

Aus der Klinik für Neonatologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Morphometrische Untersuchungen der Lunge von Patienten mit Bronchopulmonaler
Dysplasie

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Matthias Papp-Váry

aus Heidelberg

Gutachter/in:

1. Prof. Dr. med. R. Wauer
2. Prof. Dr. med. Ph. A. Schnabel
3. Prof. Dr. med. M. Rüdiger

Datum der Promotion: 24.02.2012

Inhaltsverzeichnis

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN	4
VERZEICHNIS DER TABELLEN	5
VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN	6
1 EINLEITUNG	7
1.1 HISTORISCHER ÜBERBLICK	7
1.2 DEFINITIONEN	7
1.3 BPD – EPIDEMIOLOGISCHE UND SOZIOÖKONOMISCHE ASPEKTE	12
1.4 PATHOGENESE	13
1.4.1 <i>Risikofaktoren</i>	14
1.5 PATHOLOGIE	16
1.5.1 <i>„Old“ BPD</i>	17
1.5.2 <i>„New“ BPD</i>	18
1.6 PULMONALE HYPERTONIE BEI BPD	20
1.7 COR PULMONALE BEI BPD	22
2 FRAGESTELLUNG	23
3 MATERIAL UND METHODEN	24
3.1 PATIENTEN-UND KONTROLLKOLLEKTIV	24
3.2 DEMOGRAPHISCHE UND KLINISCHE PARAMETER	24
3.3 TECHNIKEN DER AUFARBEITUNG VON HERZ UND LUNGE	27
3.3.1 <i>Histologische Techniken</i>	28
3.3.2 <i>Morphometrische Techniken</i>	29
3.3.3 <i>Makro- und mikroangiographische Techniken</i>	32
3.3.4 <i>Statistik</i>	33
4 ERGEBNISSE	34
4.1 MAKROSKOPISCHE UND HISTOLOGISCHE BEFUNDE	34
4.1.1 <i>Morphometrie</i>	36
4.1.2 <i>Makro- und Mikroangiographie</i>	42
5 DISKUSSION	46
6 ZUSAMMENFASSUNG	52
7 LITERATURVERZEICHNIS	54
8 LEBENS LAUF	61
9 DANKSAGUNG	62
10 ERKLÄRUNG	63

Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1: Postnataler pulmonalarterieller Gefäßumbau	21
Abbildung 2: Quantifizierung der Gewebestrukturen mit Hilfe des Gitternetzes	30
Abbildung 3: Histologisches Bild der BPD.	36
Abbildung 4: Makroangiographien der rechten Lunge	42
Abbildung 5: Durchmesser der zentralen Unterlappenarterie der rechten Lunge	43
Abbildung 6: Mikroangiographie der rechten Lunge von Kontrolle Nr. 2.....	44
Abbildung 7: Mikroangiographie der rechten Lunge von Patient Nr. 2.....	45

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1: Definition der BPD nach Jobe AH et al. (2001)	11
Tabelle 2: Demographische, klinische und Autopsie-Daten	26
Tabelle 3: Herz- und Lungengewicht bei Autopsie	35
Tabelle 4: Morphometrische Analyse von Strukturen der Größenordnung 75 - 150 μm Durchmesser	38
Tabelle 5: Morphometrische Analyse von Strukturen der Größenordnung 25 - 75 μm Durchmesser	40
Tabelle 6: Berechnung der alveolären Oberfläche und Oberflächendichte	41

Verzeichnis der Abkürzungen

ARDS	akutes Atemnotsyndrom (acute respiratory distress syndrome)
A_T	Fläche des Testareals
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
CLD	chronische Lungenkrankheit (chronic lung disease)
CPAP	kontinuierlich positiver Atemwegsdruck (continuous positive airway pressure)
CPIP	chronische Lungeninsuffizienz bei Frühgeborenen (chronic pulmonary insufficiency of prematurity)
ELBW	extrem niedriges Geburtsgewicht (extremely low birth weight)
FiO_2	Sauerstoffanteil der Atemgasmischung (fraction of inspired oxygen)
ges.	gesamt
HMD	Hyaline-Membranen-Krankheit (hyaline membrane disease)
I_a	Anzahl der Schnittpunkte (number of intercepts)
IPPV	intermittierende Positivdruckbeatmung (intermittent positive pressure ventilation)
KM	Kontrastmittel
li.	links
LSHBP	anhaltend ausgeheilte Form der bronchopulmonalen Dysplasie (long-standing healed BPD)
D	
L_T	Gesamtlänge der horizontalen und vertikalen das Gitternetz bildenden Linien des Testgitters (test-line-length)
$N(A_a)$	Numerische Flächendichte (numerical areal density)
n.d.	keine Daten
n_A	Anzahl der Alveolen
NCLD	neonatale chronische Lungenerkrankung (neonatal chronic lung disease)
NIH	nationales Gesundheitsinstitut (National Institute of Health)
p	Korrekturfaktor für die Rückberechnung des Volumens aus der paraffinierten Lunge zur formalinfixierten Lunge
PA	Pulmonalarterien
PAH	pulmonale arterielle Hypertonie
paO_2	arterieller Sauerstoffpartialdruck
pCO_2	Kohlendioxid-Partialdruck
PDA	persistierender Ductus arteriosus
PMA	postmenstruelles Alter
pO_2	Sauerstoffpartialdruck
RDS	Atemnotsyndrom (respiratory distress syndrome)
re.	rechts
ROS	reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species)
S_a	Oberfläche der Alveolen
SSW	Schwangerschaftswoche
Sv_a	Oberflächendichte der Alveolen
VEGF	vaskulär-endothelialer Wachstumsfaktor (vascular endothelial growth factor)
V_{formol}	Volumen der formalinfixierten Lunge
V_{para}	Volumen der paraffinierten Lunge

1 Einleitung

1.1 Historischer Überblick

Der Begriff „Bronchopulmonale Dysplasie“ (BPD) wurde erstmals 1967 von Northway et al. (Northway WH Jr et al., 1967) zur Beschreibung der klinischen, radiologischen und pathologischen Veränderungen eines Krankheitsbildes eingeführt, das bei Frühgeborenen auftrat, die zur Therapie des Respiratory Distress Syndromes (RDS) über einen Zeitraum von 24 Stunden oder länger eine intermittierende positive Überdruckbeatmung mit Sauerstoff in einer Konzentration von 80-100 % erhielten.

Es handelt sich bei der BPD um eine chronische Erkrankung der Lunge während der Neonatalperiode, die bedingt durch eine respiratorische Ateminsuffizienz die Zufuhr von Sauerstoff erforderlich macht. Das RDS des Frühgeborenen (neonatales Atemnotsyndrom, primäres Surfactantmangelsyndrom) ist pathophysiologisch durch einen primären Surfactantmangel in einer strukturell unreifen Lunge charakterisiert. Daraus resultiert ein typisches klinisches Erscheinungsbild mit Tachy- und/oder Dyspnoe sowie erhöhtem Sauerstoffbedarf.

Im Zuge der Fortschritte im Bereich der Neonatologie, die zu einer deutlichen Reduktion der Sterblichkeit während der Neonatalperiode führten, hat sich das Krankheitsbild der BPD mehr und mehr hin zu einer chronischen Erkrankung der Lunge im Kindesalter entwickelt.

1.2 Definitionen

Im Laufe der letzten vier Jahrzehnte hat der Begriff BPD einen Bedeutungswechsel erfahren, der aus Veränderungen im Krankengut schwerkranker und extrem unreifer Frühgeborener wie auch aus veränderten pathophysiologischen und therapeutischen Konzepten herrührte.

Unter dem Begriff Bronchopulmonale Dysplasie werden morphologische Veränderungen im Bereich der Bronchialschleimhaut, des Lungenparenchyms und des Interstitiums einschließlich des pulmonalen Gefäßbettes zusammengefasst.

Man versteht darunter eine chronische inflammatorische Atemwegserkrankung Neugeborener mit typischen Auffälligkeiten im Röntgenbild und einer Abhängigkeit von Sauerstoff und/oder künstlicher Beatmung über den 28. Lebensstag hinaus (Shennan AT et al., 1988) Es kommt zu einem irreversiblen Umbau des Lungenparenchyms mit

weitgehender Zerstörung der Lungenbläschen. Das Krankheitsbild betrifft fast ausschließlich Frühgeborene, die bei hohem Sauerstoffpartialdruck maschinell beatmet werden.

Klinische und epidemiologische Daten lassen den Schluss zu, dass sowohl pränatale als auch postnatale Infektionen und ein persistierender Ductus Arteriosus (PDA) eine ganz wesentliche Rolle hinsichtlich der Entstehung der BPD spielen.

Die in den letzten Jahrzehnten deutlich verbesserte Überlebensrate auch sehr unreifer Frühgeborener ist in erster Linie einer hoch entwickelten intensivmedizinischen Therapie zu verdanken. Je unreifer die Lunge bei Neugeborenen ist, desto höher ist das Risiko, eine BPD zu entwickeln. Daher bedingt eine verbesserte Überlebensrate der sehr unreif geborenen Kinder zwangsläufig eine höhere Inzidenz der BPD.

Die „klassische BPD“, wie sie 1967 von Northway et al. mit den typischen klinischen Zeichen wie Tachypnoe und Giemen einschließlich den radiologischen Veränderungen beschrieben wurde, betraf Frühgeborene mit einem schweren RDS, die eine Langzeitbeatmung unter hoher O₂-Konzentration benötigten. Sie war geprägt durch ein frühes interstitielles und alveoläres Ödem, gefolgt von einer persistierenden Entzündung sowie Fibrose und einer so genannten small airway disease. Verantwortlich für die Schäden sind sowohl die Sauerstofftoxizität, als auch die mechanische Beatmung.

Die Stadieneinteilung nach Northway (1967) unterteilte in vier Stadien:

I. Exsudativ oder akut (nach 2-4 Tagen Beatmungsdauer):

Dieses Stadium ist nicht sicher von den schweren Verlaufsformen des Acute Respiratory Distress Syndromes (ARDS) zu unterscheiden. Im Röntgenbild herrscht ein generalisiertes granuläres Muster unter Zunahme der Dichte vor, welches gut vereinbar mit den histologischen Merkmalen weitläufiger Alveolaratektasen ist. Radiologisch bestehen weiterhin deutlich ausgeprägte Kontraste zwischen luftgeblähten Bronchien und dichtem atelektatischem Lungenparenchym. Histologisch sind ausnahmslos hyaline Membranen, Hyperämie, Atelektasen und erweiterte Lymphgefäße zu finden, außerdem wenige ungleichmäßig verteilte Zilienzellen mit Metaplasien und Nekrosen der Bronchialmukosa.

II. Regeneratives Stadium (nach 4-8 Tagen Beatmungsdauer):

Radiologisch besteht nun eine fast vollkommene Verschattung beider Lungenflügel, histopathologisch sind Nekrosen bei gleichzeitig stattfindenden Reparaturphänomenen des Alveolarepithels, persistierende Hyalinmembranen und emphysematöse Alveolarverschmelzungen, zarte feine Verdickungen der Kapillarbasalmembranen und zunehmende Epithelmetaplasien zu finden.

III. Übergangsstadium in die chronische Phase (nach 8-16 Tagen Beatmungsdauer): Radiologisch bestehen vermehrt runde blasenförmige Areale mit Aufhellungen über beiden Lungenflügeln im Wechsel mit Arealen irregulärer Dichte. Histopathologisch sind nun weniger hyaline Membranen, aber persistierende Schäden am Alveolarepithel, ausgeprägte Metaplasien und Hyperplasien der Mukosa von Bronchien und Bronchiolen zu finden.

IV. Chronisches Stadium (nach mehr als 16 Tagen Beatmungsdauer):

Radiologisch sind eine Zunahme der bereits in den vorausgegangenen Stadien vorhandenen rundlichen Aufhellungen nachzuweisen, darüber hinaus eine zunehmende Kardiomegalie, oft in Verbindung mit akutem Rechtsherzversagen. Histopathologisch sind umschriebene Gruppen emphysematöser Alveolen, an einigen Stellen perimuköse Fibrose und weitläufige Metaplasien, generalisierte fokale Verdickung der Basalmembran mit deutlicher Abtrennung der Kapillaren vom Alveolarepithel und Gefäßveränderungen im Sinne einer pulmonalen Hypertonie mit Mediahypertrophie und degenerativ-regenerativen Elastinläsionen vorherrschend.

Innerhalb eines Individuums können gleichzeitig auch mehrere Stadien nebeneinander auftreten.

Die von Northway geprägte Definition, die zeitlich vor der Glukokortikoid-Lungenreife-Induktion oder anderen modernen Therapien wie beispielsweise der Surfactant-Therapie liegt, beschreibt zwar die pathologischen und radiologischen Veränderungen, sie ist jedoch unvollständig. Es ist allgemein anerkannt, dass moderne Therapieformen den Verlauf des RDS verändert haben. So ist der Stellenwert der Sauerstofftoxizität und des Barotraumas hinsichtlich der Pathogenese der BPD heute im Vergleich zu der damals von Northway beschriebenen Form geringer (Christou H et al., 2005). Der durch die Erkrankung gefährdete Patientenanteil hat sich ebenfalls verändert. Heute zählen hierzu auch Neugeborene mit extrem niedrigem Geburtsgewicht (< 1000 g), die zwischen der 23. und 28. Schwangerschaftswoche (SSW) zur Welt kommen (extremely low birth weight (ELBW)). Die Lungen dieser Kinder sind hinsichtlich der Lungen-

entwicklung kaum über das Kanalikulär- oder frühe Sacculärstadium hinaus entwickelt. Besonders in diesen Fällen ist die extrauterine Entwicklung der Lungen ein bezüglich der Pathogenese der BPD entscheidender Faktor (Christou H et al., 2005).

Der Begriff „Neonatale chronische Lungenerkrankung“ (NCLD) wurde ebenfalls zur Beschreibung der BPD angeführt, um die Reaktion der sich entwickelnden Lunge auf ihre Schädigung hin zu beschreiben.

Weiterhin wurden die Begriffe „old“ und „new“ BPD zur Differenzierung der histopathologischen Ausprägungen im Tiermodell und beim Menschen eingeführt (Jobe AJ, 1999). Später wurde auch der Begriff „Chronic pulmonary insufficiency of prematurity“ (CPIP) verwendet, um die Definition der BPD anzupassen.

1979 erweiterten Bancalari et al. die ursprüngliche Definition der BPD unter Einbeziehung von Beatmungs- und klinischen Kriterien, radiologischen Veränderungen und des O₂-Bedarfs zur Aufrechterhaltung des paO₂ > 50 mm Hg über einen Zeitraum von mehr als 28 Tagen (Bancalari E et al., 1979).

1988 postulierten Shennan et al., dass der zusätzliche O₂-Bedarf nach Erreichen des Reifealters von 36 Wochen (korrigiertes Alter) einen besseren Indikator bzgl. des pulmonalen Outcomes darstellt (Shennan AT et al., 1988).

Wenig später, im Jahre 1995, präzisierten Garland et al. die Definition nach Shennan noch durch Angabe einer definierten pulsoximetrischen O₂-Sättigung (Garland JS et al., 1995).

Das Problem aller BPD-Definitionen ist, dass die Diagnose erst retrospektiv und spät erfolgt. Klinische Frühzeichen einer sich entwickelnden BPD wie persistierende Atemnotsymptomatik, Sauerstoffabhängigkeit und typische radiologische Veränderungen können jedoch bereits schon in der ersten Lebenswoche auftreten.

Die derzeit gängige Definition wurde auf einer Konsensuskonferenz des US-amerikanischen National Institute of Health (NIH) 2001 beschlossen. Sie definiert die Schweregrade der BPD in Abhängigkeit von Schwangerschaftsalter und Ausprägung der Erkrankung je nach O₂-Bedarf und/oder Bedarf an positiver Überdruckbeatmung.

Dabei werden die Patienten - abhängig vom Gestationsalter bei Diagnosestellung - in zwei Gruppen eingeteilt:

1. Patienten mit Gestationsalter < 32 Wochen:
 - werden im Alter von 36 Wochen PMA auf das Vorhandensein einer BPD beurteilt bzw. bei Entlassung, wenn diese zuvor erfolgt.
2. Patienten mit Gestationsalter \geq 32 Wochen:
 - werden im Alter zwischen 29 und 55 Tagen nach Geburt auf das Vorhandensein einer BPD beurteilt bzw. bei Entlassung, wenn diese zuvor erfolgt.

Die Einschätzung erfolgt dann zum entsprechenden Zeitpunkt und definiert den Schweregrad der Erkrankung als leicht, mittelschwer oder schwer bei den Kindern, die Sauerstoff über einen Zeitraum von mindestens 28 Tagen und/oder andere beatmungsunterstützende Maßnahmen benötigen (Tabelle 1; Jobe AH et al., 2001).

Tabelle 1: Definition der BPD nach Jobe AH et al. (2001)

Gestationsalter	< 32 Wochen	\geq 32 Wochen
Beurteilungszeitpunkt	36 Wochen PMA oder bei Entlassung, in Abhängigkeit davon, was zuerst eintritt	> 28 Tage, < 56 Tage postnatal oder bei Entlassung, in Abhängigkeit davon, was zuerst eintritt
Therapie mit > 21 % O₂ über mindestens 28 Tage plus:		
Leichte BPD	Spontanatmung bei Raumluft im Alter von 36 Wochen PMA oder bei Entlassung	Spontanatmung bei Raumluft im Alter von 56 Tagen postnatal oder bei Entlassung
Mittelschwere BPD	Zusatzbedarf O ₂ < 30 % im Alter von 36 Wochen PMA oder bei Entlassung	Zusatzbedarf O ₂ < 30 % im Alter von 56 Tagen postnatal oder bei Entlassung
Schwere BPD	Zusatzbedarf O ₂ \geq 30 % und/oder IPPV/CPAP* im Alter von 36 Wochen PMA oder bei Entlassung	Zusatzbedarf O ₂ \geq 30 % und/oder IPPV/CPAP* im Alter von 56 Tagen postnatal oder bei Entlassung

Abkürzungen: PMA: postmenstrual age = postmenstruelles Alter, CPAP: continuous positive airway pressure = kontinuierlich positiver Atemwegsdruck, IPPV = intermittent positive pressure ventilation = intermittierende Positivdruckbeatmung

Früher gebrauchte Definitionen (Definition nach Bancalari (Bancalari E et al., 1979) sowie die Definition nach Shennan (Shennan AT et al., 1988)) werden durch diese Definition wieder abgelöst. Auch der als Synonym gebrauchte Begriff neonatale chronische Lungenkrankheit (chronic lung disease, CLD) wird wieder vollständig durch den Terminus BPD ersetzt.

1.3 BPD – Epidemiologische und sozioökonomische Aspekte

Trotz Verbesserungen in der Perinatalmedizin bleibt die BPD nach Frühgeburt ein großes Problem in der klinischen Versorgung. Durch die Zunahme der Überlebenshäufigkeit extrem frühgeborener Kinder präsentiert sich die BPD als eine der sichtbarsten Folgen der neonatalen Intensivmedizin, von der beispielsweise in den USA jährlich etwa 10 000 Neugeborene betroffen sind. Unter Anwendung der Definition „O₂-Bedarf in der 36. postmenstruellen Woche“, liegt die Inzidenz der BPD bei Kindern mit einem Geburtsgewicht von weniger als 1000 g bei ca. 30 % (Lemons JA et al., 2001). Bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von mehr als 1200 g und einer Schwangerschaftsdauer von mehr als 30 Wochen ist das Krankheitsbild heutzutage selten (Lemons JA et al., 2001).

Bei bis zu 50 % der Kinder mit BPD wird innerhalb des ersten Lebensjahres auf Grund von Atemwegsproblemen ein erneuter Krankenhausaufenthalt notwendig (Bhandari A et al., 2003). Die durch häufige Arztbesuche und stationäre Aufenthalte verursachten medizinischen und sozioökonomischen Auswirkungen sind beträchtlich. Ursache hierfür sind meist wiederholte Atemwegsinfekte, reaktive Atemwegserkrankungen, obere Atemwegsobstruktionen, Cor pulmonale oder unter geringer Belastung auftretende körperliche Erschöpfung. In vielen Fällen dauern die Symptome bis ins Adoleszenz- oder Erwachsenenalter an.

Durch Einführung der Surfactant-Therapie, der Glukokortikoid-Lungenreife-Induktion, neuer Beatmungsstrategien, eines aggressiven Managements bei offenem Ductus arteriosus, verbesserter Ernährung und anderer Therapien hat sich der klinische Verlauf bei Frühgeborenen mit RDS in den letzten 30 Jahren grundlegend verändert. Während der Ära vor Einführung der Surfactant-Therapie stand die BPD direkt in Beziehung zur Schwere eines RDS und trat oft bei Frühgeborenen mit im Vergleich zu heute relativ hohem Geburtsgewicht und relativ reifem Geburtsalter auf (in der Originalarbeit Northways lag das Geburtsalter in der 34. SSW, das Geburtsgewicht bei 2200 g und die Mortalität bei 67 %).

Seit dieser Zeit hat die Mortalität frühgeborener Kinder deutlich abgenommen mit einer kontinuierlich ansteigenden Überlebensrate der extrem Frühgeborenen (24.-26. SSW) von anfänglich 10 % auf jetzt 50 %.

1.4 Pathogenese

Die Pathogenese der BPD ist multifaktoriell und das BPD-Risiko steigt mit abnehmendem Geburtsgewicht. Bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht zwischen 500 und 699 g liegt die Wahrscheinlichkeit hierfür bei ca. 85 %. Bei extrem unreifen Frühgeborenen können schon eine minimale Exposition gegenüber O₂ und die mechanische Beatmung allein Ursache für die Entstehung der BPD sein. Eine 1999 veröffentlichte Studie konnte zeigen, dass ca. 2/3 der Patienten, die eine BPD entwickeln, bei Geburt eine nur gering ausgeprägte Ateminsuffizienz hatten (Charafeddine L et al., 1999).

An einem bestimmten Punkt ihrer Entwicklungsphase scheint die Lunge am empfindlichsten zu sein, nämlich unmittelbar vor Erreichen des Zeitpunktes, an dem die respiratorische Einheit aus den so genannten primitiven Alveolen (Sacculi) besteht. Dementsprechend stellt der Zeitpunkt, an dem der Lungenschaden eintritt, einen ganz entscheidenden Faktor hinsichtlich der Ätiologie der BPD dar.

Entzündungsreaktionen, die beispielsweise durch mechanische Beatmung oder Sauerstofftoxizität ausgelöst werden, aber auch Infektionen, sind für die Pathogenese bedeutsam, wobei den Entzündungsreaktionen hier eine führende Rolle zuzukommen scheint. Ein direkter Zellschaden entsteht durch O₂-Radikale, die in der noch unreifen Lunge nicht durch Antioxidansmechanismen entgiftet werden können (Frank L et al., 1987; Georgeson GD et al., 2002).

Frühgeborene mit entsprechendem Gestationsalter sind aufgrund ihrer strukturellen und funktionellen Lungenunreife deshalb einem ganz besonderen Risiko ausgesetzt. Ursachen hierfür sind die noch mangelnde Ausprägung von Strukturen zur Stabilisierung der Atemwege, ein Mangel an Surfactant, eine verminderte Compliance, die noch nicht entwickelten antioxidativen Abwehrmechanismen und die ebenfalls noch nicht ausreichend ausgeprägte Fähigkeit der Bronchialdrainage (Randell SH et al., 2000).

Eine weitere Rolle spielen Traumata durch mechanische Beatmung. Ursächlich hierfür scheinen neben zu hohen Beatmungsdrucken vor allem auch zu hohe Beatmungsvolumina zu sein. Diese führen zu einem erniedrigten pCO₂. Das Risiko an BPD zu erkranken steigt in Assoziation mit einer Verminderung des pCO₂ bei mechanischer Beatmung (Garland JS et al., 1995; Kraybill EN et al., 1989). Positive Überdruckbeatmung bewirkt typischerweise Schäden an den Bronchiolen (Gorenflo M et al., 1995). Es kann hierbei auch zu Einrissen der Bronchiolen kommen, was sich

dann auch in Form eines erhöhten Atemwegwiderstandes manifestiert. Auch wird durch intratracheale Intubation die noch nicht ausreichend ausgeprägte Fähigkeit der Bronchialdrainage weiter verschlechtert.

Aktuelle Daten aus Tierversuchen und klinischen Studien weisen darauf hin, dass eine Störung des Gefäßwachstums über eine verminderte Alveolarisierung zu einer Veränderung der Lungenarchitektur führen kann. Eine „Downregulierung“ angiogener Wachstumsfaktoren, die auch das Krankheitsbild der BPD kennzeichnet, könnte daher einen ganz entscheidenden Faktor in der Pathogenese der BPD darstellen (Stenmark KR et al., 2005, Thébaud B et al., 2007). Eine besondere Bedeutung scheint in diesem Zusammenhang dem „vascular endothelial growth factor“ (VEGF) zuzukommen, der im Fokus zahlreicher Studien steht, die zeigen, dass eine Störung des VEGF-Signaltransduktionsmechanismus in engem Zusammenhang mit der Pathogenese der BPD steht (Bhatt AJ et al., 2001; Lassus P et al., 2001).

Entwicklungen, die das Überleben von Endothelzellen begünstigen bzw. eine Steigerung des endothelialen Zellwachstums oder eine Verbesserung ihrer Funktion zur Folge hätten, könnten so neue therapeutische Ansätze zur Prävention der BPD darstellen (Stenmark KR et al., 2005).

1.4.1 Risikofaktoren

Neben einem erniedrigten Geburtsgewicht, einem offenem Ductus arteriosus (PDA) und einer Sepsis tragen die mechanische Beatmung und das durch sie hervorgerufene Trauma in den meisten Fällen zur Entstehung der BPD bei. Die in den einzelnen Kliniken bzgl. der mechanischen Beatmung unterschiedlich gehandhabten Konzepte stellen möglicherweise einen der Gründe dar, warum die Erkrankung an verschiedenen Kliniken in so unterschiedlicher Häufigkeit auftritt.

1.4.1.1 Sauerstofftoxizität

Dauer und Intensität der Sauerstoffexposition und der positiven Überdruckbeatmung gelten als wesentliche Risikofaktoren bzgl. der Entwicklung einer BPD. Es wurden verschiedene Studien durchgeführt, die den Einfluss von O₂-Toxizität und Barotrauma hinsichtlich der Pathologie der BPD untersuchten (Rosan RC, 1975; Bonikos DS et al., 1976). Wenngleich Daten für einen präzisen Schwellenwert oder einen kumulativ schädigenden Effekt des Sauerstoffs auf die Lunge des unreifen Neonaten fehlen

(Speer CP, 2009), belegen doch tierexperimentelle Daten eindeutig den toxischen Effekt des Sauerstoffs auf das sich entwickelnde Lungenparenchym (Coalson JJ 1997; Bonikos DS et al., 1975).

Untersuchungen an unreif geborenen Pavianen und Schafen konnten zeigen, dass eine Beatmung mit hohen O₂-Konzentrationen und hohen Beatmungsdrucken zu Zellschäden der unreifen Lunge und zu Störungen der alveolären und der Gefäßentwicklung führt (Coalson JJ et al., 1999; Coalson JJ, 2000). Diese Zellschäden werden durch O₂-Verbindungen, die sogenannten „reactive oxygen species“ (ROS), verursacht, dazu zählen freie Sauerstoffradikale, H₂O₂ und freie Wasserstoffradikale. Die dadurch ausgelösten Effekte wirken über eine Enzyminaktivierung und die Lipidperoxidation.

Bei ausgereifter Entwicklung schützen Substanzen wie z. B. antioxidative Enzyme, verschiedene Vitamine oder Spurenelemente vor der Toxizität des Sauerstoffs. Unreif geborene Kinder verfügen aber, bedingt durch noch nicht ausreichend vorhandene Nährstoffe bzw. eine noch nicht ausreichend abgeschlossene Enzymentwicklung, nur über inadäquate antioxidative Substanzen (Frank L et al., 1987; Georgeson GD et al., 2002).

1.4.1.2 Infektion

Hier spielen vor allem nosokomial erworbene Infektionen eine Rolle, besonders im Zusammenhang mit einem PDA. So konnten Rojas et al. in einer Studie an 119 Kindern mit extrem niedrigem Geburtsgewicht (ELBW), bei denen initial nur eine milde Ausprägung eines RDS oder gar kein RDS vorlag, nachweisen, dass die BPD signifikant häufiger bei gleichzeitigem Vorliegen eines PDA (odds ratio 6,2) oder bei Sepsis (odds ratio 4,4) auftrat. Bei Vorliegen beider Komplikationen erhöhte sich die odds ratio für eine BPD auf 48,3. (Rojas MA et al., 1995). Auch intrauterin erworbene Infektionen scheinen von Bedeutung zu sein, möglicherweise bedingt durch eine erhöhte Konzentration proinflammatorischer Cytokine in der Amnionflüssigkeit (siehe Übersichtsarbeit durch Speer CP, 2009).

1.4.1.3 Entzündung

Makrophagen, Lymphozyten und Thrombozyten setzen multiple Entzündungsmediatoren frei (z. B. Cytokine, Plättchenfaktoren), die mit Endothel- und Epithelzellen inter-

agieren. So konnten Özdemir et al. nachweisen, dass bei beatmeten Frühgeborenen, die später eine BPD entwickeln, innerhalb der ventilerten Bereiche zahlreiche proinflammatorische und chemotaktische Faktoren in höherer Konzentration vorhanden sind (Ozdemir et al., 1997).

1.5 Pathologie

Die BPD entwickelt sich dynamisch, die Histopathologie ist heterogen.

In Abhängigkeit vom Schweregrad der Krankheit entstehen Veränderungen an Luftwegen, Interstitium und Gefäßsystem. Bei ausgeprägter bronchialer Schädigung kommt es häufig zu Metaplasien oder einem Verlust des respiratorischen Epithels, glandulären Hyperplasien und Hypertrophien der Bronchialmuskulatur. Zu den frühesten Zeichen gehört neben einem alveolären und interstitiellen Ödem eine durch exogene Noxen (Beatmung, hohe O₂-Konzentration, Infektionen) ausgelöste Entzündungsreaktion auf dem Boden einer strukturellen und funktionellen Lungenunreife. Es finden sich außerdem nekrotische Typ-I-Zellen, die durch Typ-II-Zellen ersetzt werden. Durch die Entzündungsreaktion aktivierte Mediatoren wie z. B. Interleukin 1, 6 und 8, sowie Tumornekrosefaktor α lösen eine Kaskade weiterer Prozesse aus, die über eine erhöhte Gefäßpermeabilität mit nachfolgendem Lungenödem zu einer weiteren Zunahme des O₂-Bedarfs und einer Intensivierung der Beatmung (die initial beteiligten exogenen Noxen) führen. Mit zunehmender Dauer der Erkrankung entwickelt sich ein fibroblastischer Prozess mit diffusen Atelektasen und interstitieller Fibrose sowie lokalen emphysematösen Bereichen, der nicht mehr reversibel ist und zu einer weitgehenden Zerstörung der Alveolen führt.

In anderen Fällen bestehen aufgrund einer Emphysembildung von Beginn an eine ausgeprägte Lungenüberblähung mit Schleimhautnekrosen der Luftwege, Epitheldysplasien und peribronchialen fibrotischem Umbau. Die Pulmonalgefäße sind durch diesen Umbauvorgang ebenfalls in Form einer Rarefizierung und Mediahypertrophie betroffen. Als Folge hiervon kann eine ausgeprägte pulmonale Hypertonie entstehen.

Durch die Fortschritte innerhalb der Neonatologie hat sich auch das Bild der BPD in den vergangenen Jahrzehnten deutlich verändert. Zur Beschreibung dieser Veränderungen haben sich die Begriffe „old“ BPD und „new“ BPD etabliert:

Die „old“ und die „new“ BPD unterscheiden sich morphologisch. Dies ist bedingt durch Faktoren, die unterschiedlich zusammenhängen, sich auf verschiedene Arten auswirken

und die Lunge zu verschiedenen Reifungszeitpunkten schädigen können (Baraldi E et al., 2007).

1.5.1 „Old“ BPD

Die pathologischen Veränderungen und die Definition der BPD seit Northway (Northway WH Jr. et al., 1967) wurden im Wesentlichen aus Untersuchungen an Lungen von Kindern gewonnen, die während der akuten Phase der BPD, also innerhalb eines Zeitraumes von wenigen Wochen bis zu wenigen Monaten, verstorben waren.

Die ursprünglichen Studien beschrieben einen kontinuierlichen Prozess mit sich deutlich voneinander unterscheidenden Stadien der Erkrankung, angefangen von einem akuten Lungenschaden bzw. einer exsudativen Phase mit diffusem Lungenödem, proteinreichem Zelldebris und Entzündung hin zu einer proliferativen Phase mit strukturellen Merkmalen einer chronischen Lungenerkrankung.

Zu den typischen histologischen Merkmalen der BPD gehörten neben einer chronischen Entzündung auch eine Zerstörung des Zilienapparates mit ausgeprägten Plattenepithelmetaplasien der Bronchien und Bronchiolen, eine nekrotisierende Bronchiolitis, eine Parenchymfibrose, eine Hyperplasie der submukösen Drüsen und eine Zunahme der peribronchialen Muskulatur. Ebenso sind eine Vermehrung des elastischen Gewebes, eine Verdickung des Interstitiums, Gefäßveränderungen der kleinen und mittelgroßen Pulmonalarterien und –arteriolen sowie Ödeme der Atemwege beschrieben.

Andere Beobachtungen betonten das grobe Pflastersteinmuster der Lunge, das durch unterschiedliche Areale mit Atelektasen, ausgeprägten Narbenbereichen und einer lokalen Hyperinflation (Emphysem) gekennzeichnet ist oder in früheren Autopsiestudien eine Mesenchymalverdickung mit vermehrtem Zellanteil und zerstörte Septen mit alveolärer Hypoplasie. Dies ging bei den kleinen Pulmonalgefäßen auch mit einem Strukturumbau infolge pulmonaler Hypertension und einer Hyperplasie der glatten Gefäßmuskulatur einher, einschließlich einer sich nach distal ausbreitenden glatten Gefäßmuskulatur in solche Gefäße, die normalerweise keine Gefäßmuskulatur aufweisen (Stenmark KR et al., 2005).

1986 konnte Stocker erstmals Untersuchungsergebnisse an Lungen von 28 Kindern publizieren, die im Alter zwischen 3 und 40 Monaten verstorben waren und die alle während der Neonatalperiode an einer moderaten bis schweren Verlaufsform der BPD erkrankt waren (Stocker JT, 1986). Die pathologischen Veränderungen dieser Lungen

bezeichnete er als die anhaltende, ausgeheilte Form der BPD („long-standing healed BPD“, LSHBPD). Bei 68 % dieser Kinder war die Todesursache eine progrediente respiratorische Insuffizienz als direkte Folge vorausgegangener pulmonaler Schäden. Das hauptsächliche Merkmal aller LSHBPD-Lungen aber war eine Alveolarseptenfibrose, deren Ausmaß innerhalb einer Lunge deutlich unterschiedlich war. In einzelnen Bereichen herrschte eine teilweise moderate bis schwere Fibrose bei gleichzeitig normal belüfteten oder sogar überblähten Bereichen in benachbarten Arealen. Stocker postulierte, dass die Ursache für diese morphologisch unterschiedlichen Befunde möglicherweise in einer gleichzeitig auftretenden nekrotisierenden Bronchiolitis begründet ist, die in den akuten BPD-Stadien deutlich ausgeprägt ist und so die distalen Lungenbezirke durch Okklusion der Bronchiolen vor einer erhöhten O₂-Spannung und vor erhöhten Beatmungsdrücken schützt (Stocker JT, 1986).

1.5.2 „New“ BPD

Neuere Daten von an BPD verstorbenen Kindern zeigen neue pathologische Auffälligkeiten. Es gibt zunehmend Belege dafür, dass Kinder mit einer chronischen Lungenerkrankung nach Frühgeburt einen anderen klinischen Verlauf nehmen bzw. die zu Grunde liegende Pathologie eine andere ist als dies ehemals in der „Prä-Surfactant-Ära“ der Fall war (Charafeddine L et al., 1999; Rojas MA et al., 1995; Husain AN et al., 1998; Bancalari E et al., 2000; Coalson JJ, 2000).

Hodgman (Hodgman JE, 2003) stellte eine auffällige Ähnlichkeit der „new“ BPD zu dem 1960 von Wilson und Mikity beschriebenen Wilson-Mikity-Syndrom (Wilson MG, Mikity VG, 1960) fest.

Im Unterschied zur klassischen BPD entwickelt sich die „new“ BPD bei Frühgeborenen, die im Allgemeinen nur kurzzeitig und mit relativ niedrigem FiO₂ (Sauerstoffanteil der Atemgasmischung) während der ersten Lebensstage beatmet werden.

Die klassischen progredienten Stadien, die die BPD zu Beginn charakterisierten, kommen heute dank der Veränderungen des klinischen Managements nur noch selten vor. Die Definition der BPD hat sich daher deutlich verändert. Ursprünglich war sie durch die Schwere eines akuten Lungenschadens charakterisiert, jetzt ist sie primär definiert als „eine Störung des distalen Lungenwachstums“ (Jobe AH, 1999).

Pathologische Zeichen schwerer Lungenschäden mit deutlichen fibroproliferativen Veränderungen sind selten geworden. Im Autopsiegut stellen sich heute eher gleich-

mäßiger verteilte und weniger geschädigte Lungenareale dar, Zeichen eines gestörten Alveolar- und Gefäßwachstums treten dagegen stärker hervor. Diese Merkmale zeigen auch das Muster einer alveolären Verplumpung im Sinne vergrößerter distaler Lufträume und eines verminderten Wachstums des Kapillarbettes mit Gefäßen, die wegen ihrer zentralen Lage im verdickten Mesenchym oft als dysmorph beschrieben werden. Husain et al. konnten beispielsweise zeigen, dass es bei Kindern, die mit Surfactant behandelt worden waren, zu einer eher gleichmäßigeren Belüftung und einer weniger ausgeprägten Fibrose der Lunge kam. Auch waren hier im Gegensatz zu Lungen von Kindern, die kein Surfactant erhalten hatten, die kleinen und großen Atemwege ohne Metaplasien, ohne Hypertrophie der glatten Muskulatur und ohne Fibrose. In beiden Gruppen kam es aber gleichermaßen zu einer Verzögerung der azinären Entwicklung (Husain AN et al., 1998).

Coalson et al. zeigten, dass es bei frühgeborenen Pavianen, die mechanisch beatmet wurden und eine BPD entwickelten, zu einer permanent verminderten Anzahl der Alveolen kam. Trotz Vergrößerung derselben führte dies insgesamt zu einer Reduktion der Lungengesamtoberfläche der Überlebenden mit BPD (Coalson JJ et al., 1995). Hislop AA et al. konnten 1990 bei Frühgeborenen, die am Atemnotsyndrom des Frühgeborenen (Hyaline membrane disease, HMD) gestorben waren, eine Reduktion sowohl der Anzahl der Alveolen, als auch der Arterien nachweisen, sodass diese Arbeitsgruppe davon ausging, dass das Alveolen/Arterien-Verhältnis bei Kindern mit chronischer Lungenerkrankung insgesamt eher gleich bleibt (Hislop AA et al., 1990).

Bei mit Surfactant behandelten Neugeborenen mit extremem Untergewicht (ELBW) besteht der charakteristische pathologische Befund in einer Störung der Lungenentwicklung. Eine verminderte Septierung und alveoläre Hypoplasie hat die Entwicklung in bzgl. ihrer Anzahl zwar reduzierten, aber gleichzeitig größeren Alveolen zur Folge. Ebenso kommt es zu einer gestörten Entwicklung der kleinsten Gefäße (Coalson JJ, 2003).

Diese Beschreibungen stehen im Gegensatz zu den Veränderungen bei BPD, wie sie vor Einführung der Surfactant-Therapie gesehen wurden.

Die so genannte „new“ BPD der „Postsurfactant-Ära“ stellt somit eine Störung der Lungenentwicklung mit einer Veränderung der Lungenstruktur, des Wachstums und der Funktion der distalen Lufträume und der Gefäßarchitektur dar (siehe Übersichtsarbeit durch Speer CP, 2009).

Physiologisch lassen diese Beobachtungen auf eine deutlich verminderte Alveolar-Kapillar-Oberfläche schließen, die dann zu einem verminderten Gasaustausch führt und zahlreiche Komplikationen nach sich ziehen kann, von denen hier als wichtigste zu nennen wären:

- respiratorisches Versagen
- pulmonale Hypertonie
- Cor pulmonale

Diese Komplikationen stellen eine häufige Ursache hinsichtlich der Sterblichkeit der Kinder mit BPD dar. Letztendlich spielt das Herzversagen im Rahmen eines Cor pulmonale eine ganz bedeutende Rolle.

1.6 Pulmonale Hypertonie bei BPD

Während des kanalikulären Reifungsstadiums findet ein wesentlicher physiologischer Umbau der Wandstruktur der pulmonalen Widerstandsarterien statt. Dabei kommt es zu einer Abnahme der Dicke der glatten Gefäßmuskulatur der Media. ((Haworth SG et al., 1983), siehe Abbildung 1 A). Gleichzeitig nimmt, durch Angiogenese und den Umbau der Gefäße bedingt, auch die Anzahl der nicht-muskularisierten intraazinären Pulmonalarterien zu. Dies führt im weiteren Verlauf zu einer Erhöhung des Gesamtquerschnittes und in Hinblick auf die postnatal ebenfalls veränderten Signaltransduktionsmechanismen der vasodilatatorisch/vasokonstriktorisches Endothelfaktoren schließlich zu einer Verringerung des pulmonalarteriellen Druckniveaus.

Im Unterschied hierzu kommt es durch die genannten Schädigungsmechanismen der Lunge bei BPD zu einer Zunahme der Muskularisierung intraazinärer Gefäße und zu einer Verdickung der Media (siehe Abbildung 1 B; Gorenflo M et al., 1991, Hislop AA. et al., 1990).

Diese Veränderungen führen im weiteren Verlauf zur Entstehung der pulmonalen arteriellen Hypertonie (PAH).

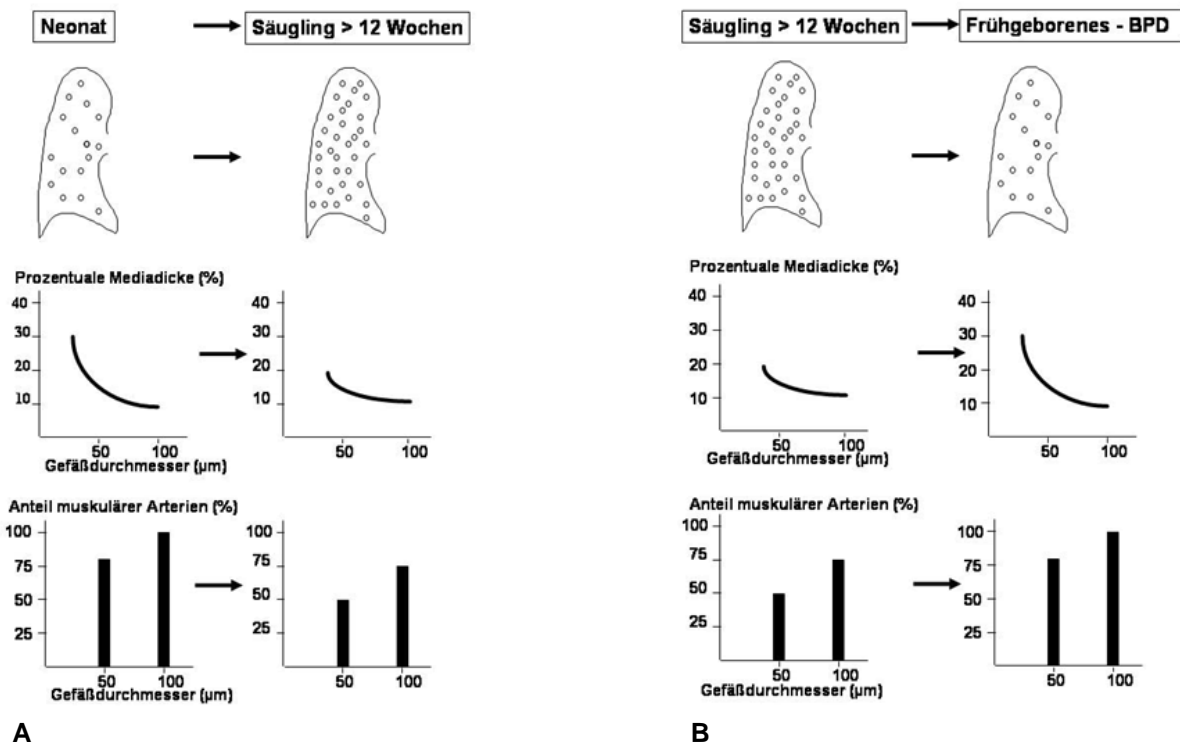


Abbildung 1: Postnataler pulmonaler Gefäßumbau (nach Haworth SG et al., 1983)
 A: normaler postnataler pulmonaler Gefäßumbau
 B: Veränderungen im Rahmen der BPD

Die PAH ist mit einer Zunahme der glatten Muskulatur der Pulmonalarterien assoziiert (Hislop A, 2005) und eine sehr schwerwiegende Komplikation der BPD. Nach neuester Definition (Dana Point 2008) spricht man von pulmonaler arterieller Hypertonie bei Drucksteigerungen in der Lungenstrombahn von > 25 mm Hg. Eine Erhöhung von 21–24 mm Hg wird als Borderline-Hypertonie bezeichnet. Der Begriff „belastungsabhängige pulmonale Hypertonie“ (Zunahme des Drucks > 30mmHg bei körperlicher Anstrengung) wird aufgrund fehlender Standardisierung hingegen nicht mehr verwendet.

Die PAH ist mit einer hohen Mortalität assoziiert, besonders bei Patienten mit ausgeprägter Form (Fourot JC et al., 1980; Halliday H et al., 1977; Goodman G et al., 1988; Khemani E. et al., 2007). Daten zur Prävalenz sind allerdings nicht bekannt.

Physiologischerweise bewirkt eine O₂-Sättigung > 95 % eine maximale pulmonale Vasodilatation.

Eine alveoläre Hypoxie, ausgelöst beispielsweise durch eine Senkung des pO₂ in der Einatemluft oder eine verminderte Ventilation von Alveolen, führt dagegen zu einer deutlichen pulmonalen Vasokonstriktion. Diese auch als Liljestrand-Euler-Effekt bezeichnete hypoxische Vasokonstriktion wird bei Unterschreitung eines alveolären pO₂

von ca. 60-70 mm Hg wirksam. Die hypoxische Vasokonstriktion wird wahrscheinlich durch das Schließen der O₂-sensitiven K⁺-Kanäle ausgelöst, wodurch es zu einer Reduktion des Kaliumausstroms aus der glatten Muskulatur der Lungengefäße und damit zu einer Depolarisation mit nachfolgender Öffnung von spannungsgesteuerten Ca²⁺-Kanälen kommt. Die dadurch erhöhte intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration führt schließlich zu einer Zunahme des Gefäßtonus.

Die durch die Konstriktion hervorgerufene Querschnittsverminderung der Pulmonalarterien führt zu einer Widerstandserhöhung und dadurch zu einer Erhöhung des Druckes in den Pulmonalarterien. Intakte Gefäße in gut belüfteten Arealen können einen ungleichen Blutfluss tolerieren. Bei der BPD aber herrscht eine ungleichmäßige Obstruktion der Atemwege vor, die zum so genannten „gas trapping“ und einer Überblähung mit einer abnormen Verteilung der Ventilation und zu einer Hyperperfusion führt. Die Kapazität der hyperperfundierten Gefäße ist aber bereits ausgeschöpft und die Gefäße sind maximal dilatiert, daher bewirkt der vermehrte Blutfluss einen erhöhten Druck und eine erhöhte rechtsventrikuläre Nachlast. Der hohe Druck in den Mikrogefäßen führt außerdem zu einer gesteigerten Flüssigkeitsfiltration in das perivaskuläre Interstitium, der erhöhte Druck im rechten Vorhof inhibiert die Drainage der pulmonalen Lymphflüssigkeit und kann dadurch auch die Entstehung eines Lungenödems fördern (Bhakta KY et al., 2009). Bei länger bestehender alveolärer Hypoxie hat der dann über einen langen Zeitraum bestehende erhöhte Pulmonalarteriendruck Veränderungen innerhalb des pulmonalen Gefäßbettes zur Folge.

1.7 Cor pulmonale bei BPD

Als Cor pulmonale bezeichnet man eine Rechtsherzhypertrophie bedingt durch eine übermäßige Druckbelastung bei Hochdruck im kleinen Kreislauf (pulmonale arterielle Hypertonie).

Die dargestellten bei der BPD vorliegenden pathologischen und pathophysiologischen Veränderungen, die zur Entstehung der pulmonalen arteriellen Hypertonie führen, resultieren als chronisch pulmonale Hypertonie in einer Rechtsherzhypertrophie (Cor pulmonale). Die sich im weiteren Verlauf daraus entwickelnde Kardiomegalie kann so schließlich zum Rechtsherzversagen führen.

2 Fragestellung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Schädigung der Lunge, speziell die Schädigung des pulmonalen Gefäßsystems bei BPD, zu untersuchen. In der histopathologischen, quantitativ morphometrischen Analyse des Lungengewebes verstorbener Kinder mit BPD sollten insbesondere folgende Fragen überprüft werden:

Kommt es im Rahmen der Pathogenese der BPD zu einer Entwicklungsstörung der azinären Gefäße?

Werden Luftwege, Parenchym, Interstitium und Gefäße gleichermaßen oder in unterschiedlicher Ausprägung geschädigt?

3 Material und Methoden

Die Untersuchungen erfolgten an Autopsiegut von Patienten, die am Institut für Paidopathologie der Freien Universität (FU) Berlin (Prof. Dr. Martin Vogel) und am Institut für Rechtsmedizin der FU obduziert wurden. Die Patienten mit BPD waren an den Kliniken der FU Berlin in den Jahren 1990-1993 behandelt worden. Nach klinischen Kriterien bestand eine Frühgeburtlichkeit mit chronischer Lungenerkrankung in Form einer BPD nach den zu dieser Zeit geltenden Kriterien (Bancalari E et al., 1979). Die Einwilligung der Eltern zur Autopsie war jeweils Vorbedingung zur Durchführung derselben. Naturgemäß war ein Vergleichskollektiv lungengesunder altersgleicher Kinder nicht verfügbar. Dennoch konnten aus dem Autopsiegut des Instituts für Paidopathologie und des Instituts für Rechtsmedizin Fälle ausgewählt werden, die den folgenden Kriterien entsprachen:

1. akutes Versterben ohne vorbekannte chronische Lungenerkrankung
2. keine Beatmung über die akute Reanimationssituation hinaus
3. keine Zeichen einer vorbestehenden Lungenerkrankung in der Histologie

Unter Berücksichtigung dieser Kriterien ergab sich das folgende Kollektiv.

3.1 Patienten-und Kontrollkollektiv

Insgesamt erfüllten fünf Patienten mit BPD (Patientengruppe) und zwei akut verstorbene Kinder als Vergleichsgruppe die Eingangskriterien. Zur Untersuchung und Auswertung kamen jeweils die bei der Autopsie entnommenen thorakalen Organe Herz und Lunge.

3.2 Demographische und klinische Parameter

Die relevanten klinischen Parameter und die zur Verfügung stehenden Daten über Beatmungsdauer und Verlauf sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Zur Untersuchung kam das Autopsiegut von Frühgeborenen der 26. bis 28. SSW im Alter von 2–13 (Median: 5,2) Monaten mit einem Geburtsgewicht von 560 - 1135 (Median: 770) g. Es wurden jeweils altersgleiche oder zumindest altersgruppengleiche, akut verstorbene Kinder als Kontrolle gegenübergestellt (siehe Tab. 2). Aufgrund der – für die klinischen Daten – als retrospektiv anzusehenden Datenerhebung wurden die Beatmungsdrucke und angegebenen Sauerstoffkonzentrationen aus den zur Verfügung stehenden Patienten-

tenakten entnommen. Die Beatmungsdrucke wurden hierbei über den Zeitraum der maschinellen Beatmung gemittelt, bei den Sauerstoffkonzentrationen wurde die Endkonzentration angegeben, da diese den Endzustand der Patienten besser charakterisiert als gemittelte Werte.

Tabelle 2: Demographische, klinische und Autopsie-Daten - Gegenüberstellung altersentsprechender Kontrollen und Patienten mit BPD

Patient / Kontrolle Nr.	Gestationsalter (Wochen)	Geburtsgewicht (g)	Perzentile Geburtsgewicht	Überlebensdauer (M = Monate) (T = Tage)	Grundleiden / letale Komplikationen	Positiver inspirat. Druck (Pi) [cm H ₂ O]	FiO ₂	Gewicht bei Obduktion (g)	Perzentile Gewicht bei Obduktion
Altersgruppe: 2 Monate									
Pat. Nr. 1	26 + 4	1135	<3.	2M + 3T	BPD chronisch respirat. Insuffizienz / Cor pulmonale	10 - 20	1	1960	<3.
Kontr. Nr. 1	40	3500	<85.	2M	SIDS	--	--	5820	<85.
Altersgruppe: 5 – 13 Monate									
Pat. Nr. 2	26 + 3	560	<3.	5M	BPD chronisch respirat. Insuffizienz / Cor pulmonale	20 - 30	1	2020	<3.
Pat. Nr. 3	28 + 0	770	<3.	5M + 6T	BPD chronisch respirat. Insuffizienz / Bronchopneumonie	10 - 33	1	2880	<3.
Pat. Nr. 4	27 + 2	980	<3.	13M	BPD chronisch respirat. Insuffizienz / Cor pulmonale	17 - 26	1	7400	<3.
Pat. Nr. 5	27 + 5	598	<3.	12M	BPD chronisch respirat. Insuffizienz / Cor pulmonale Sepsis	15 - 27	1	6120	<3.
Kontr. Nr. 2	39	3340	<85.	5M	akute Aspiration / SIDS?	--	--	6820	<50.

Abkürzungen: FiO₂ = fraction of inspired oxygen (Sauerstoffanteil der Atemgasmischung); respirat. = respiratorisch

3.3 Techniken der Aufarbeitung von Herz und Lunge

Bei Sektion wurden die Lungen entfernt und anschließend nach Füllung der Pulmonalarterien beider Lungen mit Kontrastmittel (KM) (Bariumsulfat, Mircopaque®) in 4 % gepuffertem Formalin fixiert. Die Atemwege wurden ebenfalls mit gepuffertem Formalin (aber ohne Kontrastmittel) unter definiertem Druck (30 cm H₂O) bis zur sichtbaren Ausdehnung der Lunge instilliert.

Nach ausreichender Fixierung, die über drei Wochen mit wöchentlichem Wechsel der Formalinlösung durchgeführt wurde, erfolgte die Bestimmung des Lungengewichts. Anschließend wurden die Lungenvolumina mittels Wasserverdrängung bestimmt.

Hierzu wurde das Volumen der fixierten Lunge (V_{formol}) mit dem Messzylinder als Wasserverdrängungsvolumen gemessen. Dies geschah durch Füllung eines entsprechend großen Messzylinders mit einem bestimmten Volumen (beispielsweise 100 ml). In vorsichtigen genau definierten Schritten (beispielsweise 10 ml-weise) wurde nun bis zur nächsten gut sichtbaren Marke aufgefüllt. Das Volumen errechnete sich dann aus dem Gesamtvolumen minus der hinzugefügten und minus der primär eingebrachten Flüssigkeitsmenge (als Bsp.: 100 ml waren im Zylinder, 35 ml Wasser mussten zusätzlich hinzugefügt werden um bis zur 200-ml-Marke aufzufüllen. Das gemessene Lungenvolumen würde somit $200 - 100 - 35 = 65$ ml betragen). Die Messungen erfolgten vorsichtig, wichtig war hierbei, dass kein Kompressionsdruck auf die Lunge ausgeübt wurde.

Aus Gründen der Praktikabilität erfolgte die Angiographie und morphometrische Auswertung an der rechten Lunge, da diese der Angiographie am ehesten zugänglich war. Daher sind im Folgenden die Werte der fixierten Lunge für die rechte Lunge angegeben.

Das jeweilige Herzgewicht wurde ebenfalls nach Fixation bestimmt. Anschließend erfolgte die Bestimmung der Ventrikelratio nach Fulton (Fulton RM et al., 1952; Hislop A et al., 1972).

Das Herz wurde hierfür in den üblichen Schnittführungen präpariert, d. h. ausgehend von der Herzbasis wurde der rechte Ventrikel am Septumrand abgesetzt und dann zur Pulmonalklappe hin freigelegt. Ausgehend von der Herzbasis wurde der linke Ventrikel zur Spitze hin am Septumrand eingeschnitten und anschließend zur Aortenklappe hin

vom Septum abgetrennt. Dann wurden die Vorhöfe und Klappen von der Ventrikelmuskulatur abgetrennt. Bestimmt wurde nun isoliert das Gewicht:

- a) des rechten Ventrikels (R)
- b) des Septums (S)
- c) des linken Ventrikels (L)

Schließlich wurde die Ratio von $(L + S) / R$ bestimmt. Diese liegt im Normalfall zwischen 2,3:1 und 3,3:1. In üblicher Weise wurden das Gesamtgewicht des Herzens, die Dicke der Ein- und Ausflussbahn und die Klappenweite bestimmt.

Im Anschluss wurden die Lungen nun in der Sagittalebene in Scheiben mit einer Dicke von ca. 5-8 mm geschnitten und die einzelnen Schnitte dann vermessen.

3.3.1 Histologische Techniken

Im weiteren Verlauf erfolgte nun die Einbettung der Lungenscheiben in flüssiges Paraffin.

Anschließend wurden die paraffinfixierten Scheiben vermessen und der Verkleinerungskoeffizient zwischen Formalin- und Paraffinfixierung bestimmt.

Um einen Korrekturfaktor für die Verhältnisse vom formalinfixierten zum paraffinierten Stadium zu erhalten, wurden mehrere definierte Strecken an der betreffenden Lungenscheibe (slice) vor und nach der Gewebefixierung gemessen, beispielsweise die Länge der Lungenunterkante und die Höhe der Lunge (von der Basis bis Apex) sowohl im formalinfixierten, als auch im paraffinierten Zustand.

Unter Berücksichtigung der so vermessenen Strecken ergab sich beispielsweise bzgl. des Verhältnisses des formalinfixierten Zustandes zum paraffinierten Zustand für die Länge ein Korrekturfaktor von $p = 1,39$ (d. h. die paraffinierte Lunge war um den Faktor $1/1,39 = 0,72$ in der Länge geschrumpft, bezogen auf das Volumen also um den Faktor $0,72^3 = 0,32$). Hieraus ließ sich dann das Volumen der paraffinierten Lunge (V_{para}) berechnen: $V_{para} = (1/p)^3 \times V_{formol}$.

Im Anschluss wurden mithilfe eines Schlittenmikrotoms aus dem paraffinfixierten Gewebe Großflächenschnitte mit einer Dicke von ca. 50 μm angefertigt (i. d. R. ein Großflächenschnitt pro Scheibe). Zur differenzierten Darstellung der zu untersuchenden Strukturen wurden diese dann mit einer Färbung nach Elastika van Gieson gefärbt.

Ein 200 μm dicker Schnitt wurde unmittelbar danach von dem Paraffin-fixierten Block gezogen. Dieser diente zur Durchführung der Mikroangiographie.

3.3.2 Morphometrische Techniken

Die randomisierte und repräsentative Auswahl des Lungengewebes zur Quantifizierung morphometrisch erfassbarer Parameter erfolgte nach dem Prinzip des „stratified random sampling of lung tissue“ nach Dunnill (Dunnill MS, 1962). Das Hilum wurde hierbei ausgespart. In Abhängigkeit der Flächengröße der einzelnen Schnitte wird durch diese Methode eine unterschiedliche Anzahl der auszuwertenden Felder festgelegt.

Prinzip:

Mithilfe eines auf Folie gezeichneten Gitternetzes, das in Quadrate mit einer Kantenlänge von jeweils 5 mm (Fläche: 25 mm²) eingeteilt wurde, wurden die entsprechenden Samples auf dem Objektträger markiert. Beginnend in einer oberen Ecke des Schnittes wurde nun fortlaufend jedes 3. rechts hiervon liegende Quadrat als Region zur morphometrischen Bestimmung festgelegt und markiert.

Die mikroskopische morphometrische Auswertung wurde nun mittels eines sich im 12,5er Okulars des Mikroskops befindenden Gitternetzes und eines 2,5er- bzw. 10er-Objektives vorgenommen. Das Gitternetz bestand aus insgesamt 100 Feldern und somit 121 Schnittpunkten, der Abstand zwischen zwei Schnittpunkten betrug jeweils 92,0 µm. Die morphometrische Analyse erfolgte nun in den zuvor per stratified random sampling nach Dunnill (Dunnill MS, 1962), wie oben beschrieben, festgelegten Arealen.

Die Quantifizierung der Gewebestrukturen wurde nun mithilfe des Gitternetzes in zwei unterschiedlichen Vergrößerungen (siehe Abbildung 2) durchgeführt.

Folgende Strukturen wurden quantitativ erfasst und anhand der sich jeweils an den 121 Schnittpunkten befindlichen Strukturen bei Verwendung des 2,5er-Objektives entsprechend bewertet als:

- I. Parenchym ohne erkennbare Bronchien, Bindegewebsnarben
- II. Bindegewebe
- III. Bronchien
- IV. Pulmonalarterien

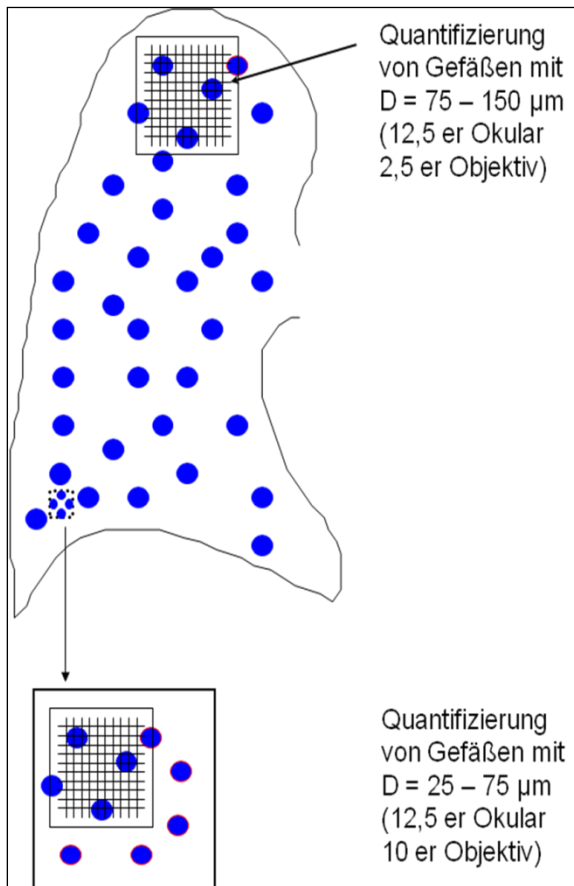


Abbildung 2: Quantifizierung der Gewebestrukturen mit Hilfe des Gitternetzes in 2 Vergrößerungen. Beispielfhaft sind die Lungengefäße als blaue Kreise dargestellt.

In gleicher Weise erfolgte dann die Bewertung bei stärkerer Vergrößerung mit dem 10er-Objektiv ebenfalls an den an 121 Schnittpunkten befindlichen Strukturen (siehe Abbildung 2) als:

- a) Alveolarraum
- b) Alveolarwand
- c) Alveolarductluft
- d) Bronchiolus
- e) Bindegewebe
- f) muskuläre Pulmonalarterie
- g) partiell muskuläre Pulmonalarterie
- h) Pulmonalvene

Zusätzlich erfolgte mittels des beschriebenen Testgitters bestehend aus zehn horizontalen und zehn vertikalen Schnittgittern die Bestimmungen der Alveolenzahl und des Alveolarintercept.

3.3.2.1 Bestimmung der Alveolaroberfläche und der numerischen Flächendichte der Alveolen

Die volumetrischen Messungen wurden ebenfalls mit dem beschriebenen Gitternetz erhoben. Hier zählte jede Ecke als Punkt, an dem ein Messwert (d. h. Vorhandensein oder Fehlen einer Struktur) erhoben werden muss. Mit diesem sogenannten Punktzählverfahren wurde nun für jeden Punkt (jede Ecke) überprüft, ob Alveolen vorhanden sind oder nicht. Die insgesamt 22 Linien (10 horizontale und 10 vertikale Schnittgitter) des Testgitters können hierbei auch als zusammenhängende Strecke verstanden werden, die sich in ihrer Länge bestimmen lässt. Die Gesamtlänge wurde nun als sogenannte „test-line-length“ (L_T) angegeben.

Es wurde jeder Schnittpunkt der Alveolarstruktur mit dieser Linienkonstruktion unseres Gitternetzes als Punkt gezählt. Aus dieser als „number of intercepts“ (I_a) bezeichneten Zahl ließ sich die Oberfläche der Alveolen (S_a) wie folgt errechnen:

1. Die Oberflächendichte der Alveolen ergibt sich aus:

$SV_a = 2 \times I_a / L_T$. Das Ergebnis wird in 1/cm angegeben.

2. Die Oberfläche der Alveolen im formalinfixierten Gewebe ließ sich dann wie folgt bestimmen:

$$S_a = V_{\text{para}} \times SV_a \times p$$

wobei p den Korrekturfaktor für die Rückberechnung des Volumens aus der paraffinierten Lunge zur formalinfixierten Lunge darstellt.

Numerische Flächendichte: (numerical areal density) $N(A_a)$:

Prinzip: Für jedes Feld unseres Gitternetzes wurde bestimmt, ob ein Alveolus es schneidet oder nicht. Es wurden hierbei die gleichen Regeln wie bei der hämatologischen Leukozytenbestimmung angewandt. Das heißt: „Treffer“ am linken oder unteren Schnitttrand wurden prinzipiell nicht gezählt, während „Treffer“ am oberen oder rechten Schnitttrand zählten.

Die Fläche des Testareales, also des Gitternetzes im Gesamten (A_T) wurde aus den Längen seiner Achsen errechnet (siehe oben) und dann konnte aus der Anzahl der Alveolen im Testareal (n_A) die numerische Flächendichte bestimmt werden:

$$N(A_a) = n_A / A_T \text{ (in Zahl der Alveolen/cm}^2\text{)}$$

3.3.3 Makro- und mikroangiographische Techniken

Zunächst wurden Übersichtsangiographien (Makroangiographien) der Lungen mit dem Siemens Mammomat® (Siemens, Erlangen, Deutschland) angefertigt. Hierbei wurden die mit Bariumsulfat kontrastierten Lungengefäße dargestellt. Die Lunge wurde jeweils plan auf die Mammographiefolie gelegt und es erfolgte eine Aufnahme mit 32 kV in mehreren Belichtungsschritten (70-120 mAs). Die Auswertung erfolgte nun wie von Davies und Reid (1970) vorgeschlagen: In definierten Abständen wurde jeweils vom Hilus aus die nach peripher laufende Ober-, Mittel- und Unterlappenarterie der rechten Lunge hinsichtlich des Durchmessers vermessen. Dies erfolgte mit Hilfe eines sich im Okular befindenden Maßstabes und der Lupenvergrößerung.

Mit den später gewonnenen 200 µm-Schnitten der formalinfixierten, gefäßinjizierten Lungen wurden die mikroangiographischen Bilder gewonnen: Hierbei wurde in der Dunkelkammer das Präparat direkt auf den hochauflösenden Film (Kodak High Resolution Film (ESTAR Thick Base) SO-343)) aufgebracht und lichtdicht verpackt. Dann erfolgte die Belichtung in einem speziell für experimentelle Zwecke entwickelten Röntgengerät (HP-43805 Faxitron®; Hewlett Packard USA) unter Berücksichtigung der von Myers B et al. (1985) publizierten Vorgehensweisen (Film-Focus-Abstand 32 cm, Belichtungsdauer 4 Minuten, 110 kV). Anschließend erfolgte die Entwicklung mit Entwickler Kodak D-19 über 5 min bei 20 °C, Spülen mit Aqua dest für 30 sec bei 20 °C, dann zuletzt die Fixierung in Fixing Bath F5 für 1 min bei 20 °C.

3.3.4 Statistik

Aufgrund der geringen Fallzahl erfolgt die Darstellung der Daten deskriptiv als Median (range). Für den Vergleich der untersuchten Parameter wurden altersgleiche oder zumindest altersgruppengleiche Patienten und Kontrollen verglichen. Die Überprüfung der Hypothese, dass für die untersuchten morphometrischen Parameter ein Unterschied zwischen dem jeweiligen Patient und der altersgruppengleichen Kontrolle besteht, erfolgte mit einem nicht-parametrischen Testverfahren (Mann-Whitney). Das Signifikanzniveau wurde für $P < 0,05$ festgelegt. Die statistische Analyse erfolgte computergestützt mit Hilfe der Software SigmaStat® Version 3.1 (SPSS Inc., Illinois, USA).

4 Ergebnisse

4.1 Makroskopische und histologische Befunde

Die Patienten zeigten sämtlich das Vollbild der BPD mit bereits makroskopisch sichtbarem Pflastersteinrelief an der Lungenoberfläche und entsprechenden emphysematösen Veränderungen. Das Herz wies bei der Mehrzahl der Patienten eine Dilatation und Hypertrophie des rechten Ventrikels auf. Die Fulton-Ratio (Fulton RM et al., 1952) war bei vier der fünf Patienten unter den kritischen Wert von 2.3 verringert, was den Befund der Rechtsherzhypertrophie erhärtete (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Herz- und Lungengewicht bei Autopsie – Fulton-Ratio (1952)
Gegenüberstellung altersentsprechender Kontrollen und Patienten mit BPD

Patient / Kontrolle Nr.	Lungengewicht vor Fixierung (g)	Lungengewicht rechte Lunge post Fixierung (g)	Lungenvolumen rechte Lunge post Fixierung (ml)	Herzgewicht vor Fixierung (g)	Fulton-Ratio
Altersgruppe: 2 Monate					
Pat. Nr. 1	ges.: 67,2 re.: 46,2 li.: 21,0	45	52,7	28,9	2,21
Kontr. Nr. 1	ges.: 115 re.: 60 li.: 55	80	85,4	37	n. d.
Altersgruppe: 5 – 13 Monate					
Pat. Nr. 2	ges.: 86,4 re.: 64,0 li.: 22,4	85,7	74,4	21,4	1,6
Pat. Nr. 3	ges.: 73 re.: 41 li.: 32	43,6	43	29,7	3,46
Pat. Nr. 4	ges.: 175,5 re.: 105 li.: 70,5	197,0	265,7	126	1,4
Pat. Nr. 5	ges.: 251,2 re.: 172 li.: 79,2	148,0	152,3	53,4	2,07
Kontr. Nr. 2	ges.: 113 re.: 58 li.: 55	91,0	131	55	n. d.

Abkürzungen: ges. = gesamt; li. = links, re. = rechts; n. d. = keine Daten

Histologisch zeigten sich neben Atelektasen und Arealen mit Überblähung die typischen Veränderungen wie Inflammation und Fibrose (Abbildung 3). Bei den Pulmonalarterien kam es zu einer Zunahme der Mediadicke, diese wurde jedoch nicht quantifiziert. Diese Befunde sind von der gleichen Arbeitsgruppe in anderen Serien bereits quantifiziert worden (siehe hierzu die Publikationen aus der Arbeitsgruppe um M Gorenflo in *Pediatr Pathol.* 1991).

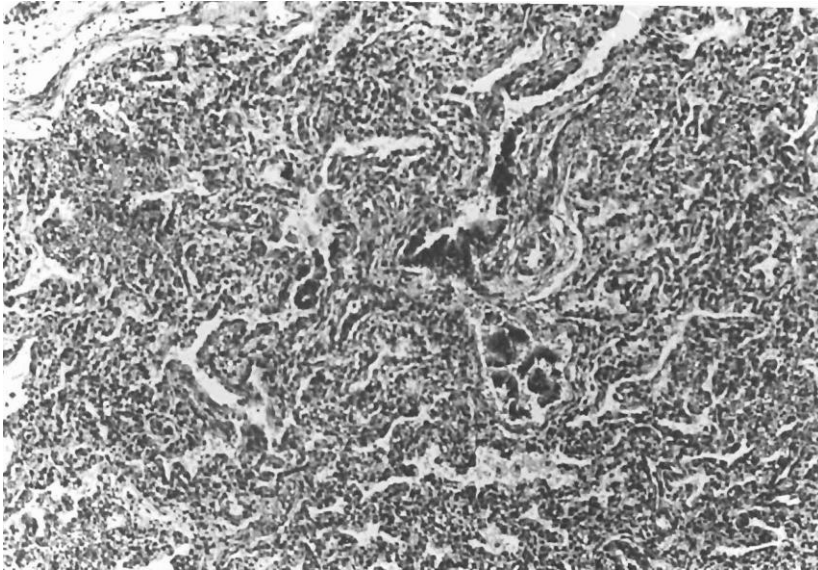


Abbildung 3: Histologisches Bild der BPD. In der Abbildung überwiegen reparative Veränderungen (zellreich) mit Atelektase und Verdickung der Alveolarsepten.

4.1.1 Morphometrie

Das Punkt-Zählverfahren für die Parameter konnte an insgesamt 72 Schnitten bei fünf Patienten und zwei Kontrollen jeweils an der rechten Lunge durchgeführt werden.

Hierbei kamen pro Patient 5-15 (Median: 9) Schnitte und pro Kontrolle jeweils 12 Schnitte zur Auswertung. Es wurden zwischen 1 und 37 (Median: 9) untersuchte Areale pro Schnitt und zwischen 51 und 263 (Median: 83) Areale pro untersuchtem Fall für die Auswertung berücksichtigt. Diese Daten repräsentieren daher einen Querschnitt aus 193358 gemessenen Einzelpunkten.

Die gemittelten Werte für die Parameter Parenchym, Bindegewebe, Bronchien und Pulmonalarterien in der Vergrößerung mittels des 12,5er-Okulars und des 2,5er-Objektives sind in Tabelle 4 als Median [range] aufgelistet. Die Auflistung der Ergebnisse erfolgt hierbei jeweils in Gegenüberstellung mit der altersspezifischen Kontrolle.

4.1.1.1 Quantitative Erfassung von Gewebestrukturen der Größenordnung 75-150 µm Durchmesser (Tabelle 4)

Hierbei zeigte sich eine signifikante Zunahme des Anteils an Bindegewebe beim Vergleich des zwei Monate alten Säuglings mit BPD (Pat. Nr. 1) mit der altersgleichen Kontrolle (Kontrolle Nr. 1) bzw. für Pat. Nr. 2 und für Pat. Nr. 4 im Vergleich mit Kontrolle Nr. 2 (siehe Tabelle 4).

Bei der Verteilung der als Teile des Bronchialbaums zu quantifizierenden Strukturen war nur bei Pat. Nr. 3 eine signifikante Zunahme im Vergleich zu Kontrolle Nr. 2 ($p = 0,005$) nachweisbar.

Die Anzahl der Pulmonalarterien zeigte bei dem zwei Monate überlebenden Frühgeborenen eine signifikante Abnahme. In der Altersgruppe 5-13 Monate war dies nicht mehr nachzuweisen, die Flächendichte der Pulmonalarterien unterschied sich hierbei nicht mehr signifikant von der Kontrolle. Ein Patient (Pat. Nr. 4) wies eine leicht erhöhte Anzahl an Pulmonalarterien auf.

Das als Lungenparenchym ohne erkennbare primär bindegewebige Strukturen und Luftwege zu quantifizierende Gewebe zeigte sich bei dem zwei Monate alten Patienten mit BPD nicht unterschiedlich zur Kontrolle. Hingegen wiesen vier von vier Patienten der Altersgruppe zwischen 5 und 13 Monaten eine Verringerung dieses Anteils auf.

Tabelle 4: Morphometrische Analyse von Strukturen der Größenordnung 75 - 150 µm Durchmesser - Gegenüberstellung altersentsprechender Kontrollen und Patienten mit BPD. Signifikante Unterschiede (Mann-Whitney, $p < 0,05$) sind grau unterlegt.

Patient / Kontrolle Nr.	Luftwege (%)	Bindegewebe (%)	Pulmonalarterien (%)	Parenchym (%)
Altersgruppe: 2 Monate (p-Werte im Vergleich mit Kontrolle Nr. 1)				
Pat. Nr. 1	4,6 [1,3 - 10,1]	9,2 [5,6 - 25,8]	2,9 [1,3 - 4,4]	77,4 [70,1 - 87,1]
p-Wert	0,833	0,010	0,013	0,422
Kontr. Nr.1	4,1 [2,7 - 6,8]	2,0 [0,6 - 11,6]	6,3 [1,7 - 9,1]	81,2 [70,2 - 84,9]
Altersgruppe: 5 - 13 Monate (p-Werte im Vergleich mit Kontrolle Nr. 2)				
Pat. Nr. 2	3,2 [0,8 - 7,3]	6,5 [2,2 - 13,8]	4,8 [1,0 - 9,8]	83,4 [76,4 - 91,1]
p-Wert	0,055	0,005	0,337	0,004
Pat. Nr. 3	6,1 [2,3 - 11,4]	2,1 [1,7 - 5,1]	5,4 [1,8 - 11,4]	80,3 [78,8 - 89,3]
p-Wert	0,005	0,493	0,188	0,040
Pat. Nr. 4	1,9 [0,6 - 4,6]	7,3 [2,9 - 13,2]	5,7 [3,4 - 11,6]	83,2 [74,7 - 89,7]
p-Wert	0,464	< 0,001	0,034	< 0,001
Pat. Nr. 5	1,3 [0 - 6,4]	4,0 [0,8 - 9,3]	4,4 [1,0 - 8,9]	87,1 [79,5 - 96,7]
p-Wert	0,849	0,061	0,242	< 0,001
Kontr. Nr. 2	1,5 [0,0 - 3,6]	2,5 [0,6 - 6,0]	2,2 [0,7 - 12,4]	92,9 [85,1 - 96,8]

4.1.1.2 Quantitative Erfassung von Gewebestrukturen der Größenordnung 25-75 µm Durchmesser (Tabelle 5)

Hierbei zeigte sich eine Verringerung der numerischen Flächendichte für die Alveolarräume bei gleichzeitiger Zunahme der beobachteten Wandstrukturen. In anderen Worten zeigte sich die Anzahl der als Alveolarwand zu bezeichnenden Strukturen pro Flächeneinheit erhöht, was durch das vermehrte Vorkommen auch atelektatischer Bezirke in den Lungen der Patienten mit BPD erklärt werden kann. Der Anteil der Bronchioli und Ductus alveolares unterschied sich in der Regel nicht signifikant.

Der Anteil des als Bindegewebe zu klassifizierenden Gewebes zeigte ebenso - wie schon in der schwächeren Vergrößerung - eine signifikante Zunahme bei allen Patienten.

Der Gesamtanteil der Pulmonalarterien in der Größenordnung zwischen 25 und 75 µm zeigte keinen signifikanten Unterschied, allerdings waren die Pulmonalarterien in der Regel zu beinahe 100 % als muskuläre Pulmonalarterien zu bezeichnen, während der Anteil partiell und nicht muskulärer Pulmonalarterien dieser Größenordnung verschwindend gering war. Der Anteil der Pulmonalvenen zeigte keine erkennbaren Unterschiede zwischen Kontrollen und BPD-Patienten in den beiden Altersgruppen.

Tabelle 5: Morphometrische Analyse von Strukturen der Größenordnung 25 - 75 µm Durchmesser
Gegenüberstellung altersentsprechender Kontrollen und Patienten mit BPD
Signifikante Unterschiede (Mann-Whitney, $p < 0,05$) sind grau unterlegt.

Patient / Kontrolle Nr.	Alveolarraum (%)	Alveolarwand (%)	Ductus alveolaris (%)	Bronchioli (%)	Bindegewebe (%)	Gesamtanteil an PA (%)	Anteil muskulärer PA am Gesamtanteil der PA (%)	Anteil Pulmonalvenen (%)
Altersgruppe: 2 Monate (p-Werte im Vergleich mit Kontrolle Nr. 1)								
Pat. Nr. 1	48,0 [42 - 61]	24,5 [15,2 - 31,6]	0,6 [0,0 - 2,0]	2,6 [0,5 - 6,8]	14,7 [11,3 - 27,7]	3,7 [0,3 - 8,0]	100,0 [100,0 - 100,0]	0,92 [0,61 - 6,92]
p-Wert	0,0002	0,0000	0,1956	0,5918	< 0,0001	0,5918	0,0046	0,0556
Kontr. Nr. 1	26,8 [8,3 - 43,9]	53,9 [34,7 - 58,9]	1,9 [0,0 - 6,6]	4,3 [0,0 - 14,1]	3,3 [0,2 - 10,7]	4,1 [0,0 - 11,1]	86,3 [0,0 - 100,0]	5,79 [0,00 - 33,06]
Altersgruppe: 5 - 13 Monate (p-Werte im Vergleich mit Kontrolle Nr. 2)								
Pat. Nr. 2	56,1 [25,8 - 67,3]	23,4 [11,9 - 32,0]	1,9 [0,0 - 26,7]	2,9 [1,5 - 7,7]	12,6 [3,9 - 14,5]	2,5 [0,0 - 12,3]	100,0 [83,3 - 100,0]	0,83 [0,00 - 6,508]
p-Wert	0,0013	0,0955	0,9723	0,8150	< 0,0001	0,6511	0,0037	0,6511
Pat. Nr. 3	47,8 [39,9 - 61,1]	23,9 [22,9 - 43,5]	2,7 [0,0 - 4,3]	4,3 [1,7 - 7,5]	8,8 [1,3 - 12,0]	4,4 [1,5 - 8,3]	100,0 [100,0 - 100,0]	2,72 [1,60 - 16,32]
p-Wert	0,0013	0,0013	0,7990	0,1296	0,0194	0,1946	0,0040	0,1037
Pat. Nr. 4	54,5 [48,6 - 63,3]	24,9 [18,5 - 31,0]	2,1 [0,0 - 6,5]	1,2 [0,0 - 5,6]	8,2 [1,7 - 14,7]	6,1 [0,2 - 10,54]	100,0 [93,2 - 100,0]	1,41 [0,00 - 5,27]
p-Wert	< 0,0001	0,0008	0,9809	0,9427	< 0,0001	0,0321	0,0002	0,9427
Pat. Nr. 5	52,6 [42,2 - 100,0]	30,2 [21,7 - 50,1]	0,0 [0,0 - 37,5]	0,6 [0,0 - 4,2]	8,4 [0,8 - 18,7]	4,6 [0,4 - 8,7]	100,0 [93,9 - 100,0]	1,17 [0,00 - 5,23]
p-Wert	0,0006	< 0,0001	0,0160	0,4059	< 0,0001	0,1366	0,0003	0,9362
Kontr. Nr. 2	67,0 [52,9 - 90,9]	18,8 [4,1 - 23,5]	2,7 [0,0 - 5,7]	1,1 [0,0 - 5,7]	1,2 [0,0 - 4,5]	1,6 [0,0 - 21,9]	38,5 [0,0 - 100,0]	1,00 [0,00 - 26,45]

Abkürzungen: PA = Pulmonalarterien

4.1.1.3 Oberflächendichte, Oberfläche und numerische Flächendichte der Alveolen

Aus den Ergebnissen des Punkt-Zählverfahrens ließen sich für die alveolären Strukturen die in Tabelle 6 dargestellten Werte berechnen: Alle Patienten zeigten eine durchweg niedrigere Oberflächendichte und - hieraus errechnet - dementsprechend eine stets niedrigere Oberfläche der Alveolen (siehe Tabelle 6). Da sich für jeden Patienten und jede Kontrolle aus den Daten entsprechend der Mess- und Bearbeitungsvorschrift naturgemäß nur ein Zahlenwert für die genannten Größen (Alveolaroberfläche und numerische Flächendichte der Alveolen) ergab, war eine vergleichende Statistik nicht sinnvoll durchführbar. Dennoch bleibt festzuhalten, dass unter Berücksichtigung einer Untergrenze der normalen Oberfläche anhand des niedrigsten Wertes aus beiden Kontrollen (also < 7680 für die Alveolaroberfläche und < 5648 für die numerische Flächendichte), alle bei den Patienten ermittelten Werte stets niedriger bestimmt wurden (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Berechnung der alveolären Oberfläche und Oberflächendichte anhand morphometrischer Daten und gemessener Lungen-Volumina. Gegenüberstellung altersentsprechender Kontrollen und Patienten mit BPD

Patient / Kontrolle Nr.	Oberfläche der Alveolen aus: $V_{\text{para}} \times Sv_a \times p$ (Angabe in cm^2)	Numerische Flächendichte der Alveolen aus: $N(A_a) = n_A / A_T$ (Angabe in Zahl der Alveolen / cm^2)
Altersgruppe: 2 Monate		
Pat. Nr. 1	9092	4915
<i>Kontr. Nr. 1</i>	10721	6165
Altersgruppe: 5 - 13 Monate		
Pat. Nr. 2	4194	3107
Pat. Nr. 3	5130	2966
Pat. Nr. 4	4110	3045
Pat. Nr. 5	2564	1794
<i>Kontr. Nr. 2</i>	7680	5648

Abkürzungen: A_T = Fläche des Testareals; n_A = Anzahl der Alveolen; $N(A_a)$ = Numerische Flächendichte der Alveolen; p = Korrekturfaktor (von Volumen nach Paraffin-Fixierung zu Volumen der Lunge nach Formalin-Fixierung); Sv_a = Oberflächendichte der Alveolen; V_{para} = Volumen der paraffinierten Lunge

4.1.2 Makro- und Mikroangiographie

Die Übersichtsaufnahmen der mit Bariumsulfat gefüllten Pulmonalarterien zeigten bei den Patienten mit BPD eine deutlich sichtbare Abnahme der Pulmonalarterien 4ter und 5ter Ordnung (Abbildung 4A) im Vergleich zu den Kontrollen (Abbildung 4B)

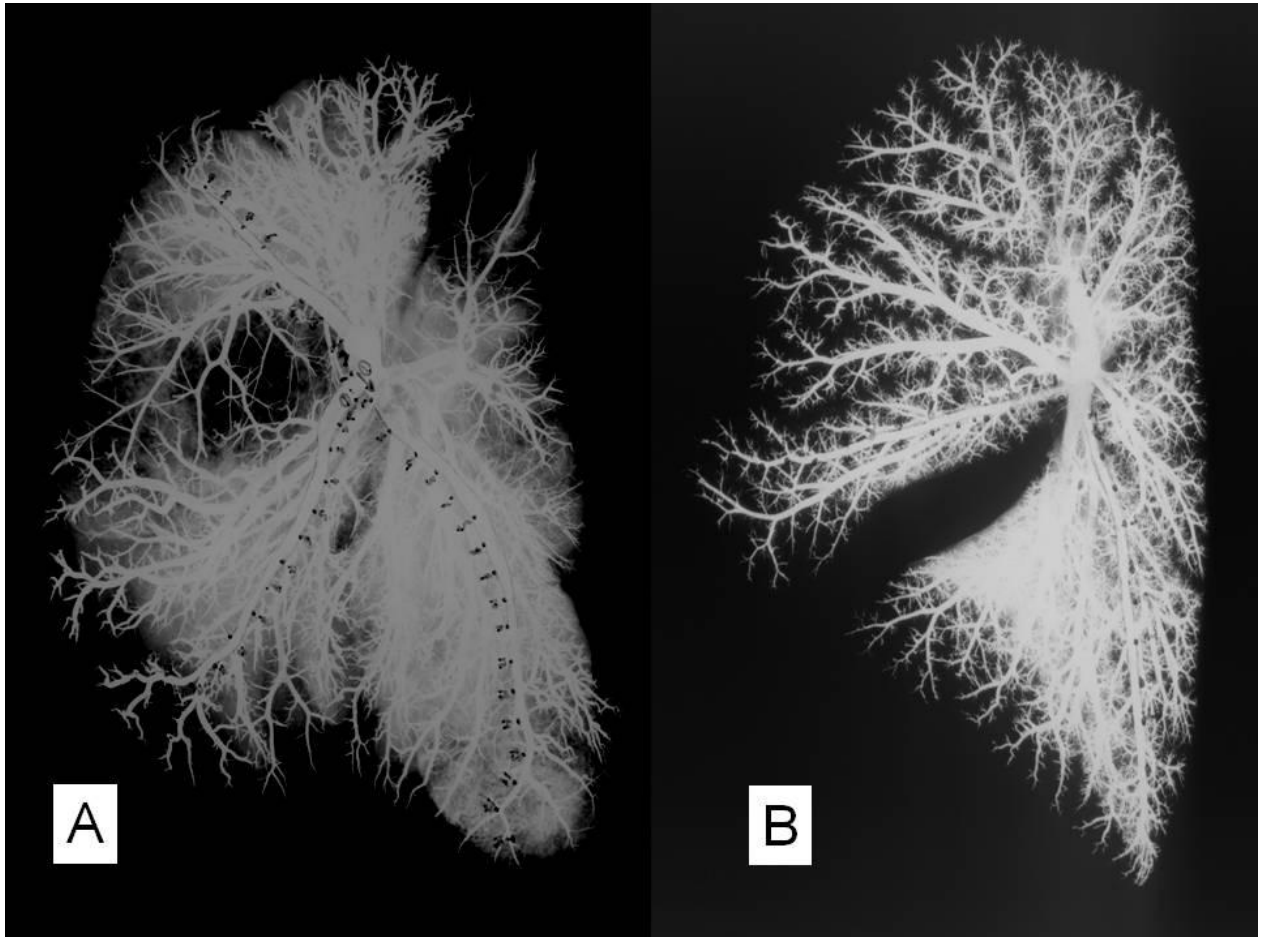


Abbildung 4: Makroangiographien der rechten Lunge von Patient Nr. 4 (A) und Kontrolle Nr. 2 (B)

Die Bestimmung des Durchmessers der zentralen Ober-, Mittel- und Unterlappenarterie der rechten Lunge zeigte, dass die proximalen Abschnitte im Vergleich zur Kontrolle in der Regel eine Dilatation aufwiesen (siehe Abbildung 5).

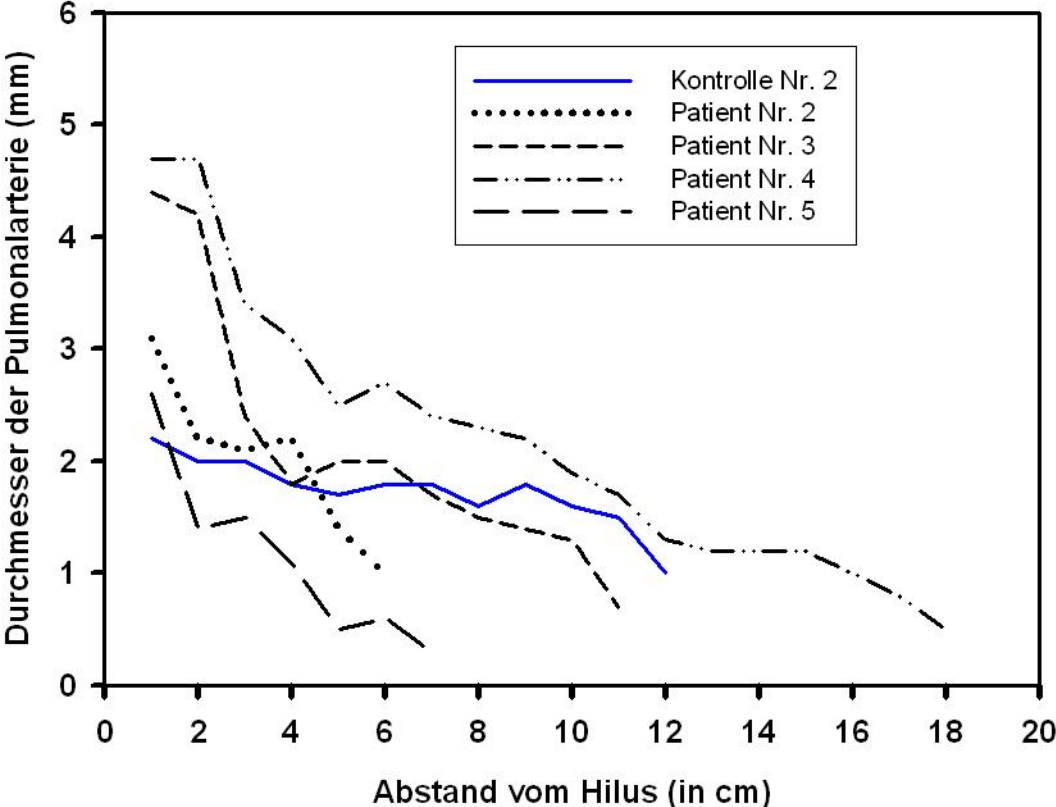


Abbildung 5: Durchmesser der zentralen Unterlappenarterie der rechten Lunge anhand makroangiographischer Messungen

Die Kontrollen zeigten einen regelhaften Aufbau der Gefäßstruktur in der Mikroangiographie (Abbildung 6). Im Vergleich hierzu zeigte sich bei den Patienten mit BPD eine deutliche Rarefizierung der distalen, noch mit dieser Technik auflösbaren Gefäßarchitektur. Dies betraf die Gefäße sechster und siebter Ordnung besonders stark. Diese Veränderung war sehr gut bei dem Patienten mit BPD und zweimonatigem Überleben nachzuweisen (siehe Abbildung 7).

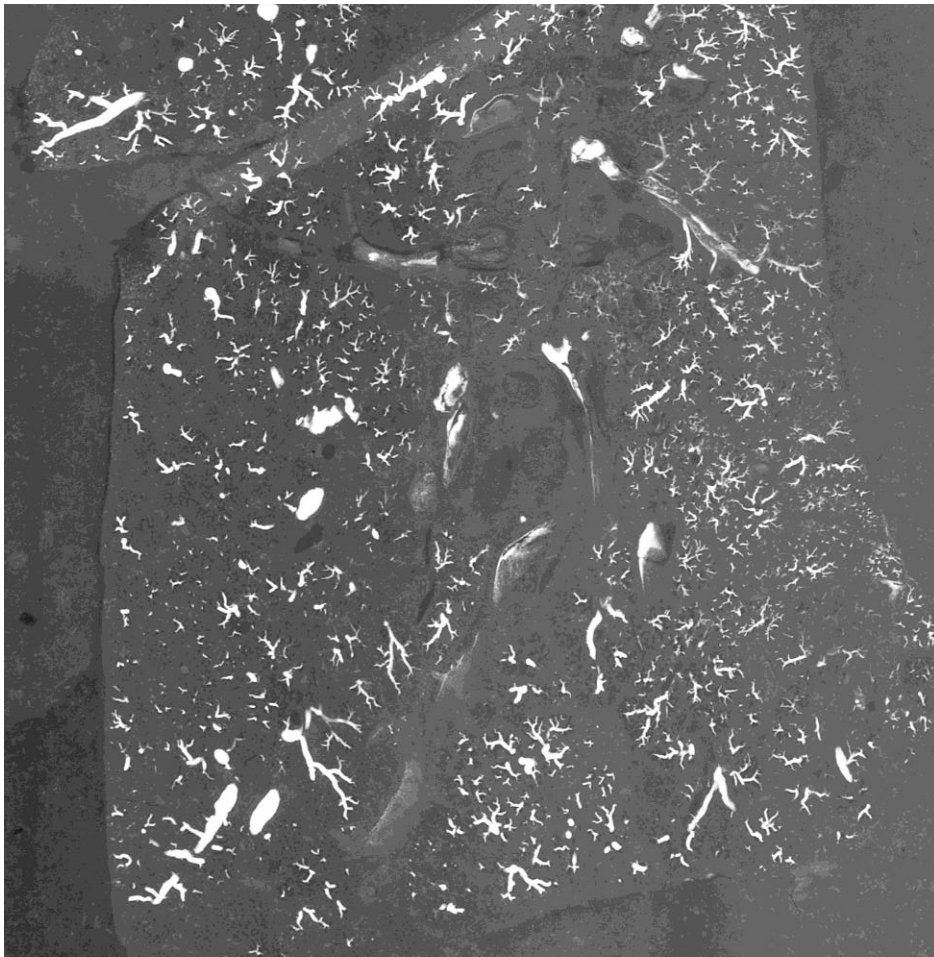


Abbildung 6: Mikroangiographie der rechten Lunge von Kontrolle Nr. 2 (Unterlappen), Alter: 5 Monate (Original 3 x vergr.). Dargestellt sind die gut entwickelten Gefäße 5ter und 6ter Ordnung



Abbildung 7: Mikroangiographie der rechten Lunge von Patient Nr. 2 (Original 3 x vergr.), Dilatation der zentralen Ober-, Mittel- und Unterlappenarterie. Rarefizierung der peripheren Gefäße

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Schädigung der Lunge bei Frühgeborenen der 26. bis 28. Schwangerschaftswoche die Luftwege und das azinäre Gefäßsystem unterschiedlich betrifft: Während bei allen untersuchten Fällen mit BPD die Zahl der Alveolen und die gesamte Alveolaroberfläche gegenüber den Kontrollen niedriger ist und bindegewebige Anteile der Lunge deutlich zunehmen, konnte für die pulmonalen Widerstandsgefäße der Größe 75–150 μm lediglich bei einer Überlebensdauer von zwei Monaten eine niedrigere Anzahl gefunden werden. Dies war auch mikroangiographisch nachweisbar. Bei längerem Überleben von 5-13 Monaten waren diese Gefäße in gleicher Anzahl wie bei einer altersentsprechenden Kontrolle nachweisbar. Für die kleineren Pulmonalarterien zwischen 25 und 75 μm zeigte sich hingegen in dieser vorgestellten Serie kein Unterschied. Die zentralen intrahilären Gefäße zeigten hingegen bei der Mehrzahl eine Dilatation, wie sie auch bei Patienten mit anderen Formen der pulmonalarteriellen Hypertonie (idiopathisch oder durch links-rechts Shunt) nachzuweisen ist.

Die bei Kindern mit BPD bisher durchgeführten autoptischen Studien zeigten im Hinblick auf die pulmonalarteriellen Veränderungen entweder eine Abnahme der Wanddicke bei gleichzeitig verstärktem Auftreten von muskularisierten intraazinären Gefäßen (Tomashefski JF Jr. et al., 1984) oder aber die bekannten Veränderungen mit Wandverdickung der Media und verstärkter Muskularisierung intraazinärer Arterien ohne Nachweis irreversibler pulmonal-vaskulärer Veränderungen wie beispielsweise plexiformen Läsionen.

Bezüglich der Anzahl der Arterien konnten Hislop et al. eine Abnahme der Gesamtzahl an Pulmonalarterien bei gleichzeitiger Abnahme der Anzahl der Alveolen nachweisen (Hislop AA et al., 1990). Dieser Nachweis erfolgte jedoch nicht quantitativ mithilfe des Punkt-Zählverfahrens, sondern indirekt über den Nachweis einer geringeren Anzahl von Alveolen bei gleichzeitiger unveränderter Ratio von Alveolen zu Arterien. Die einzelnen Pulmonalarterien zeigten in der Serie von Hislop AA et al. (1990) eine Zunahme der Dicke der Media, ein Befund, der auch von der Arbeitsgruppe um M. Gorenflo und M. Vogel gezeigt werden konnte (Gorenflo M et al., 1991). Übereinstimmend zeigten alle bisher veröffentlichten Studien eine Zunahme der Muskularisierung der Pulmonal-

arterien in der Peripherie (Tomashefski JF Jr. et al., 1984; Hislop AA et al., 1990; Gorenflo M et al., 1991). Dies konnte erneut in der vorliegenden Serie bestätigt werden. Coalson JJ et al. (2003) konnten zeigen, dass sich das pathomorphologische Bild der BPD durch die Fortschritte der modernen Geburtshilfe/Neonatologie wie beispielsweise den Einsatz von weniger aggressiven Beatmungsmethoden, die Gabe von Steroiden vor Geburt und den postnatalen Einsatz von Surfactant erheblich verändert hat (Coalson JJ, 2003).

Während bei Frühgeborenen in der Prä-Surfactant-Ära eher ein bronchiolitisches Bild mit typischen durch Atelektasen und Überdehnung geprägten Arealen, exzessiver Fibroproliferation und prominenten hypertensiv vaskulären Veränderungen dominierte, zeigten Frühgeborene der 25. bis 29. SSW einen Arrest in der Entwicklung der terminalen Luftwege, der durch wenig komplexe Alveolarisierung und Verdickung der Alveolarwände charakterisiert war (Van Lierde S et al., 1991). Margraf et al. untersuchten Autopsiepräparate von acht ehemaligen Frühgeborenen der 24. bis 30. SSW, die im Alter von 2-28 Monaten verstarben. Sie konnten ebenfalls eine starke Vereinfachung der alveolären Strukturen mit variabler, aber stets vorhandener Fibrose der Alveolarsepten nachweisen. Verglichen mit sechs Kontrollen zeigte sich in Übereinstimmung mit den hier vorgelegten Daten eine Verringerung der Gesamtzahl der Alveolen und der Alveolaroberfläche (Margraf LR et al., 1991). Das Barotrauma ist hierbei in besonderer Weise mit einer autoptisch nachweisbaren Fibrose assoziiert (Gorenflo M et al., 1995). Frühgeborene, die histologisch in einer Lungenbiopsie das Bild der „new“ BPD aufwiesen, zeigen nach Coalson (2003) auch eine Veränderung der Kapillaren der pulmonalen Strombahn. Diese werden als in der Anzahl verringert und dysmorph beschrieben, was auch Autopsiestudien von Bhatt et al. belegen (Bhatt AJ et al., 2001). Entsprechende neuere tierexperimentelle Befunde belegen die Assoziation zwischen Barotrauma und Schädigung der kapillaren Strombahn (Mokres LM et al., 2010). In der vorliegenden Arbeit konnten derartige Befunde an den Kapillaren der Lunge nicht bestätigt werden. Die Diskrepanz lässt sich dadurch erklären, dass die pathologischen Veränderungen im vorliegenden Autopsiegut der Lunge eher dem pathomorphologischen Bild der sogenannten „old“ BPD zuzuordnen waren, für die derartige Kapillarveränderungen nicht beschrieben wurden.

Das Alveolarwachstum setzt sich unter physiologischen Bedingungen auch postnatal fort (Davies G et al., 1970). Diese Entwicklung ist bei Frühgeborenen mit BPD empfindlich gestört: Die pathologischen Veränderungen bei BPD werden nach der heute

vorherrschenden pathophysiologischen Auffassung am besten durch eine Störung der Reifung („developmental arrest“) der Lunge beschrieben. Übereinstimmend mit dieser Interpretation kann die im vorliegenden Untersuchungsgut beschriebene Verringerung der Pulmonalarterien mit Durchmesser zwischen 75-150 μm bei dem Frühgeborenen der 26. + 4 SSW erklärt werden, welches im Alter von zwei Monaten verstarb: Zum Zeitpunkt der Geburt befand sich die Lunge am Übergang vom kanalikulären (16.-26. SSW) zur sakkulären (26.-32. SSW) Reifungsstadium. Im kanalikulären Stadium entwickelt sich die distale pulmonalarterielle Strombahn besonders rasch durch Vaskulogenese. Möglicherweise ist die in der vorliegenden Serie zu beobachtende Verringerung der Anzahl der pulmonalarteriellen Gefäße (D: 75-150 μm) durch eine Hemmung der Ausdifferenzierung in dieser kritischen Phase der Entwicklung zu deuten. Eine derartige Deutung entspräche jedenfalls den in der Mikroangiographie erhobenen Befunden. Die Tatsache, dass bei der Patientengruppe mit Überlebensdauer von 5-13 Monaten derartige Veränderungen nicht zu beobachten waren, könnte durch reparative Veränderungen erklärt werden, die aufgrund der längeren Überlebensdauer zeitlich verzögert vorstättgehen könnten.

Die exakten pathophysiologischen Mechanismen und der zugrunde liegende Signaltransduktionsmechanismus, die zur Schädigung der Gefäße führen, können derzeit nur schwer pathogenetisch erklärt werden. Die molekularbiologischen Aspekte einer derartigen Schädigung sind bisher nur unzureichend untersucht (Hallman M et al., 2003), dennoch bestehen Ansätze zur Erklärung dieser Phänomene, die durch experimentelle Daten belegt sind. Möglicherweise spielt der „vascular endothelial growth factor“ (VEGF) eine entscheidende Rolle. Bhatt et al. konnten eine verminderte Expression von VEGF und VEGFR-1 der Lunge bei Frühgeborenen nachweisen, die an BPD verstarben (Bhatt AJ et al., 2001). Lassus et al. konnten bei Frühgeborenen, die im Verlauf eine BPD entwickeln, ein im Vergleich zu einem Kollektiv, das keine chronische Lungenerkrankung entwickelte, niedrigeres VEGF in der Trachealflüssigkeit nachweisen (Lassus P et al., 2001). Le Cras et al. zeigten im Tierversuch an Ratten, dass eine pharmakologische Blockade des VEGF-Rezeptors das pulmonale Gefäßwachstum reduziert und zu einer Verminderung der Alveolenanzahl führt. Dadurch konnten sie nachweisen, dass VEGF für die Erhaltung und für die intakte Funktion der Alveolen notwendig ist (Le Cras TD et al., 2002). Auch Jakkula et al. konnten bei neugeborenen Ratten zeigen, dass eine Hemmung des Gefäßwachstums zu einer deutlichen Verzögerung der alveolären Entwicklung führt (Jakkula et al. 2000). Experimentell lässt sich gut darstel-

len, dass die VEGF-Expression in der Lunge durch Hyperoxie downreguliert werden kann und dass eine pharmakologische Inhibierung des VEGF-Signalweges bei neugeborenen Ratten das Lungengefäßwachstum und die Alveolisierung hemmt. Demnach ist die biologische Grundlage, wonach eine Beeinträchtigung des VEGF-Signalweges zu einem verminderten Gefäßwachstum und einer gestörten Alveolarentwicklung führt, gut etabliert (Klekamp JG et al., 1999; Maniscalco WM et al., 1997; Maniscalco WM et al., 1995; Le Cras TD et al., 2002).

Das chronische Cor pulmonale wird als schwere Komplikation der BPD im Langzeitverlauf unter Beatmung beschrieben. Obwohl Angaben über die genaue Häufigkeit nicht publiziert sind, ist jedoch hinreichend bekannt, dass sehr unreife Frühgeborene besonders betroffen sind (Fouron JC et al., 1980; Walther FJ et al., 1992; Eber E et al., 2001; Groneck P et al., 2005).

Eine Vielzahl von Patienten mit BPD stirbt am Cor pulmonale ohne dass hierbei die klassischen irreversiblen Veränderungen der Pulmonalarterien wie plexiforme Läsionen oder fibröse Intimaproliferation vorherrschen würden (Hislop AA et al., 1990). Die vorliegenden Daten bestätigen dies und belegen, dass dennoch bei einer Vielzahl der untersuchten Patienten sehr deutliche Zeichen der Rechtsherzhypertrophie vorhanden waren. Im Zusammenhang mit der mehrheitlich nicht pathologisch verringerten Anzahl von Pulmonalarterien muss daher der funktionellen vasokonstriktiven Komponente im Rahmen der alveolären Hypoxie eine besondere Bedeutung zukommen. Die in der vorliegenden Arbeit erhobenen Daten gewinnen zusätzlich an Bedeutung, weil durch sie belegt werden kann, dass zumindest bei den länger als zwei Monate überlebenden Patienten mit BPD die Anzahl der Gefäße nicht relevant verringert ist, während ihre Struktur durch Zunahme der Muskularisierung und der glattmuskulären Mediadicke deutlich zur Vasokonstriktion hin verändert wird. Im Unterschied zu den schwersten morphologischen Veränderungen des Gefäßbettes, beispielsweise bei der idiopathischen pulmonalarteriellen Hypertonie, sind die Veränderungen bei BPD prinzipiell reversibel und möglicherweise eher günstig durch eine chronisch vasodilatierende Therapie (Endothelin-Antagonisten, NO-Donoren, Prostanoiden) zu beeinflussen. In der vorliegenden Arbeit erfolgte keine morphometrische Messung der Wanddicke der Media des einzelnen Gefäßes, diese Veränderungen sind jedoch hinreichend bekannt und durch andere Publikationen der Arbeitsgruppe um M. Gorenflo und M. Vogel bereits belegt.

Ein Vergleich mit morphometrisch erhobenen Daten, die andere Gruppen an Lungen erheben konnten, zeigt, dass die in der vorliegenden Serie ermittelten Daten für die Alveolaroberfläche und die numerische Flächendichte in einer ähnlichen Größenordnung liegen. So konnte Kitaoka (1993) zeigen, dass beim Erwachsenen die numerische Flächendichte der Alveolen im Mittel mit $120/\text{mm}^2$ (entsprechend $12000/\text{cm}^2$) angegeben werden kann (Kitaoka H, 1993).

Limitationen: Die Interpretation der Daten muss mit der Einschränkung erfolgen, dass die Zahl der untersuchten Autopsiefälle klein war und die Analyse der klinischen Daten retrospektiv erfolgen musste. Ferner bleibt zu erwähnen, dass naturgemäß echte humane Kontrollen gleichen Alters und ohne jedwede Vorerkrankung nicht zur Untersuchung stehen können. In vergleichbaren Serien wie beispielsweise der durch Husain AN in 1998 publizierte Autopsiestudie an 22 Patienten mit BPD wurden 15 Kontrollen definiert, von denen allerdings sechs kardiovaskuläre Erkrankungen und Fehlbildungen aufwiesen und einige eine dokumentierte Hypoxie oder schwere metabolisch/neurologische Erkrankungen aufwiesen. Im Vergleich hierzu erklärt sich die kleinere, aber auch strenger ausgewählte Kontrollpopulation der vorliegenden Arbeit.

Alle Patienten waren hypotroph und lagen von der Größe her bei Geburt unter der 3. Perzentile, eine weitergehende Aufschlüsselung der Relation zwischen Lungengewicht bei Autopsie und Körpergröße/Körpergewicht erscheint aufgrund der kleinen Fallzahl wenig sinnvoll.

Die Ursache für die sich zum Teil deutlich unterscheidenden Lungenwichte vor und nach Fixierung ist wahrscheinlich im primär unterschiedlichen Wassergehalt zu suchen, könnte aber auch durch die intratracheale Formalininstillation mitbedingt sein.

Methodenkritisch muss weiterhin angemerkt werden, dass der Füllungszustand der pulmonalarteriellen Gefäße bei postmortaler Angiographie von mehreren Faktoren abhängt: dem Tonus des Gefäßes, der kontrastierenden Eigenschaft des verwendeten Kontrastmittels und nicht zuletzt der Viskosität des verwendeten Kontrastmittels. Idealerweise läge hier a) ein sehr niedriger Vasotonus, b) eine sehr hohe Kontrastgebung bei c) sehr niedriger Viskosität vor, um so möglichst viele periphere Gefäße zu füllen und damit der Bildgebung zugänglich zu machen. Die in dieser Arbeit verwendete Kontrastmittelkonzentration wurde daher so gewählt, dass bei maximaler Kontrastierung eine noch akzeptable Viskosität gewährleistet werden kann. Die angewandte Technik wurde stets in gleicher Weise und unter standardisierten Bedingungen durchgeführt.

Zusammenfassend konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass bei ehemaligen Frühgeborenen der 26. bis 28. SSW und schwerster BPD die planimetrisch bestimmte Anzahl der Pulmonalarterien im Größenbereich der pulmonalen Widerstandsarterien abhängig von der Überlebensdauer entweder verringert oder normal häufig zu bestimmen waren. Die Pulmonalarterien zeigten eine deutliche Zunahme der Muskularisierung in der Gefäßperipherie, während die Anzahl der Alveolen und die Alveolaroberfläche deutlich niedriger gemessen wurde. Die erhobenen Daten sind mit dem Konzept einer pulmonalen Reifungsstörung bei BPD zu vereinbaren. Die pulmonalvaskulären Veränderungen konnten prinzipiell als reversibel eingestuft werden. Dies wiederum bekräftigt das derzeit klinisch-therapeutisch geübte Vorgehen der pulmonalvasodilatierenden/antiproliferativen Therapie bei Cor pulmonale und BPD.

6 Zusammenfassung

Das Krankheitsbild der Bronchopulmonalen Dysplasie (BPD) ist Folge einer multifaktoriellen Schädigung der Lunge bei Frühgeborenen mit Respiratory Distress Syndrome (RDS) und wird derzeit eher als ein chronischer Krankheitsprozess der Lunge interpretiert, der mit einer Störung der Lungenentwicklung und Veränderung der Lungenstruktur, des Lungenwachstums, und vor allem auch der Gefäßarchitektur einhergeht. Eine häufige Todesursache ist die Dekompensation im Cor pulmonale. Es ist derzeit nicht geklärt, ob die Schädigung der Lunge nur eine assoziierte Schädigung der Gefäßentwicklung und einen konsekutiven Gefäßumbau bewirkt oder ob das pulmonale Gefäßsystem unabhängig hiervon in besonderem Maße betroffen ist.

Das Ziel der Arbeit war es daher, die Frage zu beantworten, ob die BPD zu einer Entwicklungsstörung der azinären Gefäße führt und ob Luftwege, Parenchym, Interstitium und Gefäße gleichermaßen oder proportional unterschiedlich geschädigt werden. Hierzu erfolgte eine histopathologische, quantitativ morphometrische und mikroangiographische Analyse des Lungengewebes am Autopsiegut von fünf im Alter von 2–13 (Median: 5,2) Monaten an BPD verstorbenen frühgeborenen Kindern der 26. bis 28. Schwangerschaftswoche mit einem Geburtsgewicht von 560 – 1135 (Median: 770) g, welches mit dem Lungengewebe zweier akut verstorbener Kinder verglichen wurde.

Das Gewichtsverhältnis (Fulton-Ratio) des linken Ventrikels (inklusive Septum) zum rechten Ventrikel war bei vier der fünf Patienten unter den kritischen Wert von 2.3 verringert, was den Befund der Rechtsherzhypertrophie erhärtete. Mikroangiographisch konnte bei dem zwei Monate alten Patienten eine deutliche Verringerung der peripheren Vaskularisierung der Lunge nachgewiesen werden. Die quantitativ an Serienschnitten erhobenen morphometrischen Befunde an mehr als 190.000 Messpunkten zeigten eine Zunahme des Anteils an Bindegewebe in der Lunge bei drei von fünf Patienten mit BPD. Die Oberflächendichte und die Gesamtoberfläche der Alveolen waren deutlich reduziert. Bei einer Überlebensdauer von zwei Monaten war die Anzahl der präkapillären Widerstandsgefäße deutlich vermindert, bei den länger überlebenden Patienten war dieser Unterschied nicht nachweisbar. Alle Patienten zeigten eine verstärkte Muskularisierung auch kleiner Pulmonalarterien von 25-75 µm Durchmesser.

Die vorgelegten Daten belegen, dass - rein zahlenmäßig - die pulmonalen Widerstandsgefäße der Lunge bei langer Überlebensdauer > 2 Monaten nicht überpropor-

tional vermindert sind. Eine verstärkte Muskularisierung der Gefäßwand wie sie in der vorliegenden Arbeit nachweisbar war und funktionell vasokonstriktorisches Komponenten spielen daher möglicherweise eine größere Rolle bei der Entstehung des Cor pulmonale als bisher angenommen werden konnte.

7 Literaturverzeichnis

- 1 Bancalari E, Abdenour GE, Feller R, Gannon J. Bronchopulmonary dysplasia: clinical presentation. *J Pediatr.* 1979 Nov;95(5 Pt 2):819-23.
- 2 Bancalari E, Gonzalez A: Clinical course and lung function abnormalities during development of neonatal chronic lung disease. In: *Chronic Lung Disease in Early Infancy.* Edited by Bland RD, Coalson JJ. New York: Marcel Dekker, Inc, 2000, 41-64.
- 3 Baraldi E, Filippone M. Chronic lung disease after premature birth. *N Engl J Med.* 2007 Nov 8;357(19):1946-55.
- 4 Bhakta KY, Adams JM and Stark AR. Chronic lung disease of infancy. In: Turcios NL and Fink RJ. *Pulmonary Manifestations of Pediatric Diseases.* Philadelphia:Elsevier, 2009:p1-27.
- 5 Bhandari A, Bhandari V. Pathogenesis, pathology and pathophysiology of pulmonary sequelae of bronchopulmonary dysplasia in premature infants. *Front Biosci.* 2003 May 1;8:e370-80.
- 6 Bhatt AJ, Pryhuber GS, Huyck H, Watkins RH, Metlay LA, Maniscalco WM. Disrupted pulmonary vasculature and decreased vascular endothelial growth factor, Flt-1, and TIE-2 in human infants dying with bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Nov 15;164(10 Pt 1):1971-80.
- 7 Bonikos DS, Bensch KG, Ludwin SK, Northway WH Jr. Oxygen toxicity in the newborn. The effect of prolonged 100 per cent O₂ exposure on the lungs of newborn mice. *Lab Invest.* 1975 May;32(5):619-35.
- 8 Bonikos DS, Bensch KG, Northway WH Jr, Edwards DK. Bronchopulmonary dysplasia: the pulmonary pathologic sequel of necrotizing bronchiolitis and pulmonary fibrosis. *Hum Pathol.* 1976 Nov;7(6):643-66.
- 9 Charafeddine L, D'Angio CT, Phelps DL. Atypical chronic lung disease patterns in neonates. *Pediatrics.* 1999 Apr;103(4 Pt 1):759-65.

- 10 Christou H, Brodsky D. Lung injury and bronchopulmonary dysplasia in newborn infants. *J Intensive Care Med.* 2005 Mar-Apr;20(2):76-87.
- 11 Coalson JJ, Winter V, deLemos RA. Decreased alveolarization in baboon survivors with bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995 Aug;152(2):640-6.
- 12 Coalson JJ, Winter VT, Siler-Khodr T, Yoder BA. Neonatal chronic lung disease in extremely immature baboons. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999 Oct;160(4):1333-46.
- 13 Coalson JJ. Experimental models of bronchopulmonary dysplasia. *Biol Neonate.* 1997;71 Suppl 1:35-8.
- 14 Coalson JJ. Pathology of chronic lung disease of early infancy. In: *Chronic Lung Disease in Early Infancy.* Edited by Bland RD, Coalson JJ. New York: Marcel Dekker, Inc, 2000, 85–124.
- 15 Coalson JJ. Pathology of new bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol.* 2003 Feb;8(1):73-81.
- 16 Davies G, Reid L. Growth of the alveoli and pulmonary arteries in childhood. *Thorax.* 1970 Nov;25(6):669-81.
- 17 Dunnill MS. Quantitative Methods in the study of pulmonary pathology. *Thorax* 1962;17:320-8
- 18 Eber E, Zach MS. Long term sequelae of bronchopulmonary dysplasia (chronic lung disease of infancy). *Thorax.* 2001 Apr;56(4):317-23.
- 19 Fouron JC, Le Guennec JC, Villemant D, Perreault G, Davignon A. Value of echocardiography in assessing the outcome of bronchopulmonary dysplasia of the newborn. *Pediatrics.* 1980 Mar;65(3):529-35.
- 20 Frank L, Sosenko IR. Development of lung antioxidant enzyme system in late gestation: possible implications for the prematurely born infant. *J Pediatr.* 1987 Jan;110(1):9-14.

- 21 Fulton RM, Hutchinson EC, Jones AM. Ventricular weight in cardiac hypertrophy. *Br Heart J*. 1952 Jul;14(3):413-20.
- 22 Garland JS, Buck RK, Allred EN, Leviton A. Hypocarbica before surfactant therapy appears to increase bronchopulmonary dysplasia risk in infants with respiratory distress syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1995 Jun;149(6):617-22.
- 23 Georgeson GD, Szony BJ, Streitman K et al. Antioxidant enzyme activities are decreased in preterm infants and in neonates born via caesarean section. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2002 Jul 10;103(2):136-9.
- 24 Goodman G, Perkin RM, Anas NG, Sperling DR, Hicks DA, Rowen M. Pulmonary hypertension in infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr*. 1988 Jan;112(1):67-72.
- 26 Gorenflo M, Vogel M, Herbst L, Bassir C, Kattner E, Obladen M. Influence of clinical and ventilatory parameters on morphology of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol*. 1995 Apr;19(4):214-20.
- 27 Gorenflo M, Vogel M, Obladen M. Pulmonary vascular changes in bronchopulmonary dysplasia: a clinicopathologic correlation in short- and long-term survivors. *Pediatr Pathol*. 1991 Nov-Dec;11(6):851-66.
- 28 Groneck P, Speer CP. Pharmacological prophylaxis and treatment of bronchopulmonary dysplasia. *Z Geburtshilfe Neonatol*. 2005 Aug;209(4):119-27
- 29 Halliday H, Hirschfeld S, Riggs T, Liebman J, Fanaroff A, Bormuth C. Respiratory distress syndrome: echocardiographic assessment of cardiovascular function and pulmonary vascular resistance. *Pediatrics*. 1977 Oct;60(4):444-9.
- 30 Hallman M, Haataja R. Genetic influences and neonatal lung disease. *Semin Neonatol*. 2003 Feb;8(1):19-27.
- 31 Haworth SG, Hislop AA. Pulmonary vascular development: normal values of peripheral vascular structure. *Am J Cardiol*. 1983 Sep 1;52(5):578-83.
- 32 Hislop A, Reid L. Weight of the left and right ventricle of the heart during fetal life. *J Clin Pathol*. 1972 Jun;25(6):534-6.

- 33 Hislop A. Developmental biology of the pulmonary circulation. *Paediatr Respir Rev.* 2005 Mar;6(1):35-43.
- 34 Hislop AA, Haworth SG. Pulmonary vascular damage and the development of cor pulmonale following hyaline membrane disease. *Pediatr Pulmonol.* 1990;9(3):152-61.
- 35 Hodgman JE. Relationship between Wilson-Mikity syndrome and the new bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics.* 2003 Dec;112(6 Pt 1):1414-5.
- 36 Husain AN, Siddiqui NH, Stocker JT. Pathology of arrested acinar development in postsurfactant bronchopulmonary dysplasia. *Hum Pathol.* 1998 Jul;29(7):710-7.
- 37 Jakkula M, Le Cras TD, Gebb S et al. Inhibition of angiogenesis decreases alveolarization in the developing rat lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000 Sep;279(3):L600-7.
- 38 Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Jun;163(7):1723-9.
- 49 Jobe AJ. The new BPD: an arrest of lung development. *Pediatr Res.* 1999 Dec;46(6):641-3.
- 40 Kasahara Y, Tuder RM, Taraseviciene-Stewart L et al. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J Clin Invest.* 2000 Dec;106(11):1311-9.
- 41 Khemani E, McElhinney DB, Rhein L et al. Pulmonary artery hypertension in formerly premature infants with bronchopulmonary dysplasia: clinical features and outcomes in the surfactant era. *Pediatrics.* 2007 Dec;120(6):1260-9.
- 42 Kinsella JP, Greenough A, Abman SH Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet.* 2006 Apr 29;367(9520):1421-31.
- 43 Kitaoka H. Numerical density of alveoli in the human lung--measurement using serial thin slices as three-dimensional probes. *Tohoku J Exp Med.* 1993 May;170(1):45-52.

- 44 Klekamp JG, Jarzecka K, Perkett EA. Exposure to hyperoxia decreases the expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in adult rat lungs. *Am J Pathol.* 1999 Mar;154(3):823-31.
- 45 Kraybill EN, Runyan DK, Bose CL, Khan JH. Risk factors for chronic lung disease in infants with birth weights of 751 to 1000 grams. *J Pediatr.* 1989 Jul;115(1):115-20.
- 46 Lassus P, Turanlahti M, Heikkilä P et al. Pulmonary vascular endothelial growth factor and Flt-1 in fetuses, in acute and chronic lung disease, and in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Nov 15;164(10 Pt 1):1981-7.
- 47 Le Cras TD, Markham NE, Tuder RM, Voelkel NF, Abman SH. Treatment of newborn rats with a VEGF receptor inhibitor causes pulmonary hypertension and abnormal lung structure. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002 Sep;283(3):L555-62.
- 48 Lemons JA, Bauer CR, Oh W et al. Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child health and human development neonatal research network, January 1995 through December 1996. NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics.* 2001 Jan;107(1):E1.
- 49 Maniscalco WM, Watkins RH, D'Angio CT, Ryan RM. Hyperoxic injury decreases alveolar epithelial cell expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in neonatal rabbit lung. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997 May;16(5):557-67.
- 50 Maniscalco WM, Watkins RH, Finkelstein JN, Campbell MH. Vascular endothelial growth factor mRNA increases in alveolar epithelial cells during recovery from oxygen injury. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995 Oct;13(4):377-86.
- 51 Margraf LR, Tomashefski JF Jr., Bruce MC, Dahms BB. Morphometric analysis of the lung in bronchopulmonary dysplasia. *Am Rev Respir Dis.* 1991 Feb;143(2):391-400.
- 52 Mokres LM, Parai K, Hilgendorff A et al. Prolonged mechanical ventilation with air induces apoptosis and causes failure of alveolar septation and angiogenesis in

lungs of newborn mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2010 Jan;298(1):L23-35.
Epub 2009 Oct 23

53 Myers B, Donovan W. How to make superb microangiograms at reasonable X-ray exposures. *Plast Reconstr Surg*. 1985 Sep;76(3):469-71.

54 Northway WH Jr, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia, *N Engl J Med*. 1967 Feb 16;276(7):357-68.

55 Ozdemir A, Brown MA, Morgan WJ. Markers and mediators of inflammation in neonatal lung disease. *Pediatr Pulmonol*. 1997 Apr;23(4):292-306.

56 Randell SH, Young SL. Unique features of the immature lung that make it vulnerable to injury. In: *Chronic Lung Disease in Early Infancy*. Edited by Bland RD, Coalson JJ. New York: Marcel Dekker, Inc, 2000, p. 377- 403

57 Rojas MA, Gonzalez A, Bancalari E, Claire N, Poole C, Silva-Neto G. Changing trends in the epidemiology and pathogenesis of neonatal chronic lung disease. *J Pediatr*. 1995 Apr;126(4):605-10.

58 Rosan RC: Hyaline membrane disease and a related spectrum of neonatal pneumopathies. In: Rosenberg HS and Bolande RP, editors: *Perspectives in pediatric pathology*, vol 2, Chicago:Year Book Medical Publishers, Inc, 1975,15-60.

59 Shennan AT, Dunn MS, Ohlsson A, Lennox K, Hoskins EM. Abnormal pulmonary outcomes in premature infants: prediction from oxygen requirement in the neonatal period. *Pediatrics*. 1988 Oct;82(4):527-32.

60 Speer CP. Chorioamnionitis, postnatal factors and proinflammatory response in the pathogenetic sequence of bronchopulmonary dysplasia. *Neonatology*. 2009;95(4):353-61.

61 Stenmark KR, Abman SH. Lung vascular development: implications for the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Annu Rev Physiol*. 2005;67:623-61.

62 Stocker JT. Pathologic features of long-standing "healed" bronchopulmonary dysplasia: a study of 28 3- to 40-month-old infants. *Hum Pathol.* 1986 Sep;17(9):943-61.

62 Stocker JT. Pathologic features of long-standing "healed" bronchopulmonary dysplasia: a study of 28 3- to 40-month-old infants. *Hum Pathol.* 1986 Sep;17(9):943-61.

63 Thébaud B, Abman SH. Bronchopulmonary dysplasia: where have all the vessels gone? Roles of angiogenic growth factors in chronic lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007 May 15;175(10):978-85. Epub 2007 Feb 1.

64 Tomaszewski JF Jr., Oppermann HC, Vawter GF, Reid LM. Bronchopulmonary dysplasia: a morphometric study with emphasis on the pulmonary vasculature. *Pediatr Pathol.* 1984;2(4):469-87.

65 Van Lierde S, Cornelis A, Devlieger H, Moerman P, Lauweryns J, Eggermont E. Different patterns of pulmonary sequelae after hyaline membrane disease: heterogeneity of bronchopulmonary dysplasia? A clinicopathologic study. *Biol Neonate.* 1991;60(3-4):152-62.

66 Walther FJ, Benders MJ, Leighton JO. Persistent pulmonary hypertension in premature neonates with severe respiratory distress syndrome. *Pediatrics.* 1992 Dec;90(6):899-904.

67 Wilson MG, Mikity VG. A new form of respiratory disease in premature infants. *AMA J Dis Child.* 1960 Apr;99:489-99.

8 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

9 Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Professor Matthias Gorenflo, der mich stets auf sehr kompetente und kollegiale Art zu motivieren verstand und mich schließlich über so manche Durststrecken erfolgreich zum Ziel führte.

Ebenso gilt mein Dank Professor Martin Vogel, der in mir das Interesse an der Paidopathologie weckte und mir diese Arbeit ermöglichte.

Herzlich möchte ich mich auch bei Professor Roland Wauer bedanken, der die Betreuung der Arbeit übernahm und so einen großen Anteil an deren Abschluss hat.

Danken möchte ich auch den Mitarbeiterinnen aus dem Labor von Professor Vogel und Professor Dudenhausen, die mir mit viel Geduld und Hilfestellung die handwerklichen Techniken zur Durchführung der Schnitt- und Färbetechniken beibrachten.

Vielen Dank auch meinem Bruder, der mich durch seine kritischen Nachfragen stets am Ziel festhalten ließ.

Dank an meinen Sohn Yannic für das Korrekturlesen und die kritischen Anmerkungen.

Es liegt mir auch sehr am Herzen, mich bei den Eltern zu bedanken, die trotz des schrecklichen Schicksals, dem sie und ihre Kinder ausgesetzt waren, ihr Einverständnis zur Obduktion gaben. Dies erst ermöglichte meine Dissertation und die wissenschaftliche Aufarbeitung des komplexen Krankheitsprozesses.

10 Erklärung

Ich, Matthias Papp-Váry, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Morphometrische Untersuchungen der Lunge von Patienten mit Bronchopulmonaler Dysplasie“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, 28.11.2010

Matthias Papp-Váry