Medizinische Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin Campus Virchow Klinikum Aus dem Institut für Neuropathologie Charite - Universitätsmedizin Berlin Direktor: Prof. Dr. med. Frank Heppner

Neuropathologische Veränderungen nach Schütteltrauma bei Kindern

Inguinaldissertation zur Erlangung der medizinische Doktorwürde (Dr.med.) am Fachbereich für Humanmedizin Charité – Universitätsmedizin Berlin Campus Benjamin Franklin

> vorgelegt von Janine Busby aus Bad Saarow

Referent: Prof. Dr. med. G. Stoltenburg-Didinger

Korreferent: Prof. Dr. med. Frank Heppner

Gedruckt mit Genehmigung der Charité – Universitätsmedizin Berlin Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 18.09.2009

Inhaltsverzeichnis

I	NHALTSVERZEICHNIS	3
A	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	5
1	EINLEITUNG	6
	1.1 DEFINITION SCHÜTTELTRAUMA	6
	1.2 PATHOMECHANISMUS	7
	1.3 HÄUFIGKEIT	
	1.4 HISTORISCHER HINTERGRUND	
	1.5 RISIKOGRUPPEN, EPIDEMIOLOGIE	9
	1.6 Klinik	10
	Allgemeine Klinik	
	Blutungen	
	Differentialdiagnose Blutungen	
	Retinale Blutungen	
	Skelettverletzungen	
	1.7 KLINIK BEI UBERLEBENDEN	
	1.8 DIFFERENTIALDIAGNOSE	
	1.9 PATHOLOGIE	
	Das Axon	
	Diffuser Axonschaden (DAI)	
	Astrozyten	
	мікгодиа	
2	FRAGESTELLUNG	
•		
3	MATERIAL UND METHODEN	
	3.1 MATERIAL	
	3.2 Methoden	
	3.2.1 Routinefärbungen	
	3.2.2 Immunhistochemische Färbetechniken	
	3.2.3 GFAP (glial fibrillary acidic protein) Saures Gliafaserprotein	
	3.2.4 CD 68 (Monoclonal Mouse Anti-human Macrophage) = KP1	
	3.2.5 Lektinhistochemie RCA1(Ricinus-communis-Agglutinin)	
	3.2.6 Amyloid precursor protein (APP)	
	3.2.7 Neurofilameentprotein (2F11 DAKO)	
	3.2.8 Neurofibrillendarstellung nach Bielschowsky	
4	ERGEBNISSE	
	4.1 MARPOSKODIE	38
	4.1 MARROSROFIE	
	4.2 HISTOLOGIE	
	Dunungen Aronschäden	
	Hyporie	
	Hippocampus	
	Mikroaliaknötchen	טכ
	Neuronathologische Refunde Rückenmark	00 61
	Kontrollen	01 67

6	ZUSAMMENFASSUNG	
LIT	ERATURVERZEICHNIS	82
LEF	BENSLAUF	.FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.

Abkürzungsverzeichnis

Abbildung
Avidin-Biotin-Komplex
Axonal injury = Axonschäden
Alkalische Phosphatase – Antialkalische Phosphatase
Aqua destillata
ß-Amyloid Precursor Protein
Computertomographie
Tage
diffuse axonal injury, diffuser Axonschaden
fragment antigen binding
glial fibrillary acidic protein, Gliafaser Protein
hora (= lat . Stunde)
Wasserstoffperoxyd
Hämatoxylin-Eosin-Färbung
Immunglobulin
Interleukin
kilo Dalton
Meter
Minute
Mikrogliaknötchen
Millimeter
Magnetresonanztomographie
Natrium
Natriumchlorid
phosphate-buffered saline
retinale Blutung
Subarachnoidale Blutung
Subarachnoidalraum
Shaken Baby Syndrome
Subdurale Blutung
so genannte
Stunde
traumatische Axonschäden
Vergrößerung
vaskuläre Axonschäden (Vascular Axonal Injury)
zum Beispiel
Zentralnervensystem
zum Teil

1 Einleitung

1.1 Definition Schütteltrauma

Unter Schütteltrauma oder Shaken Baby Syndrom (SBS) versteht man das Auftreten von subduralen Blutungen (SDB), ausgeprägten retinalen Blutungen, mit oft schweren und prognostisch ungünstigen, diffusen Hirnschäden, bei fehlenden äußeren Verletzungen und fehlender adäquater Anamnese. Die Verletzungen werden durch Schütteln (v.a. bei Säuglingen), Fallenlassen oder Werfen des Kindes herbeigeführt. Gewaltsames Schütteln, mit oder ohne Aufprall, ist die gefährlichste Form zugeführter Kopfverletzungen.

Es werden mehrere Bezeichnungen in der Literatur für das Schütteltrauma verwendet:

"Shaken baby Syndrom" steht für den deutschen Begriff Schütteltrauma bei Säuglingen und Kleinkindern. Mit "Nonaccidental head injury" meint man nicht Unfallbedingte Kopfverletzung.

Beim "Shaken impact Syndrom" wird das Kind beim Schütteln zusätzlich auf ein hartes Objekt geschlagen. Ein deutscher Begriff existiert dafür nicht. "Abusive head trauma" deutet auf Kopfverletzung infolge Misshandlung.

"Inflicted head trauma" – "inflicted" heißt wörtlich übersetzt: jemandem ein Leid zufügen.

"Whiplash shaking injury " bedeutet, dass der Kopf wie bei einem Peitschenschlag von einer Extremposition zur anderen hin und her gerissen wird. Dieser Begriff wurde von Caffey zuerst beschrieben (David 1999, Duhaime et. al 1998)

Tab.1: Shaken baby Syndrome: andere Bezeichnungen nach David (1999)

- Nonaccidental head injury
- Shaken impact Syndrome
- Abusive head trauma
- Inflicted head trauma
- Whiplash shaking injury

1.2 Pathomechanismus

Der Kopf macht bei Säuglingen und Kleinkindern ungefähr 15% des Körpergewichts aus. Dadurch und durch die noch sehr schwache Nackenmuskulatur können sie bei heftigen Bewegungen ihren Kopf nicht ausreichend stabilisieren. Säuglinge und Kleinkinder werden um den Thorax oder an den Oberarmen gehalten und in sagittaler Richtung geschüttelt. Dabei schlägt der Kopf nach vorn und hinten und wird jeweils in der Extremposition abrupt gebremst. Die Kräfte, die bei diesem Bewegungsablauf auf das Gehirn einwirken, sind komplex: der schädigende Mechanismus sind dabei die rotatorischen Kräfte.

Das Hirngewebe des Säuglings ist noch sehr flüssigkeitsreich und relativ schwer. Umso heftiger wirken sich Zugkräfte der Beschleunigungsbewegungen auf das Schädelinnere aus. In der Extremposition erfährt das Gehirn eine abrupte Dezeleration mit nachfolgender Akzeleration.

- a.) Beim Schütteln verschiebt sich das Gehirn. Es kommt zu Zerreißungen der Brückenvenen. Aus den Venen blutet es. Es kommt zu Subduralblutungen. Diese führen wiederum durch Erhöhung des intrakranialen Druckes zu hypoxischischämischen Hirnschäden.
- b.) Der Aufprall des Hirns auf das harte Schädelinnere löst Quetschungen und Prellungen aus, die wiederum zu Ödemen führen.
- c.) Durch die Scherkräfte werden intraparenchymatöse Blutungen ausgelöst.
- d.) Rotationskräfte bewirken retinale Blutungen
- e.) Beim Schütteltrauma kommt es zwischen der grauen und weißen Substanz zu diffusen axonalen Schädigungen.

Die besondere Vulnerabilität des Säuglingshirns wurde mit der unzureichenden Myelinisierung beschrieben.

Abb. 1 Shaken baby Entstehungsmechanismus



1.3 Häufigkeit

Für Deutschland liegen bislang weder zu Kindesmisshandlung noch zu Misshandlungsbedingten Gehirnverletzungen, speziell dem Schütteltrauma, valide Daten zu Inzidenz, Prävalenz und Mortalität vor. Barlow et al. (2000) haben eine prospektive Studie zu Misshandlungsbedingten Gehirnverletzungen in Schottland durchgeführt. Das Ergebnis dieser Studie ergab eine Inzidenz von 24,6/100000 Misshandlungen unter 1 Jahr. Das mediane Alter der Opfer betrug 2,2 Monate. Keenan et al. (2003) ermittelten in einer Populationsbasierten prospektiven Studie aus North Carolina eine Inzidenz von 31/100000 Fällen von Misshandlung unter 2 Jahren.

Minns et al. (2008) führten eine prospektive Populationsbasierte Studie zur Häufigkeit von Nichtunfallbedingten Kopfverletzungen im Zeitraum Januar 1998 bis September 2006 für Schottland durch. Hierbei ergab sich eine Inzidenz von 33,8/100000 Kleinkindern pro Jahr allein für den Süd-Osten Schottlands.

Unicef "Gewalt gegen Kinder" berichtet, dass jährlich in den Industrieländern rund 3500 Kinder an den Folgen von Misshandlungen und Vernachlässigung sterben.

Die Ermittlung der tatsächlichen Inzidenz ist schwierig und liegt u.a. daran, dass es in Deutschland keine Dokumentations- oder Meldepflicht für Kindesmisshandlungen oder Verdachtsfälle gibt. Es gibt auch keine Mitteilungspflicht für solche Fälle an den Träger der Jugendhilfe, wie es beispielsweise in Österreich der Fall ist. Dort ist die rechtlich allgemein gehaltene Mitteilungspflicht von Behörden über bekannt gewordene Tatsachen im Zusammenhang mit Gewalt gegen Kinder durch eine Meldepflicht ersetzt worden. (Paragraph 37 Abs.3 des Jugendwohlfahrtsgesetz) Dadurch ist zu erklären, warum Kindesmisshandlungen nur in besonders eindeutigen Fällen in Statistiken auftauchen.

1.4 Historischer Hintergrund

Die Erstbeschreibung des Schütteltraumas, ohne dass der Begriff bereits genannt wurde, geht auf den amerikanischen Radiologen Caffey zurück.

Dieser hatte 1946 einen Zusammenhang zwischen Frakturen der langen Röhrenknochen und chronisch subduralen Blutungen an einer Gruppe von 6 Kindern beschrieben. 1968 hat Weston, ein Rechtsmediziner aus Utah, von 21 Kindern (Alter 1 Monat bis 5 Jahre) mit SDB berichtet.

Alle bis auf einen dieser Fälle hatten äußere Anzeichen von Verletzungen in Form von Hämatomen. Bei allen dieser Kinder handelte es sich um Opfer von Misshandlung. In zwei der Fälle wurde gewaltsames Schütteln eingeräumt zusammen mit Kopfaufprall.

Im Jahr 1971 wies Guthkelch, ein Neurochirurg aus Hull, darauf hin, dass nicht alle Fälle von SDB äußere Verletzungen aufweisen.

Er stellte erstmals die Hypothese auf, dass diese Kinder geschüttelt wurden. Die nichtzufälligen Ursachen dieses Verletzungsbildes hat Caffey 1972 mit dem SBS in Zusammenhang gebracht.

Dabei beschrieb er die Bedeutung des gewaltsamen Schüttelns für das Opfer bezogen auf

die intrakraniellen und okulären Blutungen. Erst in seiner 1974 erschienen Arbeit in "Paediatrics" beschrieb Caffey die Ursachen des " whiplash-shaken-infant-syndrome". "Whiplash shaking" war für ihn die Erklärung der Fälle mit SDB ohne äußere Anzeichen von Gewalt am Schädel.

Seit seiner Erstbeschreibung hat man dem SBS intensive Erforschungen und Diskussionen geschenkt. Im November 1996 tagte die erste Nationale Konferenz zum SBS in Salt Like City, Utah. Hier kommt es zum Zusammentreffen führender Experten der Welt auf dem Gebiet der Medizin, Soziologie, Psychologie und Juristen. (Lancon et al. 1998)

1.5 Risikogruppen, Epidemiologie

Das klassische Opfer für SBS ist ein Säugling oder Kleinkind.

In der Regel ist es unter 1 Jahr alt und meistens jünger als 6 Monate. Das Durchschnittsalter beträgt 5 Monate. Es wurde aber auch Fälle beschrieben, bei denen Kinder bis zu 15 Jahren betroffen waren. Salehi-Had et al. (2006) berichten von 4 Fällen SBS, die 2,5 bis 7 Jahre alt waren. Bei allen lagen SDB vor und bei 3/4 der Opfer konnten diffuse Axonschäden nachgewiesen werden.

Jungen sind häufiger betroffen. Das Verhältnis Jungen zu Mädchen beträgt: 3:2. Zum Zeitpunkt des Tatgeschehens ist das Kind allein mit dem Verantwortlichen. (Lancon et al. 1998)

Die Täter sind in 90% der Fälle männlich. Am häufigsten handelt es sich dabei um den leiblichen Vater, gefolgt vom Freund der Mutter oder Kindererzieher. Handelt es sich beim Täter um eine Frau, hat sie eher die Position eines Babysitters. Es handelt sich selten um die leibliche Mutter des Kindes (Lancon et al. 1998).

Auch Starling et al. (1995) gingen der Frage nach dem Täter nach. Sie untersuchten die Krankenakten von 151 Säuglingen und Kleinkindern, die infolge Misshandlung ein Kopftrauma erlitten haben. Die Arbeitsgruppe stellte fest, dass männliche Täter den weiblichen mit einem Verhältnis von 2,2:1 überwiegen, wobei Väter, Stiefväter oder Freunde der Mutter, 60% der Straftäter ausmachen. In 37% waren die Väter verantwortlich, gefolgt vom Freund der Mutter (20,5%). Weibliche Baby-Sitter machten 17,3% aus. Das ist mehr als bisher angenommen. In 12,6% der Fälle waren die Mütter in der Rolle der Täter.

Das Schütteltrauma ist in allen sozialen Schichten vertreten. Einige Autoren fanden in ihren Studien jedoch ein häufigeres Vorkommen in der schwächeren sozialen Schicht der Gesellschaft (Minns et al. 2008, Duhaime et al. 1998).

Alexander et al. (1990) berichten beim Schütteltrauma von einer Rezidivrate von ca. 33%. Der überwiegende Teil der Kinder wurde zuvor schon mal gewaltsam geschüttelt. Auch Geschwisterkindern sollte Beachtung geschenkt werden, da auch diese dem Täter ausgesetzt sind.

1.6 Klinik

Allgemeine Klinik

Die klinischen Symptome und die Schwere des Verlaufs können variieren. Die am auftretenden Symptome sind verschiedene Formen von Irritabilität, häufigsten Somnolenz, Lethargie, Verlust des Muskeltonus, Opisthotonus, Trinkschwierigkeiten, Erbrechen, zerebrale Krämpfe, Tachypnoe, Bradykardie, Atemstörungen, meist in Form von .Apnoe, Koma und Tod. (Lancon et al. 1998) Es gibt keinen einzelnen pathognomischen Befund, weshalb sich die Diagnose durch die Kombination anamnestischer Daten (fehlende oder inadäquate Anamnese), klinischer. ophtalmologischer und radiologischer Befunde ergibt. Äußerliche Verletzungen können fehlen.

Tab.2

Klinik bei SBS						
Subdurale Blutung						
Retinale Blutung						
Hirndruck, offene						
Fontanellen						
Rippenbrüche, Frakturen						
der Extremitäten frisch,						
alt >>						
Bewegungseinschränkung						
Bewusstseinstörungen						
Essstörungen						
Erbrechen						
Krämpfe						
Hämatome						
Atemstörungen						

Der klassische Fall von Shaken Baby Syndrom(SBS) ist gekennzeichnet durch Subdurale Blutungen und retinale Blutungen bei fehlenden äußeren Verletzungen ohne adäquate Anamnese.

Schädelfrakturen entstehen durch das Schütteln nicht, treten aber beim sog. "Shaken impact" auf, wobei das Opfer zusätzlich gegen einen harten Gegenstand geschleudert wird.

Blutungen

Unter Subduralblutungen (SDB) versteht man Blutansammlungen zwischen Dura mater und Arachnoidea.

Die Ursache dieser Art von Blutungen ist das Einreißen der Brückenvenen, welche eine Verbindung zwischen Piavene und Sinus durae matis darstellen. SDB können aber auch durch Piaartereinrisse oder Schäden an den Arteriolen des inneren Durablattes entstehen. Bei akuten Subduralblutungen breitet sich das Blut subdural rasch aus und kann innerhalb von Stunden zu einer massiven Zunahme des intrakraniellen Druckes führen.

Subdurale Blutungen treten am häufigsten über der konvexen cerebralen Oberfläche, v.a . parieto-occipital , innerhalb des interhemisphärischen Sulcus auf. Sie können unilateral vorkommen, treten jedoch überwiegend bilateral auf. Weil der Kopf in sagittaler Ebene geschüttelt wird, zerreißen die Brückenvenen in der Regel beidseits. Das Ausmaß der Blutungen reicht von 2 bis 15 ml. SDB sind in 90-98% der Autopsien nachweisbar. Mittels CT-Untersuchung kann man postmortal die Hirnvenen am geschlossenen Schädel darstellen. Durch dieses minimal–invasive Vorgehen hat man die Möglichkeit alle Brückenvenen darzustellen. (Ruf et al. 2006) In der Vergangenheit konnten sehr geringe SDB übersehen werden. Auch ist es vorgekommen, dass durch die Präparation die Gefäße verletzt worden sind. Eine postmortale Röntgen-Kontrastmitteluntersuchung lässt auch eine zuverlässige Diagnose von Brückenvenenverletzungen zu (Maxeiner 2002).

Subarachnoidalblutungen (SAB) entstehen beim Zerreißen von arachnoidalen Gefäßen, zur gleichen Zeit, wenn Brückenvenen zerreißen, weil Brückenvenen von Arachnoidea Scheiden umgeben sind, wenn sie den subduralen Raum durchziehen. Einreißen von Brückenvenen verursacht in der Regel SDB als auch SAB.

Differentialdiagnose Blutungen

Subarachnoidale Blutungen treten nur sehr selten aufgrund eines Aneurysmas oder in Folge arteriovenöser Malformation auf. Infektionen mit Bordetella pertussis können zu so starkem Husten und daraus resultierendem Druckanstieg führen, dass Blutungen im Gehirn zu beobachten waren. Talbert et al.(2005) stellen daraus die Vermutung auf, dass jede ernste Luftwegs Irritation, die nicht einfach zu beheben ist z.B. Larynx Infektionen, Inhalation von regurierten Speisen, Rauch u.s.w., zu ähnlichen Blutungen führen kann. Weiterhin wird beschrieben, dass es auch im Rahmen von Meningitis v.a. durch Haemophilus influenzae zu SDB kommen kann.

Retinale Blutungen

Ein weiterer typischer Befund beim Schütteltrauma sind retinale Blutungen(RB). Sie treten häufig auf, sind aber nicht beweisend für SBS. Levin et al. (2004) untersuchten in ihrer Studie insgesamt 231 Kinder mit Kopfverletzungen. Dabei hat man 186 Kinder (unter 3 Jahre) die geschüttelt worden sind einer Gruppe von 38 Kindern mit direktem Kopftrauma und einer weiteren Gruppe von 7 Kindern, die in einen Verkehrsunfall

verunglückten, gegenübergestellt. Ziel dieser Studie war es herauszufinden, ob RB bei allen geschüttelten Kindern auftreten und ob diese typisch für das SBS sind. Weiterhin wurde der Frage nachgegangen, ob RB ein spezielles Muster aufweisen. Ergebnis der Studie war, dass RB häufiger beim Schütteltrauma vorkommen als beim direkten Kopftrauma, jedoch nicht spezifisch sind. In der untersuchten SBS-Gruppe kamen RB in 77,5% der Fälle vor.

Das entspricht dem was in der Literatur angegeben wird, wo eine Spanne bei 50 bis 100 % beschrieben werden. In der Vergleichsgruppe der Kinder mit direktem Kopftrauma kam es nur in 20% der Fälle zu RB. Bei der Verkehrsunfallgruppe konnten bei keinem Fall RB nachgewiesen werden. Zu diesem Ergebnis kamen auch schon Buys et al. (1993), die bei allen 3 untersuchten Nichtunfallbedingten Kopfverletzungen RB fanden und bei keinem der 75 Kinder mit Unfahlbedingten Kopfverletzungen. Es wird darauf hingewiesen, dass das Auftreten von RB beim Kleinkind im Zusammenhang mit SDB und mit neurologischen Symptomen besonders im Bezug auf SBS nachgegangen werden sollte. Ein SBS kann aber demnach auch vorliegen, ohne dass RB nachzuweisen sind.

Zwei unterschiedliche Pathomechanismen RB nach Misshandlung werden diskutiert:

- 1. perakuter Morbus Purtscher (fortgeleitete arterio-venöse Drucksteigerung auf der Grundlage einer extrakraniellen Kompression)
- 2. Terson-Mechanismus (Kombination von akut intrakraniell oder retrobulbär erhöhtem Druck mit Behinderung des venösen Blutabflusses aus der Vena centralis retinae) und Perfusionsdruck.

Der Pathomechanismus der RB ist bislang noch nicht vollständig geklärt. Gefäßeinrisse durch vitreoretinale Adhaerenzen aufgrund von Beschleunigungsvorgängen können aus biomechanischen Überlegungen ausgeschlossen werden, da der kompakte kindliche Glaskörper keine inhomogene Massenverlagerungen als Voraussetzung für punktuell wirkende Zugkräfte an vitreo-retinalen Adhaerenzen zulässt.

Darüber hinaus würde ein solcher Glaskörperzug Netzhautlöcher mit konsekutiver Netzhautablösung und eventuell umschriebenen Blutungen hervorrufen, die bislang nicht beschrieben wurden. (Amberg et al. 2001) Weiterhin konnte diese Arbeitsgruppe nachweisen, dass sich SDB über die Opticusscheide subretinal fortsetzen.

Betz et al. (1996) zeigte das Befunde häufig massiv, uni-und bilateral und bis zu drei-Viertel der Retina betreffen können.

Differentialdiagnostisch muss man beim Vorkommen Retinaler Blutungen aber auch im Zusammenhang mit Geburtstrauma, Unfallbedingten Kopfverletzungen, Blutererkrankungen (Leukämien, Polycythämie, Thrombocytopenie), Glutaracidurie Typ I (20-30%), Terson Syndrom (spontane subarachnoidale Blutungen) denken.

Emmerson et al. (2001) untersuchten Neugeborene, bei denen in 34% der Fälle nach einem Monat RB nachzuweisen waren.

Tabelle 3: Differentialdiagnose bei retinalen Blutungen: (nach David (1999))

Leukämie
Hämorrhagische Erkrankungen
bei Neugeborenen
Retinopathien bei
Frühgeborenen
Galaktosämie
Purpura Schoenlein Hennoch
Bluthochdruck
Meningokokkenmeningitis
Chronisches Papillenödem
x-chromosomale Retinoschisis
Intrakraniale vaskuläre
Malformationen
Tuberöse Hirnsklerose
Heredtäre Bluterkrankungen
(Hämophilie, von Willebrand
Syndrom)
Mütterlicher Kokainmissbrauch

Mierisch et al. (2004) berichtet vom Auftreten retinaler Blutungen bei einem 8- jährigem Kind im Zusammenhang mit Misshandlung, inklusiv Schütteln. RB kommen nicht nur bei Kleinkindern und Säuglingen vor.

Skelettverletzungen

Vor allem Frakturen der langen Röhrenknochen kommen beim Schütteltrauma gehäuft vor. Besonders betroffen sind die Tibia , distaler Femur und der proximale Humerus. Diese können indirekt durch das Schütteln oder direkt durch Packen an den Extremitäten, v.a. der großen Gelenke ausgelöst werden. Die noch nicht ausgereiften Metaphysen halten der Krafteinwirkung nicht stand und es kommt zur Distraktion von Gelenkkapsel und Periost im Bereich der Metaphysen. Die Separation von Knochenanteilen ist radiologisch als Eckabsprengung oder Korbhenkelfraktur zu erkennen. Verletzungen der dorsalen Rippen sind sehr typisch für das SBS. Der Verletzungsmechanismus im Bereich des Brustskeletts kann durch Umfassen des Brustkorbes und die direkte Einwirkung auf die posterioren Rippen im Bereich der Rippen-Wirbelsäulen-Gelenke erklärt werden. Verletzungen können hier auch infolge von Schlägen entstehen.

In Studien über kindlichen Misshandlungen variiert die Prävalenz der Frakturen mit 11-55% außerordentlich. Zu erwähnen ist, dass in 5-41% keine radiologische Diagnostik veranlasst wurde. Oftmals beschränkt diese sich auf ein "Babygramm". Kleinman et al. (1989) konnten an 31 Kindern in einer postmortal durchgeführten Studie, das typische Verteilungsmuster der Frakturen an Extremitäten und Rumpf aufzeigen. Insgesamt wurden 165 Frakturen (ohne Schädelfrakturen) nachgewiesen. Bei der Hälfte dieser Brüche handelte es sich um Rippenfrakturen, wobei überwiegend die posterioren Anteile betroffen waren. Bei nur einem Drittel handelte es sich um frische Frakturen, was auf ein mehrzeitiges Misshandlungsgeschehen hindeutet. In 81 Fällen waren die Extremitäten betroffen, dabei handelte es sich in fast 90 Prozent der Fälle um metaphysiäre Frakturen. Polytope Brüche verschiedenen Alters sowie periostale Reaktionen in unterschiedlichen Heilungsstadien deuten fast immer auf Misshandlungen hin. Schädelfrakturen, die über mehrere Nähte verlaufen, Impressionsund Trümmerfrakturen ohne entsprechende Vorgeschichte und wachsende Frakturen sind hinweisend auf Nichtunfallbedingte Verletzungen ("Shaken impact Syndrom"). Generell gilt das Auftreten von Knochenbrüchen bei Kindern unter 3 Jahren als verdächtig (Dalton et al. 1995). Die Verkalkung an der Bruchstelle setzt innerhalb der ersten Woche nach der Verletzung ein und ist danach durch eine Röntgenaugnahme

nachweisbar. Daher ist bei dringendem Verdacht auf Misshandlung das Röntgen nach 1-2 Wochen zu wiederholen

1.7 Klinik bei Überlebenden

Akut kommt es zu Benommenheit, Schläfrigkeit bis hin zur Bewusstlosigkeit sowie zu Erbrechen und zu Krampfanfällen. Ein Teil der so misshandelten Kinder stirbt innerhalb von Tagen bis Wochen nach dem Trauma. Jayawant et al. (1998) untersuchten in einer Studie die Todesrate von Kindern mit SDB, diese lag bei 27%. Barlow et al. (1999) führten eine Studie bei 17 SBS Kindern durch, um die Beziehung zwischen intrakraniellen Druck und Überleben zu untersuchen. Die anschließende Betreuung der Kinder lag zwischen 3 und 122 Monaten. In diesem Zeitraum verstarben 2 Kinder, 3 hatten mit schweren Beeinträchtigungen, 3 mit mittelmäßig starken Beschwerden zu kämpfen. Lediglich zwei der Fälle hatten einen milderen Verlauf. 7 Kinder dieser Untersuchung wurden als normal eingestuft. Padilla et al. (2002) untersuchten in ihrer Studie 2 Fälle von SBS Kindern, die 7 bzw. 9 Jahre überlebt hatten. Das erste Kind, welches im Alter von 11 Tagen vom Foster Vater schwer misshandelt wurde, überlebte neurologischen und kognitiven Beeinträchtigungen, konnte nicht sprechen, war mit blind, hat später Epilepsien entwickelt, war mental retardiert. Zusätzlich kam es im weiteren Verlauf zu einem Diabetes insipidus. Das Kind musste mit 6 Monaten aufgrund eines zunehmenden Hirndrucks einen Ventrikuloperitonealen Shunt erhalten. Es verstarb im Alter von 7 Jahren an einem Epileptischen Anfall und Verlust der Atemkontrolle. Das zweite Kind wurde im Alter von 3 Monaten vom Freund der Mutter gewaltsam geschüttelt. Es war seitdem blind, konnte nicht sprechen, war nicht in der Lage, sich irgendwie zu äußern, musste rundum versorgt werden. Im Verlauf entwickelten sich auch hier schwere Epilepsien, zerebrale "palsy". Das Kind war mental retardiert. Es verstarb letztendlich an einer Bronchopneumonie (Padilla et al. 2002). In einigen Fällen fielen Schädigungen erst während der Schulzeit in Form von Lernschwierigkeiten auf. Sieben bis 30% der geschüttelten Kinder versterben, 30 bis 50%

haben schwere kognitive und neurologische Defizite und 30% können sich wieder erholen (Padilla et al. 2002).

1.8 Differentialdiagnose

Menkes (2001) weist darauf hin, dass beim Auftreten von SDB, Frakturen der langen Röhrenknochen und retinale Blutungen bestimmte Erkrankungen ausgeschlossen werden sollten. Dazu gehören u.a. das Menke Syndrom (Kupfer Stoffwechselstörung), sowie das Hermansky-Pudlak Syndrome (autosomal rezessive Erkrankung, verursacht durch Defekt multipler zytoplasmatischer Organellen). Hartley et al. (2001) beschreiben einen Fall eines 8 Wochen alten Säuglings mit bilateraler subduraler Blutung. Die Ursache war in diesem Fall ein Defekt der Glutaryl-CoA Dehydrogenase (Glutarazidurie Typ I). Die Erkrankung tritt autosomal rezessiv und mit einer Häufigkeit von 1:30000 auf. Weiterhin müssen Koagulopathien, Unfälle, v.a. Geburtsverletzungen, Reaktion auf Impfungen, metabolische Erkrankungen (Stoffwechselerkrankungen Vitaminmangel, v.a. Vitamin C-Mangel) ausgeschlossen werden (Kieran et al. 2002).

1.9 Pathologie

Das Axon

Die Nervenzelle besteht aus einem Zellkörper, dem Axon und den Dendriten. Der Zellkörper enthält den großen runden Kern und Organellen, die zur Erhaltung der Nervenzellen notwendig sind. Unter Dendriten versteht man die zahlreichen, kurzen Fortsätze, welche die rezeptive Zelloberfläche zum Kontakt mit anderen Nervenzellen vergrößern.

Das Axon ist ein einzelner, langer Fortsatz des Neurons, dem die Funktion der Signalübertagung von einer Zelle zur anderen zukommt. Um den Stoffwechsel der bis zu 1m langen Axonfortsätze aufrechtzuerhalten, müssen Organellen, Enzyme, Metabolite vom und zum Perykarion transportiert werden.

Man unterscheidet einen langsamen und einen schnellen anterograden axonalen Transport. Dazu ist ein hochorganisiertes Netzwerk aus Mikrotubuli notwendig.

Das axonale Zytoskelett besteht aus den in Längsrichtung ausgerichteten, faserförmigen Neurofilamenten und den Mikrotubuli.

Diese sind miteinander und mit der Plasmamembran in bestimmten Abständen durch feine Fibrillen vernetzt. Darin liegen die Membrangebundenen Organellen, wie z.B. Mitochondrien. Die Vesikel des Endoplasmatischen Retikulums sind hier auch lokalisiert. Sie stehen fest mit Neurofilament und Mikrotubuli in Verbindung. Neurofilamente und Mikrotubuli bestimmen damit den Durchmesser des Axons und die Form und Größe des Nervenzellkörpers.

Neurofilamente bestehen aus verschiedenen Polypeptiden. Da das Axoplasma keine Ribosomen enthält, müssen alle Proteine aus dem Zellkörper der Nervenzelle ins Axon transportiert werden. Auch die Neurofilamentproteine werden, wahrscheinlich in Form von Polymeren, mit dem langsamen axonalen Fluss in das Axon transportiert. In den Axonen liegen die Neurofilamentproteine überwiegend in phosphorylierter Form vor (Patcher und Liem 1984, Rosenfeld et al. 1987).

Diffuser Axonschaden (DAI)

DAI ist die Abkürzung für die englische Bezeichnung "diffuse axonal injury "- was für diffuse Axonschäden steht. DAI ist die bedeutendste Form von Hirnschädigung nach Nichtunfallbedingten Kopfverletzungen. Patienten, die schwere DAI erfahren, sind in der Regel vom Moment des Traumas bewusstlos, verbleiben es oder sind schwer behindert bis zum Tod. Leichtere Formen von DAI können überlebt werden. Die neurologischen Defizite variieren hier sehr. Das Ausmaß von DAI bestimmt letztendlich die Klinik und die Überlebenschancen der Patienten (McLellan et al. 1986, Adams et al. 1989).

DAI kann nur histologisch in Form von Axonauftreibungen nachgewiesen werden. Makroskopisch zeigen sich lediglich einige Abnormalitäten, die hinweisend für DAI seien können. Diese sind z.B. fokale Läsionen im Corpus callosum, welche sich als Cluster petechialer Blutungen oder weiche hämorrhagische Foki darstellen. Die Läsionen können das interventrikuläre Septum zerreißen, wodurch Blut in die Ventrikel gelangen kann. Auch fokale Läsionen in den dorsolateralen Quadranten des rostralen Hirnstamms können auftreten. Diskrete Foki petechialer Blutungen wurden auch in den oberen des Cerebellums beobachtet. Sehr schwere Schäden führen Pedunkeln zu hämorrhagischer Erweichung der dorsalen Anteile des Mittelhirns und der Brücke. Sog. " gliding contusions" sind hämorrhagische Läsionen, die die parasagittale weiße Substanz der zerebralen Hemisphären betrifft. Schmalere Läsionen befinden sich an der Grenze zwischen der weißen Substanz und dem darüberliegenden Kortex. Größere Läsionen verlaufen durch die parasagittale weiße Substanz Richtung Corpus callosum. "Gliding contusions" treten häufig bilateral, jedoch nicht symmetrisch auf.

Gehirne von Langzeit - Überlebenden zeigen eine zerebrale Atrophie mit Dilatation der lateralen und des dritten Ventrikels. Das Corpus callosum wird schmaler, die weiße Substanz erscheint ergraut.

Mikroskopisch lassen sich diffuse Axonschäden mit entsprechenden Methoden nachweisen. Die hauptsächlich betroffenen Regionen sind: die weiße Substanz, Corpus callosum, Fornix, Innere und Äußere Kapsel, die oberen Kleinhirnpedunkel und der Hirnstamm.

Da die Axonschwellungen verteilt auftreten, spricht man von diffusem Axonschaden. Diese Form der Axonschäden wurde erstmals unter dem Begriff "Shearing injury" beschrieben. (Strich 1970) Einige Autoren beschrieben diffuse Veränderungen der weißen Substanz vom "akutem Aufprall Typ". Andere Autoren beschrieben das gleiche Geschehen als diffuse "shearing" Verletzungen der weißen Substanz (Zimmermann et al. 1978). Grcevic (1982) bezeichnet die Veränderungen ganz allgemein mit "inneres cerebrales Trauma". Diese Autoren gingen davon aus, dass die Verletzungen der weißen Substanz im Moment der Verletzungen entstehen. Andere Neuropathologen stellten die Behauptung auf, dass diese Art der Hirnschädigung sekundär durch hypoxische Hirnveränderungen entstehen würden und durch die Hirnschwellung und dem daraus ansteigendem Hirndruck wiederum sekundäre Schäden im Hirnstamm entstehen. (Jellinger und Seitelberger 1970, Jellinger 1977, Peters und Rothemund 1977) Innerhalb von 4-5 Stunden kommt es zu fokalen axonalen Akkumulation von ß-Amyloid precursor Protein (ß-APP). Hierbei handelt es sich um ein Membrangebundenes Glykoprotein, welches einen normalen Bestandteil der neuronalen Zelle darstellt. Es wird über den schnellen anterograden Transport befördert (Koo et al. 1990) und hat Funktionen im Zusammenhang mit Zelladhäsion, Wachstum und Verletzung der Nervenzelle (Haass et al., 1992; Ferreira et al., 1993). Da ß-APP bei Axonschäden akkumuliert, ist es ein geeigneter Marker zum Nachweis diffuser Axonschäden.

Man unterteilt DAI in primäre und sekundäre Axotomie:

Primäre Axotomie

Den primären Axonschaden findet man beim schweren Hirntrauma, wobei es hier durch das Trauma direkt zum Zerreißen des Axolemms dünner Axone kommt und durch den raschen Einstrom Calcium-Aktivierter neutraler Proteasen das freiliegende Zytoskelett zerstört wird (Povlishock 1995, 1996).

Tab. 3: Primäre Axotomie

Axonzerreissung Einstrom von Calcium Aktivierung der Calcium-aktiven Protease Zytoskeletale Zerreißungen Diskonnektion der distalen Axone Schwellung des "truncated" axon Akkumulation des Neurofilaments, APP

Sekundäre Axotomie

Häufiger kommt es zum sekundären Axonschaden. Durch das Trauma entstehende Scherkräfte, führen zum Verlust der Integrität (fokalen Permeabilitätsänderung des Axolemms) der axolemnalen Membran und dadurch zum Kalziumeinstrom, wodurch wiederum calciumabhängige Proteasen aktiviert werden, die den ultrastrukturellen Kollaps der Zelle auslösen. Gegebenenfalls spielen Änderungen des Phosphorylierungs-Grades bei der Destabilisierung des Zytoskeletts eine Rolle.

Der Prozess findet am schwächsten Teil des Axons den Ranvierschen Schnürringen statt. Hier kommt es zur Verkürzung der Seitenarme und Mikrotubuli, wodurch die Neurofilamente kollabieren. Dadurch wird der axoplasmatische Transport behindert, Proteine und Organellen können nicht weiter transportiert werden und akkumulieren. Dies zeigt sich histologisch in Form der Axonauftreibungen. Das Axon wird an dieser Stelle unterbrochen (Gallyas et al. 1992, Povlishock et al 1997, Okonkwo et al 1998).

Tab. 4: sekundäre Axotomie

Fokale Schäden des axonallen Zytoskelett ohne axonaler Diskonnektion Sekundärer neuronaler Schaden Lokalisierte axonale Schwellung Späte Diskonnektion

Astrozyten

Astrozyten sind multipolare Zellen. Ihre langen Fortsätze verzweigen sich sternförmig und umschließen damit kleine Blutgefäße. Sie nehmen somit an der Bildung der Blut-Hirn-Schranke teil.

Man kann Astrozyten hinsichtlich ihrer Morphologie und Verteilungsmuster in drei Typen unterteilen (Privat et al.1995)

- 1.) den vorwiegend in der grauen Substanz vorkommenden protoplasmatischen Typ, mit rundem Zellkörper, weniger Zytoplasma und Gehalt an saurem Gliafaserprotein, sowie kurzen, stark verzweigten Fortsätzen
- 2.) den vor allem in der weißen Substanz vorkommenden fibrillären Typ mit hohem GFAP-Gehalt und vielen Fortsätzen, ohne jeglichen Bezug zur Pia mater.
- 3.) so genannte radiäre Astrozyten der weißen Substanz; einer oder mehrere der Fortsätze steht in Verbindung mit der Pia mater, die anderen Fortsätze reichen bis in die graue Substanz. Der Zellkörper lässt sich nur unregelmäßig mit GFAP anfärben, liegt in der Nähe der Pia mater. Die Bergmann-Glia in der Rinde des Cerebellums, die Müller-Zellen der Retina und die radiäre Glia der Embryonalentwicklung werden ebenfalls dem radiären Typ zugeordnet.

Astrozyten stehen über so genannte " gap junctions" in Verbindung, was wesentlich für den interzellulären Austausch und die Homöostase ist (Norenberg 1994).

Das Zytoskelett der Astrozyten besteht aus Intermediärfilamenten, das wichtigste ist das saure Gliafaserprotein (GFAP), ein 50.000 Da Protein, welches zelltyp-spezifisch und damit immunhistochemisch nachweisbar ist (Bignami und Dahl 1977).

Entwicklungsgeschichtlich stammen die Astrozyten aus dem Neuroektoderm. Sie sind zunächst Vimentin- und GFAP-positiv, wobei eine Co-Polymerisation der GFAP-und

Vimentin-Fibrillen im Intermediärfilamentsystem stattfindet (Cervòs-Navarro et al.1998). Die Fortsätze der Astrozyten kleiden das Neuralrohr aus und dienen den Neuroblasten wahrscheinlich als Leitschienen. In der weiteren Differenzierung exprimieren Astrozyten immer weniger Vimentin, dafür aber mehr GFAP (Takamiya et al.1988, Berry und Butt 1997), so dass Vimentin von Astrozyten im erwachsenen Gehirn unter normalen Bedingungen nicht mehr exprimiert wird (Cervòs-Navarro et al.1998).

Funktion

Astrozyten speichern Glykogen. Die Glykolyse wird über Norepinephrin, VIP

(" vasoaktive intestinal polypeptide") und anderen, von Neuronen sezernierten Substanzen aktiviert (Bignami und Dahl 1995). Astrozyten nehmen teil an der Ausbildung der Blut-Hirn-Schranke und der Basallamina der Glia limitans externa durch Interaktion mit den pialen Fibroblasten und Endothelzellen. Hierzu setzernieren Astrozyten über ihre Endfüße Laminin, Fibronectin und das Proteoglycan Heparansulfat. Weiterhin kommt Astrozyten eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Homoöstase zu. Durch ihren Gehalt an Glutaminsynthetase spielen sie eine Rolle bei der Metabolisierung von Neurotransmittern und der Entgiftung von Ammoniak.

Weiterhin stehen sie im Austausch mit anderen Astrozyten und mit Neuronen, auf deren Stoffwechsel, Synapsendichte und Reifung sie Einfluss nehmen (Garcia-Segura et al.1988, Petito et al.1990, Berry und Butt 1997). Astrozyten werden bei einer Vielzahl von pathologischen Einflüssen aktiviert. Eine entscheidende Rolle scheint dabei dem Interleukin 6 (IL6) zuzukommen. Posttraumatisch findet man auf Astrozyten eine hohe Rezeptorendichte der Alpha-und Beta-Untereinheiten dieses proinflammatorischen Zytokins. In Abwesenheit von IL6 findet keine Induktion von GFAP in Astrozyten statt (Raivich et al.1996, Klein et al.1997)

Nach einem Trauma sind Astrozyten für die Narbenbildung zuständig. Dazu setzernieren sie Proteasen und proteaseinhibierende Enzyme. Weiterhin beteiligen sie sich an der Abräumung von Myelin und neuronalen Zelltrümmern.

Auch kommt ihnen eine neuroprotektive Funktion zu, indem sie neurotrophe Stoffe und Antioxidanzien setzernieren und das Ionengleichgewicht regulieren. Durch die Sekretion von Zytokinen regulieren sie auch Immun- und Entzündungsreaktionen.

Bei einem pathologischen Ereignis transformieren sich die Astrozyten in ihre reaktive Form. Diese ist durch Hypertrophie, Vermehrung der Zellfortsätze und der intrazytoplasmatischen Fibrillen und damit auch an der intensiven Anfärbung des GFAP zu erkennen. Eine Vermehrung der Zellzahl kann zum einen durch Mitose GFAPpositiver Zellen und zum anderen durch eine Transformation GFAP-negativer in GFAPpositiver Astrozyten erklärt werden (Takamiya et al. 1988, Petito et al.1990). Goss et al. (1998) fanden an experimentellen Untersuchungen an Ratten heraus, dass hauptsächlich von Astrozyten neuroregenerative Wachstumsfaktoren freigesetzt werden.

Eine mitotische Teilung der Astrozyten findet man überwiegend bei traumatischen Hirnschädigungen mit Zerstörung der Blut-Hirn-Schranke. Durch die Schwellung der Astrozyten kommt es zur Ausbildung eines Ödems und dadurch wird eine physikalische Neuanordnung der Intermediärfilamente herbeigeführt.

Es kommt zur sog. Gliafaserbildung. Damit kommt es auch zu einer besseren Erreichbarkeit der antigenen Determinanten für die GFAP-Antikörper (Kraig et al.1991,

Eng und Lee 1995). Reaktive Astrozyten konnten bereits in der 20. Schwangerschaftswoche nachgewiesen werden (Bell et al. 2005).

Mikroglia

Mikrogliazellen sind ortsständige immunkompetente Zellen des Gehirns. Sie vermitteln zwischen dem durch Blut-Hirn-Schranke geschützten Nervengewebe und dem Immunsystem. Weiterhin gelten sie als sensibler und schneller Indikator für verschiedenste Veränderungen in ihrer Umgebung.

Mikroglia stammen nicht wie alle anderen Gehirnparenchymzellen aus dem Neuroektoderm, sondern sind mit der Monozyten-Makrophagenlinie verwandt. Zu einem bestimmten Zeitpunkt in der pränatalen bzw. frühen postnatalen Entwicklung wandern die Monozyten ins ZNS ein, wandeln sich in die amöboide, phagozytosefähige Form um und reifen dann zur charakteristischen verzweigten Mikroglia (del Rio Hortga 1932, Ling und Wong 1993).

Eine andere Variante zum Nachweis der Mikroglia unabhängig von Makrophagenantigenen und entsprechend spezifischer ist die Lektinhistochemie (Mannoji et al. 1986).

Mit Hilfe dieser Techniken kann die Mikroglia in ihren unterschiedlichen Erscheinungsformen dargestellt werden. Als extrem wandlungsfähige Zelle ist es nicht einfach, die Mikroglia morphologisch zu erfassen. In Verknüpfung mit ihrem Funktionszustand unterscheidet man lichtmikroskopisch grob:

- (1) amöboide Mikroglia, die man häufig perinatal findet
- (2) ruhende "resting" oder verzweigte "ramified" Form im normalen, nichtpathologischen Gehirn
- (3) aktivierte Mikroglia mit verplumpten Fortsätzen im pathologisch veränderten Gehirn
- (4) phagozytische Form, Gehirnmakrophage

Mikroglia regulieren die Ionenhomöostase in ihrer Mikroumgebung. Sie verfügen dafür über einen speziellen, sehr empfindlichen Kaliumkanal (Kettenmann et al.1990). auf ihrer Oberfläche finden sich weiterhin Rezeptoren für ATP (Walz et al. 1992), für Neurotransmitter und für Cytokine. Die Mikrogliaaktivation kann durch verschiedene Ereignisse ausgelöst werden. Dazu gehören: Ischämie, Entzündung und Trauma (Streit 1996). Es gibt kaum einen pathologischen Prozess im Gehirn, bei dem Mikroglia keine Rolle spielt.

Am Tiermodell konnte man zeigen, dass die Aktivierung der parenchymatösen Mikroglia in zwei Stufen erfolgt. Während der ersten Phase wandern die Zellen zum Ort der Schädigung, werden hypertroph, proliferieren und exprimieren bestimmte Marker an ihrer Oberfläche. Unter diesen Markern sind außer dem Komplementrezeptor 3, APP, Thrombospondin auch CD4 und MHC-Komplexe der Klasse I und II, die sonst nur auf Zellen des Immunsystems exprimiert werden (Weinstein et al.1990). In die zweite Aktivierungsphase tritt die Mikroglia nur ein, wenn Nervenzellen geschädigt worden sind, Nekrosen oder Blutungen auftreten. Dann wandelt sie sich zum Gehirnmakrophagen um und beseitigt Zelltrümmer. Auf Stimuli wie Trauma reagiert die Mikroglia nach 48 Stunden bis drei Tage, im Allgemeinen schneller als die Astroglia. Balasingam et al. (1996) behaupten, dass erst die Cytokine reaktiver Mikroglia die Astrozyten zur Aktivierung anregen. Auf Ischämie zeigt Mikroglia schon innerhalb von 20 Minuten eine Reaktion, welche bis zu vier Wochen nach Reperfusion bestehen bleibt. Beschorner et al. (2002) berichten von einem Anstieg der reaktiven Mikroglia innerhalb von 4-8 Tagen, diese seien noch Wochen nach durchgemachtem Trauma nachweisbar. Beim Auftreten vom Zelltod phagozytiert sie die Zelltrümmer, bei geringfügigeren Gewebsschäden überwacht sie deren Reparatur und kann sogar schützende Funktion haben.

Aufgrund der vielseitigen Funktion der Mikroglia erscheint es als wichtig die Mikroglia beim Schütteltrauma auch zu untersuchen.

2 Fragestellung

Kopfverletzungen bei Säuglingen und Kindern sind die häufigsten Ursachen für permanente Behinderungen und Mortalität. Besonders Kinder unter einem Jahr sind sehr anfällig für Kopfverletzungen, aufgrund des dünnen, flexiblen Schädels und der weichen Hirnsubstanz.

Mit dieser Arbeit soll der Frage nachgegangen werden, welche Neuropathologischen Veränderungen nach Schütteltrauma bei Säuglingen und Kleinkindern auftreten.

Mit welchen Methoden lassen sich diese am besten darstellen? Welche Methode ist am besten zum Nachweis vom Schütteltrauma geeignet?

Hat eine lange Fixationszeit Einfluss auf die Anwendbarkeit der Immunhistochemie? Für welche Altersgruppe sind diese Methoden eine sichere Nachweismethode?

Sind diese Methoden für die Routineuntersuchungen geeignet? Welche Bedeutung haben die Ergebnisse in der Forensischen Medizin? Kann man das Schütteltrauma mit Hilfe neuropathologischer Untersuchungen beweisen?

Welche Rolle spielt Hypoxie im Zusammenhang mit diffusen Axonschäden?

Welche Bedeutung kommt Reanimation zu, können dadurch Ergebnisse verfälscht werden?

Spielt die Überlebenszeit eine Rolle bei der Darstellbarkeit der morphologischen Veränderungen?

Der Bedeutung von Schwere und Ausmaß des Traumas sollte nachgegangen werden. Sind die morphologischen Veränderungen beim Auftreten von Schädelfrakturen ausgeprägter?

Abschließend soll ein Vergleich der Ergebnisse mit den Kontrollen erfolgen (Sturz aus großer Höhe und Verkehrsunfall).

3 Material und Methoden

3.1 Material

Untersucht wurden das ZNS von 17, in den Jahren 1979 bis 2006 verstorbenen Säuglingen und Kleinkindern. Das Material stammt aus dem Institut für Rechtsmedizin der Freien Universität Berlin, freundlicherweise von Prof. Dr. med. Maxeiner zur Verfügung gestellt.

Das Alter der Opfer lag zwischen 5 Wochen und 36 Monate. Zwölf dieser Kinder waren jünger als ein Jahr. Vierzehn der Fälle erlagen einem isolierten Schütteltrauma. Bei 3 Fällen kam es zusätzlich zum Schütteln auch zu Schlägen, dem sog. "Shaken impact syndrom".

Wir hatten 2 Kontrollen zur Verfügung, dabei handelt es sich um einen Verkehrsunfall und bei dem 2. Fall um einen Sturz aus großer Höhe.

Patientennummer	Fallnummer	Alter in	Überlebenszeit	Todesursache		
	GZ/T	Monaten				
1 T 968/05		1Mo+1Wo	-	SBS		
2	357/01	11/2	-	SBS		
3	358/01	2	4d	SBS		
4	355/01	21/2	Toteinlieferung	SBS		
5	353/01	3	-	SBS		
6	354/01	3	24 h	SBS		
7 350/01		4	tot aufgefunden	SBS		
8	T 13/06	4 1/2	3d	SBS		
9	351/01	6	tot aufgefunden	SBS, Schläge		
10	348/01	8	13d	SBS		
11	359/01	8 1/2	3d	SBS		
12	362/01	9	4d	SBS		
13	363/01	16	-	SBS		
14	356/01	18	1Jahr	SBS		
15	352/01	22	19 h	SBS		
16 361/01		24	tot aufgefunden	SBS, direktes		
				Kopftrauma		
17	349/01	36	48h	direktes		
				Kopftrauma,		
				SBS		

Tab. 5

Unter den 17 Fällen waren 8 Mädchen und 9 Jungen. Bei 6 Kindern handelt es sich um ehemalige Frühgeborene.

Dreizehn der 17 Kinder sind bewusstlos vorgefunden worden, vier Kinder waren bereits tot. Bei 7 Kindern ist bekannt, dass sie reanimiert wurden, 4 davon frustran.

Tab.6: Übersicht Kontrollen

Kontrollen	rollen Fallnummer Alter in		Überlebenszeit	Todesursache	
		Monaten			
А	347/01	24		Fall aus großer	
				Höhe	
В	360/01	48	4h	Verkehrsunfall	

Tab. 7

Fallnr.	Geschlecht	Alter in	Klinik	Reanimation	Überlebenszeit
		Monate			
1	W	1 +1Wo	bewusstlos	ja	-
2	М	1,5	bewusstlos	frustran	-
3	W	2	komatös		4d
4	М	2,5	tot	-	-
5	М	3	komatös	frustran	-
6	W	3	k.A.		1d
7	М	4	tot	-	-
8	М	4,5	bewusstlos		3d
9	W	6	tot	-	-
10	М	8	bewusstlos	ja	13d
11	Μ	8,5	komatäs		3d
12	W	9	bewusstlos		4d
13	М	16	leblos	frustran	-
14	W	18	bewusstlos	ja	1Jahr
15	W	22	komatös		1d
16	W	24	tot	-	-
17	M	36	bewusstlos	Ja	2d

Die Angaben zum Hergang standen nicht im Verhältnis mit der Klinik. Es ist wiederholt zur Misshandlung gekommen.

Bei 9 Kindern konnten ältere Verletzungen nachgewiesen werden. Bei 4 Kindern lagen alte Rippenfrakturen vor (Fall 1,3,6,11). Bei zwei weiteren Kindern bestanden alte Humerusfrakturen (Fall 12 und 18). In drei weiteren Fällen konnten ältere Blutungen dokumentiert werden (Fall 5,13,18).

Beim Fall 5 lagen außer älteren Blutungen, eine Impressionsfraktur mit tief greifender Frakturlinie des rechten Os temporo-parietale, sowie im oberen Anteil des Os occipitale, eine breite Nahtsprengung der rechten Kranz-Pfeil- und der rechten Lambdanaht, sowie eine Unterkieferfraktur vor. Beim Fall 16 war das Kind den Eltern bereits 1 Jahr zuvor vom Jugendamt entzogen worden, bevor es wieder in die Familie kam und erneut misshandelt wurde.

Fallnr.	Angaben Hergang	Vorerkrankungen	Ältere Verletzungen
1	Kein Trauma eingeräumt	Gedeihstörung	Ältere Rippen-
			Fraktur, Hyposphagma
			beidseits 2Wo zuvor
2	1,5 d zuvor im Tragegurt	keine	nein
	beim Joggen		
3	Im Tragesitz von	keine	Mehrere alte paravertebrale
	unbekanntem Hund		Rippenbrüche
	angefallen		
4	Kein Trauma eingeräumt	Zangengeburt	nein
5	Kein Trauma eingeräumt	Mit einer Größe von 54	Ältere Blutung über
		cm und 3 kg bei einem	Stirnmitte, ältere BUen über
		Alter von 3 Monaten;	Streckseite beider Unterarme
		nicht altersgemäße	
		Entwicklung	
		(hypotropher Säugling)	
6	Kind sei Mutter aus ca. 90 cm	keine	Alte Fraktur 9. und 10.Rippe
_	Höhe aus Händen geglitten.		
7	Kein Trauma berichtet	Frühgeborenes	nein
8	Bisher kein Trauma	keine	nein
	eingeräumt		
9	Schütteln und Schläge 2 d	Frühgeborenes,	
	zuvor	mehrfach im Krhs.	
10		wegen Anämie	
10	Kein Trauma angegeben, 3	Seit Wochen	Hydrozephalus seit Monaten
	Std. zuvor beim Kinderarzt	zunehmender	ohne geklärte Ursache, ohne
		Kopfumfang mit	Symptomatik
		Hygromen ohne	
11		diagnostizierte Ursache	
11	Bagatellsturze, Hochwerten	keine	3 alte paravertebrale
10		V. S. C. I	Alter
12	Kein Trauma angegeben	keine, war Std. zuvor	Alte Humerustraktur,
		berni Kinderarzi	angeolicii voin Festilaiten bei
12	Kind wurde vom neven	Frühacherenes	Ältere PLIen Cosieht
15	Fround der Mutter	Fruigeborenes	Schlöfen Dücken
	geschüttelt und auf Patt		Schlafen, Rucken
	geworfen		
14	Sturz von Wickelkommode	Frijhgeborenes	Bai Klinikaufnahma bilatarala
14	Sturz von wiekerkommode	Trungeborenes	Hygrome
15	Täter räumte Schleudern-	Frijh_und Mangel_	nein
15	Beweging mit dem Kind ein	Geborenes (39 SSW)	
16	"sei wohl aus dem Bett	nein	Wegen Misshandlung vor 1
10	oefallen"		Iahr zeitweise im Heim
17	Verschiedene Sturzereignisse	nein	Alte Humerusfraktur
1/	aus geringer Höhe		(stationär mit Hämatomen ?
			Iabre zuvor)
			June Luvor)

Tab. 8: Hergang, Vorerkrankungen, ältere Verletzungen (Maxeiner H.; 2001)

Die Gehirne lagen zum Teil in Paraffin eingebettet vor, bei den Fällen 1,10, 8, 12, 16, 17 war zusätzlich in Formalin fixiertes Material vorhanden. Diese Fälle wurden nachseziert und aufgearbeitet. Von den Paraffinblöcken wurden Mikrotomschnitte in einer Dicke von 5 μ m angefertigt und auf beschichtete Objektträger aufgezogen und getrocknet. In der Literatur fordert man mindestens 6 Blöcke Material, um das Ausmaß des DAI zu beurteilen (Smith et al. 2002). Aufgrund der nachhaltigen Aufarbeitung der z.T. sehr weit zurück liegenden Fälle war bei einigen nur eine begrenzte Anzahl Material vorhanden.

Pat.nr.	Stamm-	Hippoc	Kortex	Mittel-	Medull	Pons	Cerebel-	RM	Dura
	Ganglie	ampus		hirn	a obl.		lum		
	n								
1	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	
2			Х						
3			Х		Х				
4	Х		Х				Х		
5	Х		Х	Х	Х	X	Х		
6	Х		Х			X	Х		
7	Х		Х						
8	Х		Х	Х	Х	Х	Х	Х	
9			Х	Х	Х	Х			
10	Х	Х	Х		Х	Х	Х	Х	Х
11	Х	Х	Х	Х	Х	Х			
12	Х	Х	Х			Х	Х	Х	Х
13	Х		Х	Х	Х	Х	Х		
14	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х		Х
15	Х		Х						
16	Х		Х	Х	Х	Х	Х	Х	
17	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х

Tab. 9 Vorhandenes Mate

А	Х	Х		Х	Х	Х	Х	
В	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х

3.2 Methoden

3.2.1 Routinefärbungen

Alle Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt. Diese Färbung ermöglicht neben einem Überblick über die zu untersuchenden Regionen eine grobe Zelldifferenzierung. So lassen sich zum Beispiel Nerven-, Glia- und Blutzellen vom umgebenden Gewebe unterscheiden.

Durchführung der HE-Färbung

- 1.) Entparaffinieren der Präparate und Einstellen in Aqua dest.
- 2.) Kernfärbung mit Hämalaun für 6-8 Min.
- 3.) Spülen in Aqua dest.
- 4.) Bläuen in Leitungswasser für 10 Min.
- 5.) Färben in Eosin (0,1% in Aqua dest.) für 10 Min.
- 6.) Auswaschen in Wasser für 5 Min.
- 7.) Differenzieren in 80% Äthanol
- 8.) Äthanol 100% 2x2 Min.
- 9.) Xylol für 3-5 Min.
- 10.) Eindecken in Vitro-Clud

Färbeergebnis: Zellkerne blau, Zellplasma rot



Abb. 4: Fall 10, Frontalhirn, HE, V 10

3.2.2 Immunhistochemische Färbetechniken

Die immunhistochemische Verarbeitung erfolgte mittels monoklonaler bzw.polyklonaler, gegen das entsprechende Antigen gerichteter Antikörper, die durch die Alkalische-Phosphatase-Anti-Alkalische Phosphatase (APAAP)- oder die Avidin-Biotin-Complex (ABC)-Technik lokalisiert wurden.

APAAP-Komplex

Bei dieser von Cordell et.al (1984) entwickelten, unmarkierten Antikörpertechnik kommt es zur Anwendung von drei Reagenzien: Primärantikörper, unmarkierter Sekundärantikörper oder Brückenantikörper und APAAP-Komplex.

Der APAAP-Komplex stellt einen löslichen Immunkomplex, bestehend aus zwei Molekülen alkalischer Phosphatase und einem gegen dieses Antigen gerichteten Antikörper dar. Man erhält diesen Komplex durch Inkubation des Antikörpers mit einem Überschuss an Enzym. Die entstehenden Präzipitate werden entfernt.

Zunächst wird ein unkonjugierter Primärantikörper aufgetragen, der gegen das gewebsspezifische Antigen gerichtet ist. Der Primärantikörper sollte möglichst hoch verdünnt werden, um eine komplette Absättigung des Brückenantikörpers mit nachfolgender Blockierung seiner Brückenfunktion zu verhindern. Der Sekundär-oder Brückenantikörper wird im Überschuss dazugegeben, damit sich nur eine Hälfte seines FAB-Fragmentes an den Primärantikörper bindet und die andere Hälfte für die Bindung an den Antikörper des APAAP-Komplexes zur Verfügung steht.

Als Substrat für das Enzym alkalische Phosphatase wird der Ester Naphtol-As-Biphosphat verwendet, der zu Phosphaten und Phenolen hydrolysiert wird. Als Aktivatoren dienen Magnesium-, Calzium- und Manganionen. 1-5 mM Levamisole in der Substratlösung blockiert die endogene Alkalische-Phosphatase-Aktivität. Das Chromogen Neufuchsin, ein farbloses Diazoniumsalz, reagiert mit den Phenolen zu einem roten Azofarbstoff. Da dieser in organischen oder alkoholischen Lösungsmitteln löslich ist, muss zum Eindecken ein wasserlösliches Medium benutzt werden.

Färbeprotokoll zur APAAP-Methode:

- 1. Entparaffinierung mit Xylol und der absteigenden Alkoholreihe
- 2. Spülpuffer: 2x5 Min.
- 3. Protease
- 4. Spülpuffer: 2x5 Min.
- 5. Präabsorption mit 1% Rabbit Normalserum zur Verminderung der unspezifischen Hintergrundfärbung durch Proteinbindung des Primärkörpers an geladenen Bindegewebskomponenten: 30 Min.
- 6. Inkubieren mit dem primären Antikörper, verdünnt mit Rabbit Normalserum 1:10 über Nacht bei 4 Grad Celsius
- 7. Spülpuffer 2x5 Min.

- 8. Auftragen des Brückenantikörpers (Rabbit-Anti-Mouse-IgG, Dako Z 259): 30 Min.
- 9. Spülpuffer 2x5 Min.
- 10. Inkubieren mit dem APAAP-Komplex (Mouse-Anti-Alkalische Phosphatase, Dako D651), verdünnt mit Spülpuffer 1:50, 30 Min.
- 11. Spülpuffer: 2x5 Min.
- 12. Entwicklung: 5-10 Min., Entwicklungslösung:

A: 62,5 ml Propandiol (0,2 M = 21,05 g/l) + 175 ml Trispuffer (pH = 8,7) + 0,1 gLevamisole (zur Unterdrückung der endogenen Phosphataseaktivität, Sigma L 9756)

B: 0,12 g Naphtol AsBi-phosphat (Sigma N 2250) in 1,7 ml Dimethylformamid-Lösung

C: 0,05 g Natriumnitrit in 1,35 ml Aqua dest. lösen, 500 µl 5% iges Neufuchsin (in 2 N HCL gelöst und dreimal filtriert)dazugeben, 1 Min. reagieren lassen

C mit A mischen, anschließend B dazugeben, pH von 8,7-9 kontrollieren, alles filtern, auf Objektträger auftragen: 5-15 Min.

- 13. Spülpuffer: 3x5 Min.
- 14. Gegenfärben mit Meyer's Hämalaun
- 15. Bläuen im Spülpuffer
- 16. Eindecken mit Aquatex

Avidin-Biotin-Complex-Technik (ABC-Methode)

Die ABC-Methode nutzt die starke Affinität von Avidin, einem Hühnereiweiß-Glycoprotein für das Vitamin Biotin. Ein Avidinmolekül besitzt vier Bindungsstellen für Biotin, die aufgrund der molekularen Konfiguration nicht alle besetzt werden.

Zunächst wird das gesuchte Gewebsantigen durch einen Primärantikörper erkannt. Dann wird ein biotinylierter Brückenantikörper aufgetragen, der an den Primärantikörper bindet.

An das Biotin des Brückenantikörpers können die freien Bindungsstellen des Avidins aus dem Avidin-Biotin-Komplex binden. Der AB-Complex ist mit Peroxidase enzymgebunden, so dass mit DAB als chromogener Substratlösung eine Färbung ermöglicht wird. (Naish 1989, Romeis 1989)

Die endogene Peroxidase wird mit Wasserstoffperoxid blockiert.

Durchführung der Färbung

- 1. Entparaffinieren mit Xylol für 2x5Min.und Aceton für 10 Min.
- 2. Inkubieren mit 3ml H2O2 und 200 ml Methanol für 30 Min.
- 3. Spülen mit PBS-Puffer für 20 Min.
 - Ansatz: NaH2PO4 1,56g NaHPO4 3,73g

NaCl 22,8g

Aqua dest.ad.31

- 4. Inkubieren mit Normal-Kaninchenserum für 20Min.
- 5. Abgießen des Normal-Kaninchenserums und Auftragen des Primärantikörpers, inkubieren im Kühlschrank über Nacht
- 6. Spülen mit PBS-Puffer
- 7. Inkubation mit dem sekundären Antikörper für 3 Min.(biotinyliertes Anti-Kaninchen-IgG aus der Ziege)
- 8. Spülen mit PBS-Puffer
- 9. Inkubation mit dem Avidin-Biotin-Komplex für 1Stunde
- 10. Spülen in PBS-Puffer
- Entwicklung mit DAB unter optischer Kontrolle Ansatz: 1 Tablette DAB (Sigma) in 15 ml Tris-HCL (pH 7,6) lösen, 12 Mikrol H2O2 dazugeben
- 12. Spülen in Aqua dest.
- 13. Gegenfärben mit Hämalaun für 2 Min.
- 14. Bläuen mit Leitungswasser für 15 Min.
- 15. Aufsteigende Alkoholreihe, je 2 Min.
- 16. Xylol 2x 5 Min.

Eindecken in Vitro-Clud (R.Langenbrinck, Emmendingen)

3.2.3 GFAP (glial fibrillary acidic protein) Saures Gliafaserprotein

GFAP ist ein 50 kD schweres intrazytoplasmatisches Filamentprotein, welches einen Teil des Zellgerüstes der Astrozyten bildet. Es erwies sich als der spezifischste Marker von Zellen astrozytärer Abstammung. In der zentralen stabartigen Domäne des Moleküls weist GFAP eine beträchtliche gemeinsame strukturelle Homologie mit anderen Intermediärfilamenten auf. Funktionell soll GFAP für die Motilität und Form der Astrozyten von Wichtigkeit sein und verleiht den Fortsätzen der Astrozyten ihre bauliche Stabilität.

Nach Verletzungen des humanen zentralen Nervensystem durch Trauma, genetische Krankheiten oder chemische Substanzen proliferiern die Astrozyten und Zellkörper, die Fortsätze hypertrophieren stark, wobei GFAP deutlich hochreguliert wird.

Demgegenüber, lässt die Produktion von GFAP bei zunehmender maligner Entartung der Astrozyten progressiv nach. Daher gibt es in malignen Astrozytomen weniger GFAPpositiv markierte Tumorzellen und die Färbungsintensität ist schwächer als in weniger malignen Astrozytomen bzw. Proben in normalem Hirngewebe.

Der Nachweis von GFAP auf Astrozyten in der Umgebung pathologischer Prozesse weist auf reaktive Veränderungen hin.

Das saure Gliafaserprotein (Glial fibrillary acidic protein =GFAP) wurde zuerst aus Multiple Sklerose Plaques isoliert (Bignami und Dahl 1977).



Abb. 5: Fall 11, Brücke GFAP, V 40, perivaskuläre Gliose

GFAP ist eine Proteinuntereinheit der Intermediärfilamente, die die Zellkörper und – Fortsätze reifer Astrozyten in Form von Bündeln durchziehen.

Das GFAP zeigt eine speziesabhängige Aminosäuresequenz, sein Molekulargewicht liegt zwischen 48000 D bei der Maus und 51000 D bei der Ratte. Zu seinen biochemischen Eigenschaften zählen die Unlöslichkeit in wässrigen Lösungsmitteln, eine Tendenz zum Aggregieren und die Empfindlichkeit gegenüber neutralen Proteasen.

Die Antikörper gegen saures Gliafaserprotein aus Rinderrückenmark werden in Kaninchen hergestellt, es gibt sie in monoklonaler und polyklonaler Form. Im ZNS färben sich Astrozyten spezifisch an. Der Antikörper wurde mit einer Verdünnung von 1:500 verwendet.

Spezifität: immunzytochemisch nachgewiesen, markiert der Antikörper GFAP in Astrozyten und in Zellen astrozytärer Abstammung

3.2.4 CD 68 (Monoclonal Mouse Anti-human Macrophage) = KP1

Der Monoklonale Antikörper vom Klon KP1 ist gegen das formalinresistente, lysosomale Monozyten-und Makrophagenantigen CD 68 gerichtet. Es handelt sich um ein 110 kDa großes Glykoprotein, welches vornehmlich in Lysosomen vorkommt. Er gehört somit zur Familie der lysosomalen Glykoproteine, die eine wichtige Rolle beim Transport und der Endozytese an der Zellmembran spielen. Der Antikörper färbt Makrophagen in einer weiten Vielfalt menschlichen Gewebes, inklusiv Kupferzellen und Makrophagen in der Milz, Lunge und im Knochen. Der Antikörper reagiert nicht mit Granulozyten. Antigenpräsentierenden Zellen oder Langerhanszellen. Der Antikörper reagiert mit Zellpopulationen, die als plasmazytoide T-Zellen bezeichnet werden und in Lymphknoten vorkommen. Ihren Ursprung haben diese Zellen am wahrscheinlichsten von Monozyten und Makrophagen. Man erreicht ein gutes Färbeergebnis, wenn das Material vorher in Formalin eingebettet bzw. in Paraffin eingebetet war. Der Antikörper sollte in einer Verdünnung 1:50 bis 1: 100 verwendet werden.



Abb.: 6 Fall 3, Parietales Großhirn links, KP1, V 10

3.2.5 Lektinhistochemie RCA1(Ricinus-communis-Agglutinin)

Der Begriff Lektin wurde von Boyd und Shapleigh (1954) geprägt. Er kommt vom lateinischen Wort "legere" und bedeutet auswählen bzw. auslesen.



Abb. 7: Fall 9, Mittelhirn, RCA1, V 20, Darstellung von Endothelzellen und BZ

Lektine sind Proteine, die die Darstellung der Verteilung von bestimmten Glykoproteinen in Zellen und Geweben ermöglichen und dadurch eine Alternative zu den immunhistochemischen Verfahren darstellen.

Bei der Verarbeitung der Präparate wurde Peroxidase-konjugiertes Ricinus communis Agglutinin-120 (RCA120) verwendet. RCA120 ist ein formalinresistentes Lektin, das an D-Galactosereste auf der äußeren Zellmembran der Zellkörper und der Fortsätze der Mikroglia im menschlichen Gehirn bindet. Daneben kommt es zur Markierung von Endothel-und Blutzellen (Mannoj et al. 1986).

Auch reaktive Astrogliazellen können dargestellt werden, was die Beurteilung der Mikroglia und der perivaskulären Zellen erschwert.

Die Färbung erfolgt nach folgendem Protokoll:

- 1. Entparaffinieren
- 2. Spülen in TBS-Puffer 10min.
- 3. Andauung mittels Trypsin (Sigma, T 7409); 0,2g Trypsin auf 200 ml TBS-Puffer 10 min.
- 4. Spülen in TBS-Puffer 2x5min
- 5. Unterdrücken der endogenen Peroxidaseaktivität: 2ml Wasserstoffperoxyd in 198 ml Methanol lösen. 20 min
- 6. Spülen in TBS-Puffer 2x5min
- 7. Lektin RCA120 (Sigma, L 2758): 25 mikrol plus 5 mikrol Triton X-100, mit TBS-Puffer auf 1 ml auffüllen, 50 mikrol.auf jeden Objektträger auftragen.
- 8. Inkubation bei 37 Grad Celsius in Feuchtkammer 90 min
- 9. Entwicklung: Eine DAB-Tablette (SIGMA, D 5905) in 15 ml Trispuffer Hydrochlorid (pH:7,6) lösen, 12 mikrol dreißigprozentiges Wasserstoffperoxyd hinzugeben, filtrieren max.5min
- 10. Spülen in Leitungswasser 2x5min
- 11. Gegenfärben mit gereiftem Hämalaun nach Maier 1-2min
- 12. Bläuen in Leitungswasser 10min
- 13. Entwässern in aufsteigende Alkoholreihe
- 14. kurzes Spülen in Xylol
- 15. Eindecken mit einem alkohollöslichen Eindeckmittel: beispielsweise mit Vitro-Clud 2x5min

Herstellung der tris-puffered Saline (TBS)-Pufferlösung:

6,057 g Thydroxymethylaminomethan und 8,7 g Natriumchlorid in 11 Aqua dest.lösen, pH 7,4 einstellen, 0,203 g Magnesiumchlorid und 0,162 g Mangan (II)-chlorid und 0,111 g Calciumchlorid hinzufügen.

3.2.6 Amyloid precursor protein (APP)

APP ist ein Membranbildendes Glycoprotein und normaler Bestandteil von Neuronen, es wird vom Golgi Apparat produziert und von den Axonen über den schnellen anterograden Transport befördert. Zur Funktion gehören Abwehr (ill-defined) aber auch Zell Adhäsion, Wachstum und Antwort auf Verletzung. Es wurde in den letzten Jahren ausführlich untersucht, da es auch in den senilen Plaques beim Morbus Alzheimer auftritt und bei der Multiplen Sklerose nachweisbar ist. Untersuchungen bei Tieren aber auch menschlichen Gehirnen haben gezeigt, dass ßAPP auch ein Marker für geschädigte Axone ist. Die Präsenz des ßAPP in den geschädigten Axonen wird auf den inhibierten Axoplasmatischen Fluss und den daraus resultierenden Aufstau des Proteins zurückgeführt.

Durchführung:

Antikörper: Monoklonaler Mouse Anti-Alzheimer Precursor Protein A4 Hersteller: Chemicon international Katalognummer: MAB348

- 1. Entparaffinieren der Schnitte: Xylol (20min);, absteigende Alkoholreihe
- 2. Vorbehandeln der Schnitte in der Mikrowelle
- 3. Spülen der Schnitte mit PBS
- 4. Blockieren der endogenen Peroxdase für 10 Min. (10% FCS und PBS)
- Auftragen des Primärantikörpers APP in einer 1:1000 Verdünnung (12 Schnitte a 100 μl AK entsprechen 1200 μl Gesamtvolumen >> 1,2 μl AK auf 1200 μl Pufferlösung
- 6. Waschen mit PBS
- 7. Avidin-Peroxidase (Sigma) AB 2 1:1000 für 25 Min. bei Raumtemperatur
- 8. Spülen mit PBS
- 9. AP Min.
- 10. Spülen mit PBS
- Entwickeln mit Chrom, Einwirkzeit 15-20 Min.
 2625 μl Puffer + 105 μl Chrom RED 1 + 105 μl Chrom RED 2 + 105 μl Chrom RED 3
- 12. Gegenfärbung mit Mayer s Hämalaun (30 sec.)
- 13. Bläuen im Wasserbad für 10 Minuten
- 14. Differenzierung in aufsteigender Alkoholreihe
- 15. Eindecken mit Eukitt



Abb. 8: Fall 11, Innere Kapsel, ß-APP, V 40; Axonauftreibungen

3.2.7 Neurofilameentprotein (2F11 DAKO)

Dieser Antikörper gegen Neurofilamentuntereinheiten wird aus Mäusen gewonnen, die mit Hochgereinigtem Neurofilament aus menschlichen Gehirnen immunisiert wurden. Neurofilament ist ein Mitglied der Intermediärfilamente.



Abb. 9: Fall 4, Gyrus postcentralis, NF 11, V 40

Zur Familie der Intermediärfilamente gehören auch Zytokeratine, Vimentin und GFAP. Das Neurofilament Heteropolymer besteht aus drei Untereinheiten:

NF-H 200 kDA NF-M 160 kDA

NEL 701-DA

NF-L 70kDA

Der Antikörper reagiert mit der phosphorylierte Form der 70 kDA Komponente. Da im Zellkörper der Neurone die nichtphosphorylierte Form des Neurofilaments vorkommt, wird dieser nicht oder nur sehr schwach angefärbt.

NF 11 markiert Neurone, neuronale Prozesse und periphere Nerven, symphatische Ganglien und adrenales Mark. Des Weiteren reagiert der Antikörper mit Anteilen von Neuroblastomen und Gangliomen. NF 11 kann auch zur Darstellung von Axonauftreibungen genutzt werden.

Der Antikörper wurde in einer Verdünnung von 1:50 bis 1:100 angewandt.

3.2.8 Neurofibrillendarstellung nach Bielschowsky

Bielschowsky entwickelte Anfang des vorigen Jahrhunderts die Silberimprägnationsmethode zur Darstellung von Neurofibrillen, für die es heute eine Vielzahl von Modifikationen gibt. Die Präparate werden zunächst mit Metallionen, in diesem Fall mit Silbernitrat, imprägniert. Das so entstandene Substrat wird dann mit Silberionen, hier ammoniakalische Silbernitratlösung, versetzt. Der entstandene Silbersubstrat-Komplex wird anschließend fixiert, da sich das Silber in einer Alkohol, Xylol und Harz - löslichen Form niedergeschlagen hat (Romeis 1989).

Durchführung der Färbung

- 1. Entparaffinieren der Präparate und Einstellen in sterilem Aqua dest.
- 2. 20% Silbernitratlösung für ca.30 Min., bis es zu einer hellbraunen Färbung der Schnitte kommt
- 3. Spülen in sterilem Aqua dest.
- 4. Ammoniakalische Silberlösung für ca.30 Min. dafür wird zu 50 ml einer 20% Silbernitratlösung solange konzentrierter Ammoniak getropft, bis sich Lösung schwarz färbt. Es wird weiterer Ammoniak dazugetropft, bis sich der entstandene Niederschlag wieder löst und die Lösung klar ist.
- 5. Spülen in Ammoniak-Aqua dest. (1 Teil Ammoniak auf 4 Teile Aqua dest.)
- 6. Spülen in sterilem Aqua dest.
- 7. Ammoniakalische Silberlösung mit 2 Tropfen Entwickler für ca. 2-3 Min. bis sich die Schnitte gold-braun färben

Ansatz des Entwicklers: 37% Formalaldehyd 20 ml Steriles Aqua dest. 100 ml Zitronensäure 0,5 g 65% Salpetersäure 1 Tropfen

8. Spülen in Ammoniak-Aqua dest.
- 9. Spülen in sterilem Aqua dest.
 10. 5% Natriumthiosulfat für 2-3 Min.
 11. Spülen in Wasser für 5 Min.
 12. Entwässern und Eindecken



Abb.10: Fall 11, Pons, Bielschowsky-Versilberung, V 40, Axonauftreibungen

4 Ergebnisse

4.1 Makroskopie

Bei den Fällen 10,12,16 und 17 und bei den Kontrollen waren in Formalin fixierte Organteile vorhanden. Von diesen wurden zusätzlich zu den vorhandenen in Paraffin eingebetetem Material Schnitte gewonnen und untersucht. Es waren Gehirn, Dura und z.T. Rückenmark vorhanden. Das Gehirn wurde duch einen Horizontalschnitt seziert und die so gewonnenen Hälften durch Frontalscheiben seziert.



Ab 11: Kontrolle Verkehrsunfall Makropräperat Parietalhirn mit Kontusionsherden

Das Großhirn von Fallnummer 10 zeigte eine Einsenkung des graublutig verfärbten Marklagers. Das Marklager stellte sich eingesunken und der Kortex verschmächtigt dar. Subdural fanden sich alte Blutungen, die nicht raumfordernd waren und in Form nichtabstreifbarer brauner Auflagerungen persistierten. Der Hirnstamm zeigte gelbliche Nekrosen in Höhe der Brücke, wo die Brückenkerne von gelblichen Lamellen umgeben waren und wo sich die Kerngebiete gelbkrümelig in der Brückenhaube verändert zeigten. Auch das Kleinhirn zeigte eine Verschmächtigung der Rinde und eine, wenn auch geringergradige Erweichung der weißen Substanz. Der Querschnitt der Medulla zeigte eine Grauverfärbung. Beim Fall 16 war Material vom Mittelhirn, Kleinhirn, Rückenmark, Medulla oblongata, Pons, Mantelkante, periventrikulär und occipital, sowie Balken vorhanden. Bereits bei Betrachtung der Makropräperate waren bilaterale fronto-parietale und parasagittale Brückenvenenrupturen mit dünnem subduralem Blutfilm auffällig.

Bei Fallnummer 12 war zusätzlich Material von sagittal zerlegter Wirbelsäule und drei Fragmente Rückenmark von jeweils 5 bis 10cm Länge vorhanden. Die Wirbelsäule ließ keine Frakturen erkennen. Die Innenseite der Wirbelbögen zeigte sich epidural unterblutet in Höhe des thorakalen Abschnitts. Dura mit epiduralem Fettgewebe sowie Teile der Rückenmuskulatur lagen getrennt vor. Die Frontalscheiben des Großhirns ließen eine weit fortgeschrittene Bemarkung des Großhirnmarklagers und eine scharfe Mark-Rindengrenze erkennen. Der Balken war in der Mittellinie in Höhe der Koronarnaht zerrissen. Die meningealen Gefäße waren gestaut, SABs waren in den Makrobildern nicht zu erkennen.



Abb. 12: Fall 12, Makropräparat von der Wirbelsäule mit Dura

Auch beim Fall 17 war in formalinfixiertes Material von der zervikalen Wirbelsäule vorhanden. Dieses war median zerlegt. Es waren Rückenmark, Hirnstamm und 2 Scheiben Kleinhirnhemisphären vorhanden. An der Rückseite des Wirbelkanals über den sich eine über fünf Wirbelsegmente reihende epidurale Blutung, Wirbelbögen fand welche sich auch im epiduralen Fettgewebe ausgedehnt hatte. Das Rückenmark war ebenfalls in der Mediosagittalebene zerlegt. Ein 6cm langes Rückenmarksfragment wies intraparenchymatöse auf der Schnittfläche eine über 2cm fleckförmige Grauverfärbungen auf. Es handelte sich hierbei um kleinherdige Blutungen. Der Hirnstamm war ebenfalls in der Mediosagittalebene seziert. Die Fossa interpeduncularis zeigte sich mit Blut ausgefüllt. Das Kleinhirn wies eine komplette Bemarkung und eine scharfe Mark-Rinden-Grenze auf. Zusätzlich waren 5 Anteile der Dura mater vorhanden, die in wechselndem Ausmaß abstreifbare subdurale Blutungen aufzeigten. Ein Fragment schien parietal zu sein, da ein gestrecktes intradurales Gefäß (A. meningea media) sich über eine größere Strecke verfolgen ließ.

Des Weiteren waren zahlreiche Frontalscheiben und Bruchstücke von Horizontalscheiben des Großhirns, sowie 2 Fragmente Falx mit anhängender Dura vorhanden. An der Ansatzstelle der Falx befanden sich beidseits ausgedehnte subdurale Blutungen (Brückenvenenabrisse). Die Hirnscheiben zeigen unterschiedlich ausgeprägte SAB. Diese waren jedoch nicht raumfordernd. Die meningealen Gefäße stellten sich gestaut dar. SAB schienen an der Mantelkante besonders ausgeprägt zu sein.

Bei allen Fällen lagen Subdurale Blutungen vor. Diese waren unterschiedlich stark ausgeprägt. Bei einigen Fällen waren es nur Schmierblutungen, z.T. handelte es sich um massive Befunde mit bis zu 70ml Blut.

Abb. 13: Fall 1 Makrobild SAB



4.2 Histologie

Zur Abschätzung der neuronalen Schädigung wurden alle Schnitte als erstes mit HE untersucht. Hierbei ließen sich Blutungen erkennen und im Verlauf verfolgen. Des Weiteren konnte eine Zelldifferenzierung und Beurteilung ihrer Veränderungen erfolgen. Gerade bei den sehr jungen Säuglingen fiel die Persistenz der Matrixzellnester auf. Die Persistenz der Matrixzellen ist bis zum Alter von 4 Monaten als grenzwertig normal einzustufen. Es handelte sich bei 5 Fällen um Frühgeborene.

Blutungen

Bei allen Fällen konnten histologisch Subarachnoidalblutungen nachgewiesen werden. Es waren Subarachnoidale Blutungen über dem Großhirn zu verfolgen, häufig frontal, temporal und parietal.



Abb. 14: Fall 6, Schläfenlappen, HE, V 10, SAB im Windungstal

Dabei handelte es sich ausschließlich um frische Blutungen. Diese beschränkten sich zum Teil auf den Subarachnoidalraum des Gyrus und der angrenzenden Windungstäler ließen sich manchmal bis in die Windungstäler hineinverfolgen ohne raumfordernd zu sein. In anderen Fällen kam es zu Marklagereinblutungen, die zum Teil perivenös, z.T. jedoch ohne Gefäßbezug zu beobachten waren. Arealweise war der Subarachnoidalraum über dem Großhirn durch die Blutung ausgefüllt und aufgeweitet. Es wurden SAB beobachtet, die stark raumfordernd von einem Windungstal zum nächsten zogen. Die meningealen Venen innerhalb dieser Blutungen stellten sich gestaut dar. Sie waren offenbar Anlass der Blutung. Diese Blutstauungen beschränkten sich auf die meningealen Gefäße, intraparenchymatös zeigten sich nur kleinkalibrige Venen gestaut.

In der Lektinhistochemie mit RCA1 zeigten sich vereinzelt prall gefüllte Makrophagen im Subarachnoidalem Raum (Fallnummer: 3, 7, 9). Teilweise waren die SAB so ausgeprägt, dass sie in den subpialen Raum eingebrochen sind (Fall 2, 4 und 10).



Abb. 15: Fall 2 Großhirnkortex, HE, V 10, SAB

Beim Fall 2 konnte man eine flächige Subarachnoidalblutung und gestaute meningeale Blutgefäßen (Arterien und Venen) über den Gyri und in den Windungstälern verfolgen. Das Großhirn stellt sich bedeckt von zarten Gefäßen dar. Im venösen Sektor waren diese blutgestaut. An den Einsenkungen der Windungstäler fand sich subarachnoidal frisches Blut. In der Tiefe des Windungstales stellte sich das Blut perivaskulär im Subarachnoidalraum und auch perivasklär intraparenchymatös dar. Arealweise war der Subarachnoidalraum über dem Großhirn durch die Blutung ausgefüllt und ausgeweitet. Nur arealweise trat Blut nach subpial durch. Im Virchow-Robin´schen Raum fanden sich Erythrozytensäume in oberflächlichen Gefäßabschnitten. Über dem mittleren Gyrus stellte sich eine nicht stark Raumfordernde SAB dar.

Im Subarachnoidalraum kam es zu Erythrozytenextravasate und Serumextravasationen, die sich von der Oberfläche des Großhirnkortex in ein Windungstal zogen. Über einen Gyrus weitete sich der SAR durch die Blutung auf. Hier fanden sich auch meningeale Gefäße, deren Gefäßwand von Erythrozyten durchsetzt war. Auch im Fall 4 zeigten sich im Meningealraum Serumexsudationen in der Umgebung von blutgestauten Gefäßen. Oft waren intraparenchymatöse Blutungen zu beobachten.



Abb. 16: Fall 11, perivetrikuläres Großhirn, HE, V 10, intraparenchymatös gestaute Venen und Erythrozytenextravasate



Abb.17, Fall 3, HE, V 10, Hypoxie

Tab.10 Zusammenfassung über die aufgetretenen Blutungen

F	Ausmaß und Lokalisation der Blutungen					
1	Frische SAB, Epi-und subdurale Blutungen RM, SDB Unterseite Schläfenlappen					
2	Flächige frische SAB und gestaute meningeale Blutgefäße über den Gyry und in Windungstäler, SDB 10ml bds.					
3	Blutung relativ gering, extrem gestaute meningeale Gefäße, Minimale SDB bds., lockere, geringfögig mit Hirnoberfläche verhaftete SDB über li Schläfen-und Stirnlappen, starke Einblutung der vorderen BV am li Schläfenpol, geringfügige subdurale Schmierblutungen auch rechts, insgesamt weniger as 2ml Blut					
4	Flächenhafte frische SAB, größte Ausdehnung über Windungstal Gyrus postcentralis, im Subarachnoidalraum, Auftreten von Makrophagen, z.T. Erythrophagen, Nicht Raumfordernde SDB einseitig betont					
5	Frische SAB mit größter Ausdehnung über Windungstälern, an Oberfläche der Gyry frontal und parieto-temporal Nichtraumfordernde Einblutung in Subarachnoidalraum, keine SAB Mittelhirn und Cerebellum, Gefäße gestaut					
6	Frische, Raumfordernde SAB links occipital, tief in Sulcus hineinreichend, zusammen mit multifokalen frischen Marklagereinblutungen, die z.T. perivenös, z.T. ohne Gefäßbeteiligung, in Rinde Arealweise kleinherdige Einblutungen, Cerebellum Raumfordernde SAB, zwischen Folien in Windungstäler hineinreichend, linker Schläfenlappen parenchymatöse Einblutungen, Übergang von Aquädukt in 4.Ventrikel blutgefüllt					
7	Geringe SAB, in Abbau begriffen, intraparenchymatöse Blutungen in der Umgebung des 3.Ventrikel, SDB 15ml bilateral					
8	SDB v.a. an li Mantelkante					
9	Frische, Raumfordernde SAB über Stirnlappen rechts, welche Arachnoidea von Hirnoberfläche abhebelt und bis ins Windungstal hineinreicht, in RCA1-Reaktion zeigen sich reichlich blutgestaute Gefäße im Kortex, im SAR Makrophagen, Erythrophagen, bilaterale subdurale Shmierblutungen					
10	Im SAR erhöhte Zelldichte, an einzelnen Stellen ist Pia durch Infiltratzellen durchbrochen > Abräumvorgänge im SAR kommunizieren mit denen in der Rinde, Histologisch Residuen subdualer Blutungen (bei stationärer Aufnahme Punktion via Fontanelle 36ml SDB)					
11	Frische SAB paramedian an Basis Brückenfuß, intraparenchymatös gestaute Venen und Erythrozytenextravasate, ausgedehnte SAB im Hirnstamm, 5ml SDB					
12	Perinukleare Marklager und umgebenen Gyri zeigen Subarachnoidalblutstauung, intraparenchymatösen Gefäße, oberes Zervikalmark, Kapillaren und Venen in der grauen Substanz gestaut, sind gestaut besonders im Vorderhorn ist es zu ausgedehnten Einblutungen gekommen, Subdurale Schmierblutung, epidurale Blutung					
13	Frische, nicht Raumfordernde SAB Mantelkante, frontal rechts, temporal links, im Aquädukt frisches Blut, Subdurale frontale Hygrome, SDB re frontal					
14	Autoptisch weitgehendes Fehlen regulärer BV-Übergänge, starke Hirnatrophie und Hydrocephalus					
15	Fische SAB, intraparenchymatöse Blutstauung mit Erythrodiapedese, z.T. auch frische Einblutungen, parietal rechts SAB im oberen Sulcusbereich, an Oberfläche der Gyry strichförmig, nicht raumfordend, bricht jedoch breitflächig durch Pia, Sulcus Windungstäler lediglich blutgestaute meningeale Venen, Stammganglien extreme kapillar-venöse Blutstauung, an Grenze Capsula interna, Teil der gestauten Gefäße zeigt Erythrodiapedese, Einblutung der knochennahen Schicht Galea, SDB knapp 10ml					
16	bilateral fronto-parietale parasagital dunner subduraler Film					
17	Ausgeprägte frische SAB, nicht raumfordernd, gestaute meningeale Gefäße, am stärksten an Mantelkante, SAB maximal 10ml, epidurale Blutung					

F	Fallnummer	RM	Rückenmark
SDB	Subdurale Blutung	BV	Brückenvenen

SAB Subarchnoidale Blutung SAR Subarachnoidalraum

Axonschäden

Diffuse Axonschäden (DAI) gelten als primäre post-traumatische Läsion mit sekundär auftretendem zerebralem Ödem, ansteigendem Hirndruck und hypoxischem und ischämischen Hirnschäden. Das Auftreten von Axonauftreibungen gilt als Nachweis von DAI. DAI kann man mit Hilfe von HE, Versilberungen, Neurofilament und der Immunhistochemie für ß-APP darstellen. Wir entschieden uns vorerst für die Versilberung mit Bielschowsky und anschließend mit ß-APP. Neurofilament wurde bei ausgewählten Schnitten angefertigt.

Es konnten Axonschäden bei allen Fällen unter 1 Jahr (Fallnummern 1-12) nachgewiesen werden. Das Ausmaß der Schäden war nicht bei allen Fällen einheitlich. Bei den Fällen 1, 2, 5, 6, 7, 8,10,11 und 12 wurden diffuse Axonschäden beobachtet, wohingegen bei den Fällen 3, 4 und 9 Axonauftreibungen gut darstellbar waren, jedoch hauptsächlich perivaskulär auftraten. Insgesamt konnten bei 14 unserer 17 SBS-Fälle Axonauftreibungen an wenigsten einer Hirnregion nachgewiesen werden.

Insgesamt konnten Axonschäden vor allem in der weißen Substanz der zerebralen Hemisphären, in den Stammganglien, im Balken, Pons, Mittelhirn und der grauen Substanz des Rückenmarks beobachtet werden.



Abb. 18: Fall 7, Umgebung 3.Ventrikel, β-APP, V 20, Axonauftreibungen

In der Bielschowsky-Versilberung beim Fall 11 zeigten sich im Centrum semiovale immer wieder Axonauftreibungen. Diese traten nicht vereinzelt, sondern diffus auf. Meistens stellten sich die Axonauftreibungen in Form von Axonketten dar. Diese waren unabhängig von Gefäßen, zeigten sich auch perivaskulär. Im periventrikulären Großhirn waren sehr dünne und zarte, aber über einen langen Verlauf verfolgbare Axone mit mehreren Kalibersprüngen zu beobachten.

Im Bereich der Molekularschicht fanden sich zahlreiche zur Oberfläche parallel laufende Fasern. Innerhalb der Rinde waren absteigende Axone und die senkrecht dazu verlaufenden, verknüpfenden Axone zu erkennen. In der Rinde kamen große Pyramidenzellen zur Darstellung.

In den Stammganglien waren Axonauftreibungen mit mehrere Kalibersprünge zu verfolgen. Diese waren in der Inneren und Äußeren Kapsel zu beobachten. In Bezirken beobachteter Axonanschwellung fielen vermehrt reaktiv veränderte GFAP-positive Astrozyten auf. Die benachbarte graue Substanz zeigte keine nennenswerte astrozytäre Gliose, was gegen eine generalisierte Hypoxie spricht.

Weiterhin kamen Axonauftreibungen in der Mittellinie der Brücke, sowohl der langen Bahnen, als auch der Stria transversae, zur Darstellung. Mit der Bielschowsky-Versilberung ließen sich diese Axonschäden nicht nachweisen.

Die positive Reaktion mit ß-APP ist z.T. isoliert aufgetreten, häufiger jedoch im Zusammenhang mit Glia-und Makrophagen Reaktion.



Abb. 19: Fall 11, innere Kapsel, β-APP, V 20, Axonschollen



Abb. 20: Fall 11, Brücke, β-APP, V 40, Axonschollen

Beim Fall 1 ließen sich ß-APP positive Axone im Balken und im Centrum semiovale darstellen. SAB waren zu beobachten und auch hier zeigten sich Merkmale der Hypoxie mit Ausbildung perikardialer Ödeme.



Abb. 21: Fall 10, Pons, B-APP, V 20, Axonschollen



Abb. 22: Fall 6, linker Schläfenlappen, B-APP, V 20



Abb. 23: Fall 7, Umgebung 3.Ventrikel, ß-APP, V 40



Abb. 24: Fall 11, Brücke, ß-APP, V 40, Axonschollen



Abb. 25: Fall 11, Brücke, ß-APP, V 20, Axonauftreibungen entlang Mittellinie

Mittels der der Immunhistochemie für ß-APP konnten Axonauftreibungen aufgedeckt werden, die man mit der Versilberung nicht sah.

Bei den Fällen (3, 6, 8, 10, 11, 14, 15, 17) wo Überlebenszeiten bekannt sind, hatten wir bei allen eine positive Reaktion auf APP, wobei das Ausmaß der Reaktion bei den Fällen 6, 8 und 11 besonders eindrucksvoll war.



Abb. 26: Fall 11, Brücke, Bielschowsky-Versilberung, V 40, Axonauftreibungen



Abb. 27: Fall 12, Brücke, Bielschowsky-Versilberung, V 20, Axonauftreibungen



Abb. 28: Fall 2, Großhirnkortex, Bielschowsky-Versilberung, V 20, Axonauftreibungen



Abb.29: Fall 2, Großhirnkortex, Bielschowsky-Versilberung, V 20, Axonauftreibungen



Abb. 30: Fall 12, Innere Kapsel, Bielschowsky-Versilberung, V 40, Axonauftreibungen

Fall 12: In der GFAP-Reaktion kam es zur Darstellung einer subpiale Gliose. Die Mikrogliavermehrung stand oft in räumlicher Beziehung zu den Axonauftreibungen. In allen Strukturen der weißen Substanz ist es zur Gliafaserproliferation gekommen. In der Umgebung von Gefäßen war eine deutliche Gliose mit Klasmatodendrose zu beobachten. In der GFAP-Reaktion war auch zu erkennen, dass die graue Substanz, die den Kortex und Kerngebiete wie Ncl.caudatus beinhalten, frei von reaktiven Astrozyten waren. Lediglich ein schmaler Saum perivaskulär liegender Zellen der grauen Substanz, die subependymär lagen, zeigte eine geringadige Gliose. An der Unterseite des Balkens war eine streifenförmige GFAP-Positivität zu erkennen, die in lateralen Bereichen zunahm und zum Centrum semiovale hin eine Gliose bildete. Sternförmige Astrozyten hatten weit verfolgbare Fortsätze.

Beim Fall 4 kam es im Thalamus und der Inneren Kapsel zu Axonauftreibungen mit mehrfachen Kalibersprüngen im Verlauf. Auch im Marklager kamen multiple Axonauftreibungen an zum Teil sehr schmächtigen Axonen zur Darstellung.



Abb.: 31, Fall 4, Gyrus postcentralis, GFAP, V20, reaktive Astroglia

Gleichzeitig war bei diesem Fall eine Vermehrung der Mikroglia in der weißen Substanz mit der RCA-1-Reaktion deutlich zu erkennen. In der GFAP-Reaktion sah man fokal im gleichen Areal der Axonauftreibungen eine Gliose links am Occipitalpol.

Die Nervenzellen waren hypoxisch verändert. Die Oligodendroglia stellten sich hydrophisch geschwollen dar. Die Brücke und der Übergang von Aquädukt in den 4.Ventrikel zeigten sich blutgefüllt, in der Mittellinie waren die Gefäße blutgestaut und zeigten Erythrozytenextravasation. In der GFAP-Reaktion kam es perivaskulär und subependymär zu reaktiven Gliazellveränderungen. Gleichermaßen bestand eine marginale Gliose. Im Bereich des Tectums ließen sich in der Bielschowsky-Versilberung deutlich Axonschollen darstellen. Diese waren besonders zahlreich in der Mittellinie zu verfolgen. Im Brückenfuß fanden sich in der Pyramidenbahn fraglich aufgetriebene Axone. In der RCA-1-Darstellung kam es innerhalb der Pyramidenbahn zu einer deutlich vermehrten Mikroglia.

Hypoxie

Bei der histologischen Untersuchung der Fälle zeigten sich bereits in der HE-Färbung Merkmale der Hypoxie.

Besonders unter den Blutungen stellte sich die Molekularschicht spongiös aufgelockert dar. Auch um Gefäße zeigten sich häufig hypoxisch veränderte Nervenzellen. Die Gliazellen wiesen ein optisch leeres Zytoplasma und geschrumpfte Zellkerne auf. Die kortikalen Neurone waren nahezu alle hypoxisch verändert und geschrumpft, meistens fand sich ein perikarielles Ödem. Zum Teil war ein Ödem nur perivaskulär besonders ausgeprägt. Auch innerhalb des Kortex fanden sich diffus verteilte hypoxische waren Nervenzellen Nervenzellveränderungen. Subarachnoidalblutungen Unter geschwollen, fokal auch hier Anschwellung von perivaskulären besonders Astrozytenfüßen im Sinne des Ödems. Die Hypoxie betraf v.a. Schicht 1 und 2 der Molekularschicht, wobei letztere am stärksten betroffen war. Die Nervenzellen der 3. und den darunterliegenden Schichten waren nur vereinzelt hypoxisch. Die Nervenzellen wiesen Ödeme in ihrer Umgebung auf. Es zeigten sich breite perivaskuläre Ödeme.

Beim Fall 7 zeigten sich nur vereinzelt perikaryelle Ödeme, hypoxisch veränderte Nervenzellen waren nicht zu finden. Eine Gewebsauflockerung war auf das Zytoplasma der Oligodendrogliazellen und die Umgebung der Nervenzellen beschränkt. Leider standen uns bei diesem Fall nur 2 Präperate zur Verfügung mit Ausschnitten aus der Umgebung des 3.Ventrikels und mediobasale Anteile des vorderen Temporallappens, Boden 4.Ventrikel in Höhe Tuber ciereum.

Man erkannte hier das Einstrahlen des Tractus opticus. Das zweite Präparat zeigt an der Oberfläche im Interhemisphärenspalt das Chiasma opticum. Es handelte sich hier um einen Horizontalschnitt, der Frontalpole der Vorderhörner und der Seitenventrikel erfasste, lateral davon verlief die Innere Kapsel.

Unter dem Chiasma opticus erkannte man auf beiden Seiten die A.carotis internae. Diese waren blutgestaut. Im Subarachnoidalraum neben dem Chiasma hatte es eingeblutet. In der Umgebung von intraparenchymatösen Gefäßen fanden sich Säume von Matrixzellen. Subependymär zeigten sich ebenfalls kleine Nester von Matrixzellen. Es handelte sich hierbei um ein Frühgeborenes. Axonauftreibungen konnten über den Matrixzellen beobachtet werden. Frische intraparenchymale Blutungen zeigten sich perivaskulär. Die Astroglia war auch subkortikal vermehrt und durchsetzte die Rinde, besonders die weißen Substanz war durch Fasergliose gekennzeichnet Die Mikroglia im Hirnparenchym war durchweg fein verzweigt und nicht aktiviert. In der RCA1 Darstellung zeigten sich im Bereich von Matrixzellnester eine fokaler Vermehrung und Verplumpung und somit Aktivierung von Mikrogliazellen.

Im Hirnstamm zeigte sich das Bild eines perivaskulären Ödems mit hypoxischen Nervenzellen, die Merkmale der Klasmatodendrose zeigten.

Im Kleinhirn waren die hypoxischen Veränderungen verhältnismäßig gering.

Insgesamt kann man sagen, dass hypoxische Veränderungen in einigen, z.T. allen Nervenzellen des cerebralen Kortex, Basalganglien, Hirnstamm und ventraler Brücke, inf. Olive und Hippocampus zu beobachten waren.

Die graue Substanz der Großhirnhemisphären war nie betroffen.



Abb. 32: HE, Fall 6, linker Schläfenlappen, Hypoxie, perikaryelles Ödem



Abb.33: Fall 6, linker Schläfenlappen, HE, V 20, hypoxische Nervenzellen unter Blutung

Hippocampus

Der Hippocampus ist der Sitz des Riechzentrums der Hirnrinde, er besitzt eine zentrale Funktion innerhalb des limbischen Sytems. Die Hippocampusregion gehört zu den Gehirnregionen, die sehr empfindlich auf Traumageschehnisse reagiert. (Kotapaka et al. (1994), Tate and Bigler (2000), Hicks et al. (1993))

In unserer Studie lag beim Fall 11 Material vom Temporallapen mit Ammonshorn und Gyrus dentatus vor. Im Sektor CA4 stellten sich autolytische Nervenzellen mit eosinophilem Zytoplasma und homogenisiertem Kernchromatin dar. Die Nissl-Schollen waren komplett verschwunden, auch die Körnerzellen des Gyrus dentatus zeigten sich im Sinne der Autolyse verändert mit eosinophilem Zytoplasma und großem homogenisiertem Kern. Es gab keine Zelle die von der Veränderung ausgenommen war.



Abb. 34: Fall 11 Hippocampus, KP1, V 20, nekrotischen Körnerzellen

Die Neurone in den Sektoren des Ammonshorns waren autolytisch verändert. In der Lektinhistochemie zeigte sich eine Vermehrung der Mikroglia im Sektor CA4, innerhalb der Körnerzellen und in den Schafferkollateralen. Offenbar als Ausdruck einer Nekrose der Körnerzellen und Pyramidenzellen, die von Phagozytose gefolgt wurde.



Abb. 35: Fall 11, Hippocampus, KP1, V 20



Abb. 36: Fall 11, Hippocampus, KP1, V 40 Synaptoklasten In C1

In der GFAP-Reaktion zeigt sich eine deutliche Gliose im Sektor CA4 und perivaskulär im benachbarten Großhirn. Die Astrozytenfortsätze zeigen im Bereich der weißen Substanz Zeichen der Klasmatodendrose. Auch die graue Substanz war stellenweise betroffen.

In der HE-Färbung zeigen sich intraparenchymatös und in den Meningen stark gestaute und durch die Blutstauung aufgeweiteter venöse Blutgefäße.

Autolytische Neurone, Körnerzellen des Gyrus dentatus und Pyramidenzellen des Ammonshorns waren in der Bielschowsky-Versilberung gut zu erkennen. In der Neurofilament-Immunhistochemie fanden sich im Sektor CA1 ganz vereinzelt deutlich positiv gefärbte Neurone. Dies galt auch für die Zellen direkt unter dem Band des Gyrus dentatus. Bei vergleichender Analyse der Bielschowsky-Versilberung ließen sich die identischen Nervenzellen erkennen. Auch im Fall 1 zeigte sich eine ausgeprägte Hypoxie im Sektor CA2 bis CA4. Im Sektor CA1 stellten sich die Nervenzellen nekrotisch dar.



Abb. 37: Fall 11, Hippocampus, GFAP, V 20

Kleinhirnveränderungen

Auch bei der Untersuchung des Kleinhirns (Fall 5) zeigte sich die Unreife des Gehirns. Der Kleinhirnkortex bestand aus einer bis zu 7-lagigen äusseren Körnerschicht, in der man die äußere Proliferationszone und die innere Migrationszone noch gut erkennen konnte. Die Molekularschicht erschien zellarm. Die Purkinje-Zellen waren gut differenziert und ließen zwischen sich Raum für die Bergmann-Glia. Die innere Körnerzellschicht zeigte sich reif und dicht. Im Meningealraum über der Kleinhirnrinde erkannte man reife Gefäße, die gering blutgestaut waren. Blutungen wurden nicht beobachtet. In der GFAP-Reaktion sah man einen kleinen umschriebenen Bereich einer gliösen Narbe an der Stelle einer eingeschmolzenen Rinde, hier persistierten lediglich die reaktiv veränderten Gliazellen und ein schmaler Saum von äußerer Körnerschicht. Bei den Gliazellen handelte es sich um Bergmann-Glia.

Purkinje-Zellen der Kleinhirnrinde reagieren in der Regel sehr sensibel auf Hypoxie. Bei unserer Untersuchung zeigten sich nur vereinzelt hypoxisch veränderte Nervenzellen. Hypoxie/ Ischämie scheint in der Pathogenese wahrscheinlich doch eher sekundäre nach Trauma aufzutreten.



Abb.:38 Fall 14, Cerebellum, Bielschowsky-Versilberung, V 10

Beim Fall 10 (Z.n. postanoxischem Hirnschaden) wies das Kleinhirn eine elektive Parenchymnekrose auf: alle Nervenzellen schienen zugrunde gegangen zu sein. Der Defekt wurde inkomplett durch faserbildende Astroglia gedeckt. Die Läppchenstruktur blieb erhalten. Die Folien stellten sich extrem verschmächtigt dar.

Mikrogliaknötchen

Unter Mikrogliaknötchen (MK) versteht man das Auftreten von einem nekrotisierenden Bereich mit entzündlich veränderten Knötchen, bestehend aus Mikroglia, Granulozyten, Monozyten und Astrozyten. Bei 3 unserer Fälle wurden MK beobachtet: 2, 4 und 9.



Abb.39: Fall 4, MK im Gyrus postcentralis, RCA1, Vergrößerung 10

In der RCA1 Reaktion zeigte sich beim Fall 4 im Marklager eine Mikrogliavermehrung. Die Mikrogliazellen waren verplumpt und erschienen amöboid transformiert und sekundär regressiv verändert. Das Zytoplasma reagierte Lektin positiv, erschien und plump. Die Kerne wiesen eine dichte Chromatinstruktur auf. Darstellung eines Mikrogliaknötchens mit fraglicher Kopplung an einen Axonschaden.

Neuropathologische Befunde Rückenmark

Bei 7 Fällen stand uns Material vom Rückenmark zur Verfügung (Fallnummer: 1, 8,10,12,15,16 und 17). Bei 5 Fällen konnten auch hier Axonauftreibungen im nachgewiesen werden.

Im kraniocervicalen Rückenmark (Fall1) kam es zur Darstellung von diffusen Axonschäden entlang der langen Bahnen. Auch die Hinterwurzeln im Parenchym waren betroffen.



Abb. 40: Fall 1, cervicales RM, APP (braun), V 40/0,75, links

Es stellten sich sehr dicke β-APP positive Axonauftreibungen an der lateralen Grenze der grauen Substanz am Übergang zur weißen Substanz dar. Auch am cervico - thorakalen Übergang kam es zur Darstellung von Axonauftreibungen. Hier reagierten sogar die Vorderwurzelzellen positiv auf β-APP. Die Axondarstellung waren nicht symmetrisch. Rechtsseitig schien die Reaktion ausgeprägter zu sein.

Blutungen wurden intradural und epidural beobachtet. Es ist zu einer Subarachnoidalen Blutung gekommen. Auch war eine Blutung im Myelon zu erkennen (Fall 1).



Abb. 41: Fall 1,cervicales Rückenmark, β-APP (braun), V 40x0,75,) rechts

Im oberen zervikalen Rückenmark (Fall 12) zeigten sich in der Bielschowsky-Versilberung, außerordentlich zahlreiche Axonschollen in den intraspinal verlaufenden Hinterwurzelfasern. Auch im Bereich der langen Bahnen (Pyramidenbahn) fanden sich besonders in medialen Abschnitten besonders zahlreiche und sehr dicke Axonauftreibungen, ebenso in den intraspinalen Abschnitten der Vorderwurzel, die hier längs getroffen waren. Diese geschwollenen Axone schienen nicht von reaktiv veränderten Astrozyten begleitet zu sein. Hinweis auf traumatische Genese.

Weiterhin wurden Einblutungen in die graue Substanz beobachtet. Diese könnten als Demarkationsblutungen (hämorrhagischer Randsaum der Totalnekrose des Hirntodes) entstanden sein oder beim Schütteltrauma primärer Ort der Gewalteinwirkung (Whiplash) gewesen sein. Die Kapillaren und Venen waren in der grauen Substanz gestaut. Besonders im Vorderhorn ist es zu ausgedehnten Einblutungen gekommen.

Lokale Gefäßverletzungen setzten häufig sehr früh ein, oft kam es zu einer progressiven Entwicklung von Blutungen in der zentralen Region der verletzten Rückenmarks-Region v.a. in der grauen Substanz. Ursache dafür ist, das diese von weicherer Konsistenz ist und stärker durchblutet wird. Initial kommt es nach Verletzung zu petechialen Blutungen in der grauen Substanz. Dieses Blut kommt von Kapillaren, Venolen und Arteriolen, fast nie von der Arteria spinalis anterior.

Im oberen Thorakalmark zeigte sich in der Mitte der grauen Substanz eine in Abräumung begriffene Nekrose. In der Bielschowsky-Versilberung zeigte sich in den Randzonen der Nekrose eine Häufung von Axonschollen. Diese waren wahrscheinlich am ehesten hypoxischer Genese. Frage nach stattgehabter Reanimation. Auch die Fasern der vorderen Kommissur wiesen Axonschollen auf. Am Seitenhorn erkannte man auch wieder Axonauftreibungen in den Projektionszonen, die an den Neuronen endeten.

Im tiefen Rückenmarksniveau fanden sich Axonschollen in der Randzone der säulenförmigen Nekrose der Grisea, die nach Kreislaufstillstand und Reanimation entstanden sind.



Abb. 42: Fall 12, thorakales RM, Bielschowsky-Versilberung, V 40, Axonauftreibungen

Beim Fall 10 ist in Höhe von C1 die gesamte graue Substanz zugrunde gegangen. Hier fanden sich außerordentlich zahlreich blutgestaute neu gebildete Gefäße und Makrophagen, welche das nekrotische Material abräumten. Die Schmetterlingsfigur war gut zu erkennen, da sie als in Abräumung befindliche Nekrose scharf von der weißen Substanz abgegrenzt war. In der Nachbarschaft der Nekrose fanden sich zahlreiche Axonschollen in der weißen Substanz, welche anzeigten, dass Axone der langen Bahnen in einem anderen Niveau unterbrochen wurden.

Auch beim Fall 8 konnten im Vorderhorn des zervikalen RM Axonauftreibungen dargestellt werden. Der Befund war links ausgeprägter als auf der Gegenseite. Die langen Bahnen waren nicht betroffen. Dort zeigten sich viele große Nervenzellen.



Abb. 43: Fall 8, cervicales RM, V 40, Axonauftreibungen im Bereich des Vorderhorns

Im Längs- als auch Querschnitt ließen sich Axonauftreibungen sowohl mit der Immunhistochemie für ß-APP, als auch mit der Bielschowsky-Versilberung erkennen.



Abb.: 44 Fall 8, Medulla , Bielschowsky-Versilberung, V 40, Axone mit deutlichen Kalibersprüngen im Verlauf

Tab. 11

Lokalisation Axonauftreibungen					
Balken					
Weiße Substanz Großhirn					
Centrum semiovale					
Thalamus					
Innere Kapsel					
Centrum semiovale					
Pons					
Mittelhirn					
Rückenmark					

"Shaken Impact Syndrom"

Beim Fall 5 kam es zusätzlich zum Schütteln zum sog. "Impact Syndrome". Die Eltern des Kindes haben anamnestisch kein Trauma eingeräumt. Mit einer Größe von 54cm und einem Gewicht von 3kg handelte es sich um eine nicht altersgemäße Entwicklung. Der hypotrophe Säugling verstarb im Alter von 3 Monaten. Das Kind wurde komatös aufgefunden und frustran reanimiert. Über die Überlebenszeit konnten keine Angaben gemacht werden. In der Obduktion fand man neben einer Unterkieferfraktur eine Impressionsfraktur mit tief greifender Frakturlinie im rechten Os temporale-parietale, sowie im oberen Anteil des Os occipitale, sowie eine breite Nahtsprengung der rechten Kranz-Pfeil-Naht. Ältere Blutungen über der Stirnmitte und Blutunterlaufungen über den Streckseiten beider Unterarme wiesen auf wiederholte Misshandlung hin.

Histologisch ließen sich im frontalen Gehirn frische SAB's mit größter Ausdehnung über den Windungstälern nachweisen. Innerhalb der Windungstäler kam es nicht zu Einblutungen. Die Blutung war nicht Raumfordernd. Unter der SAB waren die Neurone des Kortex gut erhalten. Lediglich einzelne Nervenzellen erschienen geschrumpft und hypoxisch verändert. In der Umgebung der erhaltenen Neurone fanden sich perikardiale Ödeme. In der Bielschowsky-Versilberung konnten die Axone längs von der mittleren Kortexschicht bis zur Schnittkante im Marklager verfolgt werden. Axonauftreibungen wurden dabei nicht beobachtet. In der weißen Substanz fand sich eine mäßige GFAP-Reaktion, einzelne Astrozyten waren positiv und wiesen kurze stummelförmige Fortsätze und ein insgesamt GFAP-positives Zytoplasma auf. Vereinzelt ließen sich perivaskuläre Endfüße darstellen. Die Glia marginalis stellte sich erwartungsgemäß GFAP-positiv dar. In der grauen Substanz der Rinde fand sich keine Reaktivität. In der RCA1-Lektinhistochemie ließen sich die Endothelzellen gut erkennen. Mikrogliazellen waren mit ihren feinen Fortsätzen in normaler Verteilung dargestellt. Die Mikroglia schien nicht aktiviert zu sein. Auch parieto-temporal fanden sich innerhalb der Rindenschicht nur vereinzelt hypoxische Neurone. Die nichthypoxisch veränderten Nervenzellen wiesen ein perikaryelles Ödem auf. Auch die Oligodendrogliazellen weisen einen Hydrops ihres Zytoplasmas auf.

Im Mittelhirn am Übergang zur oberen Brücke stellten sich die Axone in der Bielschowsky-Versilberung gut dar. Axonauftreibungen waren mit dieser Methode nicht zu verfolgen. Anders jedoch mit der Immunhistochemie für ß-APP. Hiermit ließen sich ausgeprägte Axonauftreibungen darstellen. Wahrscheinlich hat das Opfer nicht lange überlebt, so dass die Axonschäden mit der Versilberung nicht erfasst werden konnten.



Abb. 45: Fallnr. 5, Mittelhirn am Übergang zur oberen Brücke, β-APP, V 20, Axonauftreibungen

Subependymär kam es zu einer gering ausgeprägten Gliose. Vereinzelt ließen sich GFAP-positive perivaskuläre Astrozyten in der Vierhügelplatte nachweisen. Zu einer Klasmatodendrose scheint es nicht gekommen zu sein. Der gesamte Schnitt war durchsetzt von freier Mikroglia, die vermehrt war.

In der Medulla oblongata stellten sich perivaskulär Ödemsäume dar. Die großen Nervenzellen wiesen keine hypoxischen Veränderungen auf. Die GFAP-Reaktion war stärker in der weißen Substanz. Es fand sich eine deutliche Demarkierung der Hinterstrangkerne zur Markstrahlung und eine deutliche Gliose subependymär. In der GFAP-Reaktion war etwa die Hälfte der elongierten schmächtigen Zellkerne mit GFAP-positivem Zytoplasma ausgestattet und somit astrozytärer Natur. In der Lektinhistochemie mit RCA1 stellte sich ein Teil der marginal gelegenen Zellen mit den schmächtigen, elongierten, chromatindichten Kernen als Mikroglia dar.

In den Stammganglien zeigte sich eine marginale Gliose und gelegentlich einzelne und in Gruppen liegende reaktiv veränderte Astrozyten in der weißen Substanz. Diese stellten sich perivaskulär in der Umgebung von Ödemsäumen dar.

Auch beim Fall 9 soll es neben dem Schütteln zu Schlägen gekommen sein.

Bei den Fällen 16 und 17 wird ein Schütteltrauma, als auch ein direktes Kopftrauma angegeben. Die Angaben zum Hergang der Verletzungen wurden von den Eltern mit verschiedenen Sturzereignissen erklärt. Bei der Sektion waren multiple Blutunterlaufungen im Gesicht, am Gesäß und Rumpf auffällig. Wahrscheinlich wurden die Kinder mehr geschlagen als geschüttelt Bei beiden Kindern ist es wiederholt zur Misshandlung gekommen. Axonauftreibungen konnten bei diesen Fällen nicht nachgewiesen werden. Es scheint bei älteren Kindern zu einer anderen Form von Gewaltmechanismus zu kommen.

Kontrollen

Im Anschluss erfolgte die neuropathologische Untersuchung der beiden Kontrollen. Es wurde gezielt nach Axonauftreibungen gesucht, um diese mit denen der geschüttelten Fälle zu vergleichen.

Sturz aus großer Höhe

Hierbei handelte es sich um ein 24 Monate altes Kind, männlichen Geschlechts. Angaben zur Überlebenszeit bestanden nicht.

Es war Material vom oberen thorakalen Rückenmark, Medulla oblongata, Pons, Großhirnkortex, Kleinhirn vorhanden. Dieses wurde histologisch aufgearbeitet und mit entsprechend bearbeitet. Makroskopisch erkannte man, dass die Schädelknochen in großer Ausdehnung frakturiert mit Impressionsfrakturen über den linken Scheitel verlaufend. Die harte Hirnhaut war zerrissen. Das Gehirn tief greifend zerquetscht.

Morphologisch kamen im Rückenmark z.T. hypoxisch veränderte Nervenzellen zur Darstellung. Die Kerne erschienen geschrumpft und das Zytoplasma kondensiert. Paramedian neben dem Zentralkanal ließen sich Axonauftreibungen beobachten.

In der Medulla oblongata fanden sich innerhalb des Olivenbandes zahlreiche hypoxisch veränderte Nervenzellen. Die Zellkerne der Hirnnerven am Boden des 4. Ventrikels zeigten ebenfalls hypoxische Veränderungen. Am Boden des 4.Ventrikel fand sich eine generalisierte Blutstauung. Im oberen Anteil der Medulla oblongata fand sich eine durch das Trauma direkt bedingte Einblutung an der Außenseite. Das Blut drang hier über die vorgebildeten Risse und Spalten in das Hirnparenchym ein. Es stellte sich das Bild einer hämorrhagischen Nekrose dar. Neben der Medulla fand sich ebenfalls eingeblutetes Kleinhirngewebe. Es könnte sich hierbei um eine traumatische Lazeration handeln. Es handelte sich eindeutig um frisches Blut.

Im Brückenfuß waren gestaute Gefäße und zahlreiche frische Blutungen unmittelbar perivaskulär zu beobachten. Sie betrafen arterielle wie venöse Gefäße. Die Blutungen waren scharf begrenzt, offenbar blieb die äußere Basalmembran der Gefäßumgebung erhalten.

Es spricht dafür, dass die Blutung unter geringem Druck ausgetreten ist. Nahezu alle Nervenzellen der Brückenkerne stellten sich hypoxisch verändert dar. Sie zeigten sich geschrumpft, der Kern färbte sich stark an. Auffällig waren eine perinukleäre Zytoplasmaaufhellung und eine stark anfärbbare Kernperipherie. Gelegentlich konnte man die geschrumpften Fortsätze gut in das Gewebe hineinverfolgen. An der Brückenbasis fand sich subarachnoidal Blut. In der Brückenhaube stellten sich unmittelbar unter dem Ependym in der Mittellinie kleinherdige Einblutungen mit darunter blutgestauten Gefäßen dar. Subependymär befanden sich regressiv veränderte eosinophile rundliche Gliazellen mit geschrumpftem, rundem, chromatindichtem Kern. In der immunhistochemischen Darstellung mit Neurofilament zeigte sich im Hirnstamm gegenüber einem längsangeschnittenen meningealen Gefäß fleckförmige Verdichtungen der Antikörperreaktion. In der Bielschowsky Versilberung ließen sich an gleicher Stelle Axonschollen nachweisen.

Der Großhirnkortex ließ Blut im SAR erkennen, wobei auch hier die Hirnoberfläche einreißt und das Blut tiefer in die Molekularschicht eindringt. Im Hirnparenchym zeigten sich Blutstauung und perivaskuläre Blutmanschetten. Nur kleinherdig fanden sich auch intraparenchymatöse Blutungen ohne erkennbare Beziehung zu einem Gefäß. Axonschäden ließen sich hier nicht darstellen.

Bei der Untersuchung des Kleinhirns fiel auf, dass nahezu alle Purkinje-Zellen hypoxisch verändert waren. Auch hier kam es zu Einblutungen in die Molekularschicht.

Die Axonauftreibungen erschienen bei diesem Fall anders. Während bei den Schütteltraumafällen. die langen Bahnen: Vorderals auch Hinterwurzeln. Pyramidenbahn Axonauftreibungen aufwiesen, kam es hier zu vereinzelten Axonauftreibungen neben dem Zentralkanal des Rückenmarks und in der näheren Umgebung von Gefäßen im Hirnstamm.

Verkehrsunfall:

Es handelt sich beim Opfer um einen 48 Monate alten Jungen, der bei einem Verkehrsunfall verstarb. Die Überlebenszeit betrug 4 Stunden. Es war Untersuchungsmaterial vom Rückenmark, Groß- und Kleinhirn, sowie vom Hirnstamm vorhanden.

Bei der Obduktion des Schädels zeigten sich Abrisse der mittleren und oberen beiden rechten Brückenvenen. Der gesamte rechte obere Scheitelbereich war breitflächig unterblutet; SDB. Es waren Berstungsbruchlinien im rechten Felsenbein, sowie am Übergang von der mittleren in die hintere rechte Schädelgrube zu verfolgen. Ein Bruchausläufer verlief in die linke mittlere Schädelgrube. Hirnstamm und Kleinhirn erscheinen ohne traumatische Veränderungen.

In der HE-Färbung zeigten sich die Nervenzellen der Brückenkerne gering hypoxisch verändert; die Kerne und das Zytoplasma waren geschrumpft.

Die Rinde des rechten Fronto-parietalen Kortex war mit Kugelblutungen durchsetzt, in deren Mitte sich häufig noch Gefäße erkennen ließen. Die Blutungen waren scharf begrenzt, füllten lediglich den Virchow-Robinschen Raum aus. Die Umgebung stellte sich deutlich spongiös aufgelockert dar, Nervenzellen waren hpoxisch verändert und geschrumpft.

Rückenmarksveränderungen: bis auf geringradig geschrumpfte Vorderhornzellen auf Höhe C1 keine pathologischenVeränderungen zu beobachten. Es stellten sich keine Blutungen dar. Langen Bahnen konnten im Verlauf verfolgt werden, die Bemarkung war regelrecht. Periventrikulär und Balken: Balken stellte sich gut bemarkt dar. Die Innere Kapsel grenzt den Nukleus caudatus von den lateralen Abschnitten der Stammganglien ab. Vena magna galeni stellte sich nicht blutgestaut dar. Es fanden sich keine Hinweise für hypoxische Veränderungen. Eine Blutung konnte über dem Balken unmittelbar in der Mittellinie im Subarachnoidalraum beobachtet werden. Diese war nicht raumfordernd. Sie lag direkt über dem Indusium griseum.

Axonschollen ließen sich weder im Balken noch im Bereich der Inneren Kapsel darstellen.

Fallnr.	SDB	SAB	Zerebrales Ödem	Hypoxie	Astrozyten- Gliose	AI	Mikroglia- Aktivation
1	Х	Х	X	Х	X	X	X
2	Х	Х	Х	Х	Х	Х	X*
3	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х
4	X	Х	Х	Х	Х	Х	X*
5	X	Х	Х	Х	Х	Х	Х
6	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х
7	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х
8	X	X.	Х	Х	Х	Х	Х
9	SB	Х	Х	Х	Х	Х	X*
10	Х	Х		Х	Х	Х	
11	Х	Х	Х	Х	Х	Х	Х
12	SB	Х	Х	Х	Х	Х	Х
13	X	Х	Х	Х	Х	nein	Х
14	BH	Х	Х	Х	Х	Х	Х
15	X	Х	Х	Х	Х	Х	Х
16	SB	X	X	X	X	nein	X
17	Х	Х	Х	Х	Х	nein	Х

Tab.:12 Zusammenfassung der Befunde

- SAB Subarachnoidale Blutung
- SDB Subdurale Blutung
- AI Axonal injury, Axonschäden
- SB Schmierblutung
- BH Bilaterale Hygrome

* Mikrogliaknötchen (MK)

5 Diskussion

Beim Schütteltrauma kommt es zu ausgeprägten morphologischen Veränderungen. Besonderer Bedeutung kommt dabei den Axonschäden zu, die primär als auch sekundär auftreten. Die Darstellung von Axonauftreibungen ist bei allen Fällen unter 1 Jahr gelungen. In Anbetracht aller Befunde muss man hier als Todesursache von einem Schütteltrauma mit Todesfolge ausgehen. Axonauftreibungen ließen sich in verschiedenen Hirnabschnitten nachweisen v.a. in der weißen Substanz, Balken, Stammganglien, Pons und Mittelhirn, sowie im kraniocervikalem Rückenmark.

Methoden

Nicht bei allen Fällen gelang der Nachweis von Axonschäden mit der Versilberung. Sheriff et al. (1994) haben verschieden Antikörper neuronaler Proteine auf ihre Effizienz als Marker für DAI vor allem in den ersten Stunden nach zerebralem Trauma untersucht. Sie konnten DAI mit Hilfe der Versilberung erst nach Überlebenszeiten von 12 bis 24 Stunden nachweisen, wohingegen sich β-APP als nützlicher Detektor bei Patienten, die nur 3 Stunden überlebt haben, zeigte.

Erklärt wird diese späte Reaktion damit, dass es erst nach einer Verzögerung zu einer Diskonnektion der Axone kommt, was aber auch durch das Ausmaß und die Schwere der Verletzung beeinflusst wird (Sekundäre Axotomie).

Das Auftreten von β -APP Immunreaktivität und das Erscheinungsbild der Axonen ändert sich auch im Verlauf der Zeit; nach 3 Stunden Überlebenszeit zeigen sich Axone nur wenig geschwollen, wohingegen nach 24 Stunden Überlebenszeit das Ausmaß der Schwellung deutlich steigt und sich in Form von Axonauftreibungen darstellt. Es konnte nachgewiesen werden, dass β -APP DAI sogar noch einen Monat nach Trauma dargestellt werden kann(Geddes et al. 2000).

Sherriff et al. (1994) konnten bei der gleichzeitig durchgeführten Versilberungen ihrer Fälle geschwollene Axone nur eindeutig identifiziert, wenn sie eine bestimmte Größe erreicht haben und das war nie der Fall bei kurzen Überlebenszeiten. Auffällig war, dass es bei einigen Fällen zwar zur Darstellung von Axonauftreibungen mit β-APP kam, diese sich mit der Versilberung jedoch nicht darstellen ließen. In dieser Arbeit zeigte sich auch beim Fall 11 β-APP positive Axonauftreibungen in der Brücke. In der Bielschowsky Versilberung konnten auch bei wiederholter Untersuchung in dieser Region keine Axonauftreibungen beobachtet werden. Es liegt wahrscheinlich auch daran, dass die Versilberung nicht so spezifisch für geschädigte Axone ist, wohingegen β-APP selektiv geschädigte Axone aufzeigt. β-APP ist somit der geeignete und zuverlässigere Marker für traumatische Axonschäden.

Wilkinson et al. (1999) untersuchten die Beziehung zwischen Größe der Axonschwellung und Überlebenzeit an 66 Fällen, die Kopfverletzungen unterlagen. Mit ß-APP konnte bereits nach einer Stunde eine positive Reaktion nachgewiesen werden. Ein Plateau wurde nach 85 Stunden erreicht. Anderen ist der Nachweis von DAI mittels ß-APP erst nach 1,75 bis 3 Std. gelungen (Blumberg et al. 1995, Mc Kenzie et al. 1996)

Daraus ergibt sich eine stark positive und signifikante Korrelation zwischen dem Ausmaß der Axonschädigung und der Überlebenszeit

Bei längeren Überlebenszeiten soll die Beurteilung jedoch schwieriger werden.

Gleckmann et al. (1999) haben 7 SBS- Kinder unter 1 Jahr mit 7 Kontrollen verglichen. Die Immunhistochemie mit β-APP zeigte sich als ein verlässlicher Marker für DAI bei Kindern unter 1 Jahr. Diese Aussage kann durch diese Arbeit bestätigt werden. Trotz der z.T. langen Fixierung in Formalin gelang die Immunhistochemie mit β-APP. Diese Methode ist sensibler als herkömmliche Färbungen (HE, Versilberungen, NF). β-APP wäre ein geeigneter Marker zur forensischen Beweisführung bei Kindern mit kraniozerebralem Trauma.

Pierce et al. (1996) untersuchten Immunhistochemische Befunde für β-APP nach experimentell ausgelösten Hirnverletzungen bei Ratten.

Zwei Wochen nach Trauma traten noch Axonschäden auf (sekundäre Axotomie). Genauer wurde der Thalamus untersucht: 1 Std. nach Trauma kam es zur Akkumulation von β -APP bilateral in Form von Axonschwellung, nach 2 Std. nahmen die Axonanschwellungen in Zahl und Größe zu und nach 48 Std. traten erstmal sog. "retraction balls" (Axonauftreibungen) auf. Nach 1 Woche hatte die Arbeitsgruppe den gleichen Befund wie nach 48 Stunden.

Überlebenszeit

Reichard et al. (2003) beschreiben 3 Fälle, bei denen keine Überlebenszeit angegeben wurde, die aber eine ß-APP positiv Reaktion in der weißen Substanz zeigten. Hieraus ergibt sich der Hinweis auf eine posttraumatische Überlebenszeit. Auch in unserer Studie wurden 4 Kinder tot aufgefunden bzw. leblos in die Klinik gebracht. Drei dieser Fälle reagierten positiv auf die Immunhistochemie mit ß-APP.

Bei den Fällen (3, 6, 8, 10, 11, 14, 15, 17) wo Überlebenszeiten bekannt waren, hatten wir bei allen eine positive Reaktion auf APP, wobei das Ausmaß der Reaktion bei den Fällen 3, 6 11 und besonders eindrucksvoll war. Hier waren die Überlebenszeiten größer bzw. gleich 3 Tage.

Da in sehr vielen Fällen, das Kind tot aufgefunden oder bereits tot in die Klinik gebracht wird, könnte die neuropathologische Untersuchung eine nützliche Bedeutung in der Rechtsmedizin zukommen, was die Bestimmung des Trauma- Zeitpunktes angeht (Indem man Versilberungen mit ß-APP vergleicht). Dadurch könnte man gegebenenfalls auch den Täterkreis eingrenzen.

Verkehrsunfall und Stürze

Entgegen den Erwartungen konnten beim Verkehrsunfall keine Axonauftreibungen nachgewiesen werden. In der Literatur wird sehr oft vom Auftreten diffuser Axonschäden bei Verkehrsunfallopfern berichtet. Sheriff et al. (1994) haben Verkehrsunfälle mit Stürzen aus großer Höhe verglichen. Bei 18 von 23 kam es wenigstens in einer Region der weißen Substanz zu einer positiven Reaktion in der Immunhistochemie für ß-APP. Dreizehn von diesen 18 ßAPP positiven Fällen waren in einen Verkehrsunfall verwickelt, 4 Stürze aus großer Höhe und ein Opfer eines Überfalls. Alle 18 ßAPP positiven Fälle hatten eine posttraumatische Überlebenszeit von mindestens 3 Stunden. 14 von den 18 ßAPP positiven Fällen zeigten ßAPP Immunreaktivität im Corpus callosum.

Durch Tierexperemente weiß man, dass das Ausmaß von diffuse Axonschäden in Relation stehen zum auslösenden Trauma. Smith et. al (1995) haben Gehirne von Erwachsenen untersucht, die entweder durch einen Verkehrsunfall oder Sturz aus großer Höhe ums Leben kamen. Hierbei fiel auf, dass bei Verkehrunfallopfern, das Ausmaß an DAI ausgeprägter war, wenn der Schädel intakt blieb. Beim Fall 5 mit der massiven Schädelfraktur kamen deutliche Axonauftreibungen zur Darstellung. Es gab Fälle ohne Schädelfraktur, die jedoch einen ausgeprägteren Befund aufwiesen.

Bei den Fällen 16 und 17 wo zusätzlich zum Schütteltrauma, Kopftraumata dazukamen, konnten auch wir keine Axonschäden aufdecken. Gleckmann et al. (1999) gelang der Nachweis mit β-APP nur bei 1/3 der Kinder nach direktem Kopftrauma.

Bei den Säuglingen ist der weiche Schädel mit seinen z.T. noch offenen Fontanellen sicherlich bedeutsam in der Pathogenese. Kurz nach der Geburt schließen sich die kleinen Fontanellen und die Schädelnähte, wohingegen die große Fontanelle sich bei 50% der Kinder nach einem Jahr schließt. Die Variation ist hier sehr groß (zwischen 6 und 24 Monaten).

Unfallbedingte Stürze von Säuglingen können auch bei relativ geringer Höhe (unter 1 Meter) Schädelfrakturen verursachen. Denton et. al (2004) berichten von einem Kind, welches unter Zeugen rückwärts aus dem Bett gefallen und mit dem Kopf auf einen betonierten Boden aufgeprallt ist. Das Kind schien völlig normal in seinem Verhalten, wurde dann aber 72 Stunden nach dem Sturz tot im Bett aufgefunden. Bei der Autopsie zeigten sich eine nichtdislozierte parietale Fraktur, eine minimale subdurale Blutung, ein zerebrales Ödem und ein schmaler Riss im Corpus Callosum mit fokalem Axonschaden. Diffuse Axonschäden wurde nicht gefunden. Das Kind hatte keine retinalen Blutungen. Sauvageau et al. (2008) berichten dahingegen von einem 2 jährigem Jungen, der von einem älteren Kind auf einem Spielplatz-Schaukelpferd geschüttelt wurde mit allen klassischen Merkmale eines SBS.

Subduralblutungen oder sogar Todesfälle sind insgesamt sehr selten zu beobachten. Die Todesursachenstatistik für Berlin weist über 20 Jahre nicht einen tödlichen Sturz eines Säuglings aus geringer Fallhöhe auf (Maxeiner 2002).
Hippocampusveränderungen

Der Hippocampus scheint eine der sensibelsten Hirnregionen im Zusammenhang mit Trauma zu sein. Auch wenn sich direkt in der Hippocampusregion keine Axonauftreibungen nachweisen lassen, kommt es hier sehr schnell zu hypoxischen Nervenzellschädigungen und Mikrogliaaktivation. Bei Überlebenden nach Schütteltrauma liegt in dieser Region wahrscheinlich ein Fokus für bleibende Schäden. Padilla et al. (2002) beschreiben eine extensive Gliose und Neuronenuntergang in der CA1 Region des Hippocampus, womit sie die Entstehung des Diabetes insipidus bei einem ihrer Fälle schwer misshandelter Kinder erklären würde.

Mc Kinney et al. (1997) untersuchten in vitro die Ursache posttraumatischer Epilepsie und fanden heraus, dass es bei Verletzung der Axone der CA3 Pyramiden Zellen des Hippocampus zu neuen Axon Kollateralen kommt. Diese lassen sich mit Hilfe vom Wachstums-Assoziierten Protein GAP-43 nachweisen. Dadurch kann man beobachten, wie neue Axone von den Pyramidenzellen des Hippocampus ausgehen, die wahrscheinlich bedeutend für die Entstehung posttraumatischer Epilepsien sind. Auch Lenzlinger et al. (2005) haben bei experimentellen Untersuchungen an Ratten Hippocampusveränderungen als neuronaler Verlust im Abschnitt CA3 (Nissl Färbung) beschrieben.

Bell et al. (2005) beschrieben in ihrer Studie (an Asphyxie verstorbene Neugeborene) dass sich die Neurone im CA1 Sektor des Hippocampus nicht mit ß-APP darstellen ließen, selbst wenn die Umgebung eine positive Reaktion zeigte.

Bedeutung von Reanimation

Bei Säuglinge v.a. Frühgeborenen, die aufgrund eines RDS beatmet werden müssen, treten häufig periventrikuläre Blutungen auf, die in den Ventrikel einbrechen und als intraventrikulär imponieren.

Untersuchungen bei anhaltender expiratorischer Apnoe zeigten, dass der Alveolenkollaps zu einem intrathorakalen Druck von 100 mmHg und einem Vena cava superior Druck bis zu 50 mmHg führt (Talbert et al. 2005).

Sherriff et al. (1994) hatten lediglich 9/36 Fällen, die beatmet wurden und eine positive Reaktion auf ß-APP zeigten. Kaur et al. (1999) berichten von 22/25 positiven Nachweis von APP. Unter den positiven Fällen waren auch 10 Fälle einer Hypoxiegruppe ohne Trauma. Allerdings reagierten 3 Hypoxiefälle, die beatmet wurden, komplett negativ auf APP. Diese Arbeitsgruppe behauptet, dass Beatmung ein wichtiger Faktor bei der Entstehung von Axonschäden spielen kann- jedoch kein notwendiger sei.

Sieben der von uns untersuchten Fälle wurden reanimiert und 5 zeigten eine positive Reaktion auf β-APP. Reanimation scheint das Ergebnis nicht zu beeinflussen.

Trauma oder Hypoxie

Man unterscheidet akute globale Ischämie von akuter globaler Hypoxie. Erstere entsteht infolge eines vorübergehenden Herz-und Kreislaufstillstandes oder aufgrund eines Kreislaufstillstandes infolge Hypotonie. Der Sauerstoffvorrat für das Gehirn reicht für ca. 5-8 Minuten, danach kommt es zu Bewusstseinstörungen. Der Stoffwechsel schaltet dann auf anaerobe Glykolyse um, wodurch noch mal für ca. 6-8 Minuten ATP gebildet wird. Bleibt die Hirndurchblutung dann aus, entstehen irreversible Schäden des Hirngewebes. Besonders empfinlich auf Sauerstoffmangel reagieren die Groß-und Kleinhirnrinde, Striatum, Thalamus, Ammonshorn und Olive, sowie Medulla oblongata. Die vegetativen Kerngebiete des Hypothalamus, die Hirnnervenkerne, das Rückenmark bleiben bei Ischämien häufig verschont. Das bezeichnet man als selektive Betroffenheit oder Pathoklise.

Bei der akuten globalen Hypoxie besteht ein chronischer Sauerstoffmangel. Vor allem Pallidum, Nucleus subthalamicus, Zona rubra der Substanzia nigra, Nucleus dentatus, Groß-und Kleinhirnrinde, Ammonshorn reagieren sensibel auf Hypoxie. Diese Beobachtung konnte man auch bei CO-Vergiftungen, zentralen Atemstörungen, Asphyxie, Barbiturat- und Morphinvergiftungen machen.

Die Ursache für diese selektive Betroffenheit bestimmter Hirnstrukturen liegt darin, dass diese Zellen selbst bei intakter Blutzirkulation kaum in der Lage sind, angelieferte Substrate anaerob abzubauen. Sie sind auf den Stoffwechsel mit oxydativer Energiegewinnung angewiesen. Dafür spricht auch der hohe Eisengehalt im Pallidum und Zona rubra der Substanzia nigra.

Mikrozirkulationsstörungen können durch Hypoxie ausgelöst werden.

Eine Unterbrechung der Sauerstoffversorgung des Gewebes, soll bei 91% aller Kopfverletzungen auftreten (Mc Intyre 1969).

Shannon et al. (1998) untersuchten 14 Kinder mit SBS ohne Schädelfraktur, haben NF und β -APP benutzt um Axonschäden nachzuweisen, fanden β -APP positive Axone in der weißen Substanz bei allen SBS, aber auch bei 6/7 Kindern der Kontrolle

(nichttraumatisch hypoxisch ischämische Encephalopathie; HIE). Geschwollene Axone waren bei 11/14 Fällen von SBS und bei 6/7 Fällen bei HIE. β -APP positive Axone waren in beiden Gruppen vorhanden v.a. im Mittelhirn und in der Medulla, bei 7/11 Fällen mit SBS fanden sich auch β -APP positive Axone im zervikalen RM. Bei 5/7 Fällen zeigten sich geschwollene Axone in der weißen Substanz des Traktus. Bei den Kontrollen mit HIE waren keine abnormen Axone zu beobachten, die positiv auf β -APP reagierten.

Shannon et al. (1998) behaupten, dass zerebrale Axonschäden typisch sind für SBS aber auch bei einem Teil von Fällen bei hypoxisch ischämische Verletzungen vorkommen können. Halsmarkverletzungen sind allerdings eindeutig typisch für SBS und nicht für HIE.

Die meisten neuropathologischen Befunde bei kindlichen Autopsien beinhalten Hypoxische und oder ischämische Veränderung. Die große Breite der Ursachen stellt eine Herausforderung an den Histologen. Dazu kommen die Besonderheiten des kindlichen, noch in Entwicklung befindlichen ZNS und das außergewöhnlich schnelle Wachstum, des noch nicht ausgereiften Nervensystems. Auch ist die Durchblutung des Nervensystems höher, die Autoregulation jedoch noch nicht ausgereift. Die Hypoxie ist abhängig von Schwere und Ausmaß der Ischämie (lokal oder generalisiert).

Hypoxische Veränderungen unreifer Neurone nennt man Karyorrhexis, nicht zytoplasmatische Eosinophilie. Typisch ist ein symmetrisches Auftreten im Gebiet der großen Gefäße (Carotiden, ACA, CCM) Wurde auch tierexperimentel nachgewiesen.

Geddes et al. (2001b) fanden bei ihrer Untersuchung Axonschäden im kraniocervikalen Rückenmark. Sie stellten die Behauptung auf, dass diese Folge von Apnoe sind, ausgelöst durch hypoxische Veränderungen und Hirnschwellung.

In ihrer Studie wurden 37 Kinder, die an "inflikted head injuries" verstorben sind, im Alter kleiner/gleich 9 Monate neuropathologisch untersucht. Verglichen wurden diese Fälle mit einer Kontrolle aus 14 Kindern, die aus anderen Gründen verstarben. DAI Bei 13 Fällen waren wurde mittels Immunhistochemie für ßAPP identifiziert. Axonschäden präsent. Ausgeprägte traumatische Axonschäden (DAI) wurden allerdings nur bei 2 Fällen registriert, wobei hier schwere Kopfverletzungen mit multiplen Schädelfrakturen vorlagen. Im Hirnstamm wurden bei 11 Fällen epidurale zervikale Blutungen und fokale Axonschäden gefunden. Die Kontrollen waren dahingegen unauffällig, woraus Geddes et al. Schlussfolgerten, dass der kraniozervikale Übergang bei sehr kleinen Kindern besonders anfällig ist. (stretch injury from clinical hyperext. extension). Die Arbeitsgruppe um Geddes behaupten allerdings dass DAI eine untergeordnete Rolle spielt, wohingegen durch die Verletzung des kraniocervikalen Übergangs es zu Atemstörungen beim Kind kommt, wodurch es zu einer zerebralen Hypoxie kommt, die dann wiederum zu Hirnschwellung mit Hirndruck führt. Erst dadurch soll es zu den typischen SDB kommen. Sie behaupten, es wäre gar kein Trauma notwendig in der Pathogenese von Axonschäden.

Geddes et al. (2001) gehen davon aus, dass Apnoe zu hypoxische Hirnschädigungen führt, die wiederum DAI verursachen.

Reichard et al. (2003) vertreten die Ansicht, dass globale Hypoxie durch die Apnoe sicherlich keine unwesentliche Rolle zukommt. Im gesamten Prozess geht das Trauma allerdings der kardiopulmonalen Kaskade voraus, ist somit der Auslöser von DAI.

Die Hypoxie erklärt nicht, warum die Verletzungsmuster manchmal ein- oder beidseits auftreten und auch nicht die Atrophie, die sich bei Überlebenden entwickelt. Letztendlich sind die Hirne bei der Autopsie typischerweise nicht aufgrund hypoxischer Schäden verändert.

Auch beim Fall 8 konnten im Vorderhorn des zervikalen Rückenmarks Axonauftreibungen dargestellt werden. Der Befund war jedoch links ausgeprägter als auf der Gegenseite. Die langen Bahnen waren nicht betroffen. Dort zeigten sich viele große Nervenzellen. Oehmichen et al. (1999) stellten die Behauptung auf, dass Axonschäden in der gleichen Frequenz auftreten wie bei Hypoxie bzw. Ischämie. Diese Arbeitsgruppe hat sich bei der Untersuchung auf die Brücke beschränkt, da diese besonders früh auf Ischämie reagiert.

Ebenso haben sich Kaur et al. (1999) mit der Bedeutung von Hypoxie beim Entstehen von Axonauftreibungen auseinandergesetzt. In ihrer Studie zeigten sich 12 von 28 Hypoxie-Fällen positiv für ß-APP. Drei von 12 hatten Drogen genommen, wobei einer davon 3 Jahre zuvor ein Trauma durchgemacht hat. Es haben bereits andere Arbeitsgruppen darauf hingewiesen, dass DAI gehäuft bei Drogenintoxikation auftritt (Niess et al. 2002). Bei 3 weiteren Fällen kam es zu Krämpfen, bei einem Fall war eine Hypoglykämie bekannt.

Bei weiteren 3 der Fälle kann man davon ausgehen, dass sie wahrscheinlich gestürzt sind. Bei einem anderen dieser 12 Fälle handelt es sich um ein 33 Tage altes Neugeborenes, welches im Bett der alkoholisierten Eltern aufgefunden wurde. Außer der positiven Reaktion für β-APP, trat bei diesem Fall eine starke Reaktion für GFAP und CD 68 auf. Nach Angaben der Eltern wurde das Kind vom schlafenden Vater erdrückt. Ob Hypoxie hier wirklich die entscheidende Rolle spielt, ist fraglich. Letztendlich kann man auch bei diesen "Hypoxiefällen" nicht sicher eine Art von Trauma ausschließen.

Bell et al. (2005) untersuchten die Hirne von 70 in der Neugeborenenphase verstorbener Kinder. Man wollte herausfinden, ob β-APP ein geeigneter Marker für die Darstellung von Neuronalen Verletzungen ist.

Die gezielte Untersuchung, ob ß-APP ein nützlicher Marker für neuronale Schädigung ist wurde an 70 verstorbenen Neugeborenen (mutmaßliche präpartale Schädigung) untersucht. Dabei sind 59 in den ersten 3 Tagen verstorben und 11 Fälle 4-7 Tage nach Geburt. Axonauftreibungen haben sich deutlich in der weißen Substanz, inneren Kapsel und unregelmäßig auch im Hirnstamm darstellen lassen. Bei dieser Studie handelte es sich um 44 Frühgeborene, 38 Kinder kamen per Kaiserschnitt zur Welt.

Auch hier bestätigte sich, dass ß-APP ein nützlicher Marker für den Nachweis von Axonschäden ist. In der weißen Substanz beim Neugeborenen Hirn, schließen Bell et al. (2005) Trauma als Ursache aus. Man vermutet eher Hypoxie als Ursache der Axonschäden.

Die Tatsache, dass eine Anzahl pathologischer Prozesse im Hirn auch Axonschäden verursachen, können ist bekannt. Multipler Sklerose, HIV-Encephalitis, Hirninfarkt, Hirnabszess, Dolinak et al. (2000) wiesen auf AI bei Hypoglykämien und Tumorgeschehen in ZNS nach. Aus diesem Grund ist es wichtig die Ätiologie eines Falles beim Auftreten von AI genau zu untersuchen. Smith et al. (2003) schreiben, dass der Begriff "DAI" dennoch nur im Zusammenhang mit traumatisch veränderten Hirnveränderungen benutzt werden sollte. Es würde sich anbieten, Axonschäden aufgrund anderer Ursachen auch so zu umschreiben beispielsweise ischämisch bzw. vaskulär verursachte Axonschäden/-veränderungen.

Nicht zu vernachlässigen ist, dass die Entstehung von DAI nicht unbedingt mechanische Kräfte benötigt werden, da DAI auch im Zusammenhang mit anderen nichtmechanischen Mechanismen auftreten kann. Vor allem bei Patienten mit Intoxikation, vornehmlich Opiaten traten gehäuft DAI auf. Des Weiteren fanden sich positive Reaktion auf β -APP im Zusammenhang mit zerebralem Infarkt, Intrakraniellen Blutungen, Metastatischen Melanomen, Binswanger Erkrankung auf (Niess et al. 2002). In Verlauf der letzten Jahre tauchen in der Literatur unterschiedlich Definitionen für Axonschäden auf, die mehr Klarheit erbringen sollen. Man unterscheidet mittlerweile diffuse Axonschäden (DAI), darunter versteht man Axonschäden in mindestens 6 Hirnabschnitten, während man als lokalisiertem Axonschaden (AI) nur vereinzelt auftretende Axonauftreibungen im Hirn beschreibt.

Reichard et al. (2003) unterscheiden beispielsweise traumatische Axonschäden (TAI), vaskuläre Axonschäden (VAI), multifokale traumatische Axonschäden (mTAI), diffus traumatische Axonschäden (DAI), metabolische Axonschäden (MAI) und penumbrale Axonschäden (PAI)

Bei vaskulären AI zeigt sich die Immunreaktion in einem "zig-zag"förmigen Muster, typischerweise in der Nähe von "internal herniation", welche in sekundäre hypoxischischämische Axonverletzungen resultieren (Geddes et al., 2000). In dieser Studie beim Fall 11 gut zu erkennen. (Abb. 19, 24 und 25) VAI betrifft das Parenchym in gut durchbluteten Abschnitten, weiße als auch graue Substanz werden betroffen.

Reichard et al. (2003) beschreiben das Auftreten von vaskulären Axonschäden in der Mittellinie des Hirnstamms und/oder an der weißen Substanz der unteren Olive. Bei 18/28 Fällen zeigten VAI, wovon 16 eine Hirnschwellung, aber auch ein Trauma erlebt hatten.

Mikrogliaknötchen

Bei 3 unserer Fälle kam es zur Darstellung von Mikrogliaknötchen. Mikrogliaknötchen oder –Cluster können unterschiedliche Ursachen haben. Sahuquillo et al. (1988) haben MK im Zusammenhang mit DAI nach Schädel-Hirn-Trauma in der weißen Substanz v.a. im Corpus callosum, in der Inneren Kapsel und im Hirnstamm beschrieben. Lancon et al. 1998 beschrieben MK speziell beim SBS. Maeda und Sobel (1996) berichteten von MK im Rahmen von Multipler Sklerose.

Des Weiteren spielen MK eine Rolle bei Infektionen im ZNS. Scaravilli und Cook (1997) beschrieben MK bei der zerebralen Toxoplasmose, bei der afrikanischen Trypanosomiase (MK um Blutgefäße) und bei der Chagas-Krankheit. Auch bei der Cytomegalie-Enzephalitis treten MK als perivaskuläre und subependymale Infiltrate in der grauen Substanz auf.

Es ist bekannt, dass es auch im Zusammenhang mit Infektionen zu SDB kommen kann. Auch bei der Klärung der Ätiologie des plötzlichen Kindstodes (Sudden infant death) wurden vermehrt MK beschrieben. Verschiedene Arbeitsgruppen haben sich mit dem gleichzeitigen Auftreten von CMV und MK auseinandergesetzt. Es gibt allerdings bis heute keinen nachgewiesenen Zusammenhang zwischen CMV und dem plötzlichem Kindstod.

Rückenmarksverletzungen

Menschliche Rückenmarksverletzungen können durch verschiedene Mechanismen ausgelöst werden, am häufigsten durch die Kombination aus Aufprall und anhaltender Kompression. Aufprall allein tritt beispielsweise bei Verletzungen auf, bei denen Hyperextension des Rückenmarks eine Rolle spielt. Hierbei kommt es nur kurz zur Kompression des Rückenmarks zwischen Ligamentum flavum und Bandscheibe bzw. Knöchern-knorpeliger Säule.

Trifft auf Schütteltrauma zu: Kind wird vom Täter am Brustkorb festgehalten und kräftig geschüttelt. Die noch unterentwickelte Hals-Nackenmuskulatur kann nicht gegen halten.

Akute Rückenmarks-Verletzungen wurden auch experimentell untersucht. Es gibt verschiedene Modelle u.a das "weight-drop" Modell von Allen. Er beschrieb erstmals sekundär auftreten Mechanismen, die verzögert nach Trauma auftreten. Er fand in experimentellen Untersuchungen an Hunden heraus, dass Myelotomie und die Entfernung von posttraumatischen Hämatomen zur Verbesserung der neurologischen Funktion führte. Daraus ergab sich, dass im verbleibenden nekrotischen Material schädigende Agenzien zurückbleiben, die zu fortschreitender Schädigung des Rückenmarks führen können. Das Ganze wird unter dem Begriff Autodestruktion zusammengefasst.

Rückenmarksverletzungen können einen neurogenen Schock auslösen und somit eine Bradykardie und Hypotension verursachen. Diese können sofort nach Trauma oder verzögert einsetzen (Tage bis Monate später).

In verschiedenen Publikationen werden Veränderungen im Rückenmark beschrieben.

Tator (1995) beschreibt signifikante Axonveränderungen innerhalb der ersten 15 min nach Verletzung, die dann in den nächsten 24 Stunden zunehmen. Diese Axonveränderungen beschreibt der Autor als Ruptur des Axolemm mit Austreten der Organellen in den Extrazellulärraum, granuläre Degeneration des Axoplasmas, Axonschwellung und Entwicklung riesiger Axone. Veränderungen bis hin zur Ruptur der Myelinfasern, Ablösen des Myelins vom Axon (sheads) entwickeln sich relativ schnell innerhalb der ersten Stunden. (bei menschl. Fällen nachgewiesen) innerhalb von Tagen nach Verletzung kommt es zu verschiedenen Prozessen u.a. kommt es zur Verringerung polymorphnuklearer Leukozyten, was einen Anstieg der Makrophagen (die aus umliegenden Mikrogliazellen abstammen) zur Folge hat. Die Bedeutung dieser entzündlichen Veränderungen ist von Interesse, seitdem man weiß, dass Makrophagen Zytokine wie Interleukin I und andere abgeben, die wiederum schützende, als auch schädigende Wirkungen auslösen können.

SIDS

Byard et al. (1999) fordern, dass kein Fall als SIDS bezeichnet werden sollte, wenn nicht eine umfangreiche Autopsie vorgenommen wurde. Derzeit unterliegen SBS Fälle noch nicht einer Autopsie. Dadurch ist die Wahrscheinlichkeit sehr hoch, dass SBS- Kinder unter falscher Diagnose laufen. Es besteht die Gefahr das Geschwisterkinder in solchen Familien versterben. Vor allem beim wiederholt Auftreten von Kindersterblichkeit in einer Familie, konnten teilweise Verbrechen nachgewiesen werden.

Histologisch weisen die bisherigen Studien darauf hin, dass beim SIDS keine Axonschäden auftreten. Niess et al. (2002 konnten bei 4 untersuchten Fällen von SIDS keinen diffusen Axonschäden nachweisen. Die Reaktion mit ß-APP war bei allen negativ. Auch Ohemichen et al. (2008) haben Trauma Fälle mit SIDS Fällen verglichen, bei keinem der SIDS Fälle waren diffusen Axonschäden nachweisbar.

Mittlerweile wird in der Literatur beschrieben, dass der Nukleus Arcuatus der Medulla oblongata hypoplastisch bei SIDS Kindern ist, wodurch diese Kinder unfähig wären die kardioventilatorische Kontrolle während der Entwicklung zu halten. Der Medulla oblongata kommt eine bedeutende Funktion bei der Atmung, bei der reflektorischen Regulation des Blutdrucks, Herzfrequenz und Herzrhythmus zu. Matturri et al. (2002) haben bei 56% (35/62) der SIDS Fälle eine Hypoplasie des Nukleus arcuatus beobachtet, in 26 Fällen sogar bilateral auftretend.

Auch bei dieser Arbeit wäre es interessant gewesen eine größere Anzahl Fälle von SIDS auf DAI zu untersuchen. Das hätte den Rahmen dieser Arbeit jedoch gesprengt.

6 Zusammenfassung

Die häufigste traumatische Todesursache bei Kindern unter 3 Jahren sind Nichtunfallbedingte Verletzungen des Zentralnervensystems. Die größte klinische Bedeutung kommt dabei dem Schütteltrauma zu.

Dies ist seit Jahren ein schwieriges Thema in der Medizin. Die Dunkelziffer wird sehr hoch geschätzt. Die tatsächliche Inzidenz schwerer Misshandlungen ist nicht bekannt. Schätzungsweise werden ca. 30/100000 Kinder Opfer Nichtunfallbedingter Kopfverletzungen.

Da der Täter selten zugibt, die Verletzung herbeigeführt zu haben, basiert die Diagnose von nicht Unfallbedingten Kopfverletzungen bei Kindern auf einer Vermutung. Die Schwierigkeit besteht darin, einen solchen Verdacht zu beweisen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, neuropathologische Veränderungen nach Schütteltrauma zu untersuchen. Zur Verfügung standen die Gehirne von 17 Säuglingen und Kleinkindern, die in den Jahren 1979 bis 2006 verstorben sind. Bei 6 Fällen stand zusätzlich Rückenmark zur Verfügung. Das Material stammt aus dem Institut für Rechtsmedizin der Freien Universität Berlin. Bei allen Verstorbenen bestand der dringende Verdacht, Opfer eines Schütteltraumas geworden zu sein.

Als Kontrolle dienten 1 Verkehrsunfall und ein Sturz aus großer Höhe. Nach Anfertigung 5µm dicker Schnitte wurden neben der Übersichtsfärbung mit HE, immunhistochemische Techniken und die Versilberung nach Bielschowsky verwendet.

Es zeigten sich bei allen untersuchten Gehirnen ausgeprägte Blutungen. Bei allen Fällen lagen Subdurale und auch Subarachnoidale Blutungen vor. Bei 3 Fällen konnten epidurale Blutungen beobachtet werden. Weiterhin kam es zu hypoxischen Veränderungen der Nervenzellen, diese scheinen sekundär nach Trauma aufgetreten zu sein. Es kam zu unterschiedlich ausgeprägten Mikrogliadarstellung. Diese traten oft im Zusammenhang mit Axonauftreibungen auf. Es zeigten sich reaktive Astroyzten.

Bei allen Fällen unter 12 Monate konnten histologisch Axonschäden nachgewiesen werden. Das Ausmaß der Schäden war nicht bei allen positiven Fällen einheitlich. Bei 3/12 zeigten sich Kalibersprünge im Verlauf der Axone v.a. perivaskulär. Axonschäden fanden sich v.a. in der weißen Substanz des Großhirns, Inneren Kapsel, Balken, Mittelhirn, Pons und in der grauen Substanz des Rückenmarks. Insgesamt zeigte sich bei 14/17 Fällen eine positive Reaktion auf β-APP. Mit der Versilberung nach Bielschowsky ließen sich in der weißen Substanz des Großhirns und in den Stammganglien Axone mit mehreren Kalibersprüngen, als auch Axonauftreibungen (sog. "retraction balls") gut darstellen. Die Immunhistochemie mit β-APP erwies sich jedoch als sensiblerer Marker für Axonschäden. Beim β-APP handelt es sich um ein membranständiges Glykoprotein, welches über schnellen anterograden Transport transportiert wird und bei Traumageschehnissen akkumuliert. β-APP stellte sich trotz langer Fixationszeit des Materials, als geeigneter Marker zum Nachweis traumatischer Axonschäden dar.

Bei Säuglingen und Kindern unter 1 Jahr ist die Darstellung von Axonschäden hinweisend auf ein Schütteltrauma.

Die Diagnose von Nichtunfallbedingten Kopfverletzungen bei Kindern erfordert jedoch eine detaillierte multidisziplinäre Beweisführung. Bei einer ungenauen, z.T. widersprüchlichen Anamnese und im Gegensatz dazu, schwerem klinischen Befund eines Säuglings mit Bewusstseinstörung, sollte man immer an das Schütteltrauma denken. Tot aufgefundene Kinder und solche, die ungeklärt versterben, sollten grundsätzlich zur Klärung der Todesursache einer Obduktion zugeführt werden. Die Histologische Untersuchung von Gehirn und Rückenmark, kann zur Beweisführung beitragen. Die Klärung vom SBS ist entscheidend in Anbetracht des Wiederholungsrisikos von 33%. Auch Geschwisterkinder unterliegen dem Risiko, geschüttelt zu werden.

Literaturverzeichnis

Adams JH, Doyle D, Ford I, et al.: Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis and grading. (1989). Histopathologie 15, 49-59

Adams JH, Graham DI, Gennarelli TA, Maxwell WL: Diffuse axonal injury in nonmissile head injury. (1991) J Neurol Neurosurg Psychiatry 54: 481-483

Albert MJ, Dryaric, DM., (1993). Injuries resulting from pathologic forces: child abuse, Paediatric Fractures: A practical Approach to Assessment and Treatment, Mac Ewen 1993. p388) herbeigeführt.

Alexander R, Crabbe L, Sato Z, Smith W, Bennett T, Serial Abuse in Children Who are Shaken . 1990 AJDC- Vol. 144, January 1990

Alexander R, Sato Y, Smith W, Bennett T. Incident of Impact Trauma with cranial Injuries ascribed to Shaking. 1990 AJCD- Vol.144, June 1990

Anderson, C.V, Bigler , E.D. (1995): Ventricular dilation, cortical atrophy, and neuropsychological outcome following traumatic brain injury. J.Neuropsychiatry Clin Neurosci 7:42-478

Amberg, R., Lemmen, K.-D., Daicker, B., Unsöld, R.

Netzhautblutungen Zur nach Reanimation: Differentialdiagnose kindlicher Netzhautbefunde. Institut für Rechtsmedizin, Klinikum der Albert- Ludwigs-Universität, Albertstr. 7-9, D-79104 Freiburg

Barlow K.M., Minns R.A., The relation between intracranial pressure and outcome in non-accidental head injury. Developmental Medicine and Child Neurology 1999, 41: 220-225

Barlow K.M., Minns R.A. (2000) Annual incidence of shaken impact syndrome in young children. Lancet 365: 1571-1572

Bell JE, Becher JC, Wzatt B, Keeling JW, McIntosh N: Brain injury and axonal injury in a Scottish cohort of neonatal deaths. (2000). Bain Maz; 128 (Pt 5): 1070-81. Epub 2005 Feb 10.

Berry M, Butt AM, Structure and function of Glia in the central nervous system. In: Greenfield's Neuropathology, Sixth Edition 1997, Arnold, London-Sydney-Auckland. Chapter 2: 63-83 Edited by Graham, D.I. und Lantos, P.L.

Betz P, Püschel K, Miltner E, Morphometrical analysis of retinal haemorrhages in the shaken baby syndrome Forensic Sci Int 78 (1996), pp.71-80

Bignami A, Dahl D, Specificity of the glial fibrillary acidic protein for astroglia. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry 1977; Vol.25, No.6: 466-469

Blumberg P.C., Scott G., Manavis J., Wainwright H., Simpson D.A., Mc Lean A.J., (1995) Topography of axonal injury as defined by amyloid precursor protein and the sector scoring method in mild and severe closed head injury. J. Neuropathol 12: 565-572

Bramlett HM, Dalton Dietrich W. Quantitative structural changes in white and grey matter 1 year following traumatic brain injury in rats. Acta Neuropathol (2002) 103: 607-614

Bruce, D.A., Abass, A., Bilaniuk, L. et al., Diffuse cerebral swelling following head injuries in children: the syndrome of "malignant brain edema",(1981) J.Neurosurg 54:170-178

Buys, Y.M,Levin, A.V., Enzenauer, R.H. Retinalfindings after head trauma and retinal haemorrhage Neurosurg 33 (1993), pp 231-234

Byard RW, Krous HF, Suffocation, shaking or sudden infant death syndrome: Can we tell the difference?, (1999). J. Paediatr. Child Health 1999, 35, 432-433

Caffey J.(1974). The Whiplash Shaken Infant Syndrome: Manual shaking by the extremities with whiplashinduced intracranial and intraocular bleedings, linked with residual permanent brain damage and mental retardation. Paediatrics Vol. 54 No. 4 Oct. 1974

Calder, I.M., Hill, I., Scholtz, C.L. (1984). Primary brain trauma in non-accidental injury. J.Clin. Pathol. 37, 1095-1100.

Calder, I.M., Hill, I., Scholz, C.L. (1984). Primary brain trauma in nonaccidental injury. J.Clin. Pathol. 37, 1095-1100

Case ME, Graham MA, Handy TC, Jentzen JM, Monteleone JA; National Association of Medical Examiniers Ad Hoc Committee on Shaken Baby Syndrome

Cervos-Navarro,J.,Sharma, H.-S.,Westman,J.,Bongcam-Rudloff,E. Glial reactions in the central nervous system following heat stress Progress in Brain Research 1998, 115:241-274 Committee on Child Abuse and Neglect. Shaken Baby Syndrome: Inflicted Cerebral Trauma. 1993, Paediatrics Vol.92 No. 6

Crooks D.A. (1991). A method to quantitative axonal injury.Neuropathology and Applied Neurobiology 17, 421- 424

David TJ.

Shaken baby (shaken impact) syndrome: non-accidental head injury in infancy Journal of the royal society of medicine, Volume 92, November 1999, page 556-561 Doliniak, D., Smith, C, Graam, D.I. (2000b). Hypoglycaemia is a cause of axonal injury. Neuropathol. Appl. Neurobiol. 26, 448-453

Denton S, Mileusnic D, Delayed sudden infant death in an infant following an accidental fall: a case report with review of the literature. (2004) Am J Forensic Med Pathol. 2004 Dec; 24 (4): 371-6

Doliniak, D., Smith, C, Graam, D.I. (2000a). Global hypoxia per se is an unusual cause of axonal injury. Acta Neuropathol. (Berl.) 100, 553-560

Duhaime AC, Christian CW, Rorke LB et al. Nonaccidental head injury in infants-the "shaken baby syndrome." (1998). N.Engl. J. Med.338,1822-1829

Emmerson MV, Pieramici DJ, Stoessel KM. Incidence and rate of disappearance of retinal haemorrhage in new-borns. Ophthalmology 108 (2001),pp.36-39

Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH: Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions (1997) Brain; 120, 393-399

Ferreira A, Caceres A, Kosik KS: Intraneuronal compartments of the amyloid precursor protein. J. Neuroscience 1993; 13: 3112-23

Gallyas F, Zoltay G: An immediate light microscopic response of neuronal somata, dendrites and axons to non-contusing concussive head injury. (1992) Acta Neuropathol 83: 386-393

Garcia-Segura, L.M., Suarez, I., Segovia, S., Tranque, P.A., Calés, J.M., Aguilera, P., Olmos, G., Guillamón, A.

The distribution of glial fibrillary acidic protein in the adult rat brain is influenced by the neonatal levels of sex steroids.

Brain Research 1988, 456:357-363

Geddes, J.F., Hackshaw, A.K., Vowles, G.H., et al. (2001a). Neuropathology of inflicted head injury in children. I. Patterns of brain damage. Brain 124, 1290-1298.

Geddes, J.F., Vowles, G.H., Hackshaw, A.K., et al. (2001b). Neuropathology of inflicted head injury in children. II. Microscopic brain injury in infants. Brain 124, 1299-1306.

Geddes, J.F., Whitwell, H.L., and Graham, D.I. (2000). Traumatic axonal injury: practical issues for diagnosis in medicolegal cases. Neuropathol. Appl. Neurobiol. 26, 105-116.

Gennarelli TA, Thibault LE, Adams JH et al. (1982). Diffuse axonal injury and traumatic coma in the primate. Ann. Neurol. 12, 564-574.

Gentleman SM, Roberts GW, Gennarelli TA et al (1995). Axonal injury: a universal consequence of fatal closed head injury ? Acta Neuropahol. (Berl.) 89, 537-543.

Gentleman SM, Leclercq PD, Moyes L, Graham DI, Smith C, Griffin WS, Nicoll JA, (2004): Long- term intracerebral inflammatory response after traumatic brain injury. Forensic Sci Int 146: 97-104

Gleckmann AM, Bell MD, Evans RJ, Smith TW: Diffuse axonal injury in infants with nonaccidental craniocerebral trauma: enhanced detection by beta-amyloid precursor protein immunhistochemical staining. Arch pathol Lab Med 1999, Feb; 123 (2): 146-51

Goss, J.R., O'Malley, M.E., Zou, L., Styren, S.D., Kochanek, P.M., de kosky S.T. (1998): Astrocytes are the major source of nerve growth factor upregulation following traumatic brain injury in the rat. Exp Neurol 149: 301-309

Graham, D.I., Adams, J.H., Nicoll, J.A.R., Maxwell, W.L., Gennarelli, T.A. (1995). The Nature, Distribution and Causes of Traumatic Brain Injury. Brain Pathology 5: 397-406

Graham, D.I., Gentleman, S.M., Lynch, A., Roberts, G.W. (1995) Distribution of betaamyloid protein in the brain following severe head injury. Neuropathol Appl Neurobiol 21: 27-34

Graham, D.I., Mcintosh, T.K., Maxwell, W.L., Nicoll, J.A. (2000)Recent advances in neurotrauma. J Neuropathol Exp Neurol 59: 641-651

Graham, D.I., Raghupathi, R., Saatman, K.E., Meaney, D., McIntosh, T.K. (2000) Tissue tears in the white matter after lateral fluid percussion brain injury in the rat: relevance to human brain injury. Acta Neuropatho 99: 117-124

Grcevic N. Topography and pathogenetic mechanisms of lesions in "inner cerebral trauma". Rad. Jug. Akad. Ynan. Umj. Od. Med. Nuke. 1982; 402/18; 265-331

Haass C, Koo EH, Mellon A, Hung AZ, Selkoe DJ. Targeting of cell-surface betaamyloid precursor protein to lysosomes: alternative processing into amyloid-bearing fragments. Nature 1992: 357: 500-3 Hartley L.M., Khwaja O.S., Verity C.M. (2001) Glutaric aciduria type 1 and nonaccidental head injury. Paediatrics 107: 174-176

Hicks R.R., Smith D.H., Lowenstein D.H., Saint Marie R.L., McIntosh T.K. (1993) mild experimental brain injury in rat induces cognitive deficits associated with regional neuronal loss in the hippocampus. J Neurotrauma 10: 405-414

Jayawant S, Rawlinson A, Gibbon F, Price J, Schulte J, Sharples P, Sibert JR, Kemp AM: Subdural haemorrhages in infants: population based study. 1998 BMJ 317; 1158-61

Jellinger K. Pathology and pathogenesis of apallic syndrome following closed head injuries. In Ore GD, gerstenbrand F., Lucking CH, Peters G., Peters U.H., The Apallic Syndrome. Berlin: Springer, 1977; 88-103

Jellinger K., Seitelberger G., Protracted post-traumatic encephalopathy: pathology, pathogenesis and clinical implications. J. Neurol. Sci. 1970; 10; 51-94

Kaur B, Rutty GN, Timperley WR(1999) The possible role of hypoxia in the formation of axonal bulbs. J Clin Pathol 52: 203-209

Keenan H. (2003) Nomenclature, definitions, incidence, and demographics of inflicted childhood neurotrauma. Proceedings of a multidisciplinary, modified, evidencebased conference. AAP, Elk Grove Village, IL

Kindy MS, Bhat AN, Bhat NR, Transient ischemia stimulates glial fibrillary acid protein and vimentin gene expression in the gerbil neocortex, striatum and hippocampus. Molekular Brain Research 1992, 13: 199-206.

Kieran T, Moran, National Australian conference on shaken baby syndrome; Medical Journal of Australia 1.April 2002

Klein MS, Möller JC, Jones LL, Bluethmann H, Kreutzberg GW, Raivich G, Impaired neuroglial activation in interleukin-6 deficient mice Glia 1997, 19:227-233

Kleinman PK, Blackbourne BD, Marks SC, Karellas A, Bellanger PL. Radiologic contributions to the investigation and prosecution of cases of fatal infant abuse. N Engl J Med. 1989; 320: 507-531.

Kotapaka MJ, Graham DI, Adams JH, Gennarelli TA (1994) Hippocampal pathology in fatal human head injury without high intracranial pressure. J Neurotrauma 11: 317-324

Koo EH, Sisodia SS, Archer DR, Martin LJ, Weidemann A, Beyreuther K, et al. Precursor of amyloid protein in Alzheimer disease undergoes fast anterograde axonal transport. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 1561-5

Kraig RP, Dong L, Thisted R, Jaeger CB, Spreading depression increases immunohistochemical staining of glial fibrillary acidic protein. The Journal of Neuroscience 1991, 11(7); 2187-2198

Lancon JA, Haines DE, Parent AD, Anatomy of the shaken baby syndrome, Anat Rec (New Anat.) 1998; 253: 13-18

Lee TT, Galarza M, Villanueva PA, (1998). Diffuse axonal injury (DAI) is not associated with elevated intracranial pressure (ICP). Acta Neurochir. (Wien) 140, 41-46.

Levin AV, Ells A, Schloff S. Suspected child abuse victims Ophthalmology, Volume 111, Issue 9, Sept.2004,pages: 1794-1794

Lindenberg R, Freytag E,(1969). Morphology of brain lesions from blunt head trauma in early infancy. Arch. Pathol. 87, 298-305.

Ling EA, Wong WC, The origin and nature of ramified and amoebid microglia: a historical review and current concepts. Glia 1993, 7: 9-18

Maeda A, Sobel RA, Matrix metalloproteinases in the normal human central nervous system, microglial nodules, and multiple sklerosis lesions, J Neuropathol. Exp. Neurol 1996; 55: 300-309

Mannoji H, Yeger H, Becker LE: Specific histochemical marker (lectin Ricinus communis agglutinin-1) for normal human microglia and application to routine histopathology. Acta Neuropathol (Berl) 1986; 71: 341-343

Marin-Padilla M. et al. Shaken infant syndrome: developmental neuropathology, progressive cortical dysplasia and epilepsy, (2002) Acta Neuropathol. 103: 321-332

Matturri L, Biondo B, Suarez-Mier M, Rossi L. Brain steam lesions in the sudden infant death syndrome: variability in the hypoplasia of the arcuate nucleus. Acta Neuropathol (2002) 104: 12-20

Maxeiner H: Isolierte Subduralblutungen bei verstorbenen Säuglingen und Kleinkindern (2001) Klinische Pädiatrie; 213: 213: 1-7

Maxeiner H: Tod eines Babys- Unfall oder Misshandlung? (6/2002) Pädiatrie hautnah

McKinney RA, Debanne D, Gahwiler BH, Thompson SM Lesion-induced axonal sprouting and hyperexcitability in the hippocampus in vitro: implications for the genesis of posttraumatic epilepsy (1997).

McIntyre.Hypoxia.Br J Hosp Mrd 1969; 2:1113-29

McKenzie KJ, McLellan DR, Gentleman SM, et al (1996). Is beta-APP a marker of axonal damage in short-surviving head injury? Acta Neuropathol. (Berl.) 92, 608-613

McLellan DR, Adams JH, Graham DI, Kerr AE, Teasdale GM; The structural basis of the vegetative state and prolonged coma after non-missile head injury. In Papo I, Cohadon F, Massarotti M eds. Le Coma Traumatique. Padova: Liviana Editrice, (1986) 165-185

Medana M, Esiri MM; Axonal damage: a key predictor of outcome in human CNS diseases. Brain (2003), 126, 515-530

Menkes JH, Subdural haematoma, non-accidental head injury or...? (2001) European Journal of Paediatric Neurology . 5: 175-176

Mierisch RF, Frasier LD, Braddock SR, Giangiacomo J, Berkenbosch JW Retinal haemorrhages in an 8-year old child: an uncommon presentation of abusive injury Paediatr Emerg Care 2004 Feb;20(2):118-120

Niess C, Grauel U, Toennes SW, Bratzke H (2002) Incidence of axonal injury in human brain tissue. Acta Neuropathol (2002) 104: 79-84

Norenberg MD, Astrocyte responses to CNS injury. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology (1994), Vol.53, No.3:213-220

Oehmichen M., Meissner C., Schmidt V., et al. (1999). Pontine axonal injury after brain trauma and nontraumatic hypoxic-ischemic brain damage. Int. Legal Med. 112, 261-267

Oehmichen M., Schleiss D., Pedal I., Saternus K.S., Gerling I., Meissner C., Shaken baby syndrome: re-examination of diffuse axonal injury as cause of death., Acta Neuropathol. 2008 Mar 26.

Ohgami T, Kitamoto T, Tateishi J. Alzheimer's amyloid precursor protein accumulates within axonal swellings in human brain lesions. Neurosci Lett 1992; 136: 75-8

Okonkwo DO, Pettus EH, Moroi J, Povlishock JT: (1998) Alteration of the neurofilament sidearm and its relation to neurofilament compaction occurring with traumatic axonal injury. Brain Res 784: 1-6

Otsuka N, Tomonaga M, Ikeda K. (1991) Rapid appearance of beta-amyloid precursor protein immunoreactivity in damaged axons and reactive glial cells in rat brain following needle stab injury. Brain Res 568: 335-338

Peerless S.J., Rewcastle N.B.; Shear injuries of the brain. Can. Med. Assoc J. 1967; 96; 577-582

Peters G, Rothemund E, Neuropathology of the traumatic apallic syndrome. In Orc GD, Gerstenbrand F., Lucking C.H., Peters G., Peters U. H. Eds. The Apallic Syndrome. Berlin: Springer, 1977; 78.

Petito CK, Morgello S, Felix JC, Lesser ML, The two patterns of reactive astrocytosis in postischemic rat brain.

Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism 1990, 10:850-859.

Pierce, J.E., Trojanowski, J.Q., Graham, D.I., Smith, D.H.,, McIntosh, T.K. (1996): Immunhistochemical characterisation of alterations in the distribution of amyloid precursor proteins and beta-amyloid peptid after experimental brain injury in rat. J Neurosci 16:1083-1090

Pierce, J.E., Smith, D.H., Trojanowski, J.Q., McIntosh, T.K.(1998): Enduring cognitive, neurobehavioral and histopathological changes persist for up to one year following severe experimental brain injury in rats. Neuroscience 87: 359-369

Pilz P.(1983) Axonal injury in head injury. Acta Neurochir (Wien) [Suppl] 32: 119-123

Privat A., Gimenez-Ribotta M., Ridet J.-L. Morphology of astrocytes. In: Neuroglia, Oxford University Press 1995. Chapter 1: 3-22 Edited by Kettenmann, H., Ransom, B.

Povlishock JT, Jenkins LW (1995) Are the pathobiological changes evoked by traumatic brain injury immediate and irreversible? Brain Pathol 5: 415-426

Povlishock JT, Pettus EH(1996) Traumatically induced axonal damage: evidence for enduring changes in axolemmal permeability with associated cytoskeletal change. Acta Neurochir (Wien) Suppl 66: 81-86

Punt J., Bonshek R.E., Jaspan T., McConachie, N.S., Punt N., Ratcliffe J.M., The "unified hypothesis" of Geddes et al. Is not supported by data. Paediatric Rehabilitation, 2004, Vol. 7, No. 3, 173-184

Raivich, G., Bluethmann, H., Kreutzberg, G.W. Signaling molecules and neuroglial activation in the injured central nervous system. Keio Journal of Medicine 1996, 45(3):239-247

Reichard, R.R., White, C.L. 3rd, Hladik, C.L., Dolinak, D., (2003), Beta-amyloid precursor protein staining of nonaccidental central nervous system injury in paediatric autopsies, J.Neurotrauma, 20, nb.4: 347-55.

Rio Hortega P del: Microglia in: Kershman J (ed): Cytology and cellular pathology of the nervous system vol II 483-534 Hoebner, New York (1932)

Ruf K, Stein KM, Ganten MK, Mattern (2006) postmortale Brückenvenendarstellungen beim Säugling mit Verdacht auf Schütteltrauma mittels CT. Fortschr Röntgenstr 2006; 178 DOI 10. 1055/s-2006-956208

Rodriguez-Paez, A.C., Brunschwig, J.P., Bramlett, H.M.. Light and electron microscopic assessment of progressive atrophy following moderate traumatic brain injury in the rat (2005). Acta Neuropathol 109: 603-616

Sahuquillo-Barris J., Lamarca-Ciuru J., Vilalta-Castan ., Rubio-Garcia E., Rodriguez-Pazos M., Acute subdural haematoma and diffuse axonal injury after severe head trauma, J Neurosurg 1988; 68: 894-900

Salehi-Had H, Brandt JD, Rosas AJ, Rogers KK, Findings in older children with abusive head injury: does shaken-child syndrome exist? Paediatrics. 2006 May:117(5):e1039-44

Sauvageau A., Bourgault A., Racette S., Cerebral traumatism with a playground rocking toy mimicking shaken baby syndrome, J Forensic Sci 2008 Mar; 53(2): 479-82.

Scaravilli F., Cook G.L., Parasitic and fungal diseases In: Graham D.I., Lantos P.L., (eds.): Greenfield's Neuropathology (6th edition) Arnold London Sydney Auckland (1997) pp 65-102 (Vol II)

Schneider H, Ballowitz L, Schachinger H, Hanefeld F, Dröszus JU. Anoxic Encephalopathy with Predominant Involvement of Basal Ganglia, Brain Steam and Spinal Cord in the Perinatal period. Acta Neuropath. (Berlin) 32, 287-298 (1975)

Shannon, P., Smith, C.R., Deck, J., Ang, L.C., Ho, M., Becker, L. Axonal injury and the neuropathology of shake baby syndrome Acta Neuropathol 1998, 95: 625-631

Sherriff, F.E., Bridges, L.R., Sivaloganathan, S. (1994). Early detection of axonal injury after human head trauma using immunocytochemistry for beta-amyloid precursor protein. Acta Neuropathol. (Berl.) 87, 55-62

Smith D.H., Xiao-Han Chen, M.D., Iwata A., Graham M.B., Amyloid ß accumulation in axons after traumatic brain injury in humans.(2003) J Neurosurg 98Ö 1072-1077

Starling et al.; Abusive head trauma: the relationship of perpetrators to their victims. Paediatrics 1995, 95:259

Streit WJ, Kreutzberg GW: Lectin binding by resting and reactive microglia. J Neurocytol 1987; 16: 249-260

Streit WJ, Graeber MB, Kreutzberg GW: Functional plasticity of microglia: A review. Glia 1988; 1: 301-307

Streit WJ: The role of microglia in brain injury. Neurotoxicology 1996; 17: 671-678

Strich SJ.: Lesions in the cerebral hemispheres after blunt head injury. J. Clin. Pathol. 1987; 40; 185-189

Takamiya Y, Kohsaka S, Toya S, Otani M, Tsukada Y. Immunhistochemical studies on the proliferation of reactive astrocytes and the expression of cytoskeletal proteins following brain injury in rats. Developmental Brain Research 1988, 38: 201-210

Talbert DG; Paroxysmal cough injury, vascular rupture and "shaken baby syndrome, Med Hypotheses. 2005;64(1):8-13)

Tate DF, Bigler ED: Fornix and hippocampal atrophy in traumatic brain injury. (2000) Learn Mem 7: 442-446

Tator CH; Update on the Pathophysiology and Pathology of Akute Spinal Cord Injury, Brain Pathology 5: 407-413 (1995)

Towfighi J, Yager JY, Housman C, Vannucci RC. Neuropathology of remote hypoxicischemic damage in the immature rat. Acta Neuropatol (1991) 81: 578-587

Vowles GH, Scholtz CL, Cameron JM, Diffuse axonal injury in early infancy. (1987). J.Clin. Pathol. 40, 185-189

Walz W, Ilscher S, Ohlemeyer C, Banati R, Kettenmann H: Extracellular ATP activates a cation conductance and a K+ conductance in cultured microglial cells from mouse brain. J Neuroscience 1993; 13: 4405-4411

Weinstein DL, Walker DG, Akiyama H, McGeer PL: Herpes simplex Virus type I infection of the CNS induce major histocompatibility complex antigen expression on rat microglia J Neurosci Res 1990; 26: 25.65

Wilkinson AE, Bridges LR, Sivaloganathan S:Correlation of survival time with size of axonal swellings in diffuse axonal injury, Acta Neuropathol (Berl)., 1999 Aug; 98(2): 197-202

Zimmerman RA, Bilaniuk LT, Gennarelli TA: Computed tomography of shearing injuries of the cerebral white matter. Radiology 1987; 127; 393-396

Erklärung

"Ich, Janine Busby, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

[Neuropathologische Veränderungen nach Schütteltrauma bei Kindern]

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, der 6.06.2008

Janine Busby