ursprünglich beeinträchtigen. Mikrogliazellen kommen hinzu, um ihre Aufgaben an der ZNS-Läsion wahrzunehmen. Die Funktion des Kerns nimmt aufgrund der vorher bestehenden Läsion weiter ab, die Atemwege erschlaffen. Völlig kollabierte Atemwege führten zum Ereignis des Exitus. Andererseits könnte die durch Läsion beeinträchtigte Funktion auch erst im Zusammenspiel mit Mikroglia durch deren oben genannten neurotoxischen Eigenschaften ein genügend großes Ausmaß annehmen, um letal zu wirken. Im Gewebe ist auch dann bei der Untersuchung eine hohe Zahl an Mikrogliazellen im Bereich des Hypoglossuskerns zu finden.

Eine andere Hypothese hat die Hyperexzitation des Hypoglossuskerns zur Grundlage. Eine Hypoxämie, die sehr verschiedene Hintergründe beim Säugling haben kann, stimuliert das Atemzentrum zu mehr Ventilation. Um den Luftfluß noch weiter zu steigern, muss der Luftwiderstand gesenkt werden. Für die Versteifung der Atemwege wird der Hypoglossuskern in höchsten Maße stimuliert, und in dem besonderen Fall des SIDS, überstrapaziert. Ein Zellschaden entsteht. Auch in diesem Fall zeigt sich eine Zunahme der Mikrogliaanzahl in der Region als Marker für Zellschädigung.

Bei der Betrachtung von Mikroglia fallen die sehr zahlreichen Wege auf, die einheitlich zu einer Mikrogliaaktivierung führen. So gibt es auch Hinweise darauf, dass unterschiedliche Ebenen der Aktivierung möglich sind. Auch die mannigfaltigen Reaktionen der Mikrogliazellen auf Stimulation sind auffallend. Eine unspezifische Reaktion wie die Zunahme der Population ist nicht aussagekräftig über einen fehlerhaft abgelaufenen Prozess. Jedoch können die hohen Mikrogliazellzahlen in der Region des Nucleus hypoglossus als Hinweis auf eine pathologische Situation in der Struktur gewertet werden. Bei den Opfern des plötzlichen Kindstodes ist es möglich, dass die Neurone des Nucleus hypoglossus nicht völlig gesund waren und normal funktionierten. Uneingeschränkt gesunde Neurone hätten wahrscheinlich die Aktivierung der Mikrogliazellen inhibiert, und die Populationszunahme wäre nicht entfesselt worden.

## 5. Literaturverzeichnis

Aloisi F (2001) Immune function of microglia. *Glia* 36(2): 165-179

Aloisi F, Ria F, Adorini L (2000) Regulation of T-cell responses by CNS antigen-presenting cells: different roles for microglia and astrocytes. *Immunol Today* 21: 141-147

Ansari T, Gillan JE, Condell D, Green CJ, Sibbons PD (2004) Analyses of the potential oxygen transfer capability in placentae from infants succumbing to sudden infant death syndrome. *Early Hum Dev* 76(2): 127-138

Banati RB (2002) Brain plasticity and microglia: is transsynaptic glial activation in the thalamus after limb denervation linked to cortical plasticity and central sensitisation? *J Physiol Paris* 96(3-4): 289-299

Banati RB, Egensperger R, Maassen A, Hager G, Kreutzberg GW, Graeber MB (2004) Mitochondria in activated microglia in vitro. *J Neurocytol* 33(5): 535-541

Bard H, Cote A, Praud JP, Infante-Rivard C, Gagnon C (2003) Fetal hemoglobin synthesis determined by gamma-mRNA/gamma-mRNA + beta-mRNA quantitation in infants at risk for sudden infant death syndrome being monitored at home for apnea. *Pediatrics* 112(4): 285

Becher B, Antel JP (1996) Comparison of phenotypic and functional properties of immediately ex vivo and cultured human adult microglia. *Glia* 18: 1-10

Beckwith JB (2003) Defining the sudden infant death syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med* 157(3): 286-290

Biondo B, Magagnin S, Bruni B, Cazzullo A, Tosi D, Maturri L (2004) Glial and neuronal alterations in the nucleus tractus solitarii of sudden infant death syndrome victims. *Acta Neuropathol (Berl)* 108: 309-318

Boucsein C, Kettenmann H, Nolte C (2000) Electrophysiological properties of microglial cells in normal and pathologic rat brain slices. *Eur J Neurosci* 12(6): 2049-2058

Boya J, Carbonell A L, Calvo J, Borregon A (1987) Ultrastructural study on the origin of rat microglia cells. *Acta Anat (Basel)* 130: 329-335

Campbell RD, Dunham I, Kendall E, Sargent CA (1990) Polymorphism of the human complement component C4. *Exp Clin Immunogenet* 7: 69 -84

Carson MJ (2002) Microglia as liaisons between the immune and central nervous systems: functional implications for multiple sclerosis. *Glia* 40: 218-231

Chan A, Magnus T, Gold R (2001) Phagocytosis of apoptotic inflammatory cells by microglia and modulation by different cytokines: mechanism for removal of apoptotic cells in the inflamed nervous system. *Glia* 33(1): 87-95



- Chang RC, Chen W, Hudson P, Wilson B, Han DS, Hong JS (2001) Neurons reduce glial responses to lipopolysaccharide (LPS) and prevent injury of microglial cells from over-activation by LPS. *J Neurochem* 76(4): 1042-1049
- Dales R, Burnett RT, Smith-Doiron M, Stieb DM, Brook JR (2004) Air pollution and sudden infant death syndrome. *Pediatrics* 113(6): 628-31
- Delgado R, Carlin A, Airaghi L, Demitri MT, Meda L, Galimberti D, Baron P, Lipton JM, Catania A (1998) Melanocortin peptides inhibit production of proinflammatory cytokines and nitric oxide by activated microglia. *J Leukoc Biol* 63: 740-745
- Dettmeyer R, Baasner A, Schlamann M, Padosch SA, Haag C, Kandolf R, Madea B (2004) Role of virus-induced myocardial affections in sudden infant death syndrome: a prospective postmortem study. *Pediatr Res* 55(6): 947-952
- DiFranza JR, Aligne CA, Weitzman M (2004) Prenatal and postnatal environmental tobacco smoke exposure and children's health. *Pediatrics* 113(4): 1007-1015
- Ehrlich LC, Hu S, Sheng WS, Sutton RL, Rockswold GL, Peterson PK, Chao CC (1998) Cytokine regulation of human microglial cell IL-8 production. *J Immunol* 160(4): 1944-1948
- Esiri MM, al Izzi MS, Reading MC (1991) Macrophages, microglial cells, and HLA-DR antigens in fetal and infant brain. *J Clin Pathol* 44(2): 102-106
- Filiano JJ, Kinney HC (1992) Arcuate nucleus hypoplasia in the sudden infant death syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 51(4): 394-403
- Findeisen M, Vennemann M, Brinkmann B, Ortmann C, Rose I, Kopcke W, Jorch G, Bajanowski T (2004) German study on sudden infant death (GeSID): design, epidemiological and pathological profile. *Int J Legal Med* 118(3): 163-169
- Finsen BR, Jorgensen MB, Diemer NH, Zimmer J (1993) Microglial MHC antigen expression after ischemic and kainic acid lesions of the adult rat hippocampus. *Glia* 7(1): 41-49
- Flavin MP, Coughlin K, Ho LT (1997) Soluble macrophage factors trigger apoptosis in cultured hippocampal neurons. *Neuroscience* 80(2): 437-448
- Ford AL, Foulcher E, Lemckert FA, Sedgwick JD (1996) Microglia induce CD4 T lymphocyte final effector function and death. *J Exp Med* 184: 1737-1745
- Franco P, Seret N, Van Hees JN, Scaillet S, Vermeulen F, Groswasser J, Kahn A (2004) Decreased arousals among healthy infants after short-term sleep deprivation. *Pediatrics* 114(2): 192-197
- Frei K, Siepl C, Groscurth P, Bodmer S, Fontana A (1988) Immunobiology of microglial cells. *Ann N Y Acad Sci* 540: 218-227

- Giulian D, Li J, Leara B, Keenen C (1994) Phagocytic microglia release cytokines and cytotoxins that regulate the survival of astrocytes and neurons in culture. *Neurochem Int* 25(3): 227-233
- Giulian D, Vaca K, Johnson B (1988) Secreted peptides as regulators of neuron-glia and glia-glia interactions in the developing nervous system. *J Neurosci Res* 21(2-4): 487-500
- Giulian D, Young DG, Woodward J, Brown DC, Lachman LB (1988) Interleukin-1 is an astroglial growth factor in the developing brain. *J Neurosci* 8(2): 709-714
- Gold Y, Goldberg A, Sivan Y (2000) Hyper-releasability of mast cells in family members of infants with sudden infant death syndrome and apparent life-threatening events. *J Pediatr* 136(4): 460-465
- Graeber MB, Streit WJ, Kreutzberg GW (1988a) The microglial cytoskeleton: vimentin is localized within activated cells in situ. *J Neurocytol* 17(4): 573-580
- Graeber MB, Streit WJ, Kreutzberg GW (1988b) Axotomy of the rat facial nerve leads to increased CR3 complement receptor expression by activated microglial cells. *J Neurosci Res* 21(1): 18-24
- Grasberger H, Bell GI (2005) Subcellular recruitment by TSG118 and TSPYL implicates a role for zinc finger protein 106 in a novel developmental pathway. *Int J Biochem Cell Biol* 37(7): 1421-1437
- Guyer B, Hoyert DL, Martin JA, Ventura SJ, MacDorman MF, Strobino DM (1999) Annual summary of vital statistics-1998. *Pediatrics* 104(6): 1229-1246
- Hafstrom O, Milerad J, Asokan N, Poole SD, Sundell HW (2000) Nicotine delays arousal during hypoxemia in lambs. *Pediatr Res* 47(5): 646-652
- Hailer NP, Heppner FL, Haas D, Nitsch R (1997) Fluorescent dye prelabelled microglial cells migrate into organotypic hippocampal slice cultures and ramify. *Eur J Neurosci* 9(4): 863-866
- Hailer NP, Jarhult JD, Nitsch R (1996) Resting microglial cells in vitro: analysis of morphology and adhesion molecule expression in organotypic hippocampal slice cultures. *Glia* 18(4): 319-331
- Harper RM, Kinney HC, Fleming PJ, Thach BT (2000) Sleep influences on homeostatic functions: implications for sudden infant death syndrome. *Respir Physiol* 119: 123-132
- Harrison JK, Jiang Y, Chen S, Xia Y, Maciejewski D, McNamara RK, Streit WJ, Salafranca MN, Adhikari S, Thompson DA, Botti P, Bacon KB, Feng L (1998) Role for neuronally derived fractalkine in mediating interactions between neurons and CX3CR1-expressing microglia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(18): 10896-10901

- Heininger U, Kleemann WJ, Cherry JD (2004) A controlled study of the relationship between *Bordetella pertussis* infections and sudden unexpected deaths among German infants. *Pediatrics* 114(1): 9-15
- Hickey WF, Kimura H (1988) Perivascular microglial cells of the CNS are bone marrow-derived and present antigen in vivo. *Science* 239(4837): 290-292
- Hoek RM, Ruuls SR, Murphy CA, Wright GJ, Goddard R, Zurawski SM, Blom B, Homola ME, Streit WJ, Brown MH, Barclay AN, Sedgwick JD (2000) Down-regulation of the macrophage lineage through interaction with OX2 (CD200). *Science* 290: 1768-1771
- Horikoshi Y, Sasaki A, Taguchi N, Maeda M, Tsukagoshi H, Sato K, Yamaguchi H (2002) Human GLUT5 immunolabeling is useful for evaluating microglial status in neuropathological study using paraffin sections. *Acta Neuropathol (Berl)* 105(2): 157-162
- Hunt CE (1996) Prone sleeping in healthy infants and victims of sudden infant death syndrome. *J Pediatr* 128(5 Pt 1): 594-596
- Hwang JC, Bartlett D Jr, St John WM (1983) Characterization of respiratory-modulated activities of hypoglossal motoneurons. *J Appl Physiol* 55(3): 793-798
- Kaneko Y, Kitamoto T, Tateishi J, Yamaguchi K (1989) Ferritin immunohistochemistry as a marker for microglia. *Acta Neuropathol (Berl)* 79(2): 129-136
- Kassiou M, Meikle SR, Banati RB (2005) Ligands for peripheral benzodiazepine binding sites in glial cells. *Brain Res Brain Res Rev* 48(2): 207-210
- Kato H, Kogure K, Araki T, Itoyama Y (1995) Graded expression of immunomolecules on activated microglia in the hippocampus following ischemia in a rat model of ischemic tolerance. *Brain Res* 694(1-2): 85-93
- Kato H, Takahashi A, Itoyama Y (2003) Cell cycle protein expression in proliferating microglia and astrocytes following transient global cerebral ischemia in the rat. *Brain Res Bull* 60(3): 215-221
- Kaur C, Hao AJ, Wu CH, Ling EA (2001) Origin of microglia. *Microsc Res Tech* 54(1): 2-9
- Kawahara K, Mori M, Nakayama H (2004) NO-induced apoptosis and ER stress in microglia. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 124(6): 399-406
- Kettenmann H, Banati R, Walz W (1993) Electrophysiological behavior of microglia. *Glia* 20(2): 177-178
- Kim WK, Kan Y, Ganea D, Hart RP, Gozes I, Jonakait GM (2000) Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide inhibit tumor

necrosis factor-alpha production in injured spinal cord and in activated microglia via a cAMP dependent pathway. *J Neurosci* 20: 3622-3630

Kim YH, Park JH, Hong SH, Koh JY (1999) Nonproteolytic neuroprotection by human recombinant tissue plasminogen activator. *Science* 284(5414): 647-650

Kinney HC, Filiano JJ, White WF (2001) Medullary serotonergic network deficiency in the sudden infant death syndrome: review of a 15-year study of a single dataset. *J Neuropathol Exp Neurol* 60: 228-247

Kinney HC, McHugh T, Miller K, Belliveau RA, Assmann SF (2002) Subtle developmental abnormalities in the inferior olive: an indicator of prenatal brainstem injury in the sudden infant death syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 61: 427-441

Kitamura T, Miyake T, Fujita S (1984) Genesis of resting microglia in the gray matter of mouse hippocampus. *J Comp Neurol* 226: 421-433

Klonoff-Cohen H, Lam PK, Lewis A (2005) Outdoor carbon monoxide, nitrogen dioxide, and sudden infant death syndrome. *Arch Dis Child* 90(7): 750-753

Kreutzberg GW (1996) Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci* 19(8): 312-318

Krous HF, Beckwith JB, Byard RW, Rognum TO, Bajanowski T, Corey T, Cutz E, Hanzlick R, Keens TG, Mitchell EA (2004) Sudden infant death syndrome and unclassified sudden infant deaths: a definitional and diagnostic approach. *Pediatrics* 114(1): 234-238

Ladeby R, Wirefeldt M, Dalmau I, Gregersen R, Garcia-Ovejero D, Babcock A, Owens T, Finsen B (2005) Proliferating resident microglia express the stem cell antigen CD34 in response to acute neural injury. *Glia* 50(2): 121-131

Larsen TH, Feller AC (1996) Pre- and post-embedding immunoelectron microscopy of Ki-M1P immunoreactive germinal center macrophages using ultra-small gold probes with silver enhancement. *Histochem Cell Biol* 105(3): 231-238

Lavezzi AM, Ottaviani G, Maturri L (2004) Involvement of somatostatin in breathing control before and after birth, and in perinatal and infant sudden unexplained death. *Folia Neuropathol* 42(2): 59-65

Lavezzi AM, Ottaviani G, Maturri L (2005) Adverse effects of prenatal tobacco smoke exposure on biological parameters of the developing brainstem. *Neurobiol Dis* : Epub ahead of print May 27

Lewis KW, Bosque EM (1995) Deficient hypoxia awakening response in infants of smoking mothers: possible relationship to sudden infant death syndrome. *J Pediatr* 127(5): 691-699

Ling EA (1981) Ultrastructure and peroxidase cytochemistry of macrophages present in the retina of postnatal rats. *Arch Histol Jpn* 44: 167-176

- Liu X, Fan XL, Zhao Y, Luo GR, Li XP, Li R, Le WD (2005) Estrogen provides neuroprotection against activated microglia-induced dopaminergic neuronal injury through both estrogen receptor-alpha and estrogen receptor-beta in microglia. *J Neurosci Res* : Epub ahead of print Jul 12
- Machaalani R, Waters KA, Tinworth KD (2005) Effects of postnatal nicotine exposure on apoptotic markers in the developing piglet brain. *Neuroscience* 132(2): 325-333
- Malloy M H, MacDorman M (2005) Changes in the Classification of Sudden Unexpected Infant Deaths: United States, 1992-2001. *Pediatrics* 115(5): 1247-1253
- Matsumoto Y, Fujiwara M (1987) Absence of donor-type major histocompatibility complex class I antigen-bearing microglia in the rat central nervous system of radiation bone marrow chimeras. *J Neuroimmunol* 17(1): 71-82
- Matturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM (2005a) Sudden infant death triggered by dive reflex. *J Clin Pathol* 58: 77-80
- Matturri L, Ottaviani G, Lavezzi AM (2005b) Unexpected sudden death related to medullary brain lesions. *Acta Neuropathol (Berl)* 109(5): 554-555
- McGeer PL, Kawamata T, Walker DG, Akiyama H, Tooyama I, McGeer EG (1993) Microglia in degenerative neurological disease. *Glia* 7(1): 84-92
- McKee M, Fulop N, Bouvier P, Hort A, Brand H, Rasmussen F, Kohler L, Varasovszky Z, Rosdahl N (1996) Preventing sudden infant deaths-the slow diffusion of an idea. *Health Policy* 37(2): 117-135
- Moran LB, Duke DC, Turkheimer FE, Banati RB, Graeber MB (2004) Towards a transcriptome definition of microglial cells. *Neurogenetics* 5(2): 95-108
- Morioka T, Kalehua AN, Streit WJ (1991) The microglial reaction in the rat dorsal hippocampus following transient forebrain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 11(6): 966-973
- Morioka T, Streit WJ (1991) Expression of immunomolecules on microglial cells following neonatal sciatic nerve axotomy. *J Neuroimmunol* 35(1-3): 21-30
- Mouton PR, Long JM, Lei DL, Howard V, Jucker M, Calhoun ME, Ingram DK (2002) Age and gender effects on microglia and astrocyte numbers in brains of mice. *Brain Res* 956(1): 30-35
- Naeye RL (1976) Brain-stem and adrenal abnormalities in the sudden-infant-death syndrome. *Am J Clin Pathol* 66(3): 526-530
- Naeye RL, Fisher R, Ryser M, Whalen P (1976a) Carotid body in the sudden infant death syndrome. *Science* 191(4227): 567-569

- Naeye RL, Olsson JM, Combs JW (1989) New brain stem and bone marrow abnormalities in victims of sudden infant death syndrome. *J Perinatol* 9(2): 180-183
- Naeye RL, Whalen P, Ryser M, Fisher R (1976b) Cardiac and other abnormalities in the sudden infant death syndrome. *Am J Pathol* 82(01): 1-8
- Nagler J (2002) Sudden infant death syndrome. *Curr Opin Pediatr* 14: 247-250
- Neumann H (2001) Control of glial immune function by neurons. *Glia* 36(2): 191-199
- Neumann H, Misgeld T, Matsumuro K, Wekerle H (1998) Neurotrophins inhibit major histocompatibility class II inducibility of microglia: involvement of the p75 neurotrophin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 5779-5784
- Norenberg W, Gebicke-Haerter PJ, Illes P (1994) Voltage-dependent potassium channels in activated rat microglia. *J Physiol* 475(1): 15-32
- Obonai T, Takashima S (1998) In utero brain lesions in SIDS. *Pediatr Neurol.* 19(1): 23-25
- Oliven A, Odeh M, Schnall RP (1996) Improved upper airway patency elicited by electrical stimulation of the hypoglossus nerves. *Respiration* 63(4): 213-216
- Opdal SH, Rognum TO (2004) The sudden infant death syndrome gene: does it exist? *Pediatrics* 114(4): 506-512
- Opdal SH, Rognum TO, Torgersen H, Vege A (1999) Mitochondrial DNA point mutations detected in four cases of sudden infant death syndrome. *Acta Paediatr* 88(9): 957-960
- Opdal SH, Vege Å, Egeland T, Musse MA, Rognum TO (2002) Possible role of mtDNA mutations in sudden infant death. *Pediatr Neurol* 27(1): 23-29
- Oyen N, Skjaerven R, Irgens LM (1996) Population-based recurrence risk of sudden infant death syndrome compared with other infant and fetal deaths. *Am J Epidemiol* 144: 300-305
- Ozawa Y, Takashima S (2002) Developmental neurotransmitter pathology in the brainstem of sudden infant death syndrome: a review and sleep position. *Forensic Sci Int.* 130: 53-9
- Panigrahy A, Filiano J, Sleeper LA, Mandell F, Valdes-Dapena M, Krous HF, Rava LA, Foley E, White WF, Kinney HC (2000) Decreased serotonergic receptor binding in rhombic lip-derived regions of the Medulla oblongata in the sudden infant death syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 59(5): 377-384
- Panigrahy A, Filiano JJ, Sleeper LA, Mandell F, Valdes-Depena M, Krous HF, Rava LA, White WF, Kinney HC (1997) Decreased kainate receptor binding in the arcuate nucleus of the sudden infant death syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 56(11): 1253-1261

- Paulus W, Roggendorf W, Kirchner T (1992) Ki-M1P as a marker for microglia and brain macrophages in routinely processed human tissues. *Acta Neuropathol (Berl)*. 84(5): 538-44
- Prechtl HF (1986) New perspectives in early human development. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 21(5-6): 347-355
- Prechtl HF, Hopkins B (1986) Developmental transformations of spontaneous movements in early infancy. *Early Hum Dev* 14(3-4): 233-238
- Prinz M, Hanisch UK (1999) Murine microglial cells produce and respond to interleukin-18. *J Neurochem* 72(5): 2215-2218
- Puffenberger EG, Hu-Lince D, Parod JM, Craig DW, Dobrin SE, Conway AR, Donarum EA, Strauss KA, Dunckley T, Cardenas JF, Melmed KR, Wright CA, Liang W, Stafford P, Flynn CR, Morton DH, Stephan DA (2004) Mapping of sudden infant death with dysgenesis of the testes syndrome (SIDDT) by a SNP genome scan and identification of TSPYL loss of function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(32): 11689-11694
- Ransohoff RM (1999) Mechanisms of inflammation in MS tissue: adhesion molecules and chemokines. *J Neuroimmunol* 98: 57-68
- Richardson DB, Wing S, Lorey F, Hertz-Picciotto I (2004) Adult hemoglobin levels at birth and risk of sudden infant death syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med* 158(4): 366-371
- Rinaman L, Card JP, Enquist LW (1993) Spatiotemporal responses of astrocytes, ramified microglia, and brain macrophages to central neuronal infection with pseudorabies virus. *J Neurosci* 13(2): 685-702
- Rogove AD, Lu W, Tsirka SE (2002) Microglial activation and recruitment, but not proliferation, suffice to mediate neurodegeneration. *Cell Death Differ* 9(8): 801-816
- Rogove AD, Siao C, Keyt B, Strickland S, Tsirka SE (1999) Activation of microglia reveals a non-proteolytic cytokine function for tissue plasminogen activator in the central nervous system. *J Cell Sci* 112( Pt 22): 4007-4016
- Rogove AD, Tsirka SE (1998) Neurotoxic responses by microglia elicited by excitotoxic injury in the mouse hippocampus. *Curr Biol* 8(1): 19-25
- Rudolph P, Schubert C, Zelger BG, Zelger B, Parwaresch R (1999) Differential expression of CD34 and Ki-M1p in pleomorphic fibroma and dermatofibroma with monster cells. *Am J Dermatopathol* 21(5): 414-419
- Sahni R, Schulze KF, Kashyap S, Ohira-Kist K, Fifer WP, Myers MM (2005) Sleeping position and electrocortical activity in low birth weight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 90(4): 311-315

- Sawaguchi T, Franco P, Kato I, Shimizu S, Kadhim H, Groswasser J, Sottiaux M, Togari H, Kobayashi M, Takashima S, Nishida H, Sawaguchi A, Kahn A (2002) Association between sleep apnea and reactive astrocytes in brainstems of victims of SIDS and in control infants. *Forensic Sci Int* 130: 30-36
- Sawaguchi T, Patricia F, Kadhim H, Groswasser J, Sottiaux M, Nishida H, Kahn A (2003a) Clinicopathological correlation between brainstem gliosis using GFAP as a marker and sleep apnea in the sudden infant death syndrome. *Early Hum Dev* 75: 3-11
- Sawaguchi T, Patricia F, Kadhim H, Groswasser J, Sottiaux M, Nishida H, Kahn A (2003b) The correlation between serotonergic neurons in the brainstem and sleep apnea in SIDS victims. *Early Hum Dev* 75: 31-40
- Schellscheidt J, Ott A (1996) The BMBF "Sudden Infant Death" Study of the Munster University. A project report. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 31(10): 661-662
- Schellscheidt, J, Ott, A, Jorch, G (1997) Epidemiological features of sudden infant death after a German intervention campaign in 1992. *Eur J Pediatr* 156: 655-60
- Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Segantini A, Austoni P, Bosi G, Giorgetti R, Grancini F, Marni ED, Perticone F, Rosti D, Salice P (1998) Prolongation of the QT interval and the sudden infant death syndrome. *N Engl J Med* 338: 1709-1714
- Sheffield LG, Berman NE (1998) Microglial expression of MHC class II increases in normal aging of nonhuman primates. *Neurobiol Aging* 19(1): 47-55
- Skinner JR (2005) Is there a relation between SIDS and long QT syndrome? *Arch Dis Child* 90: 445-449
- Smith GC, Wood AM, Pell JP, White IR, Crossley JA, Dobbie R (2004) Second-trimester maternal serum levels of alpha-fetoprotein and the subsequent risk of sudden infant death syndrome. *N Engl J Med* 351(10): 978-986
- Staines D (2005) Are vasoactive neuropeptide autoimmune fatigue-related disorders mediated via G protein-coupled receptors? *Med Hypotheses* 65(1): 29-31
- Stence N, Waite M, Dailey ME (2001) Dynamics of microglial activation: a confocal time-lapse analysis in hippocampal slices. *Glia* 33(3): 256-266
- Streit WJ (2001) Microglia and macrophages in the developing CNS. *Neurotoxicology* 22(5): 2619-2624
- Streit WJ (2000) Microglial response to brain injury: a brief synopsis. *Toxicol Pathol* 28: 28-30
- Streit WJ, Walter SA, Pennell NA (1999) Reactive microgliosis. *Prog Neurobiol* 57(6): 563-581



- Summers AM, Summers CW, Drucker DB, Hajeer AH, Barson A, Hutchinson IV (2000) Association of IL-10 genotype with sudden infant death syndrome. *Hum Immunol* 61: 1270-1273
- Suzumura A, Sawada M, Yamamoto H, Marunouchi T (1990) Effects of colony stimulating factors on isolated microglia in vitro. *J Neuroimmunol* 30(2-3): 111-120
- Suzumura A, Silberberg DH (1988) MHC antigen expression on glial cells. *Ann N Y Acad Sci* 540: 495-497
- Teismann P, Schulz JB (2004) Cellular pathology of Parkinson's disease: astrocytes, microglia and inflammation. *Cell Tissue Res* 318(1): 149-461
- Thomas WE (1992) Brain macrophages: evaluation of microglia and their functions. *Brain Res Brain Res Rev* 17(1): 61-74
- Tolcos M, Mallard C, McGregor H, Walker D, Rees S (2000a) Exposure to prenatal carbon monoxide and postnatal hyperthermia: short and long-term effects on neurochemicals and neuroglia in the developing brain. *Exp Neurol* 162: 235-246
- Tolcos M, McGregor H, Walker D, Rees S (2000b) Chronic prenatal exposure to carbon monoxide results in a reduction in tyrosine hydroxylase-immunoreactivity and an increase in choline acetyltransferase-immunoreactivity in the fetal medulla: implications for Sudden Infant Death Syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 59(3): 218-228
- Tuffnell CS, Petersen SA, Wailoo MP (1995) Prone sleeping infants have a reduced ability to lose heat. *Early Hum Dev* 43(2): 109-116
- Ulvestad E, Williams K, Mork S, Antel J, Nyland H (1994) Phenotypic differences between human monocytes/macrophages and microglial cells studied in situ and in vitro. *J Neuropathol Exp Neurol* 53(5): 492-501
- Valdes-Dapena M (1992) The sudden infant death syndrome: pathologic findings. *Clin Perinatol.* 19(4): 701-716
- Vege Å, Rognum TO (1999) Inflammatory responses in sudden infant death syndrome: past and present views. *FEMS Immunol Med Microbiol* 25(1-2): 67-78
- Vilhardt F (2005) Microglia: phagocyte and glia cell. *Int J Biochem Cell Biol* 37(1): 17-21
- Voss LJ, Bolton DPG, Galland BC, Taylor BJ (2005) Effects of prior hypoxia exposure, endotoxin and sleep state on arousal ability to airway obstruction in piglets: implications for sudden infant death syndrome. *Biol Neonate* 88(3): 145-155
- Wacker HH, Hansmann ML, Lumbeck H, Radzun HJ, Parwaresch MR (1990) A new pan-macrophage antibody Ki-M1P stains plasmacytoid cells in paraffin sections of lymph nodes. *Verh Dtsch Ges Pathol* 74: 159-64

- Walker DG, Lue LF (2005) Investigations with cultured human microglia on pathogenic mechanisms of Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. *J Neurosci Res*. Published Online First: June 14, 2005
- Watters JJ, Schartner JM, Badie B (2005) Microglia function in brain tumors. *J Neurosci Res*. Published Online First: June 15, 2005
- Weese-Mayer DE, Berry-Kravis EM, Zhou L, Maher BS, Curran ME, Silvestri JM, Marazita ML (2004) Sudden infant death syndrome: case-control frequency differences at genes pertinent to early autonomic nervous system embryologic development. *Pediatr Res* 56(3): 391-395
- Weinstein DL, Walker DG, Akiyama H, McGeer PL (1990) Herpes simplex virus type I infection of the CNS induces major histocompatibility complex antigen expression on rat microglia. *J Neurosci Res* 26(1): 55-65
- Wierzba-Bobrowicz T, Lewandowska E, Lechowicz W, Stepień T, Pasennik E (2005) Quantitative analysis of activated microglia, ramified and damage of processes in the frontal and temporal lobes of chronic schizophrenics. *Folia Neuropathol* 43(2): 81-89
- Willinger M, James LS, Catz C (1991) 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* 11: 677-684
- Wright GJ, Cherwinski H, Foster-Cuevas M, Brooke G, Puklavec MJ, Bigler M, Song Y, Jenmalm M, Gorman D, McClanahan T, Liu MR, Brown MH, Sedgwick JD, Phillips JH, Barclay AN (2003) Characterization of the CD200 receptor family in mice and humans and their interactions with CD200. *J Immunol* 171(6): 3034-3046
- Yokota I, Indo Y, Coates PM, Tanaka K (1990) Molecular basis of medium chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: an A to G transition at position 985 that causes a lysine-304 to glutamate substitution in the mature protein is the single prevalent mutation. *J Clin Invest* 86: 1000-1003
- Zenker W, Akert K, Firbas W, Fritsch PO, Gruber H, Mayr R, Neuhuber W, Petsche H, Rager G (1985a) Die Gliazellen. In: Fleischhauer K, Staubesand J, Zenker W (Hrsg) Benninghoff Anatomie Makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen. Urban & Schwarzenberg, München Wien Baltimore, Bd 3, 14. Aufl. S 41
- Zenker W, Akert K, Firbas W, Fritsch PO, Gruber H, Mayr R, Neuhuber W, Petsche H, Rager G (1985b) Kerne und Faserverbindungen der Hirnnervenkerne. In: Fleischhauer K, Staubesand J, Zenker W (Hrsg) Benninghoff Anatomie Makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen. Urban & Schwarzenberg, München Wien Baltimore, Bd 3, 14. Aufl. S 277
- Zenker W, Akert K, Firbas W, Fritsch PO, Gruber H, Mayr R, Neuhuber W, Petsche H, Rager G (1985c) Übersicht der Hirnnerven, ihrer Kernsäulen und Faserkomponenten. In: Fleischhauer K, Staubesand J, Zenker W (Hrsg) Benninghoff Anatomie Makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen. Urban & Schwarzenberg, München Wien Baltimore, Bd 3, 14. Aufl. S 254

Zhang C, Lam TT, Tso MO (2005) Heterogeneous populations of microglia / macrophages in the retina and their activation after retinal ischemia and reperfusion injury. *Exp Eye Res.* Published Online First: Jun 17, 2005

## 6. Lebenslauf

*Vorname, Name:* Laima Petrick  
*Geburtsdatum:* 19. September 1977 (Kiel)  
*Nationalität:* Deutsch / litauisch  
*Familienstand:* verheiratet  
*Religion:* röm. Katholisch  
*Eltern:* Aldona Petrick (Pädiaterin)  
 Helmut Petrick (Meeresbiologe)

### Schulbildung

**Gymnasium am Treckfahrtstief** von 08.1990 bis 08.1992 Emden, Deutschland

**Albert Schweitzer musikisches Gymnasium** von 08.1992 bis 06.1997 Hamburg, Deutschland

**Feldstedtschool;** Boardingschool (Internat) 1 term von 08.1994 bis 12.1994 Feldstedt, Vereinigtes Königreich

### Universitätsausbildung

Universität Hamburg, Deutschland von: 10.1997 bis: 3.2004

Universidad de Málaga, Spanien von: 10.2001 bis: 9.2003

Universität Münster, Deutschland von: 04.2004 bis: 05.2005

### Praktisches Jahr

Hospital Universitario Málaga, Spanien von: 29.11.04 bis: 20.03.05  
Tertial Chirurgie

St. Clemenshospital Münster, Deutschland von: 09.08.04 bis: 28.11.04  
Tertial Innere Medizin

Universität Münster, Deutschland von: 19.04.04 bis: 08.08.04  
Wahlfach Pädiatrie

### Famulaturen

Hospital Universitario Málaga, Spanien von: 15.07.03 bis: 15.10.03  
Ophthalmologie

Clinica Nuestra Señora del Pilar, Spanien von: 01.07.02 bis: 31.08.02  
Abteilung für Orthopädische- und Allgemeinchirurgie

Heart Surgery Clinic of Vilnius University, Litauen von: 01.08.01 bis: 01.09.01  
Herzchirurgie

Allgemeines Krankenhaus Barmbek, Deutschland von: 18.09.00 bis: 01.10.00  
Pathologischen Abteilung

Allgemeines Krankenhaus St. Georg, Deutschland von: 01.08.00 bis: 30.08.00  
Innere Medizin

## 7. Danksagung

Für den erfolgreichen Abschluss der vorliegenden Arbeit schulde ich vielen Menschen meinen herzlichen Dank. Univ.-Prof. Dr. med. Werner Paulus danke ich für die Vorgabe des Themas. PD Dr. med. Christian Rickert möchte ich grössten Dank aussprechen für die unübertreffliche Betreuung.

Ein besonderes Dankeswort gilt auch Maria Leiß, Andrea Esser und Lisa Raestrup aus dem Labor. Nicht nur technischen Beistand und fachlichen Rat verdanke ich Dr. rer. nat. Volker Senner, Astrid Jeibmann, Sven Heskamp, Vinzenz Dinh, Ralf Mersmann und Oliver Ambree. Sie machten die Neuropathologie zu einem sympathischen Ort der Arbeit, selbst zu später Stunde.

Großen Dank schulde ich vor allem Dipl-Inf Martin Alt und Sarah Bergner.

Danken möchte ich auch für die Unterstützung meines Mannes, Elkin Fricke. Er hat mich bestärkt und den Rücken freigehalten, damit ich mich ganz auf meine wissenschaftliche Arbeit konzentrieren konnte. Und „danke für alles“ meiner wunderbaren Schwester Ruta Petrick.

Aciu gamtai! Auch meinen Eltern Aldona und Helmut Petrick danke ich an dieser Stelle und widme diese Arbeit meiner lieben Mutter, einer sehr humanen und klugen Ärztin, meinem großen Vorbild.

## Anhang I: Studienpopulation

Studien-Nr.	Leichenöffnungs Nr. LÖP	Sektions Nr.	Lfd. Nr.	Alter G	Todesursache	Himgewicht Auffinde- lage (form.fix)	Tag des		Tag der		PMI	
							Todes	Uhrzeit	Obduktion	Uhrzeit	H	M
AA 0069 S	153 / 99	228 / 99	1	24m	SIDS	608	18.04.99	13:50	20.04.99	08:30	42 : 40	
AA 0040 S	80 / 99	223 / 99	2	32m	SIDS	475	25.02.99	09:00	26.02.99	08:30	23 : 30	
HH 0027 S	124 / 99	222 / 99	3	41w	SIDS	655	26.01.99	12:00	29.01.99	12:00	72	
MS 0012 S	400 / 98	127 / 99	4	59m	SIDS	580	21.12.98	11:00	22.12.98	09:00	21	
MS 0110 S	247 / 99	233 / 99	5	73m	SIDS	654	10.07.99	09:30	13.07.99	11:00	73 : 30	
HN 0036 S	83 / 99	79 / 99	6	77m	SIDS	605	21.02.99	12:00	21.02.99	17:00	5	
HN 0045 S	96 / 99	225 / 99	7	77m	SIDS	641	28.02.99	12:00	02.03.99	10:00	46	
HN 0046 S	184 / 99	224 / 99	8	84m	SIDS	646	02.03.99	04:00	03.03.99	08:30	28 : 30	
HH 0057 S	568 / 99	231 / 99	9	92m	SIDS	703	25.05.99	04:00	26.05.99	14:00	34	
MS 0013 S	410 / 98	128 / 99	10	97w	SIDS	677	30.12.98	08:15	31.12.98	11:00	26 : 45	
HN 0056 S	390 / 99	230 / 99	11	111m	SIDS	776	21.05.99	10:30	23.05.99	11:00	48 : 30	
MS 0010 S	396 / 98	126 / 99	12	124w	SIDS	790	17.12.98	08:50	17.12.98	14:00	5 : 10	
MS 0066 S	123 / 99	277 / 00	13	126m	SIDS	790	02.04.99	12:45	05.04.99	12:00	71 : 15	
MS 0015 S	4 / 99	160 / 99	14	144w	SIDS	948	01.01.99	09:00	04.01.99	10:30	73 : 30	
HN 0022 S	40 / 99	78 / 99	15	149m	SIDS	767	22.01.99	08:00	22.01.99	14:00	6	
HN 0132 S	446 / 99	59 / 00	16	151w	SIDS	711	25.10.99	11:00	26.10.99	09:00	22	
HN 0117 S	311 / 99	64 / 00	17	185m	SIDS	634	01.08.99	16:00	02.08.99	11:30	19 : 30	
HN 0102 S	260 / 99	62 / 00	18	220w	SIDS	801	22.06.99	14:00	23.06.99	11:00	21	
MS 0009 S	390 / 98	125 / 99	19	241w	SIDS	996	14.12.98	05:00	14.12.98	13:00	8	
HN 0055 S	386 / 99	229 / 99	20	262m	SIDS	930	19.05.99	22:10	20.05.99	14:30	16 : 20	
HN 0049 S	140 / 99	226 / 99	21	270m	SIDS	938	01.04.99	08:00	01.04.99	14:00	6	
MS 0001 S	342 / 98	124 / 99	22	283w	SIDS	993	09.11.98	12:10	11.11.98	10:00	45 : 50	
HB 0115 S	298 / 99	63 / 00	23	320w	SIDS	978	25.07.99	12:00	26.07.99	09:00	21	
HN 0133 S	793 / 99	342 / 99	24	65w	Pertussis	578	03.11.99	06:15	04.11.99	10:50	28 : 35	
MS 0014 P	412 / 98	129 / 99	25	121w	Ileus, Exsikose	504	30.12.98	17:00	31.12.98	14:00	21	
MS 0107 S	236 / 99	282 / 00	26	160w	DiGerorge-Syndrom, Infekt.	545	05.07.99	13:20	06.07.99	14:00	24 : 40	
	53 / 98	28 / 99	27	189w	Pneumonie, Aspiration	823	23.02.98		25.02.98		56	
HN 0081 P	243 / 99	232 / 99	28	218w	Phlegmone, Aspiration	756	08.06.99	10:00	09.06.99	09:20	23 : 20	
MS 0250 P	138 / 00	112 / 00	29	229m	Erstickten	832	07.04.00	11:50	07.04.00	17:30	5 : 40	
MS 0205 S	36 / 00	111 / 00	30	321m	Influenza	1172	25.01.00	08:30	25.01.00	15:30	7	

## Anhang II: Zuschnittschema

Lfd. Nr.	Lokalisation	Standardseite	HE	KB	EvG	GFAP
1	Frontal - Gyrus frontalis superior / Medialis	links	X	X	X	
2	Temporal - Gyrus temporalis superior / medialis	rechts	X	X	X	
3	Parietal - Lobus parietalis inferior	links	X	X	X	
4	Okzipital - Gyrus occipitalis lateralis superior / inferior	rechts	X	X	X	
5	Neostriatum (Ncl . Caudatus / Putamen) [Höhe Com. Ant.]	links	X	X	X	
6	Pallidum	rechts	X	X	X	
7	Thalamus und Substantia nigra	links	X	X	X	
8	Hypothalamus [höhe Corp. Mam.]	rechts	X	X	X	X
9	Glandula pinealis	Gewicht (mg)	X			
10	Periventriculäre weiße Substanz und Plexus choroideus	links	X	X	X	X
11	Hippokampus [Höhe Corp. Gen. Lat.]	rechts	X	X	X	
12	Vermis cerebelli		X	X	X	X
13	Kleinhirnrinde und -mark mit Ncl. Dentatus	rechts	X	X	X	
14	Kleinhirnhemisphäre lateral	links	X	X	X	X
15	Mittelhirn [Höhe Coll. Inferiores		X	X	X	X
16	Pons, obere Hälfte		X	X	X	X
17	Pons, untere Hälfte		X	X	X	X
18	Medulla oblongata, obere Olivenhälfte		X	X	X	X
19	Medulla oblongata, untere Olivenhälfte		X	X	X	
20	Rückenmark, cervical		X			

## Anhang III: männlich / weiblich Prüfung auf signifikanten Unterschied der Mikrogliaanzahl

		p	SIGNIFIKANZ
Frontalhirn Marklager	Gesamt pro HPF	0,1469	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1591	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1200	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina multiformis	Gesamt pro HPF	0,3679	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1910	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2457	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina pyramidalis interna	Gesamt pro HPF	0,0375	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1744	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0359	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina granularis interna	Gesamt pro HPF	0,3371	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3597	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2459	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina pyramidalis externa	Gesamt pro HPF	0,1541	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0538	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1137	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina granularis externa	Gesamt pro HPF	0,4190	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4784	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4276	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina molekularis	Gesamt pro HPF	0,3599	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2587	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3832	nicht signifikant
Frontalhirn Leptomeninx	Gesamt pro HPF	0,3599	nicht signifikant
Nucleus caudatus	Gesamt pro HPF	0,4955	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4952	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4766	nicht signifikant
Putamen	Gesamt pro HPF	0,4203	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2253	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2792	nicht signifikant
Cerebellum Lamina alba	Gesamt pro HPF	0,4386	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3297	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4269	nicht signifikant
Cerebellum Nucleus dentatus	Gesamt pro HPF	0,4191	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2209	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4701	nicht signifikant
Cerebellum Stratum granulosum	Gesamt pro HPF	0,2330	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2645	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1801	nicht signifikant
Cerebellum Stratum ganglionare	Gesamt pro HPF	0,0842	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2742	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1219	nicht signifikant



Cerebellum Stratum molekulare	Gesamt pro HPF	0,2524	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0166	weibliche Gruppe hat SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,2268	nicht signifikant
Cerebellum Stratum granulosum externum	Gesamt pro HPF	0,1305	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	1,0000	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1305	nicht signifikant
Cerebellum Leptomeninx	Gesamt pro HPF	0,3523	nicht signifikant
Corpora mamillaria	Gesamt pro HPF	0,3563	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4758	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4066	nicht signifikant
Thalamus	Gesamt pro HPF	0,1629	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1375	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1853	nicht signifikant
CA4 Region	Gesamt pro HPF	0,4592	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1305	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4309	nicht signifikant
Fascia dentata	Gesamt pro HPF	0,3142	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3595	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2842	nicht signifikant
CA 1 bis 3	Gesamt pro HPF	0,4390	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4470	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3223	nicht signifikant
Area parasubicularis	Gesamt pro HPF	0,2761	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3296	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2797	nicht signifikant
Corpus geniculatum	Gesamt pro HPF	0,1564	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1314	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1040	nicht signifikant
Area presubicularis	Gesamt pro HPF	0,2206	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2794	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1695	nicht signifikant
Colliculi inferiores	Gesamt pro HPF	0,2172	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2663	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2006	nicht signifikant
Nuclei pontes	Gesamt pro HPF	0,1376	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1021	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2029	nicht signifikant
Locus coeruleus	Gesamt pro HPF	0,0359	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1969	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0230	weibliche Gruppe hat SIGNIFIKANT mehr
Tractus pyramidalis	Gesamt pro HPF	0,3408	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2340	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2653	nicht signifikant

Nucleus olivaris inferior	Gesamt pro HPF	0,1961	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4442	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1674	nicht signifikant
Nucleus olivaris accesorius medialis	Gesamt pro HPF	0,0240	weibliche Gruppe hat SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0328	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0402	nicht signifikant
Lemniscus medialis	Gesamt pro HPF	0,2492	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0562	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2492	nicht signifikant
Nucleus dorsalis vagus	Gesamt pro HPF	0,1642	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1483	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1352	nicht signifikant
Nucleus arcuatus	Gesamt pro HPF	0,3041	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2551	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3120	nicht signifikant
Nucleus hypoglossus	Gesamt pro HPF	0,2027	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0841	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1746	nicht signifikant

## Anhang IV: Jünger/ älter als der Altersmedian Prüfung auf signifikanten Unterschied der Mikrogliaanzahl

		p	SIGNIFIKANZ
Frontalhirn Marklager	Gesamt pro HPF	0,0073	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0209	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0117	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Frontalhirn Lamina multiformis	Gesamt pro HPF	0,0026	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0434	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0042	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Frontalhirn Lamina pyramidalis interna	Gesamt pro HPF	0,0012	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0327	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0022	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Frontalhirn Lamina granularis interna	Gesamt pro HPF	0,0048	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0342	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0032	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Frontalhirn Lamina pyramidalis externa	Gesamt pro HPF	0,0002	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0047	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0001	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Frontalhirn Lamina granularis externa	Gesamt pro HPF	0,0392	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0472	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0625	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina molekularis	Gesamt pro HPF	0,0220	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,2269	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0169	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Frontalhirn Leptomeninx	Gesamt pro HPF	0,3226	nicht signifikant
Nucleus caudatus	Gesamt pro HPF	0,1481	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0182	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,1658	nicht signifikant
Putamen	Gesamt pro HPF	0,2399	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0867	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2401	nicht signifikant
Cerebellum Lamina alba	Gesamt pro HPF	0,1185	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1103	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1335	nicht signifikant
Cerebellum Nucleus dentatus	Gesamt pro HPF	0,0211	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0242	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0291	nicht signifikant
Cerebellum Stratum granulosum	Gesamt pro HPF	0,0022	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0011	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0075	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Cerebellum Stratum ganglionare	Gesamt pro HPF	0,0783	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0035	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,1355	nicht signifikant

Cerebellum Stratum molekulare	Gesamt pro HPF	0,0079	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0008	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0107	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Cerebellum Stratum granulosum externum	Gesamt pro HPF	0,0014	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	1,0000	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0014	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Cerebellum Leptomeninx	Gesamt pro HPF	0,1226	nicht signifikant
Corpora mamillaria	Gesamt pro HPF	0,0527	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0212	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0121	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Thalamus	Gesamt pro HPF	0,0277	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0682	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0250	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
CA4 Region	Gesamt pro HPF	0,0117	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,1544	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0128	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Fascia dentata	Gesamt pro HPF	0,0041	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,2674	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0062	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
CA 1 bis 3	Gesamt pro HPF	0,0058	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,1495	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0034	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Area parasubicularis	Gesamt pro HPF	0,0147	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0066	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0284	nicht signifikant
Corpus geniculatum	Gesamt pro HPF	0,0128	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0027	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0211	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Area presubicularis	Gesamt pro HPF	0,0330	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0143	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0271	nicht signifikant
Colliculi inferiores	Gesamt pro HPF	0,0414	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0502	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1050	nicht signifikant
Nuclei pontes	Gesamt pro HPF	0,0251	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0042	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0135	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Locus coeruleus	Gesamt pro HPF	0,0221	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0143	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,0189	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Tractus pyramidalis	Gesamt pro HPF	0,2806	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3532	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2254	nicht signifikant

Anhang IV: Jünger/ älter als der Altersmedian Prüfung auf signifikanten Unterschied der Mikrogliaanzahl

Nucleus olivaris inferior	Gesamt pro HPF	0,0126	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,0357	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0159	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Nucleus olivaris akzesorius medialis	Gesamt pro HPF	0,0080	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,3795	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0148	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
Lemniscus medialis	Gesamt pro HPF	0,1427	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3991	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1623	nicht signifikant
Nucleus dorsalis vagus	Gesamt pro HPF	0,0362	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4632	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0257	nicht signifikant
Nucleus arcuatus	Gesamt pro HPF	0,2433	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,5691	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2432	nicht signifikant
Nucleus hypoglossus	Gesamt pro HPF	0,0108	ältere haben SIGNIFIKANT mehr
	gefäßassoziiert	0,3523	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0107	ältere haben SIGNIFIKANT mehr

## Anhang V: SIDS/ non-SIDS Prüfung auf signifikanten Unterschied der Mikrogliaanzahl

		p	SIGNIFIKANZ
Frontalhirn Marklager	Gesamt pro HPF	0,4429	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4383	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4618	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina multiformis	Gesamt pro HPF	0,3905	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3285	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4963	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina pyramidalis interna	Gesamt pro HPF	0,4666	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0967	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4669	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina granularis interna	Gesamt pro HPF	0,3198	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2614	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3286	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina pyramidalis externa	Gesamt pro HPF	0,2862	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2700	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3185	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina granularis externa	Gesamt pro HPF	0,2379	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1007	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2313	nicht signifikant
Frontalhirn Lamina molekularis	Gesamt pro HPF	0,2317	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3198	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2100	nicht signifikant
Frontalhirn Leptomeninx	Gesamt pro HPF	0,0374	nicht signifikant
Nucleus caudatus	Gesamt pro HPF	0,1219	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2701	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1429	nicht signifikant
Putamen	Gesamt pro HPF	0,2250	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0855	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3815	nicht signifikant
Cerebellum Lamina alba	Gesamt pro HPF	0,1539	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4006	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1930	nicht signifikant
Cerebellum Nucleus dentatus	Gesamt pro HPF	0,4161	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3579	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4065	nicht signifikant
Cerebellum Stratum granulosum	Gesamt pro HPF	0,1765	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3023	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2316	nicht signifikant
Cerebellum Stratum ganglionare	Gesamt pro HPF	0,4193	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2856	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3374	nicht signifikant

Cerebellum Stratum molekulare	Gesamt pro HPF	0,2542	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1921	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2390	nicht signifikant
Cerebellum Stratum granulosum externum	Gesamt pro HPF	0,3729	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	1,0000	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3729	nicht signifikant
Cerebellum Leptomeninx	Gesamt pro HPF	0,1355	nicht signifikant
Corpora mamillaria	Gesamt pro HPF	0,0784	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3488	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3474	nicht signifikant
Thalamus	Gesamt pro HPF	0,4074	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1211	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3329	nicht signifikant
CA4 Region	Gesamt pro HPF	0,3330	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0574	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3553	nicht signifikant
Fascia dentata	Gesamt pro HPF	0,1316	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4296	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1159	nicht signifikant
CA 1 bis 3	Gesamt pro HPF	0,2171	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4474	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2100	nicht signifikant
Area parasubicularis	Gesamt pro HPF	0,2988	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2635	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2694	nicht signifikant
Corpus geniculatum	Gesamt pro HPF	0,2064	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2202	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2258	nicht signifikant
Area presubicularis	Gesamt pro HPF	0,3300	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,1467	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2948	nicht signifikant
Colliculi inferiores	Gesamt pro HPF	0,3992	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0988	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2831	nicht signifikant
Nuclei pontes	Gesamt pro HPF	0,4240	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2390	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4203	nicht signifikant
Locus coeruleus	Gesamt pro HPF	0,0377	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2390	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,0268	nicht signifikant
Tractus pyramidalis	Gesamt pro HPF	0,3921	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3312	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,4114	nicht signifikant

Nucleus olivaris inferior	Gesamt pro HPF	0,4077	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,2230	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3780	nicht signifikant
Nucleus olivaris akzesorius medialis	Gesamt pro HPF	0,2193	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3024	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,1955	nicht signifikant
Lemniscus medialis	Gesamt pro HPF	0,3157	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,3640	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,3686	nicht signifikant
Nucleus dorsalis vagus	Gesamt pro HPF	0,2862	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0765	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2468	nicht signifikant
Nucleus arcuatus	Gesamt pro HPF	0,2595	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,4321	nicht signifikant
	Gefäß fern	0,2413	nicht signifikant
Nucleus hypoglossus	Gesamt pro HPF	0,2861	nicht signifikant
	gefäßassoziiert	0,0145	SIDS SIGNIFIKANT mehr
	Gefäß fern	0,1829	nicht signifikant



## Anhang VI: Zählungen

## Schnittebene 1, Gyrus frontalis

Sektionsnummer	Laufende Nummer	Frontalhirn Marklager			Frontalhirn Lamina Multiformis			Frontalhirn Lamina Pyramidalis Interna		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern
		228/99	1	1,7	10	7	0,7	0	2	0,7
223/99	2	10,0	27	73	10,7	14	15	8,8	5	19
222/99	3	16,4	14	150	11,8	5	27	13,6	9	28
127/99	4	50,0	22	478	29,4	7	73	18,4	14	36
233/99	5	5,1	27	24	8,5	7	16	2,6	0	7
79/99	6	28,5	52	233	35,7	24	73	28,7	20	58
225/99	7	24,6	43	203	23,2	14	49	15,8	9	34
224/99	8	33,3	77	256	12,1	4	29	20,6	5	51
231/99	9	2,7	21	6	5,5	15	0	4,0	11	0
128/99	10	18,7	51	136	29,1	22	57	22,8	15	47
230/99	11	18,5	69	116	51,9	42	99	20,6	26	30
126/99	12	54,0	112	428	53,4	23	122	50,4	29	108
277/00	13	17,6	39	137	7,7	8	13	6,6	12	6
160/99	14	45,2	64	388	21,0	12	45	20,6	12	44
78/99	15	20,0	53	147	13,2	29	7	9,6	12	14
59/00	16	23,7	28	209	59,6	9	153	33,5	19	72
64/00	17	41,1	28	383	30,9	9	75	13,2	10	26
62/00	18	40,4	101	303	57,0	39	116	52,6	34	109
125/99	19	49,2	77	415	47,8	8	122	41,6	16	97
229/99	20	44,8	90	358	41,2	27	85	42,0	26	88
226/99	21	57,8	156	422	62,9	49	122	29,8	15	66
124/99	22	55,8	55	503	19,9	6	48	36,1	6	92
63/00	23	18,9	63	126	14,7	10	30	21,7	28	31
Mittelwert in 1 HPF		29,5	5,6	23,9	28,2	16,7	59,9	22,4	14,6	46,2
Median in 1 HPF		24,6	5,2	20,9	23,2	12,0	49,0	20,6	12,0	36,0
342/99	24	46,2	78	384	4,4	4	8	5,9	2	14
129/99	25	13,6	18	118	1,1	0	3	4,8	0	13
282/00	26	20,4	39	165	12,1	7	26	9,6	11	15
28/99	27	25,7	59	198	34,6	16	78	41,6	31	82
232/99	28	34,7	65	282	40,1	29	80	28,7	7	71
112/00	29	27,5	38	237	49,3	15	119	31,6	11	75
111/00	30	33,6	69	267	45,6	18	106	27,6	10	65
Mittelwert		28,8	52,3	235,9	26,8	12,7	60,0	21,4	10,3	47,9
Median		27,5	59,0	237,0	34,6	15,0	78,0	27,6	10,0	65,0

## Schnittebene 1, Gyrus frontalis

Sektionsnummer	Laufende Nummer	Frontalhirn Lamina Granularis Interna			Frontalhirn Lamina Pyramidalis Externa			Frontalhirn Lamina Granularis Externa		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern
228/99	1	1,8		4	1	0,9	8	1		
223/99	2	3,7		4	6	1,5	11	4	4,0	7
222/99	3	6,3		0	17	5,0	20	30	10,7	25
127/99	4	4,0		2	9	2,4	8	16	19,9	48
233/99	5	3,7		2	8	1,1	7	4	6,3	10
79/99	6	38,6		14	91	5,1	20	31	36,1	74
225/99	7	35,3		16	80	9,8	31	67	18,4	35
224/99	8	18,0		11	38	5,2	31	21	9,2	18
231/99	9	1,8		1	4	1,1	7	4	4,8	4
128/99	10	8,1		10	12	3,6	14	22	10,7	21
230/99	11	15,8		15	28	11,5	31	84	18,4	41
126/99	12	37,5		8	94	15,8	58	100	9,2	20
277/00	13	8,1		11	11	6,4	47	17	4,8	13
160/99	14	14,4		9	30	31,9	58	261	4,8	10
78/99	15	17,3		12	35	8,7	38	49	6,6	14
59/00	16	11,8		10	22	10,0	40	60	6,3	9
64/00	17	10,7		4	25	9,3	38	55	23,6	51
62/00	18	57,0		24	131	20,8	55	153	40,8	87
125/99	19	32,0		18	69	28,5	61	224	43,4	111
229/99	20	33,1		28	62	36,4	81	283	12,9	27
226/99	21	31,6		8	78	5,5	30	25	6,6	14
124/99	22	30,2		0	82	29,8	50	248	17,7	38
63/00	23	12,1		9	24	4,9	26	23	9,6	18
Mittelwert in 1 HPF		18,8	9,6	41,6	11,1	33,5	77,5	14,8	8,5	31,6
Median in 1 HPF		14,4	9,0	28,0	6,4	31,0	31,0	10,1	7,5	20,5
342/99	24	6,6		9	9	4,9	35	14	5,9	10
129/99	25	3,7		2	8	2,2	6	16	5,9	14
282/00	26	7,0		5	14	2,0	5	15	5,5	5
28/99	27	42,3		19	96	18,4	57	127	54,8	131
232/99	28	26,5		11	61	24,8	70	178	36,8	85
112/00	29	36,8		17	83	16,6	14	152	34,2	82
111/00	30	33,1		11	79	55,8	23	535	23,6	50
Mittelwert		22,3	10,6	50,0	17,8	30,0	148,1	23,8	10,9	53,9
Median		26,5	11,0	61,0	16,6	23,0	127,0	23,6	11,0	50,0

## Schnittebene 1, Gyrus frontalis

Sektionsnummer	Laufende Nummer	Frontalhirn Lamina Molekularis			Frontalhirn Leptomeninx	
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gesamt in einem Zählgitter
228/99	1	4,8	18	30	165,6	45
223/99	2	8,2	8	74	287,0	78
222/99	3	10,2	2	100	217,1	59
127/99	4	15,6	8	148	482,1	131
233/99	5	1,6	8	8	430,6	117
79/99	6	34,6	60	286	224,5	61
225/99	7	19,5	51	144	533,6	145
224/99	8	14	30	110	305,4	83
231/99	9	3,2	18	14	316,5	86
128/99	10	10,4	4	100	412,2	112
230/99	11	26,8	40	228	485,8	132
126/99	12	16,6	22	144	316,5	86
277/00	13	6	36	24	342,2	93
160/99	14	7,6	48	28	423,2	115
78/99	15	4,4	6	38	250,2	68
59/00	16	14	36	104	375,4	102
64/00	17	22,4	22	202	342,2	93
62/00	18	28,6	40	246	375,4	102
125/99	19	42,4	10	414	338,6	92
229/99	20	34,2	34	308	261,3	71
226/99	21	14	35	105	541,0	147
124/99	22	30	10	290	426,9	116
63/00	23	2,4	6	18	345,9	94
Mittelwert in 1 HPF		16,2	24,0	137,5	356,5	96,9
Median in 1 HPF		14,0	22,0	105,0	342,2	93,0
342/99	24	10,2	16	86	294,4	80
129/99	25	2,2	4	18	235,5	64
282/00	26	6,3	27	36	294,4	80
28/99	27	40	50	350	349,6	95
232/99	28	51,2	22	490	316,5	86
112/00	29	28,8	6	282	283,4	77
111/00	30	22,4	20	204	231,8	63
Mittelwert		23,0	20,7	209,4	286,5	77,9
Median		22,4	20,0	204,0	294,4	80,0

## Schnittebene 6, Nucleus caudatus Putamen

Sektionsnummer Schnitt 6	Laufende Nummer	Nucleus Caudatus			Putamen		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern
228/99	1						
223/99	2	5	37	13	5	19	31
222/99	3	9,4	17	77	5,8	2	56
127/99	4	46,8	90	378	62,2	34	588
233/99	5	0,9	6	3	6,5	29	36
79/99	6	57,2	44	528	124,5	110	1135
225/99	7	44,8	42	406	71,7	128	589
224/99	8	49,8	48	450	47,4	53	421
231/99	9						
128/99	10	45,1	60	391	98,6	35	951
230/99	11	51,6	46	470	86,8	41	827
126/99	12	49,6	30	466	90,8	61	847
277/00	13	53,2	96	436	87,8	86	792
160/99	14	65,5	107	548	71	82	628
78/99	15	56,7	76	491	61,5	171	444
59/00	16	49,3	49	444	49,9	18	481
64/00	17	42,8	52	376	57,2	29	543
62/00	18	59,4	151	443	82	130	690
125/99	19	52,9	59	470	41,9	17	402
229/99	20	41,3	42	371	56,3	46	517
226/99	21	31,3	76	237	67,9	188	491
124/99	22	28,9	10	279	60,3	70	533
63/00	23	34,8	90	258	67,2	118	554
Mittelwert		41,7	58,5	358,8	62,0	69,9	550,3
Median		46,8	49	406	62,2	53	543
342/99	24	9,3	22	71	81,1	16	795
129/99	25	2,6	12	14	5	6	44
282/00	26	24,6	50	196	55,8	67	491
28/99	27						
232/99	28	62,3	87	536	71,3	92	621
112/00	29	34,8	78	270	36,4	31	333
111/00	30	47,2	32	440	63,2	26	606
Mittelwert		30,13	46,83	254,5	52,13	39,67	481,67
Median		29,7	41	233	59,5	28,5	548,5

## Schnittebene 8, Thalamus corpa mamillaria

Sektionsnummer	Laufende Nummer	Cerebellum Lamina Alba			Cerebellum Nucleus Dentatus			Cerebellum Stratum Granulosum		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern
228/99	1	31,8	37,0	281,0	3,9	0,4	10,3	6,3	0,0	1,7
223/99	2	10,9	12,0	97,0	1,1	0,6	2,5	9,6	0,1	2,5
222/99	3	42,3	11,0	412,0	6,6	0,9	17,0	15,5	0,1	4,1
127/99	4	82,7	29,0	798,0	12,7	0,9	33,5	18,4	0,0	5,0
233/99	5	16,4	33,0	131,0	4,3	2,6	9,0	2,9	0,1	0,7
79/99	6	73,3	35,0	698,0	18,3	0,4	49,2	52,6	1,6	12,7
225/99	7	83,3	102,0	731,0	12,1	2,2	30,8	36,1	1,3	8,5
224/99	8	94,1	33,0	908,0				38,3	0,8	9,6
231/99	9	3,8	16,0	22,0	1,4	1,8	1,9	0,4	0,0	0,1
128/99	10	54,3	6,0	537,0	10,0	0,0	27,3	26,9	0,7	6,6
230/99	11	109,2	78,0	1014,0	23,4	0,0	63,5	21,3	0,1	5,7
126/99	12	111,6	38,0	1078,0	12,3	0,0	33,5	28,3	0,3	7,4
277/00	13	122,6	26,0	1200,0	15,9	1,2	42,1	27,2	0,7	6,7
160/99	14	78,7	45,0	742,0	15,5	1,0	41,0	34,6	1,9	7,5
78/99	15	72,3	102,0	621,0	10,7	5,0	24,0	14,7	1,4	2,6
59/00	16	51,4	2,0	512,0	9,2	0,0	25,1	26,5	0,6	6,6
64/00	17	114,0	74,0	1066,0	11,3	4,4	26,4	36,1	0,8	9,0
62/00	18	74,4	168,0	576,0	18,3	0,4	49,2	41,2	2,2	9,0
125/99	19	111,6	54,0	1062,0	11,8	0,4	31,6	42,0	1,6	9,8
229/99	20	79,2	34,0	758,0	13,3	0,0	36,2	28,7	0,6	7,2
226/99	21	101,1	20,0	991,0	19,4	5,4	47,4	40,8	3,9	7,2
124/99	22	65,1	0,0	651,0	11,8	5,4	26,8	23,6	1,0	5,4
63/00	23	53,0	150,0	380,0	14,4	3,4	35,8	37,5	1,6	8,6
Mittelwert		71,2	48,0	663,7	11,7	1,7	30,2	26,5	0,9	6,3
Median		74,4	34,0	698,0	12,0	0,9	31,2	27,2	0,7	6,7
342/99	24	32,2	22,0	300,0	3,3	0,4	8,6	14,7	0,2	3,8
129/99	25	27,5	32,0	243,0	1,6	0,2	4,1	13,2	0,0	3,6
282/00	26	78,3	78,0	705,0	21,0	3,6	53,4	26,9	0,8	6,5
28/99	27	62,0	35,0	585,0	7,1	1,2	18,2	44,9	0,0	12,2
232/99	28	117,3	17,0	1156,0	21,9	4,3	55,3	69,2	1,6	17,2
112/00	29	51,3	18,0	495,0	11,8	4,0	28,0	44,9	4,2	8,0
111/00	30	46,8	50,0	418,0	21,3	0,2	57,7	30,5	0,1	8,2
Mittelwert		59,3	36,0	557,4	12,6	2,0	32,2	34,9	1,0	8,5
Median		51,3	32,0	495,0	11,8	1,2	28,0	30,5	0,2	8,0

## Schnittebene 8, Thalamus corpa mamillaria

Sektionsnummer	Laufende Nummer	Cerebellum Stratum Ganglionare			Cerebellum Stratum Molekulare			Cerebellum aufliegende Körnerschicht		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern
		228/99	1	2,0	0,0	5,5	1,5	0,0	4,0	7,4
223/99	2	1,5	0,0	4,0	0,7	0,0	2,0	7,4	0,0	2,0
222/99	3	3,3	0,0	9,0	1,3	0,0	3,5	20,2	0,0	5,5
127/99	4	8,8	0,0	24,0	4,0	0,0	11,0	36,8	0,0	10,0
233/99	5	0,4	0,0	1,0	0,4	0,0	1,0	3,7	0,0	1,0
79/99	6	18,0	2,0	47,0	5,9	0,0	16,0	92,0	0,0	25,0
225/99	7	11,4	0,0	31,0	4,0	0,0	11,0	51,5	0,0	14,0
224/99	8	3,3	0,0	9,0	2,6	0,0	7,0	156,4	0,0	42,5
231/99	9	0,7	0,0	2,0	0,4	0,0	1,0	3,7	0,0	1,0
128/99	10	8,6	0,0	23,5	1,3	0,0	3,4	11,0	0,0	3,0
230/99	11	7,4	0,0	20,0	1,9	0,0	5,1	7,4	0,0	2,0
126/99	12	10,7	0,0	29,0	3,7	0,2	9,8	8,5	0,0	2,3
277/00	13	19,9	0,0	54,0	3,7	0,0	10,0	11,0	0,0	3,0
160/99	14	11,8	5,0	27,0	4,9	0,2	13,0	77,3	0,0	21,0
78/99	15	3,9	1,5	9,0	1,6	0,0	4,3	22,1	0,0	6,0
59/00	16	8,8	0,0	24,0	11,6	0,3	31,3	95,7	0,0	26,0
64/00	17	5,5	0,5	14,5	2,9	0,0	8,0	31,3	0,0	8,5
62/00	18	9,0	1,0	23,5	3,2	0,3	8,5	42,3	0,0	11,5
125/99	19	11,4	1,0	30,0	3,8	0,2	10,2	36,8	0,0	10,0
229/99	20	11,8	0,0	32,0	3,4	0,0	9,2	81,0	0,0	22,0
226/99	21	7,4	9,0	11,0	6,2	2,2	14,6	184,0	0,0	50,0
124/99	22	6,3	4,0	13,0	1,8	0,0	4,8	110,4	0,0	30,0
63/00	23	8,5	4,0	19,0	3,2	0,8	8,0	132,5	0,0	36,0
Mittelwert		7,8	1,2	20,1	3,2	0,2	8,5	53,5	0,0	14,5
Median		8,5	0,0	20,0	3,2	0,0	8,0	36,8	0,0	10,0
342/99	24	1,8	1,0	4,0	0,1	0,0	0,4	3,7	0,0	1,0
129/99	25	8,5	0,0	23,0	3,0	0,0	8,2	55,2	0,0	15,0
282/00	26	10,7	0,0	29,0	3,8	0,0	10,4	22,1	0,0	6,0
28/99	27	9,9	0,0	27,0	5,3	0,5	14,0	143,9	0,0	39,1
232/99	28	11,4	0,0	31,0	5,7	0,4	15,0	139,8	0,0	38,0
112/00	29	7,4	3,0	17,0	4,0	0,8	10,0	29,4	0,0	8,0
111/00	30	7,4	0,0	20,0	2,6	0,0	7,2	23,6	0,0	6,4
Mittelwert		8,1	0,6	21,6	3,5	0,2	9,3	59,7	0,0	16,2
Median		8,5	0,0	23,0	3,8	0,0	10,0	29,4	0,0	8,0

**Schnittebene 8, Thalamus corpa mamillaria**

Sektionsnummer	Laufende Nummer	Cerebellum Leptomeningen	
		Gesamt pro HPF	Gesamt
228/99	1	265,0	72,0
223/99	2	320,2	87,0
222/99	3	298,1	81,0
127/99	4	496,8	135,0
233/99	5	636,6	173,0
79/99	6	511,5	139,0
225/99	7	471,0	128,0
224/99	8	169,3	46,0
231/99	9	621,9	169,0
128/99	10	456,3	124,0
230/99	11	397,4	108,0
126/99	12	489,4	133,0
277/00	13	588,8	160,0
160/99	14	581,4	158,0
78/99	15	283,4	77,0
59/00	16	404,8	110,0
64/00	17	257,6	70,0
62/00	18	471,0	128,0
125/99	19	408,5	111,0
229/99	20	504,2	137,0
226/99	21	460,0	125,0
124/99	22	143,5	39,0
63/00	23	360,6	98,0

Mittelwert	417,3	113,4
Median	456,3	124,0

342/99	24	625,6	170,0
129/99	25	548,3	149,0
282/00	26	463,7	126,0
28/99	27	342,2	93,0
232/99	28	651,4	177,0
112/00	29	467,4	127,0
111/00	30	320,2	87,0

Mittelwert	488,4	132,7
Median	467,4	127,0

## Schnittebene 11, Ammonshorn

Sektionsnummer	Schnitt	Laufende Nummer	CA4 Region			Fascia dentata			CA 1 bis 3		
			Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern
228/99	1		0,4	0	4				0,7	1	1
223/99	2		3,4	30	4	1,47	0	4	2,2	5	1
222/99	3		22,8	27	201	32,38	0	88	22,1	2	58
127/99	4		67,0	80	590	22,08	4	56	64,8	24	152
233/99	5		7,2	26	46	5,89	2	14	5,2	8	6
79/99	6		72,6	40	686	44,90	2	120	28,0	8	68
225/99	7		43,0	39	391	47,10	6	122	28,3	9	68
224/99	8		79,5	52	743	70,66	8	184	44,5	24	97
231/99	9		1,3	10	3	0,37	0	1	0,7	0	2
128/99	10		31,3	14	299	32,38	0	88	21,3	2	56
230/99	11		49,4	45	449	44,53	0	121	40,5	18	92
126/99	12		67,5	45	630	46,37	0	126	55,6	15	136
277/00	13		66,8	66	602	69,92	4	186	63,3	6	166
160/99	14		70,0	40	660	50,05	0	136	43,1	13	104
78/99	15		47,0	60	410	35,33	0	96	40,5	25	85
59/00	16		44,5	49	396	46,37	4	122	47,1	12	116
64/00	17		42,3	56	367	37,54	0	102	37,2	0	101
62/00	18		83,0	59	771	55,20	0	150	36,8	14	86
125/99	19		76,5	45	720	58,88	0	160	62,2	17	152
229/99	20		80,7	77	730	64,03	0	174	56,3	7	146
226/99	21		79,4	63	731	35,33	0	96	37,2	2	99
124/99	22		35,8	21	337	32,75	8	81	14,7	5	35
63/00	23		47,9	52	427	55,20	0	150	65,9	15	164
Mittelwert			48,7	43,3	443,3	40,4	1,7	108,0	35,6	10,1	86,6
Median			47,9	45,0	427,0	44,7	0,0	120,5	37,2	8,0	92,0
342/99	24		25,8	46	212	22,1	0	60	19,9	6	48
129/99	25		7,8	30	48	30,2	0	82	4,8	3	10
282/00	26		55,4	26	528	77,3	0	210	58,9	22	138
28/99	27		80,5	33	772	168,2	2	455	46,7	10	117
232/99	28		26,9	14	255	43,4	10	108	39,7	4	104
112/00	29		36,3	26	337	53,4	0	145	68,8	64	123
111/00	30		68,6	42	644	82,8	0	225	60,7	5	160
Mittelwert			43,0	31,0	399,4	68,2	1,7	183,6	42,8	16,3	100,0
Median			36,3	30,0	337,0	53,4	0,0	145,0	46,7	6,0	117,0



## Schnittebene 11, Ammonshorn

Sektionsnummer Schnitt 11	Laufende Nummer	Area Parasubicularis			Corpus geniculatum			Area Presubicularis		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern
228/99	1	0,1	0	1				0	1	0
223/99	2	1,4	3	11	6	41	15	2	10	8
222/99	3	4,2	8	34	18	41	136	7	20	52
127/99	4	31,3	9	304	44,2	42	400	34,9	66	283
233/99	5	4,5	27	18	9,6	52	44	0,7	2	5
79/99	6	35,1	31	320	41,2	44	368	29,1	40	251
225/99	7	34,2	11	331	26,2	28	234	13,3	37	96
224/99	8	31,6	54	262	36,1	60	301	47,4	44	430
231/99	9	3,9	30	9	2,2	18	4	1,2	8	4
128/99	10	16,5	32	133	33,5	44	291	8,6	20	66
230/99	11	7,6	22	54	14,0	30	110	20,6	160	46
126/99	12	53,9	18	521	54,9	101	448	27,7	46	231
277/00	13	37,8	72	306				26,8	72	196
160/99	14	57,9	107	472	33,3	52	281	13,0	25	105
78/99	15	27,4	76	198	33,0	100	230	19,1	75	116
59/00	16	14,4	18	126				23,7	51	186
64/00	17	37,9	116	263	15,4	51	103	6,4	23	41
62/00	18	38,4	61	323				36,0	126	234
125/99	19	52,5	47	478	66,0	140	520	34,0	62	278
229/99	20	50,3	88	415	72,4	67	657	23,4	32	202
226/99	21	14,0	58	82				6,4	24	40
124/99	22	8,2	15	67				15,3	47	106
63/00	23	30,6	71	235				31,3	51	262
Mittelwert		25,8	42,3	215,8	31,6	56,9	258,9	18,6	45,3	140,8
Median		30,6	31,0	235,0	33,2	47,5	257,5	19,1	40,0	106,0
342/99	24	16,8	81	87	25,2	61	191	5,1	40	11
129/99	25	10,4	21	83	9,4	36	58	4,7	6	41
282/00	26	28,0	13	267	33,4	44	290	12,5	26	99
28/99	27	28,7	77	210	48,3	62	421	30,1	92	209
232/99	28	38,6	80	306	132,9	80	1249	78,4	115	669
112/00	29	28,4	19	265	35,7	80	277	16,6	54	112
111/00	30	65,3	36	617	45,3	48	405	36,3	80	283
Mittelwert		30,9	46,7	262,1	47,2	58,7	413,0	26,2	59,0	203,4
Median		28,4	36,0	265,0	35,7	61,0	290,0	16,6	54,0	112,0

## Schnittebene 15, Mittelhirn

Sektionsnummer Schnitt 15 Mittelhirn	Laufende Nummer	Colliculi inferiores		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern
228/99	1	1,8	10	8
223/99	2	15,9	58	101
222/99	3	10,6	25	81
127/99	4	28,6	41	245
233/99	5	6,9	25	44
79/99	6	61	45	565
225/99	7	23,4	61	173
224/99	8	49,5	73	422
231/99	9	2,3	11	12
128/99	10	20,9	59	150
230/99	11			
126/99	12	33,7	40	297
277/00	13	17	65	105
160/99	14	9,1	41	50
78/99	15	16,1	96	65
59/00	16	39	51	339
64/00	17	21,8	74	144
62/00	18	34,9	112	237
125/99	19	53,7	25	512
229/99	20	36,8	78	290
226/99	21	29,5	96	199
124/99	22	22,2	41	181
63/00	23	29,5	89	206
Mittelwert		25,65	55,27	201,18
Median		22,8	54,5	177
342/99	24	27,7	70	207
129/99	25	7,4	15	59
282/00	26	5,3	19	34
28/99	27	49,4	34	460
232/99	28	63,2	71	561
112/00	29	28,8	25	263
111/00	30			
Mittelwert		30,3	39	264
Median		28,25	29,5	235

## Schnittebene 16, Pons obere Hälfte

Sektionsnummer Schnitt 16 Pons, obere Hälfte	Laufende Nummer	Nuclei pontes			Locus Coeruleus		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern
228/99	1	5,3	4	49	8	14	2
223/99	2	11,6	11	105	127,5	70	185
222/99	3	13,2	12	120	127,5	55	200
127/99	4	58,6	19	567	213,5	37	390
233/99	5	2,9	9	20	67,5	60	75
79/99	6	56,2	46	516	112,5	125	100
225/99	7	27,5	23	252	42,5	11	74
224/99	8	22,5	28	197	6,5	1	12
231/99	9	1,2	3	9	2	3	1
128/99	10	76	25	735	63	10	116
230/99	11	51,8	41	477	36,5	7	66
126/99	12	51,3	100	413	324	60	588
277/00	13	54,4	23	521	48	25	71
160/99	14	28,8	57	231	39	18	60
78/99	15	45,4	63	391	23	20	26
59/00	16	44,8	25	423	30	8	52
64/00	17	34,6	39	307	46,5	18	75
62/00	18	50,4	61	443	210	140	280
125/99	19	68,7	40	647	75	20	130
229/99	20	63,6	13	623	340	65	615
226/99	21	46,6	57	409	70,5	33	108
124/99	22	57,8	62	516	315	160	470
63/00	23	66,3	60	603	390	130	650
Mittelwert		40,8	35,7	372,8	118,2	47,4	189,0
Median		46,6	28,0	413,0	67,5	25,0	100,0
342/99	24	22,1	15	206	140	16	264
129/99	25	12	11	109	15	3	27
282/00	26	35,8	22	336	120	28	212
28/99	27	39,1	24	367	607,5	215	1000
232/99	28	83,4	45	789	705,5	75	1336
112/00	29	11,32	62	410	240	112	368
111/00	30	101,9	12	1007	206,5	42	371
Mittelwert		43,7	27,3	460,6	290,6	70,1	511,1
Median		35,8	22,0	367,0	206,5	42,0	368,0

## Schnittebene 18, Medulla oblongata, obere Hälfte

Sektionsnummer Schnitt 18 /Medulla Oblongata	Laufende Nummer	Pyramidenbahn			Nucleus Olivaris inferior			Nucleus Olivaris akzesorius med		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert 1 Zählgitter	Gefäß fern 1 Zählgitter
228/99	1	5,7	15	42	128,8	21	14	16,56	0	4,5
223/99	2	21,4	39	175	717,6	59	136	44,16	2,5	9,5
222/99	3									
127/99	4	129,1	72	1219	2565,0	58	639	62,56	1	16
233/99	5	10,2	31	71	276,0	15	60	14,72	1	3
79/99	6	71,4	30	684	3588,0	62	913	103,04	2,5	25,5
225/99	7	53,6	29	507	717,6	14	181			
224/99	8	6	9	51	301,8	20	62	12,88	0,5	3
231/99	9	0,6	0	6	121,4	22	11	0	0	0
128/99	10	36,9	13	356	1416,8	19	366	44,16	0	12
230/99	11	11,7	5	112	1494,1	53	353	47,84	0,5	12,5
126/99	12	30,3	26	277	1273,3	26	320	66,24	3	15
277/00	13	25,7	14	243	581,4	22	136			
160/99	14	25,2	11	241	1221,8	37	295	53,36	2,5	12
78/99	15	10,1	31	70	791,2	50	165	49,68	4	9,5
59/00	16	46,8	15	453	2311,0	79	549	73,6	5	15
64/00	17	26,5	30	235	1229,1	67	267	36,8	0,5	9,5
62/00	18	13,8	18	120	1792,2	111	376	51,52	1	13
125/99	19	64,1	33	608	2598,1	70	636	99,36	3	24
229/99	20	52	10	510	2097,6	71	499	40,48	0	11
226/99	21	25,3	42	211	1497,8	74	333	49,68	2	11,5
124/99	22	19,4	18	176	1089,3	43	253			
63/00	23	19,6	11	185	1059,8	38	250	73,6	1	19
Mittelwert		32,1	22,8	297,8	1312,3	46,9	309,7	49,5	1,6	11,9
Median		25,3	18,0	223,0	1225,4	46,5	281,0	49,7	1,0	12,0
342/99	24	25,8	30	228	1081,9	101	193	47,84	3	10
129/99	25	1,8	3	15	132,5	25	11	16,56	2,5	2
282/00	26	8,3	9	74	680,8	17	168	64,4	4,5	13
28/99	27	38,2	32	350	1884,2	24	488	44,16	0	12
232/99	28	30,2	20	282	2167,5	20	569	82,8	0	22,5
112/00	29	29,6	22	274	1159,2	31	284	47,84	0	13
111/00	30	23,8	14	224	2730,6	55	687	128,8	0	35
Mittelwert		22,5	18,6	206,7	1405,2	39,0	342,9	61,8	1,4	15,4
Median		25,8	20,0	228,0	1159,2	25,0	284,0	47,8	0,0	13,0

## Schnittebene 18, Medulla oblongata, obere Hälfte

Sektionsnummer Schnitt 18 Medulla Oblongata	Laufende Nummer	Lemniskus medialis			Nucleus dorsalis vagus		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert	Gefäß fern
228/99	1	6,7	9	58	25,8	6	1
223/99	2	31,5	40	275	165,6	18	27
222/99	3	43,5	36	399	147,2	21	19
127/99	4	67,6	49	627	334,9	15	76
233/99	5	12,3	12	111	62,6	10	7
79/99	6	56,4	44	520	371,7	8	93
225/99	7	37,9	42	337	287	18	60
224/99	8	14,0	17	123	180,3	11	38
231/99	9	1,6	2	14	22,1	6	0
128/99	10	28,6	15	271	132,5	10	26
230/99	11	23,5	12	223	169,3	8	38
126/99	12	41,5	68	347	334,9	16	75
277/00	13	30,1	15	286	121,4	11	22
160/99	14	29,7	14	283	331,2	8	82
78/99	15	12,9	25	104	165,6	12	33
59/00	16	33,1	29	302	309,1	6	78
64/00	17	25,6	19	237	198,7	24	30
62/00	18	25,0	83	167	121,4	17	16
125/99	19	65,4	66	588	408,5	8	103
229/99	20	33,6	8	328	294,4	20	60
226/99	21	49,0	97	393	132,5	13	23
124/99	22	27,1	31	240	272,3	16	58
63/00	23	39,4	32	362	187,7	6	45

Mittelwert	32,0	33,3	286,7	207,7	12,5	43,9
Median	30,1	29,0	283,0	180,3	11,0	38,0

342/99	24	20,2	29	173	206,1	14	42
129/99	25	10,5	32	73	18,4	0	5
282/00	26	14,9	12	137	62,6	8	9
28/99	27	32,7	37	290	563	3	150
232/99	28	60,6	39	567	522,6	11	131
112/00	29	22,7	26	201	228,2	16	46
111/00	30	46,0	11	449	290,7	7	72

Mittelwert	29,7	26,6	270,0	270,2	8,4	65,0
Median	22,7	29,0	201,0	228,2	8,0	46,0

## Schnittebene 19, Medulla oblongata, untere Hälfte

Sektionsnummer Schnitt 16 Mittelhirn	Laufende Nummer	Nucleus Arcuatus			Nucleus Hypoglossus		
		Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert, 1 Zähligitter	Gefäß fern, 1 Zähligitter	Gesamt pro HPF	Gefäß assoziiert, 2 HPF	Gefäß fern, 2 HPF
228/99	1	0	0	0	5	3	7
223/99	2	40,48	0	11	20,5	12	29
222/99	3	22,08	1	5	13,5	3	24
127/99	4	58,88	0	16	44	17	71
233/99	5	3,68	0	1	6	7	5
79/99	6	128,8	1	34	41,5	14	69
225/99	7	44,16	0	12	21	13	29
224/99	8	0	0	0	17,5	18	17
231/99	9	7,36	0	2	7,5	9	6
128/99	10	47,84	1	12	15	7	23
230/99	11	7,36	0	2	48,5	11	86
126/99	12	47,84	0	13	53,5	17	90
277/00	13	47,84	1	12	34	8	60
160/99	14	3,68	0	1	12	7	17
78/99	15	3,68	0	1	32,5	12	53
59/00	16	47,84	1	12	46,5	6	87
64/00	17	18,4	0	5	14,5	11	18
62/00	18	103,04	0	28	50	28	72
125/99	19	51,52	1	13	49	10	88
229/99	20	14,72	0	4	20,5	7	34
226/99	21	18,4	1	4	33,5	31	36
124/99	22	29,44	0	8	35	11	59
63/00	23	44,16	0	12	43	27	59
Mittelwert		34,4	0,3	9,0	28,9	12,6	45,2
Median		29,4	0,0	8,0	32,5	11,0	36,0
342/99	24	0	0	0	7,5	3	12
129/99	25				3,5	2	5
282/00	26	14,72	0	4	22	2	42
28/99	27	44,16	1	11	46	2	90
232/99	28	47,84	0	13	79	15	143
112/00	29	139,84	0	38	37	14	60
111/00	30	77,28	0	21	87,5	5	170
Mittelwert		38,0	0,3	10,1	31,5	11,1	51,3
Median		34,4	0,0	9,0	32,5	11,0	43,6