

Aus dem Institut für Pathologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Zum Nachweis früher Herzmuskelzellnekrosen  
bei plötzlichen Herztodesfällen

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Lisa Hottelmann

aus Potsdam

Datum der Promotion: 07.12.2018

Meinen Eltern gewidmet

# Inhaltsverzeichnis

I	Abkürzungsverzeichnis	5
II	Abbildungsverzeichnis	6
III	Tabellenverzeichnis	8
IV	Zusammenfassung	9
	Abstrakt	9
	Abstract	10
1	Einleitung	12
2	Zielstellung	14
3	Aktueller Kenntnisstand zum plötzlichen Herztod	15
3.1	Definition	15
3.2	Ätiologie	16
3.2.1	Koronare Ursachen	17
3.2.2	Nicht koronar bedingte Ursachen	18
3.2.3	Genetische Ursachen	19
3.3	Pathogenese	20
3.4	Pathologisch-anatomische Befunde	21
3.4.1	Koronararterien	21
3.4.2	Myokard	22
3.4.3	Reizleitungssystem und kardiale Nerven	22
3.4.4	Extrakardiale Befunde	23
3.5	Klinische Diagnostik	23
3.6	Autopsiediagnostik	25
3.6.1	Makroskopie	27
3.6.2	Histologie	29
3.6.3	Histochemie	34
3.6.4	Immunhistochemie	35
3.6.5	Fluoreszenzmikroskopie	39

3.6.6	Elektronenmikroskopie	41
3.7	Vergleich der Untersuchungsmethoden	42
4	Eigene Untersuchungen	44
4.1	Material	44
4.1.1	Untersuchungsmaterial	44
4.1.2	Standardfärbung	44
4.1.3	Sonderfärbungen	44
4.2	Methoden	45
4.2.1	Auswahl der Herztodesfälle anhand der Sektionsberichte	45
4.2.2	Auswahl der Fälle anhand der lichtmikroskopischen Befunde	46
4.2.3	Histologie	47
4.2.4	Immunhistochemie	50
4.2.5	Auswertung	52
4.3	Ergebnisse	52
4.3.1	Sektionsbefunde	52
4.3.2	Pathologisch-anatomische Todesursachen	54
4.3.3	Mikroskopische Untersuchungen	57
4.3.4	Einfluss der Autolyse	86
4.4	Diskussion	88
4.4.1	Material	88
4.4.2	Methoden	89
4.4.3	Ergebnisse	93
4.4.4	Schlussfolgerungen	95
5	Literaturverzeichnis	97
6	Eidesstattliche Versicherung	114
7	Lebenslauf	115
8	Danksagung	116
9	Anhang	117

## I Abkürzungsverzeichnis

ABC	Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex
AK	Antikörper
AP	Alkalische Phosphatase
APAAP	Alkalische Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase
BMI	Body Mass Index
CTK	Carl-Thiem-Klinikum Cottbus
EKG	Elektrokardiogramm
FMD	Fibromuskuläre Dysplasie
HBFP	Hämatoxylin-basisches Fuchsin-Pikrinsäure
HE	Hämatoxylin-Eosin
HMZ	Herzmuskelzellen
HW	Hinterwand (des linken Ventrikels)
ICD	Internationale Klassifikation der Krankheiten
IHC	Immunhistochemie
KHK	Koronare Herzkrankheit
LFB	Luxol-Fast-Blue
MFD	Myofibrilläre Degeneration
NaCl	Natriumchlorid
NBT	Nitroblue-Tetrazolium
PAS	Perjodsäure-Schiff
PTAH	Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid
VW	Vorderwand (des linken Ventrikels)

## II Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Interaktion verschiedener Faktoren, die einen plötzlichen Herztod bewirken können	S. 21
Abb. 2	Aktivierung des Komplement-Systems und seiner Inhibitoren	S. 36
Abb. 3	Blutgefäße mit positiver Reaktion der subendothelialen Wand im ungeschädigten Myokard als interne Kontrolle	S. 51
Abb. 4	Pathologisch-anatomische Todesursachen der untersuchten Fälle	S. 56
Abb. 5	Übergangszone von vitalen Herzmuskelzellen in frische Nekrosen mit Zellkernverlust	S. 66
Abb. 6	Purpurrotfärbung ischämisch geschädigter Herzmuskelzellen	S. 69
Abb. 7	Purpurrotfärbung früher HMZ-Nekrosen neben älteren Zellnekrosen mit Verlust der Zellaffinität des Fuchsins	S. 69
Abb. 8	Disseminierte Narben mit Blaufärbung des umliegenden Myokards, kein akuter Myokard-Reinfarkt	S. 71
Abb. 9	Intensive Blaufärbung von Kontraktionsbändern als Zeichen von HMZ-Untergängen	S. 71
Abb. 10	Anteile eines Infarktareals mit frischen Gruppennekrosen	S. 73
Abb. 11	Ausläufer frischer HMZ-Nekrosen an der Grenzzone eines Infarktareals	S. 73
Abb. 12	Gruppennekrosen bei gut erhaltenem Myokard	S. 74
Abb. 13	Gruppennekrosen bei mäßig autolytischem Myokard	S. 74
Abb. 14	Einzelzellnekrosen und angefärbte Arterienwände (positive interne Kontrolle)	S. 75
Abb. 15	Einzelzellnekrosen mit pos. int. Kontrolle, fragmentierte HMZ mit Kernverlust (Autolyse)	S. 75
Abb. 16	Prozentuale Verteilung der Färbungsergebnisse	S. 80

Abb. 17	Myokardareal mit akutem Reinfarkt, Hyperämie und Hämorrhagien	S. 81
Abb. 18	Ältere HMZ-Nekrosen, aufgrund des Affinitätsverlustes des Fuchsins nicht erkennbar angefärbt	S. 81
Abb. 19	Nicht selektive Darstellung von HMZ-Nekrosen	S. 82
Abb. 20	Selektive Darstellung von Gruppennekrosen	S. 82
Abb. 21	Linke Ventrikelwand mit Papillarmuskelanschnitt in der Übersicht	S. 83
Abb. 22	Papillarmuskel mit Gruppennekrosen	S. 84
Abb. 23	Angedeutete Purpurfärbung der Gruppennekrosen	S. 84
Abb. 24	Intensive Blaufärbung einer Gruppennekrose, unspezifische Anfärbung im Randbereich und in der Ventrikelwand	S. 85
Abb. 25	Selektiver Nachweis einer Gruppennekrose mit C9c-Immunhistochemie	S. 85
Abb. 26	Nachweis von Einzelzellnekrosen mit positiver interner Kontrolle bei fortgeschrittener Autolyse	S. 87

### III Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Ursachen des plötzlichen Herztodes in allen Altersgruppen	S. 17
Tab. 2	Zeitlicher Verlauf histologischer Veränderungen in der Infarktzone innerhalb der ersten 24 h	S. 27
Tab. 3	Vergleich verschiedener Methoden zur Darstellung früher ischämischer Myokardschäden	S. 43
Tab. 4	Geschlechterverteilung	S. 53
Tab. 5	Sektionsbefunde	S. 53
Tab. 6	Angaben zu Herzgewicht und Kammerwandstärken	S. 53
Tab. 7	Postmortale Liegezeit der Verstorbenen in Stunden	S. 54
Tab. 8	Zusammenfassung der pathologisch-anatomischen Todesursachen zu Arbeitsdiagnosen	S. 55
Tab. 9	Pathologisch-anatomischen Todesursachen	S. 56
Tab. 10	Häufigkeitsverteilung der pathologisch-anatomischen Todesursachen	S. 57
Tab. 11	Abweichung der neu erhobenen Befunde im Vergleich zu den primären mikroskopischen Befunden	S. 67
Tab. 12	Nachweis von Herzmuskelzellnekrosen nach den primären und neu erhobenen mikroskopischen Befunden	S. 67
Tab. 13	Vergleichende Ergebnisse der HE-Färbung und der Sonderfärbungen	S. 79
Tab. 14	Ergebnisse der HE-Färbung und der Sonderfärbungen in Prozent	S. 80



## IV Zusammenfassung

### Abstrakt

**Einleitung:** Der plötzliche Tod ist in den Industrienationen eine der häufigsten natürlichen Todesursachen von Erwachsenen. Die Mehrzahl dieser Todesfälle ist durch kardiale Ursachen bedingt und wird als „Plötzlicher Herztod“ bezeichnet. Die WHO definiert den plötzlichen Herztod als den Tod, der innerhalb einer Stunde nach Beginn der Symptome eintritt. Der plötzliche Herztod ist häufig die Erstmanifestation einer Herzkreislauferkrankung, die Todesursache lässt sich vielfach nur durch eine Obduktion aufklären. Der Nachweis früher Herzmuskelzellnekrosen als Folge einer ischämischen Schädigung des Myokards kann jedoch bei der kurzen Überlebenszeit mit herkömmlichen Methoden nicht erbracht werden.

**Zielstellung:** Das Ziel der Studie bestand darin, Methoden zur postmortalen Diagnostik früher Myokardnekrosen zu eruieren und hinsichtlich ihrer praktischen Anwendung und Reproduzierbarkeit in der klinischen und forensischen Pathologie zu prüfen.

**Methoden:** Für die Pilotstudie wurden die HBFP-Färbung nach *Lie*, die modifizierte Luxol-Fast-Blue (LFB)-Färbung nach *Arnold* sowie eine immunhistochemische Reaktion mit dem Komplement-Antikörper C9c angewendet und mit der HE-Färbung als Standardmethode verglichen. Die Auswahl der Fälle erfolgte durch eine systematische Archivanalyse von zwei pathologischen und einem rechtsmedizinischen Institut. In die Studie wurden Fälle mit einer akuten kardialen Todesursache und einer Überlebenszeit von weniger als 6 Stunden einbezogen. Dabei wurden auch äußere Faktoren wie die postmortale Liegezeit und die Art der Gewebefixierung berücksichtigt. Die Schnittpräparate wurden lichtmikroskopisch begutachtet und semiquantitativ ausgewertet.

**Ergebnisse:** Von den insgesamt 128 Fällen wurden bei der HE-Färbung in 95 Fällen (74,2%) keine frühen Herzmuskelzellnekrosen nachgewiesen. Dies gelang jedoch in 26 Fällen (20,3%) dieser 95 Fälle bei Anwendung der Immunhistochemie mit dem Antikörper C9c. Die *Lie*-Färbung zeigte in 55 Fällen (57,9%) der 95 negativen HE-Fälle Muskelzelluntergänge an, von denen aber nur 12 Fälle immunhistochemisch bestätigt wurden. Mit der modifizierten LFB-Färbung waren frühe Herzmuskelzellnekrosen oft nicht

von vitalen Zellen abzugrenzen. Immunhistochemisch konnten bei Verstorbenen mit einer Liegezeit von bis zu 8 Tagen post mortem positive Befunde erhoben werden.

**Schlussfolgerungen:** Immunhistochemisch wurden in signifikant mehr plötzlichen Herztodesfällen (n=52, 40,6%) Einzelzell- und Gruppennekrosen nachgewiesen als mit der HE-Färbung (n=33, 25,8%). Die beiden histologischen Spezialfärbungen erwiesen sich als methodisch aufwendiger und weniger sensitiv (*Lie*-Färbung) oder als nicht selektiv und somit unspezifisch (modifizierte LFB-Färbung nach *Arnold*). Im Gegensatz dazu lieferte die standardisierte, automatisch und routinemäßig durchführbare C9c-Immunhistochemie aufgrund der kräftigen Immunreaktivität eindeutige, reproduzierbare und wegen der simultanen internen Kontrolle (Immunreaktivität von Gefäßwänden) objektive Ergebnisse. Die immunhistochemische Methode eignet sich zum Nachweis früher Herzmuskelzelluntergänge in der postmortalen Diagnostik des plötzlichen Herztodes.

## Abstract

**Introduction:** Sudden death is amongst the most common natural causes of death in adults in industrialized nations. The majority of these cases have a cardiac cause and are termed "Sudden cardiac death". The WHO definition specifies an interval of at most 1 hour between the onset of symptoms and death. Sudden cardiac death is often the first manifestation of cardiovascular disease and autopsy is needed for confirmation. It is not possible, using conventional techniques, to demonstrate early-stage myocardial necrosis, as evidence for ischemic damage to the heart, within this short survival time.

**Aims:** The study's aim was the examination of alternative methods for postmortal diagnosis of early myocardial necrosis and the testing of the most common with respect to their practical applicability and reproducibility in clinical and forensic pathology.

**Methods:** *Lie's* HBFP-staining, *Arnold's* modified Luxol Fast Blue (LFB) histologic staining together with the C9c-immunoreactivity were compared to standard HE stains. A systematic investigation of the archives of two clinical and one forensic pathology department was performed to retrieve suitable cases with cardiac causes of death. Only cases with a suspected or known survival time of less than 6 hours were included. Postmortal delays in the examination and tissue fixation methods were considered as

relevant external factors. Tissue sections were examined with a light microscope and semiquantitatively evaluated.

**Results:** From a total of 128 cases, 95 cases (74,2%) showed no sign of fresh myocardial necrosis under HE staining. In 26 (20,3%) of these, heart muscle cell necrosis was demonstrated with the C9c immunostain. *Lie's* stain marked sites of cell death in 55 cases (57,9%), of these only 12 could be immunohistochemically confirmed. By using the modified LFB staining early heart muscle cell necrosis could not be distinguished from vital cells in the most of the cases. The immunostaining yielded positive results up to 8 days after death.

**Conclusion:** The C9c-immunostaining demonstrated single cell and group necrosis in significantly more cases (n=52, 40,6%) than HE staining (n=33, 25,8%). The special histologic stains proved to be either technically complex and less sensitive (*Lie's* stain) or unselective and unspecific (*Arnold's* modified LFB stain). In contrast the standardized, automatically and routinely applied C9c immunohistochemistry gave clear and reproducible results since it showed a marked immunoreactivity and was objectively interpretable due to the internal control (vascular wall reactivity). The immunohistochemical method is suitable to provide evidence of early heart muscle cell damage for the postmortal diagnosis of sudden cardiac death.

# 1 Einleitung

Der plötzliche Tod aus natürlicher Ursache zählt bei erwachsenen Personen zu den häufigsten Todesursachen in den industrialisierten Ländern. In Europa sterben pro Jahr ca. 350.000 Menschen plötzlich und unerwartet.<sup>1</sup> Er wird derzeit definiert als natürlicher, unerwarteter Tod innerhalb einer Stunde nach Beginn einer Symptomatik.<sup>2</sup> Oft verläuft der plötzliche Tod in Sekundenschnelle (sog. Sekudentod) und ohne erkennbare Anzeichen. Ursachen für einen plötzlichen Tod können Asthmaattacken, pulmonale Embolien, epileptische Anfälle, Hirnblutungen oder auch intraabdominelle Blutungen sein.<sup>2,3</sup> Vom plötzlichen Tod des Erwachsenen ist der plötzliche Kindstod abzugrenzen, der andere Ursachen hat und eine besondere Rolle in der Rechtsmedizin spielt, aber nicht Gegenstand der vorliegenden Studie ist.<sup>4</sup> Der größte Teil der plötzlichen Todesfälle ist jedoch durch kardiale Ursachen bedingt und wird mit dem Begriff „plötzlicher Herztod“ bezeichnet.

Obwohl die Begriffe in der Internationalen Klassifikation der Krankheiten ICD 10 unterschiedlich definiert sind, werden „plötzlicher Tod“ und „plötzlicher Herztod“ häufig synonym verwendet. Rund 60% aller kardialen Todesfälle treten plötzlich und unerwartet auf.<sup>5</sup> Damit ist der plötzliche Herztod die am häufigsten auftretende letale Manifestation einer Herzerkrankung. In einer Publikation von 2014 werden erstmals Aussagen zur Häufigkeit des plötzlichen Herztodes in Deutschland getroffen. Darin geht man von etwa 65.000 Fällen pro Jahr aus, das sind ca. 20% der durch eine Herz-Kreislauf-Erkrankung bedingten Todesfälle.<sup>6</sup>

Eine gezielte Prävention des plötzlichen Herztodes ist kaum möglich, wenngleich die meisten kardiovaskulären Risikofaktoren bekannt sind. Dazu zählen u.a. Rauchen, Alkoholabusus, Hypertonie, Übergewicht, Diabetes mellitus und Stress. Die Behandlung von Herzerkrankungen hat sich in den vergangenen Jahrzehnten deutlich verbessert, aber die gleichbleibende Inzidenz des plötzlichen Herztodes zeigt die Schwierigkeit, Risikopatienten zu erkennen und präventive Maßnahmen zu entwickeln.<sup>6</sup> Noch immer wird nach Möglichkeiten zur besseren Risikostratifizierung geforscht. Bei 45-50% der plötzlich Verstorbenen war zuvor keine Herzerkrankung bekannt.<sup>7-9</sup> Daher werden routinemäßige Vorsorgeuntersuchungen mit Tests zur Abschätzung des Risikos ab dem 40. Lebensjahr empfohlen, um gefährdete Patienten rechtzeitig zu erkennen und eine ärztliche Betreuung einzuleiten.<sup>9,10</sup>

Der Nachweis eines plötzlichen Herztodes gestaltet sich äußerst schwierig. Frische Herzmuskelzellnekrosen als Ausdruck einer ischämischen Schädigung des Herzens können makroskopisch nicht und auch durch mikroskopische Untersuchungen mittels HE-Färbung erst nach einer Überlebenszeit des Ereignisses von mehr als 6 Stunden nachgewiesen werden.<sup>11</sup> Der plötzliche Herztod ist nicht mit dem akuten Myokardinfarkt gleichzusetzen. Dem plötzlichen Herztod können sowohl disseminierte Nekrosen als Folge einer relativen Ischämie ursächlich sein als auch umschriebene Nekroseareale in Ausdehnung eines Infarktes (per definitionem größer als 1 cm<sup>2</sup>) als Folge einer absoluten Ischämie zugrunde liegen. Die geltende Definition des plötzlichen Herztodes mit einer Überlebenszeit von maximal einer Stunde<sup>12</sup> verdeutlicht das Problem, das darin besteht frühe (d.h. frische) Nekrosen zu erkennen, um einen plötzlichen Herztod als Todesursache nachzuweisen. Häufig können lediglich pathologisch-anatomische Veränderungen der Herzkranzgefäße, beispielsweise arteriosklerotische Stenosen verschiedenen Schweregrades oder Myokardnarben unterschiedlicher Ausdehnung festgestellt werden, Befunde, die Rückschlüsse auf eine ischämische Herzkrankheit als Todesursache zulassen. Der histologische Nachweis vital entstandener Zelluntergänge kann bei einer derart kurzen Zeitspanne zwischen Beginn der zum Tode führenden Krankheitsursache mit oder ohne klinische Symptome und Tod mit den herkömmlichen Routinemethoden nicht erbracht werden. Zwar werden einige mit der HE-Färbung sichtbare Frühveränderungen, wie z.B. die sog. „wavy fibers“, auch bei kürzeren Überlebensintervallen beschrieben<sup>11</sup>, diese bieten jedoch häufig Anlass für Fehlinterpretationen und eine Verwechslung mit Artefakten. In den letzten Jahrzehnten wurden etliche Spezialfärbungen, einschließlich der Anwendung von Antikörpern gegen Zelluntergänge, entwickelt, um frühe ischämische Herzmuskelzellschäden sicher nachzuweisen. Bisher konnte sich jedoch keine dieser Methoden als neuer Standard für die postmortale Diagnostik des plötzlichen Herztodes etablieren. Deshalb ist dieses Problem nach wie vor von aktueller Bedeutung für die tägliche Praxis in der klinischen und forensischen Pathologie und ist Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

## 2 Zielstellung

Die Dissertation hat folgende Zielstellungen:

1. Studium der aktuellen klinischen und pathologisch-anatomischen Diagnostik des plötzlichen Herztodes als einer der häufigsten und am schwierigsten morphologisch nachweisbaren letalen Komplikation von Herzkreislauferkrankungen. Diese Aufgabe wurde aufgrund der wechselnden Auffassungen und Definitionen in den vergangenen Jahrzehnten, der schwer therapierbaren Ursachen und der nur selten erfolgreichen Reanimation der betroffenen Patienten oder scheinbar gesunden Erwachsenen als essentiell für eine Pilotstudie angesehen.
2. Der Nachweis eines plötzlichen Herztodes als Folge einer arteriellen Mangel durchblutung erfordert den Nachweis früher Herzmuskelzellnekrosen. Unter frühen (synonym auch frischen) Nekrosen werden dabei solche Herzmuskelzelluntergänge verstanden, die sich nach einer Überlebenszeit von 1 bis 2 Stunden zweifelsfrei nachweisen lassen. Da dies histologisch mit der üblichen HE-Färbung in der Regel nicht gelingt, werden alternative Methoden benötigt. Das Ziel der Untersuchung bestand deshalb darin, alle bekannten Methoden zu eruieren und die wichtigsten bzw. gängigsten Verfahren hinsichtlich ihrer praktischen Anwendbarkeit in der pathologisch-anatomischen und gerichtsmedizinischen Diagnostik zu prüfen.
3. Als Methoden zum Nachweis früher Myokardnekrosen wurden zwei histologische Färbungen, nämlich die HBFP-Färbung nach *Lie* und die modifizierte Luxol-Fast-Blue-Färbung nach *Arnold* sowie eine immunhistochemische Methode mit Anwendung des Komplement-Antikörpers C9c geprüft. Diese Verfahren wurden ausgewählt, weil sie in der Literatur ausführlich beschrieben sind.
4. Weiterhin erforderte die Aufgabenstellung eine vergleichende Untersuchung. Diese verfolgte das Ziel, diejenige Methode herauszufinden, die mit einem geringen technischen und zeitlichen Aufwand die am besten reproduzierbaren Ergebnisse für eine routinemäßige Anwendung in der Pathologie und Rechtsmedizin ergibt.

5. Unter Berücksichtigung von Kontrollfällen mit histologisch nachgewiesenen Myokardinfarkten wurden in die Studie Patienten bzw. Personen einbezogen, die mit einer bekannten oder mutmaßlichen Überlebenszeit von weniger als 6 Stunden aus kardialer Ursache verstorben waren. Als beeinflussende äußere Faktoren sollten bei allen Fällen die postmortale Liegezeit, die Umgebungstemperatur und die Art und Dauer der Gewebeasservierung berücksichtigt werden. In diesem Zusammenhang sollte festgestellt werden, bis zu welcher Liegedauer sich intravital entstandene Herzmuskelzelluntergänge von autolytischen Veränderungen abgrenzen lassen.

### **3 Aktueller Kenntnisstand zum plötzlichen Herztod**

#### **3.1 Definition**

In der Fachliteratur existiert noch immer keine einheitliche Begriffsklärung, welche Fälle als plötzlicher Herztod zu bezeichnen sind. Zur Definition kann mangels genauer zeitlicher Abgrenzung für den Begriff „plötzlich“ die Überlebenszeit als Kriterium herangezogen werden. Dabei handelt es sich um den Zeitraum vom Beginn erster kardialer Symptome bis zum festgestellten Todeseintritt. Nach einer älteren Definition von 1977 ist der plötzliche Herztod als „primär durch Veränderungen am Herzen verursachter Tod, der innerhalb von Sekunden bis zu mehreren Stunden nach Beginn des terminalen Ereignisses eintritt“ zu verstehen.<sup>3</sup> Die in der Literatur angegebenen zeitlichen Begrenzungen reichen von wenigen Sekunden<sup>13</sup> über 1 h, 2 h, 6 h bis 24 h.<sup>12, 14-16</sup> Ausgehend von einer WHO-Definition von 1985<sup>12</sup> wird der plötzliche Herztod heute allgemein als ein plötzlich eintretender natürlicher Tod kardialer Ursache mit Beginn von Symptomen innerhalb einer Stunde vor dem Tod beschrieben, z.B. in den Richtlinien der American Heart Association (AHA) von 2006<sup>17</sup> oder der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC) von 2015.<sup>18</sup> Damit wurden die vorher geltenden Richtlinien der WHO, die von einer Überlebenszeit von zunächst 24h und später 6 h ausgingen, abgelöst. Die Verwendung des Begriffs „Plötzlicher Herztod“ gestaltet sich häufig problematisch, weil mangels Zeugen gesicherte Aussagen zum zeitlichen Ablauf und zu einer möglicherweise vorausgegangenen Symptomatik fehlen. Darauf beruhend wird der

Begriff noch immer unterschiedlich angewendet, so dass sich im pathologischen und gerichtsmedizinischen Alltag viele analoge oder scheinbar gleichbedeutende Begriffe und Diagnosen eingebürgert haben (s. Kap. 4.2.1). Dies erschwert die Vergleichbarkeit von Studien zum plötzlichen Herztod.

### 3.2 Ätiologie

Nach heutigen Erkenntnissen können ätiologisch drei Gruppen plötzlicher Herztodesfälle unterschieden werden:<sup>3, 19</sup>

1. Koronar bedingte Todesfälle (ca. 80%)
2. Nicht koronar bedingte kardiale Ursachen (ca. 15%)
3. Genetische Ursachen (ca. 5%)

Die Ursachen sind differenziert nach verschiedenen Lebensaltersabschnitten zu betrachten:

Der plötzliche Herztod im Säuglings-, Kindes- und Jugendalter tritt mit 1-5 Fällen pro 100.000 pro Jahr relativ selten auf.<sup>20</sup> Als häufigste Ursachen sind anatomische Fehlbildungen des Herzens und der Koronararterien sowie die Gruppe der genetisch bedingten Herzrhythmusstörungen zu nennen.<sup>20, 21</sup> Etwa 25% dieser Fälle ereignen sich während erhöhter körperlicher Belastung, beispielsweise beim Sport.<sup>22</sup>

Bei jungen Erwachsenen bis zum mittleren Lebensalter rückt die koronare Herzkrankheit in den Vordergrund, daneben finden sich häufig Myokarditiden, Kardiomyopathien und erworbene Herzrhythmusstörungen als Todesursache.<sup>23, 24</sup>

Bei älteren Menschen ist die koronare Herzkrankheit mit Durchblutungsstörungen bis hin zum akuten Myokardinfarkt die hauptsächliche Ursache für den plötzlichen Herztod.



Koronare Ursachen	Nicht koronare Ursachen	Genetische Ursachen
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Arteriosklerose               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Koronare Herzkrankheit (KHK)</li> <li>- Akuter Myokardinfarkt</li> </ul> </li> <li>• Aortendissektion</li> <li>• Embolie</li> <li>• Fehlbildungen der Koronararterien</li> <li>• Koronaraneurysmen</li> <li>• Arteriitis</li> <li>• Fibromuskuläre Dysplasie (FMD)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Herzklappenerkrankungen</li> <li>• Kardiomyopathie               <ul style="list-style-type: none"> <li>- hypertrophe</li> <li>- dilatative</li> <li>- arrhythmogene rechtsventrikuläre</li> <li>- alkoholische</li> <li>- Non-Compaction-Kardiomyopathie</li> </ul> </li> <li>• Karditis               <ul style="list-style-type: none"> <li>- viral</li> <li>- bakteriell</li> <li>- sonstige</li> </ul> </li> <li>• Hypertone Herzkrankheit</li> <li>• Vitien</li> <li>• Anomalien des Erregungsbildungs- und Reizweiterleitungssystems</li> <li>• sonstige seltene Ursachen z.B. Myokardbeteiligung bei Amyloidose, Stress-induzierter plötzlicher Herztod</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Genetisch bedingte Herzrhythmusstörungen               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Long-QT-Syndrome</li> <li>- katecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie</li> <li>- Brugada-Syndrom</li> <li>- Short-QT-Syndrome</li> </ul> </li> <li>• kardiale Tumore               <ul style="list-style-type: none"> <li>- benigne</li> <li>- maligne</li> <li>- Metastasen</li> </ul> </li> </ul>

Tab. 1 Ursachen des plötzlichen Herztodes in allen Altersgruppen (nach *Bajanowski et al.*<sup>25</sup>)

### 3.2.1 Koronare Ursachen

Die koronar bedingten Todesfälle stellen den Großteil der plötzlichen Herztode dar – allen voran die koronare Herzkrankheit, auch ischämische Herzkrankheit genannt. Nicht selten ist das unerwartete Versterben die erste Manifestation. Nach *Titus*<sup>3</sup> sollen diese Fälle bis zu 95% aller plötzlichen Herztodesfälle betragen. Die Mortalität der koronaren Herzkrankheit kann in bis zu 60% auf plötzliche Herztodesfälle zurückgeführt werden.<sup>20</sup> Zahlreiche Untersuchungen haben die Bedeutung der stenosierenden arteriosklerotisch-thrombotischen Veränderungen der Koronararterien belegt.<sup>16, 21, 22</sup> Oft besteht eine mehr als 75%ige Stenose der Herzkranzgefäße.<sup>3</sup> Vielfach kann kein akuter Infarkt oder Reinfarkt bei bestehender koronarer Herzkrankheit nachgewiesen werden, die Patienten versterben an akuter Koronarinsuffizienz. Bei über 50% der Fälle sind Narbenareale als Zeichen eines bereits überlebten Herzinfarktes vorhanden.<sup>3</sup>

Die Inzidenz des plötzlichen Herztodes ist bei Männern zwei- bis dreimal so hoch wie bei Frauen und steigt mit zunehmendem Lebensalter. Bei Vorliegen kardiovaskulärer Risikofaktoren wie Hypertonie, Diabetes mellitus, Dyslipidämie, Rauchen und familiärer Belastung erhöht sich das Risiko um den Faktor 2 bis 4, bei einer klinisch relevanten Herzerkrankung sogar um den Faktor 6 bis 10.<sup>23</sup> Dem Alkoholkonsum ist beim plötzlichen Herztod eine größere Bedeutung zuzumessen als bei der koronaren Herzkrankheit.<sup>24, 26</sup> Diabetes-Patienten weisen in verschiedenen Untersuchungen ein 4- bis 6-fach erhöhtes

Herzinfarkttrisiko sowie ein dreifach höheres Risiko für einen plötzlichen Herztod gegenüber nichtdiabetischen Patienten auf und stellen damit eine Hochrisikogruppe dar.<sup>10, 27</sup>

### 3.2.2 Nicht koronar bedingte Ursachen

Die Todesfälle werden durch nicht koronarogene bzw. nicht ischämische Erkrankungen hervorgerufen. Dazu gehören Herzklappenerkrankungen wie Aortenklappenstenose oder das Syndrom des Mitralklappenprolaps, anatomisch nachweisbare Anomalien des Erregungsbildungs- und Reizweiterleitungssystems oder der Koronararterien, angeborene Herzfehler, Kardiomyopathien, Entzündungen des Myokards, Tumoren des Herzens und genetisch bedingte Herzrhythmusstörungen.<sup>19</sup>

Als wichtige entzündliche Erkrankung ist die Myokarditis zu nennen. Eine Myokarditis kann einen akuten oder chronischen Verlauf nehmen. Viele Herzmuskelentzündungen bleiben symptomlos, ansonsten stehen unspezifische Symptome im Vordergrund. Häufig geht ein grippaler Infekt voraus. Als Todesursache überwiegt die virale Myokarditis. Insbesondere Enteroviren gelten als besonders kardiotrop. Pilzbedingte Herzmuskelentzündungen sind gegenüber viral und bakteriell bedingten Entzündungen selten. Medikamente wie Antikonvulsiva, Neuroleptika oder Diuretika können ebenfalls eine Myokarditis auslösen, z.B. die Clozapin-Myokarditis.<sup>28</sup>

Kardiomyopathien werden in primäre und sekundäre (durch systemische Erkrankungen bedingte) Kardiomyopathien unterschieden. Die primären Kardiomyopathien können weiter in genetisch bedingt und erworben eingeteilt werden.<sup>29</sup> Die häufigsten erblichen strukturellen Veränderungen sind die hypertrophe obstruktive und nicht obstruktive Kardiomyopathie sowie die arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie.<sup>30</sup> Weiterhin hervorzuheben ist die alkoholtoxische Kardiomyopathie, die zur dilatativen Form zählt. Sie ist im Zusammenhang mit der Anamnese und alkoholassoziierten Veränderungen, z.B. der Leber und des Pankreas, in Betracht zu ziehen. Ihre Bedeutung wurde lange unterschätzt. Übermäßiger Alkoholkonsum gilt heute als Hauptursache der nicht-ischämischen dilatativen Kardiomyopathie.<sup>31-33</sup> Andere Drogen können ebenfalls kardiale Effekte induzieren, insbesondere Kokain und Amphetamine, die zu den indirekten Alpha-Sympathomimetika gehören. Die vermehrte Freisetzung von Noradrenalin verursacht Hypertonie und Arteriosklerose, Spasmen der Koronararterien

und myokardiale Ischämien bis hin zur sog. Kokain-Kardiomyopathie und kann zum Myokardinfarkt führen.<sup>34, 35</sup> Durch Stress kann eine seltene spezielle, nicht ischämische Form der Kardiomyopathie ausgelöst werden, die sog. Takotsubo-Kardiomyopathie. Sie zählt zu den erworbenen Kardiomyopathien und betrifft meist Frauen in der Menopause. Die Symptome können einem akuten Koronarsyndrom bzw. einem akuten Myokardinfarkt ähneln und gehen mit temporärer ventrikulärer Dysfunktion, EKG-Veränderungen, Anstieg von Troponin-T, jedoch ohne nachweisbare koronare Herzkrankheit einher. Spezifische histologische Veränderungen sind mit der Erkrankung nicht verbunden.<sup>25, 36</sup> Stress kann erwiesenermaßen zu Störungen der kardiovaskulären Funktionen führen und somit ursächlich für einen plötzlichen Herztod sein. In Tierexperimenten konnte nachgewiesen werden, dass durch eine erhöhte Stimulation des Hypothalamus über längere Zeit ein erhöhter Katecholaminspiegel und kardiale Arrhythmien ausgelöst werden können.<sup>37, 38</sup>

Einige der nichtkoronaren Ursachen treten selten auf, z.B. eine kardiale Sarkoidose, Riesenzellmyokarditis und kardiale Tumore. Die Inzidenz von Herztumoren liegt unter 1%, davon sind ca. 75% gutartig und ca. 25% maligne.<sup>39, 40</sup> Als häufigster benigner Herztumor beim Erwachsenen ist das Myxom zu nennen, weiterhin treten kardiale Lipome, papilläre Fibroelastome, Fibrome, Angiome oder Mesotheliome auf. Im Kindesalter steht das Rhabdomyom an erster Stelle der gutartigen Herztumore. Primäre maligne Herztumore manifestieren sich überwiegend als Sarkome, beispielsweise Angiosarkome, Rhabdomyosarkome oder Fibrosarkome, aber auch maligne Lymphome. Metastasen von extrakardialen Neoplasien sind sehr viel häufiger als primäre kardiale Tumore zu finden.<sup>40</sup>

### **3.2.3 Genetische Ursachen**

Primäre Arrhythmiesyndrome, die zu den genetisch bedingten Herzerkrankungen zählen, weisen keine autoptisch erkennbaren Veränderungen auf. Sie beruhen auf Fehlfunktionen kardialer Ionenkanäle und werden daher auch Ionenkanalerkrankungen genannt. Sie müssen immer in Betracht gezogen werden, wenn die Obduktion keine Klärung der Todesursache erbracht hat. Als häufigste dieser meist autosomal-dominant vererbten Erkrankungen sind die Long-QT-Syndrome, die katecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie, das Brugada-Syndrom sowie die Short-QT-Syndrome zu

nennen. Patienten mit Brugada-Syndrom sind aufgrund lebensbedrohlicher Tachyarrhythmien besonders gefährdet. Die typischen Erstsymptome wie z.B. Herzstolpern, Synkopen oder triggergesteuerte rhythmogene Krampfanfälle können bei einer Sensibilisierung der Hausärzte bereits vor einem schwerwiegenden Ereignis richtig erkannt und behandelt werden.<sup>30, 41</sup>

### 3.3 Pathogenese

Die Pathogenese des plötzlichen Herztodes ist vielschichtig und durch die Interaktion verschiedener Faktoren gekennzeichnet. In den meisten Fällen kommt es bei bestehender hochgradig stenosierender Koronarsklerose zu einer sekundären Thrombose infolge einer Ruptur arteriosklerotischer Plaques und dadurch zu einer Minderperfusion mit hochgradigem Sauerstoffmangel und einer Akkumulation von Stoffwechselprodukten. Eine absolute Ischämie führt in wenigen Minuten zur umschriebenen Nekrose der Herzmuskelzellen im Stromgebiet des Gefäßes. Bei Vorliegen einer relativen Ischämie entstehen disseminierte Einzelzellnekrosen, die in der Summe die irreversible Schädigung des Herzmuskelgewebes ausmachen. Maligne Herzrhythmusstörungen wie Kammerflimmern, Tachyarrhythmien, Bradyarrhythmien und die Asystolie sind die am häufigsten auftretenden Ereignisse, die zum Tod führen.<sup>42</sup> Eine zugrunde liegende Herzerkrankung, transiente Auslöser wie z.B. Gewebhypoxie, Hypokaliämie oder azidotische Stoffwechsellage, die die Anfälligkeit für Arrhythmien erhöhen, und ein Arrhythmiemechanismus müssen ungünstig zusammentreffen, um ein fatales arrhythmogenes Ereignis auszulösen (Abb. 1). Elektrische Instabilität des Herzens ist einer der Hauptfaktoren, die zum plötzlichen Herztod führen.<sup>43</sup>

*Guski et al.*<sup>19, 44</sup> wiesen auf die Bedeutung von extrakardialen neurogenen und zentralnervösen Einflüssen auf den Pathomechanismus des plötzlichen Herztodes hin, z.B. eine Degeneration von Neuronen in den cervico-thorakalen Ganglien oder im Hypothalamus mit der Folge einer gestörten vegetativen Innervation des Myokards.<sup>45, 46</sup> Weitere mögliche Ursachen für die plötzlichen Herzrhythmusstörungen können eine Schädigung der kardialen Barorezeptoren<sup>47</sup>, eine viroge intrakardiale Ganglionitis und Neuritis<sup>43</sup> oder Störungen in der Entwicklung des Reizweiterleitungssystems<sup>48</sup> sein.

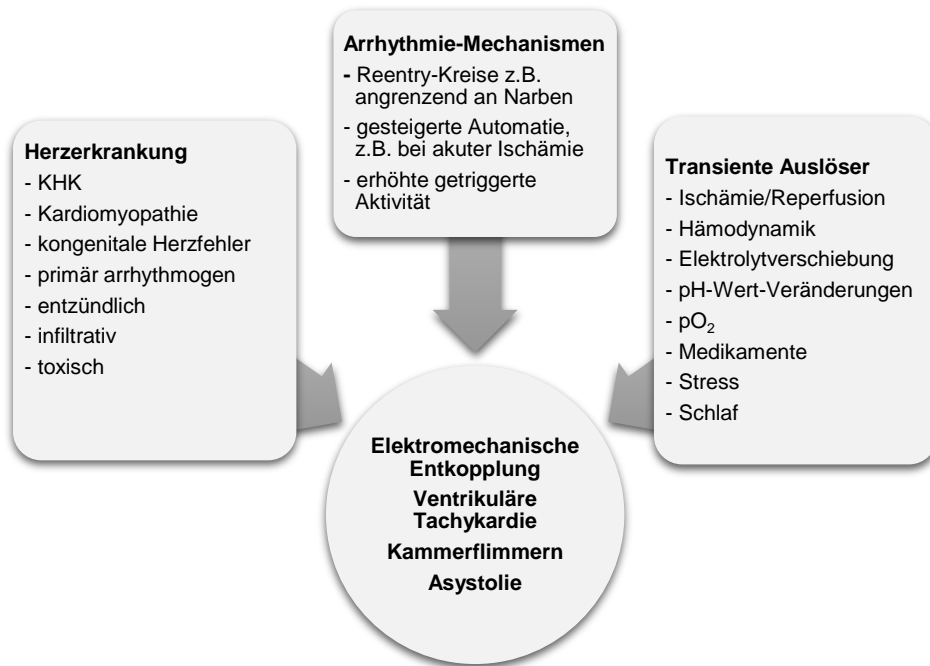


Abb. 1 Interaktion verschiedener Faktoren, die einen plötzlichen Herztod bewirken können (nach Mewis<sup>49</sup>)

### 3.4 Pathologisch-anatomische Befunde

#### 3.4.1 Koronararterien

Die häufigsten Befunde bei der Obduktion plötzlich Verstorbenen sind hochgradige arteriosklerotische Stenosen (> 75%) der Koronararterien.<sup>3</sup> Sind alle 3 Herzkranzgefäße betroffen, spricht man von einer 3-Gefäß-Erkrankung. Diese Form liegt in über 60% der Fälle vor. Der isolierte Befall des Hauptstamms der linken Koronararterie ist relativ selten.<sup>16</sup>

Komplikationen der Koronararteriosklerose wie Plaqueruptur, Intimablutung und Thrombusbildung werden in 10-15% der Fälle beobachtet. Eine akute Koronarthrombose ohne Koronarsklerose tritt so gut wie nie auf. In diesen seltenen Fällen muss differentialdiagnostisch eine Koronararterienembolie erwogen werden.

### 3.4.2 Myokard

Neben einem nachgewiesenen akuten Myokardinfarkt sind disseminierte Herzmuskelzellnekrosen sowie kleinere und kleinste disseminierte Herzmuskelnarben, grobfleckige Narbenareale und größere Infarkt narben (> 10mm) typische Befunde. In manchen Fällen findet sich ein chronisches Herzwandaneurysma als Folge eines großen transmuralen Myokardinfarkts. Im Gegensatz zur umschriebenen Nekrose beim akuten Infarkt ist das Myokard beim plötzlichen Herztod meist diffus ischämisch geschädigt.<sup>20</sup> In den meisten Fällen ist dabei der linke Ventrikel betroffen. Lichtmikroskopisch werden Kontraktionsbandnekrosen, partieller Verlust der Querstreifung, Lyse und scholliger Zerfall von Kardiomyozyten sowie eine wellige Anordnung der Herzmuskelfasern („wavy fibers“) als erste Anzeichen einer ischämischen Schädigung des Myokards angesehen.<sup>50</sup> Elektronenmikroskopisch können eine Schädigung der Mitochondrien, Lysosomen und eine Auflösung der Zellgrenzen in den Herzmuskelfasern beobachtet werden.<sup>19, 46</sup> Eine intramurale Lipomatose, eine herdförmige Atrophie der Herzmuskelfasern des linken Ventrikels ohne Anzeichen einer koronaren Herzkrankheit, eine leichte Kardiomegalie ohne bekannte Hypertonie, eine irreguläre kardiale Hyperämie und ein Ödem des myokardialen Bindegewebes deuten auf eine alkoholische Kardiomyopathie bzw. Alkoholabusus hin.<sup>19, 26</sup> Daneben sind ultrastrukturelle Veränderungen wie intramitochondriale Membraneinschlüsse, vermehrte Lipidablagerungen und Lysosomen sowie Vakuolen im sarkoplasmatischen Retikulum typisch.<sup>51</sup>

### 3.4.3 Reizleitungssystem und kardiale Nerven

Am Reizleitungssystem werden nur in 10-15% der plötzlichen Herztodesfälle pathologische Veränderungen beobachtet, meist unspezifischer Natur, z.B. Fibrose und Lipomatose.<sup>52</sup> An den Arterien von AV-Knoten und Sinusknoten konnte stenosierende Arteriosklerose nachgewiesen werden.<sup>50</sup> Frische Nekrosen oder Einblutungen sind dagegen nur selten zu finden.<sup>3</sup>

In der Übersichtsarbeit von *Guski et al.*<sup>19</sup> werden diverse Studien zum Einfluss von degenerativen Schäden an intra- und extrakardialen sympathischen Nerven beim plötzlichen Herztod vorgestellt, die zusammengefasst als Kardioneuropathien bezeichnet werden. In den adrenergen Herznerven des Myokards konnte eine Reduktion der Aktivität

und degenerative Prozesse in allen Herzabschnitten, insbesondere jedoch in der linken Ventrikelwand beobachtet werden, die mit einer Verminderung des Noradrenaliningehalts einhergehen. Intramyokardiale sympathische Ganglienzellen und Rezeptoren sind von strukturellen Veränderungen und einer Transmitterverarmung besonders betroffen. An den cholinergen Nervenplexus wurden nur diskrete Befunde erhoben.<sup>46, 53</sup> Weiterhin werden entzündliche und degenerative Schädigung von Neuronen nahe des Sinusknotens beobachtet.<sup>43</sup>

#### **3.4.4 Extrakardiale Befunde**

Bei plötzlichen Herztodesfällen werden auch eine deutliche Beeinträchtigung der Neuronen der cervico-thorakalen und der oberen cervicalen sympathischen Ganglien durch Degeneration oder Schwellung beobachtet, sowie Regulationsstörungen im Hypothalamus.<sup>46, 53</sup> So sind beispielsweise Mitochondrienveränderungen verschiedenen Typs, Abnahme der Vesikel in den Synapsen und ein perinukleäres Ödem in den Astrozyten des Hypothalamus sowie ein verminderter Katecholamingehalt in Hypothalamus und Nebennieren nachweisbar.<sup>54</sup> Nach *Shvalev et al.*<sup>46, 53</sup> beginnen die Veränderungen der afferenten Strukturen 24-48 h vor dem Tode und sind als direkte Vorstufe des plötzlichen Herztodes zu sehen, da von einer Störung der reflektorischen Steuerung der kardiovaskulären Aktivität ausgegangen werden kann.

### **3.5 Klinische Diagnostik**

Die klinische Symptomatik des plötzlichen Herztodes kann in der Prodromalphase je nach Ätiologie zwischen dem Bild eines akuten Myokardinfarktes, Herzrasen oder einer Präsynkope variieren. Heftiger Thoraxschmerz ist ein Leitsymptom eines akuten Myokardinfarktes. Infolge einer Sympathikusstimulation kommt es zu Übelkeit und Erbrechen, Schweißausbrüchen und Blutdruckabfall. Die Patienten sind häufig blass und tachykard, es kommt schnell zum Schockzustand aufgrund einer linksventrikulären Dysfunktion, mit Zentralisation des Kreislaufs und Bewusstseinsverlust. Bei älteren Patienten oder Diabetikern kann der Thoraxschmerz auch gänzlich ausbleiben (sog. stumme Myokardischämie).<sup>55</sup> Ebenso kann die vegetative Symptomatik so vordergründig sein, dass die Diagnostik erschwert wird. Bei der Auskultation des Herzens sind häufig

ein 3. oder 4. Herzton und ein Herzgeräusch infolge einer Mitralklappeninsuffizienz zu hören.

Das Elektrokardiogramm ist die wichtigste Untersuchungsmethode bei einem Infarktverdacht.<sup>56</sup> Das Ruhe-EKG dient der Sicherung der Diagnose und der Unterscheidung zwischen dem Vorliegen eines Myokardinfarktes mit ST-Strecken-Hebungen und eines akuten Koronarsyndroms ohne solche Veränderungen. Im frühen Stadium eines ST-Hebungsinfarkts sind im EKG der QRS-Komplex, die ST-Strecke und die T-Welle verschmolzen und nicht mehr differenzierbar. Die Entwicklung dieser sog. monophasischen Deformierung geschieht innerhalb der ersten 30 Minuten. Differentialdiagnostisch sind auch eine akute Perikarditis oder eine sog. Perimyokarditis (bei Übergreifen der Entzündung auf das Myokard) in Betracht zu ziehen, hierbei sind jedoch, im Gegensatz zum Infarkt, nahezu alle Ableitungen betroffen. Bei einem Infarkt ohne ST-Strecken-Hebung sind die Veränderungen weniger spezifisch, es kann zu Auffälligkeiten der T-Welle und zu einer ST-Strecken-Senkung kommen. Viele der Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom weisen ein normales EKG auf.<sup>55, 57</sup>

Laboruntersuchungen spielen für die Diagnostik im Akutstadium eine eher untergeordnete Rolle. Als Marker für myokardiale Zellschädigung gehören kardiales Troponin T und I, Kreatininkinase und herzmuskelspezifische Kreatininkinase zur Routinediagnostik.<sup>55</sup> Zu einem klinisch relevanten Anstieg im Blut kommt es erst 4-6 h nach Beginn einer Ischämie. Neue und präzisere Labortests mit hochsensitiven Troponinen können eine Erhöhung nach 2-3 h zeigen. Bei fehlenden ST-Strecken-Hebungen im EKG hat die Labordiagnostik eine wichtige Funktion, liegen jedoch ST-Strecken-Hebungen vor, darf ein Anstieg der Marker nicht abgewartet werden, viel mehr sind unverzüglich Therapiemaßnahmen einzuleiten.<sup>56</sup> Wenn der Patient überlebt, kann jedoch anhand des Troponinspiegels eine Einschätzung des Risikoprofils vorgenommen werden. Dafür wird eine zweite Messung nach einigen Stunden empfohlen.<sup>55</sup>

Als ergänzendes bildgebendes Verfahren sollte bei allen Patienten mit Verdacht auf ein akutes Koronarsyndrom eine Echokardiografie durchgeführt werden. Ventrikuläre Dysfunktionen und lokale muskuläre Kinesien der Herzwand sowie akute Infarktkomplikationen wie z.B. eine Mitralklappeninsuffizienz oder eine Hämorrhagie in den Herzbeutel lassen sich so nachweisen. Als weitere Untersuchungsmethode hat sich die kardiale Magnetresonanztomografie etabliert.<sup>55</sup> Störungen der Klappenfunktion oder das Ausmaß eines Ventrikelseptumdefekts können auch indirekt mit der Farbdopplerechografie beurteilt werden.<sup>58</sup>



In zahlreichen Fällen verläuft die akute Symptomatik jedoch so rasant, dass eine vitale Diagnostik und Therapie nicht mehr möglich ist. In diesen Fällen tritt der Tod in wenigen Minuten oder in so kurzer Zeit ein, dass durch den Notarzt nur noch der Tod festgestellt werden kann. Dabei bleibt offen, ob es sich um einen plötzlichen Tod aus kardialer oder aus anderer Ursache (z.B. Hirnblutung) gehandelt hat. In manchen Situationen ist eine Reanimation möglich. Diese hängt davon ab, wie rasch ein Notarzt zur Stelle sein kann oder unter welchen örtlichen Bedingungen den Betroffenen die kardiale Ischämie ereilt: Im günstigsten Fall zum Beispiel in der Rettungsstelle oder direkt vor dem Herzkatheterlabor, im ungünstigsten Fall in einer dünn besiedelten Gegend ohne schnell verfügbare Notfallmedizin. In diesen Todesfällen kann nur eine Obduktion Aufschluss über die tatsächliche Todesursache geben.

### 3.6 Autopsiediagnostik

Der postmortale Nachweis einer ischämischen Myokardschädigung bzw. von frischen Myokardnekrosen stellt nach wie vor eine Herausforderung in der pathologisch-anatomischen und rechtsmedizinischen Diagnostik dar, wenn der Tod innerhalb kürzester Zeit nach dem Auftreten des auslösenden Ereignisses eingetreten ist. In der rechtsmedizinischen Übersichtsarbeit von *Bajanowski*<sup>25</sup> werden die Kriterien für die postmortale Diagnose der koronaren Herzkrankheit und des plötzlichen Koronartodes nach *Baroldi* und *Finesch*<sup>59</sup> erläutert:

1. Eine Koronarsklerose beliebiger Intensität, mit oder ohne Stenosen, jedoch ohne Plaquekomplikationen und ohne pathologischen Veränderungen des Myokards erlaubt die Diagnose einer KHK oder eines plötzlichen Herztodes nicht.
2. Einfache koronare Plaques in Kombination mit ausgedehnter Myokardfibrose, jedoch ohne akute Myolysen und klinische Symptome rechtfertigen die Diagnose einer chronischen, aber inaktiven KHK. Eine Ursache des plötzlichen Herztodes ist diese Form nicht.
3. Der Nachweis von koronaren Plaques und Kontraktionsbandnekrosen unterschiedlichen Alters in mehr als  $9 \pm 6$  Herden und  $102 \pm 143$  nekrotischen Myozyten pro  $100 \text{ mm}^2$  sprechen für einen akuten Koronartod.

4. Komplizierte Plaques bei gesundem Myokard oder in Kombination mit Myokardfibrose sind vereinbar mit einer KHK oder einem wahrscheinlichen plötzlichen Herztod.
5. Intimablutungen allein oder in Kombination mit einem wandständigen (gegebenenfalls obliterierenden) Thrombus in einer Arterie mit oder ohne Fibrose im abhängigen Myokard machen einen sehr frischen akuten Myokardinfarkt (<1 h) wahrscheinlich. In Kombination mit Kontraktionsbandnekrosen können der akute Myokardinfarkt und der plötzliche Herztod als gesichert betrachtet werden.
6. Der Nachweis einer frischen demarkierten Infarktzone mit oder ohne ausgeprägte koronare Plaques rechtfertigt die Diagnose plötzlicher Tod bei Myokardinfarkt.

Tatsächlich bleiben die pathologischen Befunde in der Praxis oft hinter den Erwartungen zurück. Beim plötzlichen Herztod ist das relativ häufig der Fall, weil die Überlebenszeit zu kurz für die Manifestation einer Myokardnekrose ist. Geht man von der Definition der WHO für den plötzlichen Herztod aus, nach der die Überlebenszeit max. 1 h betragen soll,<sup>12</sup> können konventionell-histologisch am HE-Schnitt keine gesicherten Befunde erhoben werden, da diese sich erst 4-6 h nach einem akuten Ereignis nachweisen lassen (vgl. Tab. 2). Zum sicheren Nachweis disseminierter Nekrosen und vitaler Demarkationszeichen müssen daher Spezialfärbungen und immunhistochemische Untersuchungen angewendet werden.

Zeit	Mikroskopische Befunde
ab 15 min	zunehmender Abstand der Querstreifung in der Infarktzone
bis 30 min	Schwellung der Mitochondrien und Auflösung der Cristae
30-60 min	Ödem der Myozyten, Verlust an Glykogen, Kontraktionsbandnekrosen, verminderte Anfärbarkeit von Myoglobin, erster Fibrinogen-Nachweis
2-3 h	erste hyalinisierte Myozyten in der Peripherie der Infarktzone, dunkelrote ischämische Myozyten ( <i>Lie</i> -Färbung)
3-4 h	erste agglutinierte Sarkolemmschläuche, diskrete fettige Degeneration der Myozyten, möglicher Beginn einer hämorrhagischen Demarkation
4-5 h	Immunhistochemie: Nachweis von Fibronectin, C5b-9, Fibrinogen, Depletion von Desmin und Myoglobin
4-7 h	Nekrose in der Infarktzone, erste periphere Leukozytenreaktion, Eosinophilie der Myozyten, Schrumpfen der Myozyten, Verlust der Kernfärbarkeit
9 h	deutliche Nekrose der Infarktzone, starke Leukozytenreaktion auch in der Infarktzone, Kernfärbarkeit nicht mehr möglich
18-24 h	Ausgedehnte Nekrosezone, erhebliche Leukozyteninfiltration

Tab. 2 Zeitlicher Verlauf histologischer Veränderungen in der Infarktzone innerhalb der ersten 24 h (nach *Bajanowsk*<sup>25</sup>)

In der Vergangenheit hat es nicht an Bemühungen gefehlt, neue Methoden zu entwickeln, um eine eindeutige Darstellung frischer Herzmuskelzellschädigungen zu ermöglichen. Probleme bestehen insbesondere in der Beeinträchtigung der Nachweisbarkeit von vitalen Zelluntergängen durch die postmortale Autolyse und die wechselnde Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Einen kritischen Report über die modernen Methoden bietet die Publikation von *Vargas et al.*<sup>60</sup>

### 3.6.1 Makroskopie

#### Triphenyltetrazoliumchlorid-Test

*Lie et al.*<sup>61</sup> beschrieben 1975 in ihrer Untersuchung zu experimentell erzeugten Myokardinfarkten bei Hunden eine modifizierte Form der ursprünglich auf *Sandritter* und *Jestadt*<sup>62, 63</sup> zurückgehenden Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)-Reaktion zur makroskopischen Verifizierung frischer Infarkte. Dabei wird das entnommene Herzgewebe über beide Ventrikel hinweg in 0,5-1 cm breite Streifen geschnitten und 15-40 min in 1%-iger Färbelösung inkubiert.<sup>64</sup> Eine Fixierung erfolgt erst im Anschluss an die

Färbung. Ischämisches Myokard soll gräulich-gelblich erscheinen, im Gegensatz zu gesundem Herzmuskelgewebe, welches deutlich rot gefärbt wird. Narbengewebe stellt sich weißlich dar. Die Reaktion beruht auf dem Verlust der Aktivität unspezifischer Dehydrogenasen in ischämisch geschädigten Myozyten, an die der Farbstoff deshalb nicht mehr binden kann.

Bei der makroskopischen Untersuchung des Herzens stellt sich ein akuter Myokardinfarkt erst nach ca. 24 h dar. *Lie et al.*<sup>61</sup> konnten zeigen, dass mit dem TTC-Test erste Farbreaktionen bei 3-4 h alten Myokardinfarkten sichtbar wurden, bevor histologische Veränderungen zu erkennen waren. Die Ergebnisse wurden von *Fishbein et al.*<sup>65</sup> und *Kloner et al.*<sup>66</sup> sowie in der bereits erwähnten Untersuchung von *Siegel* und *Fishbein*<sup>67</sup> bestätigt. Dabei handelt es sich ausschließlich um tierexperimentelle Studien unter Ausschluss autolytischer Prozesse, die die Enzymaktivität beeinflussen. Die Ergebnisse können daher nicht direkt auf humane Autopsiestudien übertragen werden. *Adegboyega et al.*<sup>68</sup> untersuchten 1997 den TTC-Test auf seine Sensitivität und Spezifität bei der Anwendung am menschlichen Herz. Bei einer Fallzahl von n=638 betrug die Sensitivität 77,4%, die Spezifität 92,6% und die diagnostische Effektivität 88%. Bei 174 der 638 Herzen wurde mit dem TTC-Test ein akuter Infarkt nachgewiesen, von denen nur 140 Fälle histologische Veränderungen zeigten. Bei den 464 mit TTC negativ getesteten Fällen konnte jedoch bei 41 Fällen ein histologischer Nachweis für einen akuten Myokardinfarkt erbracht werden. Die Autoren stuften die Methode dennoch als verlässlich ein.<sup>68</sup>

### Nitroblue-Tetrazolium-Test

In gleicher Weise wie der TTC-Test funktioniert auch die Färbung mit Nitroblue-Tetrazolium (NBT), nur dass hierbei das Gewebe mit 10%-iger Lösung blau gefärbt wird. Beide Methoden wurden 2012 von *Kundal et al.*<sup>69</sup> aufgearbeitet. Der NBT-Test wurde von *Nachlas* und *Shnitka*<sup>70</sup> bereits 1963 beschrieben und in einigen Studien angewendet.<sup>71-74</sup> Während *Ramkissoo*<sup>71</sup> nur bei 8 h alten Infarkten eine positive Reaktion feststellen konnte, schildern *McVie*<sup>72</sup> sowie *Derias* und *Adams*<sup>74</sup> positive Ergebnisse bei Fällen mit vermuteten Infarkten unter 6 h. In einer tierexperimentellen Untersuchung konnte keine Beeinträchtigung der Färbung durch Autolyse festgestellt werden.<sup>75</sup>

Die Vor- und Nachteile der Anwendung von Tetrazoliumsalzen (TTC, NBT) werden in der Übersichtsarbeit von *Vargas et al.*<sup>60</sup> umfassend beleuchtet. Kontamination der

Färbelösung durch Blut, zu langer Kontakt des Gewebes mit der Luft durch Verzögerungen während der Entnahme und Vorbereitung, die Fixierung in Formalin und Autolyse beeinträchtigen die Ergebnisse am menschlichen Herzgewebe. Mikroinfarkte oder disseminierte Nekrosen können durch diese makroskopische Methode nicht dargestellt werden. Die Färbung mit Tetrazoliumsalzen wird dennoch als sehr nützlich zur Hervorhebung von Myokardnekrosen erachtet.<sup>60</sup>

### 3.6.2 Histologie

#### Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung

Die HE-Färbung gilt auch in der postmortalen Diagnostik des plötzlichen Herztodes als gängige Routinemethode, wenngleich der morphologische Nachweis einer perakuten ischämischen Herzmuskelzellschädigung begrenzt ist. Mit der klassischen HE-Färbung ist eine Darstellung von Herzmuskelzelluntergängen frühestens nach 4-6 h Überlebenszeit möglich. Bei kürzeren Intervallen können oft nur vage Veränderungen wie „wavy fibers“ oder Kontraktionsbänder Hinweise geben,<sup>11, 76</sup> die jedoch schwer von autolytischen Zellveränderungen abgrenzbar sind. Gerade die beim plötzlichen Herztod auftretenden disseminierten Einzelzell- und Gruppennekrosen sind ohne leukozytäre Demarkation kaum zu erkennen.

*Bouchardy* und *Majno*<sup>11</sup> beschreiben ausführlich das Phänomen der „wavy fibers“ und andere Frühveränderungen, die sie bei plötzlichen Herztodesfällen und 2-3 h alten Infarkten beobachten konnten. Verglichen mit normalem Myokard verlaufen die Fasern abwechselnd gewellt und gestreckt, der Übergang ist scharf und klar abgrenzbar. Die Zellkerne sind zu Beginn verlängert, später kommt es zu Pyknose und zum Verschwinden der Zellkerne. Die Querstreifung kann, wenn überhaupt, nur mit größerem Abstand im Vergleich zu gerade verlaufenden Herzmuskelfasern beobachtet werden. Das Zytoplasma erscheint in den Herzmuskelfasern, die als früheste Veränderungen interpretiert werden, noch normal, beginnt aber bald danach eine erhöhte Eosinophilie aufzuweisen. In der Umgebung werden häufig Kontraktionsbänder beobachtet, aber nur bei maximal 6 h alten Infarkten und immer nur angrenzend an „wavy fibers“. Ihre Entstehung wird mit fokalen pathologischen Kontraktionen erklärt, wodurch benachbarte Sarkomere verschmelzen. Eine Fragmentierung des Myokards und dilatierte Venolen werden ebenfalls zu den frühen ischämischen Myokardveränderungen gezählt und in

einen direkten Zusammenhang mit „wavy fibers“ und frühen ischämischen Läsionen gebracht. Die Autoren weisen jedoch darauf hin, dass unsachgemäßer Umgang mit den Gewebeproben und schlechte Schnitttechnik zu Artefakten führen kann, die eine eindeutige Zuordnung unmöglich machen können. Außerdem wurden in der Untersuchung alle Sektionen möglichst zeitnah innerhalb von 12 Stunden, maximal innerhalb von 24 Stunden durchgeführt.<sup>11</sup> In der Realität ist dies häufig nicht möglich, so dass autolytische Prozesse und die Qualität der Fixierung die Darstellung solcher Frühveränderungen ebenfalls beeinträchtigen können. Das sichere Erkennen früher ischämischer Myokardveränderungen ist auch von der Erfahrung abhängig und kann nicht verallgemeinert werden.

#### Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin (PTAH)-Färbung nach Mallory

Die bereits 1897 entwickelte PTAH-Färbung für Skelettmuskulatur<sup>77</sup> wurde auch in einigen Studien zur Darstellung von frischen Herzmuskelschäden verwendet.<sup>78-83</sup> PTAH färbt spezifisch die mitochondriale Matrix, das endoplasmatische Retikulum und die Z-Streifen an,<sup>84</sup> trotzdem bleibt der genaue Färbemechanismus unklar.<sup>85</sup> In der experimentellen Untersuchung von *Armiger et al.*<sup>78</sup> konnten Kontraktionsbandnekrosen und frische Myokardinfarkte (2 h oder älter) an Hunden nachgewiesen werden. *Leadbeatter et al.*<sup>80, 81</sup> fanden immunhistochemische Methoden sensitiver als die PTAH-Färbung. Im Vergleich mit der Luxol-Fast-Blue-Färbung fand *Ståh*<sup>83</sup> die Darstellung von Kontraktionsbandnekrosen mit PTAH besser, die Abgrenzung zum umliegenden Gewebe in der Übersichtsvergrößerung hingegen nicht ausreichend.<sup>83, 86</sup>

#### Trichrom-Färbungen

Die Trichrom-Färbung ist ein Überbegriff für verschiedene Färbemethoden mit jeweils 3 unterschiedlichen Farbstoffen und weit verbreitet zur Veranschaulichung von Kollagen, Muskelgewebe und Fibrin. Dazu zählen beispielsweise die *Van-Gieson*-Färbung (1889), Trichrom-Färbungen nach *Mallory* (1900) und *Masson* (1929), die *Goldner*-Färbung (1938) und die *Gomori*-Färbung (1950). Insbesondere die *Masson*-Trichrom-Färbung wurde in einigen wenigen Untersuchungen angewendet, außerdem weitere Modifikationen.<sup>78, 87-91</sup> Laut *Armiger et al.*<sup>78</sup> kann die *Masson*-Trichrom-Färbung nicht zweifelsfrei zum Erkennen von Frühveränderungen beitragen, erste leichte

Hervorhebungen gab es bei 2-3 h alten Infarkten, was den Ergebnissen von *Fujiwara et al.*<sup>88</sup> entspricht.

### Fuchsin-Färbung nach Selye

1958 stellte *Selye*<sup>92</sup> erstmals anhand von Tierexperimenten eine Färbung mit saurem Fuchsin zur frühen Diagnose frischer Herzmuskelzellnekrosen vor. Als erstes Anzeichen konnte eine fleckig verteilte Färbung entlang der Z-Streifen und mit steigender Schädigung eine weitere Anfärbung des Sarkoplasmas bis hin zur vollständigen tiefroten Färbung der gesamten Herzmuskelfaser beobachtet werden. *Selye* prägte dafür den Begriff „Fuchsinophilie“. Als Kontrast wurde ungeschädigtes Gewebe mit Methylgrün gefärbt.

Die Färbung fand nur in wenigen Studien Anwendung<sup>91, 93-96</sup> und wurde von *Lie*<sup>95</sup> und *Connor*<sup>96</sup> als hilfreich erachtet. Die WHO empfahl jedoch die Technik aufgrund einer zu großen Unbeständigkeit und Variabilität nicht<sup>97</sup>. Dies wurde von *Zugibe jr.* und *Zugibe*<sup>98</sup> bestätigt, die in 78% der untersuchten Fälle falsch positive Ergebnisse erhielten.

### Hämatoxylin-basisches Fuchsin-Pikrinsäure (HBFP)-Färbung nach Lie

1971 veröffentlichten *Lie et al.*<sup>99</sup> eine neu entwickelte Fuchsin-Färbung zur Darstellung einer frühen ischämischen Myokardschädigung für die Anwendung an Formalin-fixiertem und in Paraffin eingebetteten Gewebe. Nach *Lie* wird bei dieser Methode weder gesundes noch nekrotisches Myokard angefärbt, welches auch im HE-Schnitt eindeutig zu erkennen wäre. Dies würde auf folgendem Mechanismus beruhen: Durch die Nachbehandlung mit Pikrinsäure verliert normales Herzmuskelgewebe seine Affinität zum basischen Fuchsin. Die ischämischen Herzmuskelzellen erscheinen durch die Fuchsinfärbung, im Gegensatz zum hellbraunen normalen Myokard, purpurrot. Erythrozyten, Fibrin, Plasmaproteine, elastische Fasern und Kollagen werden ebenfalls rot angefärbt. *Lie*<sup>99</sup> verwendet dafür den Begriff „Fuchsinorrhagie“ in Abgrenzung zum Terminus „Fuchsinophilie“ bei der Färbung mit saurem Fuchsin nach *Selye*. Die Anwendbarkeit und Reproduzierbarkeit wurde anhand von Tierexperimenten mit kontrollierten postmortalen Intervallen von 30 min bis 48 h sowie an menschlichen Autopsiefällen mit der vermuteten Todesursache „sehr früher akuter Myokardinfarkt“ untersucht. Erste positive Reaktionen konnten bei den experimentell durch Ligatur einer

Koronararterie herbeigeführten Herzinfarkten an Hunden bereits nach 30 Minuten beobachtet werden. Nach 48 h war keine Färbung mehr zu erkennen, da das Myokard im Infarktgebiet dann bereits vollkommen nekrotisch war. Bei den Autopsiefällen mit postmortalen Intervallen von weniger als 6 h wurde ein positiver Befund festgestellt. Nach *Lie*<sup>99</sup> lassen sich mit der Färbung somit irreversible ischämische Herzmuskelzellschäden früher nachweisen als dies mit anderen histologischen Methoden möglich ist. Des Weiteren konnten mit der *Lie*-Färbung Schädigungen einzelner Herzmuskelfasern in der Umgebung der Infarktzone nachgewiesen sowie ein Zusammenhang von Myokardschädigungen bei zum Tode führenden akuten cerebralen Läsionen bestätigt werden.<sup>100</sup> Die Methode wird in der Literatur kontrovers diskutiert, einige Studien konnten die Ergebnisse bestätigen,<sup>101-106</sup> andere erzielten keine verlässlichen und reproduzierbaren Resultate.<sup>107-112</sup> Insbesondere der Einsatz außerhalb kontrollierter experimenteller Bedingungen wurde angezweifelt. *Knight*<sup>110</sup> und *Leadbeater et al.*<sup>80</sup> weisen darauf hin, dass die *Lie*-Färbung sehr techniksensitiv ist und falsch positive und falsch negative Ergebnisse von der richtigen individuellen Abschätzung der abschließenden Differenzierung durch den Untersucher abhängen. *Emmanuel* und *Tan*<sup>111</sup> variierten die Dauer der Differenzierung mit Pikrinsäure an frisch geschnittenen Präparaten zwischen 5 und 30 Sekunden und fanden heraus, dass die optimale Dauer bei 15 Sekunden zu liegen scheint, während bei bereits gelagerten Proben eine längere Einwirkzeit notwendig war. Sie konnten in ihrer Untersuchung außerdem die Beeinflussung der Ergebnisse durch Lagerung, Raumtemperatur und Paraffineinbettung nachweisen, Faktoren, die zu massiv erhöhten falsch positiven Ergebnissen führten. Die von *Lie et al.*<sup>99</sup> propagierte einfache Handhabung wird in der Literatur nicht bestätigt, vielmehr bedarf es viel Übung und Erfahrung im Umgang mit der *Lie*-Färbung, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten.<sup>80</sup> *Armiger et al.*<sup>78</sup> beobachteten falsch positive Ergebnisse bei Kontamination des Acetons durch Feuchtigkeit. Spätere Untersuchungen führten zu konträren Schlussfolgerungen. So lehnten *Arnold et al.*<sup>112</sup> die Methode aufgrund zu großer Variation als unzuverlässig ab. Zuvor hatten *Nayar* und *Olsen*<sup>101</sup> die Färbung in einer retrospektiven Untersuchung von 60 Sektionsfällen über 8 Jahre mit der vermuteten, konventionell-histologisch jedoch nicht bestätigten Todesursache „akuter Myokardinfarkt“ erprobt. Die Patienten verstarben zwischen 30 min und 5 h nach Beginn der Symptomatik. Zur Untersuchung gelangte archiviertes Formalin-fixiertes und in Paraffin eingebettetes Gewebe. Die Autoren beschrieben keinerlei Probleme bei der Anwendung an den teilweise langfristig archivierten Gewebeproben und empfahlen die



*Lie*-Färbung zur Diagnostik früher ischämischer Läsionen. In der Literaturübersicht von *Vargas et al.*<sup>60</sup> wurde die *Lie*-Färbung ebenfalls als unzuverlässig eingeschätzt.

#### Modifizierte Luxol-Fast-Blue (LFB)-Färbung nach Arnold

*Arnold et al.* modifizierten 1985 die neuropathologische Luxol-Fast-Blue-Färbung nach *Klüver* und *Barrera*,<sup>113</sup> mit der speziell das Phänomen der „myofibrillären Degeneration“ als frühe ischämische Schädigung des Myokards demonstriert werden kann.<sup>112</sup> Diese Veränderung findet man häufig in der unmittelbaren Umgebung eines frischen Nekroseherdes als wechselnd breiten Randsaum zum gesunden Myokard, aber auch isoliert herdförmig und disseminiert ohne Anzeichen eines Infarkts, z.B. hypoxiebedingt oder durch ein direktes Trauma verursacht.<sup>112</sup> Die „myofibrilläre Degeneration“ ist durch eine Segmentierung der Fibrillen und eine dadurch bedingte irreguläre Querstreifung gekennzeichnet. Der Begriff geht auf *Reichenbach* und *Benditt*<sup>76</sup> zurück, wurde von *Baroldi* auch als „koagulative Myozytolyse“<sup>114</sup> und von *Bulkley* als „Kontraktionsbandnekrose“<sup>115</sup> bezeichnet. *Arnold* unterschied zwei Formen der MFD: Zum einen die myofibrilläre Degeneration vom Querbandtyp, die durch eine intensive Blaufärbung der Kontraktionsbänder gekennzeichnet ist, und zum anderen die diffuse MFD, bei der das gesamte Zytoplasma angefärbt wird. Im HE-Schnitt ist der diffuse Typ nicht zu erkennen, wohingegen sich der erste Typ auch mit der HE-Färbung in Form eosinophiler Kontraktionsbänder darstellt, wenn auch mitunter nicht eindeutig und nur für den geübten Betrachter. Der Vorteil der modifizierten LFB-Färbung besteht nach *Arnold* darin, dass beide Formen der Kontraktionsbandnekrose angefärbt und durch den stärkeren Kontrast klar hervorgehoben werden. Die infarkttypische Koagulationsnekrose wird hingegen nur schwach angefärbt, deren Nachweis ist nicht das Ziel<sup>112</sup>. *Müller* und *Firsching*<sup>116</sup> erklärten die gute Anfärbbarkeit der Kontraktionsbänder mit der Akkumulation von Magnesium. *Arnold* konnte in Tierexperimenten die Ausbildung von myofibrillärer Degeneration innerhalb weniger Minuten nach Ischämie beobachten.<sup>112</sup> Eine genaue Angabe der Zeitspanne zwischen Beginn der Ischämie und dem Nachweis ihrer morphologischen Manifestation mittels modifizierter LFB-Färbung am menschlichen Gewebe ist in der Regel nicht möglich, weil der Eintritt der Zirkulationsstörung nicht bekannt ist.

In der genannten Studie von *Arnold* wurde das Myokard von 137 Patienten untersucht, davon 99 Autopsiefälle und 38 Biopate, die während Operationen am offenen Herzen

entnommen wurden. Bei 59 Fällen wurde eine disseminierte myofibrilläre Degeneration vermutet (Gruppe I), die Todesursachen umfassten folgende Diagnosen: kardiovaskulärer Schock, Low-Cardiac-Output-Syndrom nach Herz-Operation, plötzlicher Hirndruckanstieg und tumorbedingte Kachexie. Gruppe II wurden bewiesene akute Myokardinfarkte zugeordnet, Gruppe III zufällig ausgewählte Sektionsfälle. Die Gruppe IV diente als Kontrollgruppe, sie umfasste Fälle eines plötzlichen Todes anderer Ursache sowie Kontrollbiopsien. Die modifizierte LFB-Färbung wurde bei allen Gruppen mit der konventionellen HE-Färbung sowie bei 5 ausgewählten Fällen der Gruppe I zusätzlich mit weiteren Färbungen verglichen, unter anderem mit der HBFP-Färbung nach *Lie*,<sup>99</sup> die aufgrund der Ergebnisse als nicht zuverlässig eingestuft wurde. Anhand von Serienschritten wurde die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der modifizierten LFB-Färbung überprüft. Nach *Arnold* erwies sich die Färbung mit Luxol-Fast-Blue in dieser Studie allen anderen Methoden überlegen.<sup>112</sup> Eine Arbeitsgruppe um *Oehmichen* konnte die Ergebnisse bestätigen,<sup>86, 117, 118</sup> eine Untersuchung von *Ståhl* hingegen zeigte keine Vorteile der modifizierten LFB-Färbung bei der routinemäßigen Anwendung gegenüber der HE-Färbung.<sup>83</sup>

### 3.6.3 Histochemie

#### Perjodsäure-Schiff-Reaktion

Die PAS-Reaktion dient der Hervorhebung kohlenhydrathaltiger Komponenten, wie z.B. Muzin und Glykogen. Die Glykolgruppen der Polysaccharide werden durch die Perjodsäure zu Aldehydgruppen oxidiert und reagieren dann mit der Fuchsin-schwefligen Säure im Schiff'schen Reagens zu farbigen Komplexen. In Studien zu experimentellen Myokardinfarkten wurde versucht, über eine Darstellung des ischämiebedingten Zerfalls von Glykogen als Negativprobe frühe Myokardschäden zu erkennen.<sup>78, 119, 120</sup> Ein kompletter Verlust der Färbung konnte 40-60 min nach Koronarverschluss bei Hunden<sup>119</sup> und 1,5 h nach Koronarverschluss bei Ratten beobachtet werden.<sup>120</sup> *Morales* und *Fine*<sup>91</sup> wendeten unter anderem die PAS-Reaktion an 11 menschlichen Herzen an und stellten fest, dass eine Auswertung aufgrund der spärlichen Menge und der unregelmäßigen Verteilung des Glykogens schwierig ist – ein Fakt, dem *Vargas et al.* zustimmten und die starke Beeinflussung durch Autolyse betonten.<sup>60</sup> In einer tierexperimentellen Studie konnten *Armiger et al.*<sup>78</sup> ebenfalls 40-60 min nach Koronarverschluss durch

Glykogenverlust gekennzeichnetes ischämisches Myokard nachweisen, dieser Effekt trat jedoch auch bei Autolyse auf.

### 3.6.4 Immunhistochemie

#### Das Komplementsystem unter besonderer Berücksichtigung von C9

Die Aktivierung und Beteiligung des immunologischen Komplementsystems bei einem akuten Myokardinfarkt ist nach derzeitigem Stand der Wissenschaft erwiesen. Es gehört zur unspezifischen Immunantwort und besteht aus ca. 40 Plasmaproteinen sowie dazugehörigen Rezeptoren und regulierenden Proteinen. Die Aufgabe des Komplementsystems ist die Verstärkung der Wirkung von Antikörpern, die Abwehr von Mikroorganismen durch Opsonierung und zellzerstörende Eigenschaften, die eine Regulierung erfordern. Die Aktivierung des Komplementsystems kann auf drei Wegen erfolgen: Dem klassischen Weg, dem alternativen Weg und dem Lektin-Weg (Abb. 2). Die Aktivierung dieses Systems zieht eine Kaskade von enzymatischen und nicht enzymatischen Reaktionen nach sich, die final in der Bildung eines Komplexes aus C5b, C6, C7, C8 und polymerem C9 mündet, dem sog. Membran-Angriffs-Komplex oder C5b-9-Komplementkomplex.<sup>121-123</sup> Dieser lagert sich an die Zellmembran an und führt Bildung transmembraner Kanäle und somit zur Zytolyse.<sup>121</sup> Eine Verwechslung mit autolytischen Artefakten kann ausgeschlossen werden.<sup>124</sup>

Studien konnten zeigen, dass bei ischämischer Myokardschädigung das Komplementsystem über den klassischen Weg aktiviert wird.<sup>122, 123</sup> Die geschädigten Myokardzellen exprimieren fremde Antigene und lösen so die Komplementkaskade aus, jedoch ist der genaue Mechanismus noch nicht bekannt. Bestandteile der mitochondrialen Membran sowie das C-reaktive Protein wurden in der Literatur als Auslöser diskutiert.<sup>125-127</sup>

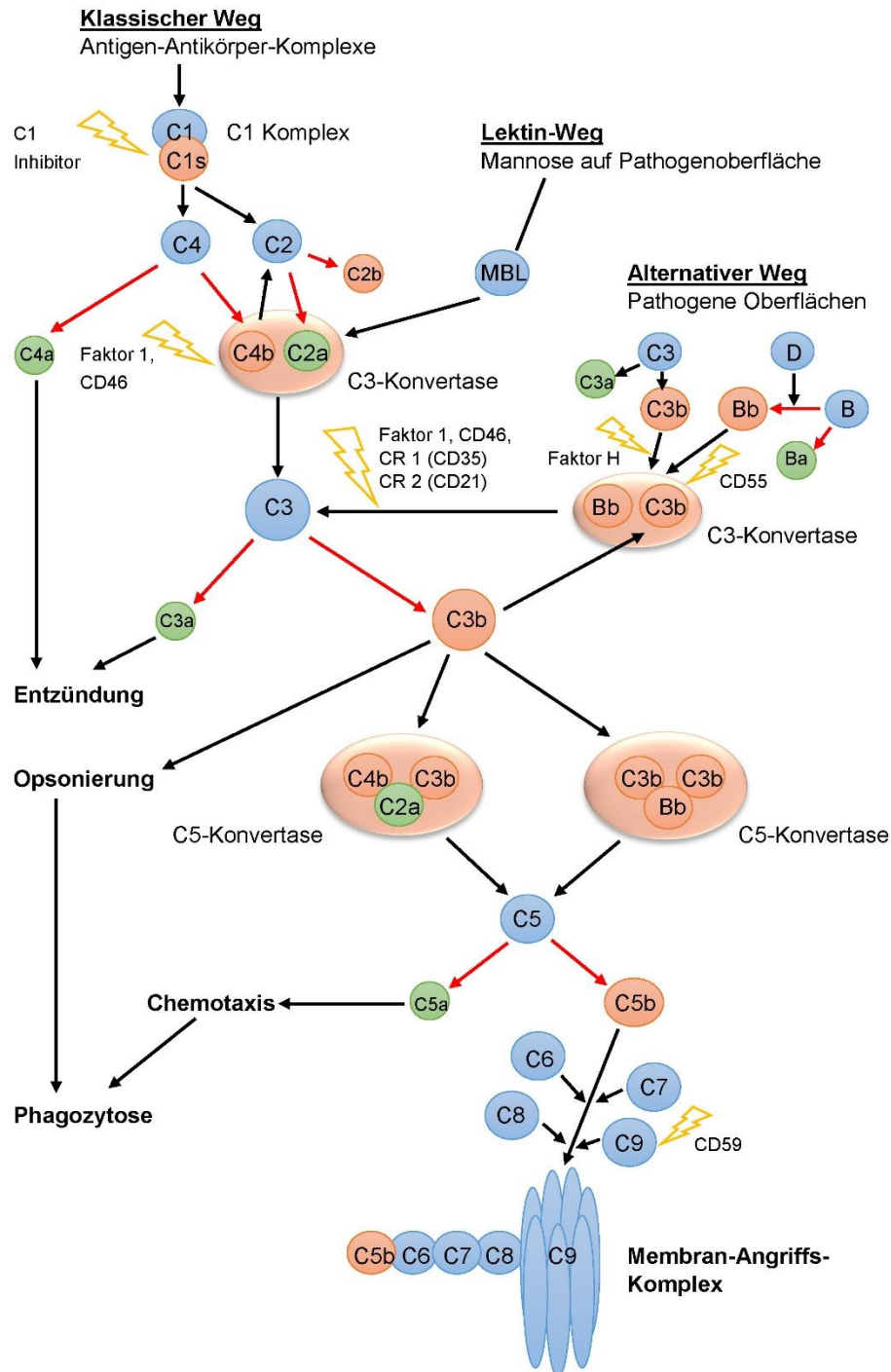


Abb. 2 Aktivierung des Komplement-Systems und seiner Inhibitoren (modifiziert nach Pries und Zakrzewicz<sup>128</sup>)

Es wurden aber auch Hinweise auf eine Aktivierung über den alternativen Weg gefunden.<sup>129, 130</sup> Dabei zerfällt der Faktor C3 durch spontane Hydrolyse, was ständig eine Aktivierung der Kaskade auslösen würde, wenn nicht inhibitorische Proteine regulierend einwirkten. Durch die Komplementaktivierung werden die ischämisch vorgeschädigten Herzmuskelzellen zusätzlich geschädigt und das Ausmaß der Zelluntergänge

vergrößert.<sup>124</sup> Nach einer aktuellen Analyse von *Ilczuk et al.* fehlen weitere detaillierte Untersuchungen zur Rolle des Komplementsystems in der Pathogenese des akuten Myokardinfarkts.<sup>131</sup>

Zahlreiche Studien<sup>124, 132-143</sup> haben seit der Entwicklung spezifischer Antikörper in den 80er Jahren<sup>144</sup> gezeigt, dass der C5b-9-Komplement-Komplex ein wirkungsvoller Biomarker ist, mit dem auch Einzelzellnekrosen sicher dargestellt werden können. 1986 berichteten *Schäfer et al.*<sup>124</sup> vom erfolgreichen Nachweis an Kryostatschnitten mittels Streptavidin-Biotin-Peroxidase-Methode.

Eine Weiterentwicklung zur Anwendung am Paraffinschnitt erfolgte 1990 von *Thomsen et al.*<sup>132</sup> mit Hilfe der Alkalische Phosphatase-Anti-Alkalische Phosphatase-Methode (APAAP-Methode). Typischerweise kommt roter Farbstoff zur Anwendung, geschädigte Herzmuskelzellen werden intensiv rot markiert. Die Studie von *Thomsen* zeigte eine erfolgreiche Färbung sowohl frischer Infarktareale als auch disseminierter Nekrosen bei plötzlichen Herztodesfällen autolyseunabhängig bis zu 7 Tage nach dem Tod.<sup>132</sup> In einer Folgestudie konnten auch nach 11 Tagen experimentell forciertes Autolyse Infarktareale sicher dargestellt werden.<sup>133</sup> *Ortmann et al.* erzielten an exhumierten Leichen mit vermuteten todesursächlichen Herzmuskelzellnekrosen noch nach über 400 Tagen noch positive Reaktionen.<sup>145</sup>

Das Komplementsystem wird mit einer Verzögerung von 20-30 min nach Beginn eines ischämischen Ereignisses aktiviert.<sup>146, 147</sup> Nach *Thomsen* und *Held* kann der Membran-Angriff-Komplex nach 40 min immunhistochemisch im Myokard nachgewiesen werden.<sup>134</sup> Bei anderen hypoxischen Todesursachen, wie beispielsweise Ertrinken, Erhängen, Ersticken oder bei globaler kardialer Dekompensation nach Polytrauma erfolgt der Tod rasch innerhalb weniger Minuten und die Überlebenszeit ist zu kurz für eine Aktivierung des Komplementsystems. Daher kann die Färbung als spezifisch für ischämische Herzmuskelzellnekrosen angesehen werden.<sup>134</sup>

Antikörper gegen den Komplement-Faktor-C9 (nachfolgend als C9c bezeichnet) existieren in polyklonaler und monoklonaler Form. In den älteren Untersuchungen kamen polyklonale Antikörper zum Einsatz.<sup>124, 132-134, 139, 148</sup> *Edston* und *Kawa*<sup>135</sup> verglichen beide Antikörper-Formen sowie 3 verschiedene immunhistochemische Methoden bei 81 Autopsiefällen und empfahlen die Verwendung von polyklonalen Antikörpern in Verbindung mit der Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex-Methode (ABC-Methode) oder der Alkalische Phosphatase-Methode (indirekte Methode). Die von *Thomsen et al.* verwendete APAAP-Methode ergab keine zufriedenstellenden Ergebnisse. In neueren

Studien wurden überwiegend monoklonale Antikörper mit der ABC-Methode angewendet.<sup>140-142</sup>

Im Zuge der Automatisierung der Immunhistochemie wurden neuartige polymere biotinfreie Antikörperkonjugationssysteme entwickelt, die schneller und sensitiver als die ABC-Methode sind und inzwischen standardmäßig in den immunhistochemischen Färbeautomaten angewendet werden. Durch den Verzicht auf die Verwendung von Streptavidin und Biotin kann eine unspezifische Färbung durch endogenes Biotin vermieden werden.

### Weitere immunhistochemische Marker

Einige Autoren vertreten die Meinung, dass keine immunhistochemische Färbung allein zur Diagnostik frischer Herzmuskelzellnekrosen geeignet ist, sondern dass vielmehr ein Set verschiedener Marker angewendet werden muss.<sup>140-142, 148, 149</sup> *Leadbeatter et al.*<sup>80</sup> untersuchten Anfang der 90er Jahre 7 verschiedene Antikörper gegen intra- und extrazelluläre Moleküle (Myoglobin, Myosin, Caeruloplasmin, C-reaktives Protein, Präalbumin, Komplementfaktor C3b, Alpha-1 Antitrypsin), von denen bekannt ist, dass sie im ischämisch geschädigten Myokard präsent sind bzw. dezimiert werden. Die besten Ergebnisse wurden mit Myoglobin erzielt, die anderen Marker ergaben ebenfalls gute Resultate, mit Ausnahme von C3b und Alpha-1 Antitrypsin. In einer zweiten Untersuchung wurde einschränkend darauf hingewiesen, dass die Unterscheidung zwischen agonalen Veränderungen und rein ischämisch bedingten Schäden nicht möglich ist.<sup>81</sup> *Brinkmann et al.*<sup>148</sup> konnten zeigen, dass mit der HE-Färbung in Kombination mit immunhistochemischen Färbungen (Myoglobin, Fibrinogen, C5b-9) exaktere Diagnosen möglich sind. *Sepulchre* und *Fechner*<sup>150</sup> verglichen Desmin, Myoglobin, Fibrinogen und C5b-9 mit der HE- und modifizierte LFB-Färbung, wobei nur ein grober Überblick über die Ergebnisse gegeben wird und die Schlussfolgerungen unklar bleiben. *Campobasso et al.*<sup>140</sup> nutzten neben C5b-9, Fibronectin und Myoglobin auch kardiales Troponin I und empfahlen die Anwendung mehrerer Marker in der Diagnostik einer frühen ischämischen Myokardschädigung. Speziell Komplement C9c und Troponin I wurden kürzlich von *Jasra et al.*<sup>142</sup> bei 31 Autopsiefällen verglichen. Troponin I wurde bereits 1999 von *Hansen* und *Rossen*<sup>151</sup> als möglicher Nekrose-Marker vorgeschlagen. Troponin wird aus den geschädigten Herzmuskelzellen freigesetzt, nekrotische Bereiche weisen deshalb eine reduzierte Immunreaktivität auf. In der Studie

von *Jasra et al.*<sup>142</sup> konnten bei Infarkten mit einer Manifestationszeit von <6 h sowohl bei Anwendung von Komplement C9c als auch von Troponin I schwache Reaktionen im Vergleich zur HE-Färbung festgestellt werden, die auf eine ischämische Myokardschädigung hindeuten. Tierexperimentelle Untersuchungen von *Fishbein et al.*<sup>152</sup> zeigten, dass der Verlust von kardialen Troponin T und I aus geschädigten Myokardzellen sehr schnell nach ischämischen Ereignissen auftritt und immunhistochemisch dargestellt werden kann, bevor histologische Veränderungen zu erkennen sind. An menschlichen Gewebeproben erzielten *Martinez Diaz et al.*<sup>153</sup> bessere Ergebnisse mit kardialen Troponin C als mit Troponin T. *Jenkins et al.*<sup>141</sup> beobachteten den Verlust der Immunreaktivität von Troponin T auch bei Negativkontrollen und im vitalen Myokard und beurteilten den Marker daher als unspezifisch. Im Gegensatz dazu konnte in der Studie bestätigt werden, dass Antikörper gegen die Komplementfaktoren C4d und C9c spezifisch an nekrotische Myokardzellen binden, wobei mit C4d ähnlich gute Ergebnisse wie mit C9c erreicht wurden. Antikörper gegen C4d kamen in diesem Zusammenhang in keiner weiteren Studie zur Anwendung. C4d ist jedoch ein wichtiger Marker in der Transplantationsmedizin.<sup>154-156</sup> Über den Einsatz von C4d und mögliche zukünftige Anwendungsbereiche gibt die Publikation von *Cohen et al.*<sup>157</sup> von 2012 Auskunft.

*Aljakna et al.* gelangten in einer aktuellen Übersichtsarbeit über eine Vielzahl der in den letzten Jahrzehnten untersuchten diagnostischen Marker für den Nachweis früher ischämischer Herzmuskelzelluntergänge zu der Schlussfolgerung, dass die C9c-Immunhistochemie derzeit die verlässlichsten Ergebnisse liefert.<sup>149</sup>

### 3.6.5 Fluoreszenzmikroskopie

In der Fluoreszenzmikroskopie existieren zwei verschiedene Techniken: Zum einen die Verwendung von speziellen Fluoreszenzfarbstoffen wie z.B. Acridinorange zur Färbung der Paraffinschnitte und zum anderen die Untersuchung der in der Routine üblichen HE-Schnitte unter ultraviolettem Licht, da Eosin ebenfalls ein Fluoreszenzfarbstoff ist.<sup>158</sup> Die Farbstoffe in den Schnitten werden mit Licht einer bestimmten Wellenlänge angeregt und strahlen Licht einer anderen Wellenlänge ab, was durch spezielle Filter am Lichtmikroskop isoliert beobachtet werden kann. Die Färbung mit Fluorchromen ist sowohl bei Kryostatschnitten als auch bei Formalin-fixierten und in Paraffin eingebetteten

Gewebe möglich. Ischämisch geschädigte Bereiche zeigen eine grünliche Fluoreszenz im Gegensatz zum gelblich-bräunlichen Farbton der unveränderten Umgebung. In tierexperimentellen Studien an Ratten und Kaninchen, bei denen eine absolute Ischämie mittels Koronararterienligatur erzeugt wurde, konnten erste Veränderungen in der Fluoreszenz nach 1 h beobachtet werden.<sup>159, 160</sup> Die Darstellung eines Infarkts war nach 3 h sicher möglich.<sup>159</sup> An menschlichem Herzgewebe konnten erste Farbumschläge der Sekundärfluoreszenz nach 2-3 h beobachtet und Zelluntergänge somit früher nachgewiesen werden als mit der HE-Färbung.<sup>161, 162</sup> Diese Ergebnisse wurden später in einer umfangreichen prospektiven Studie von *Sajkiewicz*<sup>163</sup> an 642 Autopsiefällen mit Verdacht auf Myokardinfarkt sowie ebenfalls tierexperimentellen Untersuchungen bestätigt. Mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie konnten in dieser Studie Infarkte und kleinere Manifestationsformen wie disseminierte Myokardnekrosen am menschlichen Gewebe nach 2 h nachgewiesen werden. In den Tierexperimenten waren erste Fluoreszenzveränderungen nach 30-60 min zu sehen. Die Methode erwies sich auch bei moderaten autolytischen Veränderungen als verlässlich.<sup>164</sup> *Sajkiewicz*<sup>163</sup> berichtete von sicheren Infarktnachweisen sowie eindeutiger Darstellung von disseminierten Nekrosen nach bis zu 7-tägiger Autolyse am autoptischen Untersuchungsmaterial. Nachteilig ist die fehlende Möglichkeit, die gefärbten Schnitte dauerhaft zu konservieren.

Anfang der 80er Jahre stellte *Carle*<sup>165</sup> die Beobachtung vor, dass bei Verwendung von ultraviolettem Licht nekrotische Herzmuskelzellen in HE-Schnitten fluoreszierten. Nekrotisches Myokard erschien dabei gelb im Gegensatz zur olivgrün bis braunen Färbung des umgebenden Gewebes. *Carle* bezeichnete das Phänomen als „Autofluoreszenz“. Die Methode wurde von anderen Autoren übernommen, unter anderem zur Untersuchung von Sektionsfällen und Tierexperimenten.<sup>67, 166</sup> *Siegel* und *Fishbein*<sup>67</sup> kamen in einer Untersuchung an Hunden zu dem Ergebnis, dass die Fluoreszenz mit der stärkeren Eosinophilie von nekrotischen Zellen im HE-Schnitt korreliert und damit keinen Vorteil gegenüber der herkömmlichen Lichtmikroskopie bietet. Bereits mit der HE-Färbung eindeutig dargestellte Nekrosen zeigten eine gelbliche Fluoreszenz bei der Untersuchung mit ultraviolettem Licht. Bei frischen Zelluntergängen (3 h alt), die elektronenmikroskopisch nachgewiesen, aber noch nicht im HE-Schnitt erkennbar waren, konnte kein Farbumschlag der Fluoreszenz festgestellt werden.<sup>67</sup> Im Gegensatz dazu hoben *Allwork* und *Bentall*<sup>166</sup> sowie *Badir* und *Knight*<sup>158</sup> die Methode als hilfreich beim Nachweis frischer Myokardnekrosen hervor. *Allwork* und *Bentall* stimmten mit *Siegel* und *Fishbein* überein, dass das Fluoreszenzphänomen mit Eosinophilie in der



HE-Färbung korreliert, jedoch wurde der Vorteil in der Darstellung von disseminierten Nekrosen durch die Fluoreszenz gesehen. *Badir* und *Knight*<sup>158</sup> beobachteten auch Fluoreszenzveränderungen bei Herzmuskelzellen ohne erhöhte Eosinophilie im HE-Schnitt. Die Autoren stellten zudem den Vorteil der Methode heraus, vorhandene HE-Schnitte ohne weiteren Aufwand für die Auswertung unter ultraviolettem Licht verwenden zu können.

Die Fluoreszenzmikroskopie wurde nach den 80er Jahren zugunsten anderer Nachweismethoden verlassen.

### 3.6.6 Elektronenmikroskopie

Die ultrastrukturellen Veränderungen bei ischämischen Myokardverletzungen wurden auch detailliert mit Hilfe der Elektronenmikroskopie untersucht, vorrangig in Tierversuchen<sup>159, 167-169</sup>. Nach 20-30 Minuten konnten bei einer Vielzahl der Myozyten deutliche Schäden beobachtet werden. Als früheste Veränderungen innerhalb weniger Minuten war eine vermehrte Anzahl an Glykogengranula und Vakuolisierung des sarkoplasmatischen Retikulums zu beobachten, sowie einer ödematösen Auseinanderdrängung der Myofilamente, gefolgt von einer Mitochondrienschwellung mit Ausbildung einer dichten amorphen Matrix und Cristolyse. Die irreversible Ruptur von Mitochondrien trat ca. 1 h nach Beginn der Ischämie auf. Im weiteren Verlauf waren eine Chromatinverklumpung des Zellkerns und eine Störung der parallelen Anordnung der kontraktilen Filamente mit Verlust der Querstreifung sowie die Verschmelzung und Verdickung der Z-Streifen zu sehen, nachfolgend kam es zu einer Rissbildung und einem granulärem Zerfall der Myofibrillen.<sup>159, 168</sup>

*Vargas et al.*<sup>60</sup> bewerteten die Methode als nicht geeignet zur Detektion früher Myokardinfarkte, da aufgrund des Zeitintervalls zwischen Tod und Autopsie immer autolytische Veränderungen auftreten. Sowjetische Forscher haben jedoch schon Ende der 70er Jahre an menschlichem Untersuchungsmaterial nachgewiesen, dass eine Abgrenzung vitaler ultrastruktureller Veränderungen von autolytischen Prozessen möglich ist, wenn eine Autopsie innerhalb weniger Stunden (<3 h) nach dem Tode erfolgt.<sup>46, 51</sup> Die Arbeitsgruppe um *Vikhert* und *Shvalev*<sup>46</sup> konnte bei plötzlichen Herztodesfällen im Stadtgebiet von Moskau Obduktionen innerhalb von 2 h nach Eintritt des Todes durchführen und Herzmuskelgewebe elektronenmikroskopisch untersuchen.

Neben einer Mitochondriendestruktion, Auflösung der Muskelzellgrenzen, erhöhten Anzahl von Lysosomen und vermehrten Lipidablagerungen waren ein mosaikartiges Muster ultrastruktureller Veränderungen im Kapillarsystem und der vegetativen Nervenfasern auffällig. Weiterhin wurden Kapillarverschlüsse durch Blutzellen oder Blutgerinnsel, Schwellungen der Endothelzellen, ein erhöhtes Auftreten von mikropinozytotischen Vesikeln, Mikrotubuli und Fibrillen sowie eine Reduktion der Vesikel in den adrenergen Nervenendigungen wurden beobachtet.<sup>46</sup> Aus verschiedenen Gründen ist es in der Praxis nur selten möglich, eine Autopsie innerhalb dieses kurzen Zeitfensters nach dem Tod zu realisieren, weshalb elektronenmikroskopische Untersuchungen keine Routinemethode darstellen.

### **3.7 Vergleich der Untersuchungsmethoden**

Der Überblick über die Literatur zeigt die Vielzahl der Methoden, die zur genaueren Diagnose unklarer Herztodesfälle entwickelt wurden. Die Vor- und Nachteile einiger geeigneter Verfahren im Vergleich zur HE-Färbung sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Nach heutigem Erkenntnisstand scheint die Immunhistochemie, insbesondere Komplementfaktor C9c als Marker, am erfolgversprechendsten bei der Darstellung früher todesursächlicher Myokardveränderungen zu sein.

<b>Methode</b>	<b>Postmortaler Nachweis nach</b>	<b>Vorteile</b>	<b>Nachteile</b>
<b>Makroskopie TTC- / NBT-Test</b>	2-3 h	Niedrige Kosten, schnelle Durchführung, relativ autolysebeständig	Nur am unfixierten Myokard möglich, nicht für Einzelzellnekrosen geeignet
<b>HE-Färbung</b>	4-6 h	histologische Routinemethode	keine eindeutige Darstellung früher ischämischer Myokardveränderungen
<b>HBFP-Färbung nach Lie</b>	30 min (experimentell) - 3h	Darstellung früher ischämischer Myokardveränderungen möglich	Variable Ergebnisqualität, schlecht Reproduzierbarkeit, viel Erfahrung notwendig
<b>Modifizierte LFB-Färbung nach Arnold</b>	<5 h	Darstellung früher ischämischer Myokardveränderungen möglich (u. a. in Form von Kontraktionsbandnekrosen)	kaum erforscht, Kontraktionsbandnekrosen nicht spezifisch, treten auch bei anderen Todesursachen auf
<b>Immunhistochemie AK C9c</b>	40 min	spezifisch für ischämische Myokardveränderungen, sehr früher Nachweis möglich	Spezialschnitte für Immunhistochemie notwendig, keine Routinefärbung
<b>Fluoreszenzmikroskopie</b>	1-2 h	Darstellung früher ischämischer Myokardveränderungen möglich	Keine Konservierung der gefärbten Schnitte möglich
<b>Elektronenmikroskopie</b>	20-30 min	ultrastrukturelle Darstellung frühester Veränderungen	sichere Unterscheidung zwischen autolytischen und ischämischen Veränderungen nur bis 3 h nach dem Tod möglich

Tab. 3 Vergleich verschiedener Methoden zur Darstellung früher ischämischer Myokardschäden (modifiziert nach Vargas<sup>60</sup>)

## **4 Eigene Untersuchungen**

### **4.1 Material**

#### **4.1.1 Untersuchungsmaterial**

Das Untersuchungsmaterial, in Form von in Paraffin eingebetteter Gewebeproben und der dazugehörigen Patientendaten, stammt aus folgenden Instituten:

1. Institut für Pathologie, Charité Universitätsmedizin Berlin (47 Fälle)
2. Institut für Pathologie, Carl-Thiem-Klinikum (CTK) Cottbus (38 Fälle)
3. Brandenburgisches Landesinstitut für Rechtsmedizin, Potsdam (43 Fälle)

Insgesamt wurden Gewebeproben von 128 Fälle in die Studie einbezogen.

#### **4.1.2 Standardfärbung**

Die Herstellung der Paraffinschnitte und die HE-Färbung der Fälle aus dem Institut für Pathologie des Klinikums Cottbus und dem Institut für Pathologie der Charité Berlin erfolgte im Institut für Pathologie des CTK. Die Gewebeproben der Fälle aus dem Brandenburgischen Landesinstituts für Rechtsmedizin wurden im Institut für Pathologie des Städtischen Klinikums Brandenburg in Paraffin eingebettet, geschnitten und gefärbt.

#### **4.1.3 Sonderfärbungen**

Die Sonderfärbungen wurden in denjenigen Instituten bzw. Abteilungen durchgeführt, in denen dazu langjährige Erfahrungen bestehen. Folgende Spezialfärbungen kamen zur Anwendung:

1. HBFP-Färbung nach *Lie*  
Institut für Pathologie, Carl-Thiem-Klinikum Cottbus
2. Modifizierte Luxol-Fast-Blue-Färbung nach *Arnold*  
Institut für Neuropathologie der Charité
3. Komplement-C9-Immunhistochemie  
Abteilung für Herzpathologie, Deutsches Herzzentrum Berlin

Die *Lie*-Färbung wurde am Institut für Pathologie des Klinikums Cottbus durchgeführt. Die LFB-Färbung ist eine Routinefärbung in der Neuropathologie zur Darstellung von Myelin und wurde von *Arnold* für die Anwendung am Myokard modifiziert. Aus diesem Grund erfolgte die Durchführung der modifizierten LFB-Färbung am Institut für Neuropathologie der Charité. Die Modifikation ist unter Punkt 4.2.3 beschrieben. Die immunhistochemische Reaktion mit dem Antikörper C9c erfolgte in der Abteilung für Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin, da diese Untersuchungsmethode dort routinemäßig angewandt wird bzw. angewandt wurde.

## **4.2 Methoden**

### **4.2.1 Auswahl der Herztodesfälle anhand der Sektionsberichte**

Zur Auswahl plötzlicher Herztodesfälle wurde eine systematische Archivsuche in den Datenbanken des Instituts für Pathologie der Charité Berlin, des Instituts für Pathologie am Carl-Thiem-Klinikum Cottbus sowie des Brandenburgischen Landesinstituts für Rechtsmedizin durchgeführt. Da als Todesursache für akut Verstorbene aus vermutlich kardialer Ursache nicht immer „Plötzlicher Herztod“, sondern häufig andere, nach Ansicht des Obduzenten adäquate Diagnosen gestellt wurden, erschien es erforderlich, diese in die Recherche einzubeziehen. Deshalb wurden folgende Suchbegriffe verwendet:

- Plötzlicher Herztod
- Akuter Myokardinfarkt
- Rezidivierender Myokardinfarkt
- Akutes Koronarsyndrom
- Akute Koronarinsuffizienz
- Stenosierende Koronararteriosklerose
- Akute dekompensierte Herzinsuffizienz
- Chronisch-ischämische Herzkrankheit

Anhand dieser Sektionsdiagnosen wurden für den Zeitraum 2010-2015 insgesamt 181 Fälle (Charité Berlin n=79, CTK Cottbus n=39, Rechtsmedizin Potsdam n=63) ausgewählt und folgende Daten tabellarisch erfasst:

- Allgemeine Daten:  
Sektionsnummer, Geburtsdatum, Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Körperlänge
- Daten bezüglich der Todesumstände:  
Sterbedatum und Uhrzeit und die sich daraus ergebende postmortale Liegezeit, Ort des Todes, Angaben zur postmortalen Umgebungstemperatur, klinische Todesursache, pathologisch-anatomische Todesursache
- Sektionsbefunde:  
makroskopische und mikroskopische Befunde am Herzen und an den Koronararterien, Herzgewicht, Kammerwandstärke links und rechts, Anzahl und Bezeichnung der archivierten Paraffinblöcke mit Gewebeproben vom Herzen (wenn vorhanden).

Die Paraffinblöcke mit Gewebeproben des Herzens dieser 181 Fälle wurden aus den entsprechenden Archiven der Institute herausgesucht und ausgeliehen. Aufgrund einiger nicht auffindbarer Paraffinblöcke ergab sich ein Verlust von 6 Fällen.

#### **4.2.2 Auswahl der Fälle anhand der lichtmikroskopischen Befunde**

Für die weitere Selektion wurden von allen Paraffinblöcken der verbliebenen 175 Fälle Schnitte von 2  $\mu\text{m}$  Dicke und eine HE-Färbung angefertigt. Die HE-Schnitte aller Fälle wurden lichtmikroskopisch bei 40-facher und 100-facher Vergrößerung (Mikroskop Nikon Eclipse E600) begutachtet. Es erfolgte ein Abgleich der gestellten Sektionsdiagnose als Todesursache, der histologischen Befunde (wenn vorhanden) und eine Befundung der Schnitte. Die Befunde sind in Abschnitt 4.3.3 zusammengefasst. Bei der Beurteilung wurde besonders auf Regionen mit möglichen frischen Herzmuskelzellnekrosen geachtet. Anhand der Ergebnisse wurden die geeigneten Fälle für die Anfertigung der Spezialfärbungen und ein repräsentativer Block pro Fall ausgewählt. Diesen Fällen wurden die HE-Schnitte zum Vergleich zugeordnet. Aus der Selektion ergab sich eine endgültige Fallzahl von  $n=128$ . Von diesen wurden 12 Fälle mit histologisch eindeutigen akuten Myokardinfarkten als Kontrollen ausgewählt.

### 4.2.3 Histologie

#### HE-Färbung

Färbelösungen:

- Hämalaun nach Mayer: 1 g Hämatoxylin, 0,2 g Natriumiodat, 50 g Chloralhydrat, 50 g Kaliumammoniumsulfat, 1 g Zitronensäure, 1000 ml Aqua dest.
- Eosinlösung: 15 g Eosin G gelblich, 821 ml Ethanol 96%, 179 ml Aqua dest.

Durchführung:

1. Entparaffinieren 3x5 min Xylol, absteigende Alkoholreihe 100% 3x5 min, 96% 3x5 min, Spülen mit Aqua dest.
2. Färben mit Hämalaun nach Mayer 5-8 min
3. Abspülen mit Leitungswasser
4. Bläuen in lauwarmen Leitungswasser 10-15 min
5. Färben mit Eosin 1,5% 2 min
6. Dehydrierung über aufsteigende Alkoholreihe (96% 2x 30 sec, 100% 2x 30 sec), Xylol, Eindeckmedium.

#### Hämatoxylin-Basisches Fuchsin-Pikrinsäure (HBFP)-Färbung

Die HBFP-Färbung nach *Lie*<sup>99</sup> wurde als weitere Sonderfärbung am Institut für Pathologie des CTK Cottbus durchgeführt, weil genügend Erfahrungen mit dieser Färbemethode bestanden. Von allen 128 Fällen wurden Schnitte von 2 µm Dicke angefertigt. Die Färbung erfolgte bei Raumtemperatur, die Dauer der Färbungen und Waschschrte wurde leicht modifiziert.

Färbelösungen:

- Lösung A: 6 g Aluminiumammoniumsulfat, 0,5 g Hämatoxylin, 0,25 g Chromoxid gelb in 70 ml Aqua dest. lösen, kochen 10 min, abkühlen lassen, 30 ml Glycerin und 4 ml Essigsäure hinzufügen (vor Gebrauch filtrieren)
- Lösung B: 0,1 g basisches Fuchsin, 100 ml Aqua dest.
- Lösung C: Pikrinsäure 0,1%, 100 ml Aceton (Lösung alle 5-6 Schnitte wechseln)

Durchführung:

1. Entparaffinieren (Xylol, absteigende Alkoholreihe, Aqua dest.)
2. Färben in Lösung A 10 min
3. Abspülen in fließendem Leitungswasser 5 min
4. Färben in Lösung B 3 min
5. Abspülen in Aqua dest. 5-10 min
6. Abspülen in Aceton 5-10 min
7. Differenzieren in Lösung C bis keine rote Farbe mehr abläuft (ca. 90 sec)
8. Xylol, Eindeckmedium.

Nach der ursprünglichen Anleitung von *Lie* betrug die Färbung in Lösung A 10 Sekunden, die Waschschritte 5 und 6 jeweils 5-10 Sekunden. Des Weiteren erfolgte nach der Differenzierung eine kurze Spülung mit Aceton. In Abweichung zu den Angaben von *Lie* wurden die Zeiten bei Schritt 2 auf 10 Minuten, bei den Schritten 5 und 6 auf 5-10 Minuten erhöht und auf die Aceton-Spülung verzichtet. Somit handelt es sich streng genommen um eine modifizierte *Lie*-Färbung.

Mit dieser Färbung werden ischämisch geschädigte Herzmuskelzellen bzw. frühe Nekrosen rötlich dargestellt, während gesundes Herzmuskelgewebe durch die Differenzierung mit Pikrinsäure seine Affinität zum Fuchsin verliert und eine gelblich-bräunliche Farbe annimmt. Ältere Herzmuskelzellnekrosen weisen ebenfalls keine Fuchsinophilie auf. Die Differenzierung mit Pikrinsäure erfolgte nach Augenmaß ca. 90 Sekunden lang. Dieser bedeutsame Schritt erfordert Übung und Erfahrung des Anwenders. Bei zu kurzer Differenzierungszeit verbleibt zu viel Fuchsin und es wird ein falsch positives Ergebnis erzielt, bei zu langer Differenzierungszeit wird ein negatives Ergebnis vorgetäuscht.



### Modifizierte Luxol-Fast-Blue (LFB)-Färbung

Diese histologische Sonderfärbung nach *Arnold et al.*<sup>112</sup> wurde im Institut für Neuropathologie der Charité durchgeführt. Hierzu wurden von allen 128 Paraffinblöcken neue 2 µm dicke Schnitte angefertigt.

#### Färbelösungen:

- Lösung A: 1 g Luxol Fast Blue MBSN, 1000 ml Ethanol 96%, 5 ml Essigsäure 10%  
(Haltbarkeit in verschlossenen braunen Flaschen länger als 1 Jahr)
- Lösung B: wässrige Lithiumcarbonat-Lösung 0,05% (frisch)
- Lösung C: 100 ml Aluminiumsulfatlösung 5%, 0,1 g Kernechtrot (heiß lösen,  
nach Erkalten filtrieren)

#### Durchführung:

1. Entparaffinieren (Xylol, absteigende Alkoholreihe 100%, 96%)
2. Färbung mit Lösung A 5 h bei 60°C (Temperatur genau einhalten)
3. Ethanol 80% 10 min
4. Aqua dest. 2-5 min
5. Lösung B 5 min Einwirkzeit
6. Aqua dest. 2 min
7. Differenzierung in Ethanol 80% 1-3 min (wechselnde Bäder). Entfärbung durch Bewegung der Schnitte. Angestrebt wird ein transparenter taubenblauer Farbton. Sollte dieser nach 3 min nicht ausreichend erreicht sein, Wiederholung der Schritte 4-7. Schnitte einzeln differenzieren.
8. Aqua dest. 5 min
9. Färbung mit Lösung C mind. 30 min
10. Abspülen mit Aqua dest., aufsteigende Alkoholreihe (96%, 100%), Xylol, Eindeckmedium.

Abweichend von der Anwendung der LFB-Färbung am Hirngewebe wurde bei den Schritten 3 und 7 eine Alkoholkonzentration von 80% anstatt 75% verwendet. Die Differenzierung muss für jeden einzelnen Schnitt individuell erfolgen. Bei Schritt 9 wurde die Färbedauer von *Arnold* mit 10-30 Minuten angegeben, erfahrungsgemäß sind hierbei mindestens 30 Minuten erforderlich. Lösung A war *Arnold* zufolge länger als 1 Jahr haltbar, im Falle einer frisch angesetzten Lösung A (wie hier verwendet) verkürzt sich die

nachfolgende Einwirkzeit auf die Schnitte in Lösung B auf ca. 3 Minuten. Die Verwendbarkeit von Lösung B betrug nach den Angaben von *Arnold* etwa 10 Tage, mit den hier verwendeten Chemikalien sollte sie jeweils frisch angesetzt werden. Das Färbeergebnis wurde anhand der Anfärbung elastischer Fasern (interne Kontrolle) und der tiefblau angefärbten Kontraktionsbänder überprüft.

#### 4.2.4 Immunhistochemie

Für die immunhistochemische Reaktion mit dem Komplement-Antikörper C9c wurden von allen 128 Fällen 2 µm dicke Schnitte angefertigt und auf beschichtete Objektträger aufgezogen. Die Färbung wurde in der Abteilung für Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin im Färbeautomat BOND-MAX (Leica) mit den dazugehörigen Reagenzien des BOND-Systems durchgeführt. Die Deparaffinierung der Schnitte erfolgte automatisiert bei 72°C mit BOND Dewax Solution sowie Ethanol 99,5%. Der konzentrierte Waschpuffer BOND Wash Solution 10X Concentrate muss verdünnt und mit NaCl versetzt werden. Hierzu wurden 0,5 l Puffer mit 4,5 l Aqua dest. und 26 g NaCl angesetzt. Zum Exponieren der durch die Fixierung maskierten Epitope im Gewebe wurden die Schnitte mehrfach mit BOND Epitope Retrieval Solution 1 behandelt. Die Lösung auf Citrat-Basis hat einen pH-Wert von 6,0 und wurde im längsten Durchgang bei 95°C eingesetzt (high temperature antigen unmasking technique). Zum Blockieren unspezifischer Bindungen wurde Normalserum von der Ziege verwendet, das im Verhältnis 1:19 verdünnt wurde. Als Antikörper kam Novocastra™ Complement Component C9, ein lyophilisierter monoklonaler Primärantikörper aus Maus-Myelomzellen (IgG1), in einer Konzentration von 1:200 zur Anwendung. Das verwendete Detektionssystem BOND Polymer Refine Red Detection ist biotinfrei und arbeitet mit an Alkalische Phosphatase (AP)-gebundenen kompakten Polymeren. In gebrauchsfertigem Format sind ein nach dem Primärantikörper anzuwendendes Reagenz (Post Primary AP) mit Kaninchen-anti-Maus-IgG (<10 µg/ml) und ein Polymerreagenz (Polymer AP) mit Anti-Kaninchen-Poly-AP-IgG (<25 µg/ml) sowie als Farbstoffe Fast Red Chromogen (Mixed Red Refine) und Hämatoxylin zur Gegenfärbung enthalten. Die Umsetzung der Farbstoffe erfolgt durch Abspaltung von Phosphat. Das vollständige Färbeprotokoll des Automaten ist im Anhang aufgeführt.

Die 12 Fälle mit akutem Myokardinfarkt, die als positive Kontrollen dienten, wurden so aufgeteilt, dass bei jeder Reihe mindestens ein Kontrollfall mitgefärbt wurde.

Der C9c-Antikörper zeigt ein zytoplasmatisches Expressionsmuster. Frische Zelluntergänge weisen dabei eine rötliche Färbung auf. Alle anderen Gewebereiche werden nicht angefärbt und erscheinen hellgrau. Die subendotheliale Arterienwand wird ebenfalls angefärbt, und zwar auch in einem intakten Myokard. Dieses Phänomen dient als interne Kontrolle (Abb. 3).<sup>124, 131, 132, 134-136, 138, 139, 141</sup> Es wurde bereits Ende der 80er Jahre von *Schäfer et al.*<sup>124</sup> und *Thomsen et al.*<sup>132</sup> näher beschrieben. Die positive Reaktion der Arterieninnenwandschicht kann mit dem Patientenalter und dem Grad der Arteriosklerose in Zusammenhang gebracht werden, da der C5b-9-Komplex unter anderem in arteriosklerotischen Plaques nachgewiesen wurde.<sup>170-172</sup> Bei Kindern und Jugendlichen wurde keine oder nur eine schwache Anfärbung der Gefäße beobachtet.<sup>124</sup>

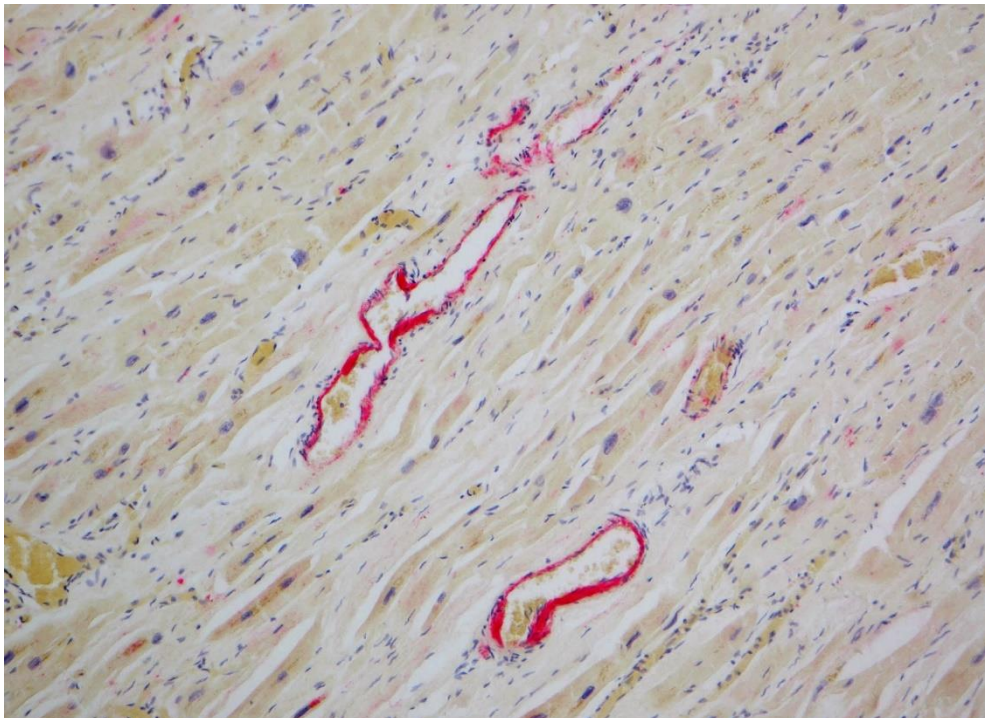


Abb. 3 Blutgefäße mit positiver Reaktion der subendothelialen Wand im ungeschädigten Myokard als interne Kontrolle. Klinische Todesursache: Herz-Kreislauf-Versagen. Sektionsdiagnose: Kardiale Dekompensation. Postmortale Liegezeit ca. 1,5 Tage. IHC, AK C9c, Objektiv 10x. Fall-Nr. 3, Sektions-Nr. A 233/10, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

Die C9c-Färbung musste bei 34 Fällen und 2 Kontrollfällen wiederholt werden, da kein positiver Befund vorlag und die beiden Kontrollfälle nur schwach positiv reagiert hatten. Daher wurden von den betreffenden Fällen neue Schnitte angefertigt und gefärbt. Nach der Wiederholungsfärbung wurde in allen Fällen eine Immunreaktivität der Gefäßwände als interne Kontrolle nachgewiesen.

#### **4.2.5 Auswertung**

Alle Schnitte wurden lichtmikroskopisch bei 40-facher und 100-facher Vergrößerung begutachtet. Die Auswertung erfolgte semiquantitativ mit Hilfe einer Skalierung.

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mit IBM® SPSS® Statistics (Vers. 23), die grafische Darstellung mit Microsoft Excel 2010.

Ausgewählte Schnitte von allen Färbungen (HE, *Lie*, LFB, IHC) wurden mit der Mikroskopkamera Nikon Digital Sight DS-Fi1 und der dazugehörigen PC-Software NIS-Elements BR (Nikon) fotografiert. Da das Programm die Vergrößerung je nach Bildqualität modifiziert, kann nur das verwendete Objektiv zu jedem Bild angegeben werden.

### **4.3 Ergebnisse**

#### **4.3.1 Sektionsbefunde**

Von den 128 untersuchten Sektionsfällen waren rund 63% Männer (n=81) und 37% Frauen (n=48). Das durchschnittliche Alter lag bei 62,5 Jahren, das Minimum lag bei 20 Jahren und das Maximum bei 92 Jahren. Der mittlere BMI betrug 28,7 und zeigte somit eine Tendenz zum Übergewicht. Das Körpergewicht der Verstorbenen bewegte sich im Bereich von 44 bis 158 kg. Bei 52,8% der Fälle lag das Herzgewicht über 500g und bei 89,7% der Fälle betrug die Kammerwandstärke des linken Ventrikels mehr als 12mm. Das durchschnittliche Herzgewicht aller Fälle lag bei 532 g, die mittlere linke Kammerwandstärke bei 16 mm, was auf Herzhypertrophie als gemeinsames Merkmal schließen lässt (Tab. 4-6).

	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente
weiblich	47	36,7	36,7
männlich	81	63,3	63,3
Gesamt	128	100,0	100,0

Tab. 4 Geschlechterverteilung

		Alter	Größe [m]	Gewicht [kg]	BMI	Postmortale Liegezeit [h]
N	Gültig	128	123	124	123	123
	Fehlend	0	5	4	5	5
Mittelwert		62,52	1,7029	83,56	28,708	95,86
Median		63,50	1,7000	80,00	27,682	89,00
Standardabweichung		14,646	,09594	22,182	7,1103	79,165
Spannweite		72	,53	114	40,1	682
Minimum		20	1,50	44	16,9	14
Maximum		92	2,03	158	57,0	696

Tab. 5 Sektionsbefunde

		Herzgewicht [g]	Kammerwandstärke links [mm]	Kammerwandstärke rechts [mm]
N	Gültig	127	117	106
	Fehlend	1	11	22
Mittelwert		531,75	15,85	4,93
Median		510,00	15,00	5,00
Standardabweichung		155,895	3,083	1,436
Spannweite		800	21	7
Minimum		300	8	3
Maximum		1100	29	10

Tab. 6 Angaben zu Herzgewicht und Kammerwandstärken

Der Medianwert der postmortalen Liegezeit betrug 3,7 Tage (89 h, Tab. 5). In einem Fall wurde die Liegezeit von 29 Tagen angegeben, bei 5 Fällen waren keine konkreten Angaben vorhanden, so dass diese Fälle nicht berücksichtigt wurden. Nach den Instituten aufgeteilt zeigte sich, dass die mittlere postmortale Liegezeit im Institut für Rechtsmedizin

Potsdam erwartungsgemäß signifikant länger war als an den beiden Instituten für Pathologie.

		Pathologie Charité	Pathologie Cottbus	Rechtsmedizin Potsdam
N	Gültig	47	38	38
	Fehlend	0	0	5
Mittelwert		69,29	106,11	118,53
Median		70,50	96,00	114,00
Standardabweichung		39,312	112,103	67,821
Spannweite		178	672	372
Minimum		14	24	24
Maximum		192	696	396

Tab. 7 Postmortale Liegezeit der Verstorbenen in Stunden

#### 4.3.2 Pathologisch-anatomische Todesursachen

Zum Nachweis frischer disseminierter Herzmuskelzellnekrosen als einem adäquaten morphologischen Korrelat für einen plötzlichen Herztod wurden für die Studie Fälle mit folgenden Sektionsdiagnosen gewählt:

- Plötzlicher Herztod
- Akuter Myokardinfarkt
- Akute Koronarinsuffizienz

Außerdem wurden Fälle miteinbezogen, bei denen aufgrund der pathologisch-anatomischen Todesursache zu vermuten war, dass Herzmuskelzellnekrosen zum Tode geführt haben könnten. Dabei handelte es sich um folgende Sektionsdiagnosen:

- Akute Herzinsuffizienz
- Kardiales Versagen
- Akute Myokarditis
- Kardiomyopathie

Alle ähnlich lautenden Bezeichnungen wurden zu Arbeitsdiagnosen zusammengefasst:

<b>Arbeitsdiagnose (Studie)</b>	<b>Pathologisch-anatomische Diagnosen (Totenschein)</b>
Plötzlicher Herztod	Akuter Herztod Herztod / Herztod bei vorgeschädigtem Herzen
Akuter Myokardinfarkt	Akuter Herzinfarkt Frischer Herzinfarkt Frisches Herzmuskelfarktgeschehen Akuter disseminierter Myokardinfarkt Akuter multifokaler Myokardinfarkt Kardiogener Schock aufgrund multipler Myokardinfarkte Akuter Reinfarkt Rezidivierender Herzinfarkt Rezidivierter Myokardinfarkt Akuter Myokardinfarkt (Rezidiv) Akut rezidivierender Myokardinfarkt Frisch rezidivierender Myokardinfarkt Akut rezidivierter Herzinfarkt
Akute Koronarinsuffizienz	Verengende Herzkranzschlagaderverkalkung Stenosierende Koronararteriosklerose Akute globale Koronarinsuffizienz Akute Koronarthrombose Akutes Koronarsyndrom
Akute Herzinsuffizienz	Akute Linksherzinsuffizienz Linksventrikuläre Herzinsuffizienz Akute kardiale Dekompensation Biventrikuläre kardiale Dekompensation
Kardiales Versagen	Herzversagen Plötzliches Herzversagen Akutes Versagen des krankhaft veränderten Herzens Akutes Linksherzversagen
Kardiomyopathie	Zustand nach Takotsubo-Kardiomyopathie Dilatative Kardiomyopathie Alkoholtoxische Kardiomyopathie

Tab. 8 Zusammenfassung der pathologisch-anatomischen Todesursachen zu Arbeitsdiagnosen

Einen Überblick über die Häufigkeit der einzelnen pathologisch-anatomischen Todesursachen bieten Tabelle 9 und Abbildung 4.

	Häufigkeit	Prozent
Plötzlicher Herztod	29	22,7
Akuter Myokardinfarkt	54	42,2
Akute Koronarinsuffizienz	20	15,6
Akute Herzinsuffizienz	7	5,5
Kardiales Versagen	14	10,9
Akute Myokarditis	1	0,8
Kardiomyopathie	3	2,3
Gesamt	128	100,0

Tab. 9 Pathologisch-anatomischen Todesursachen

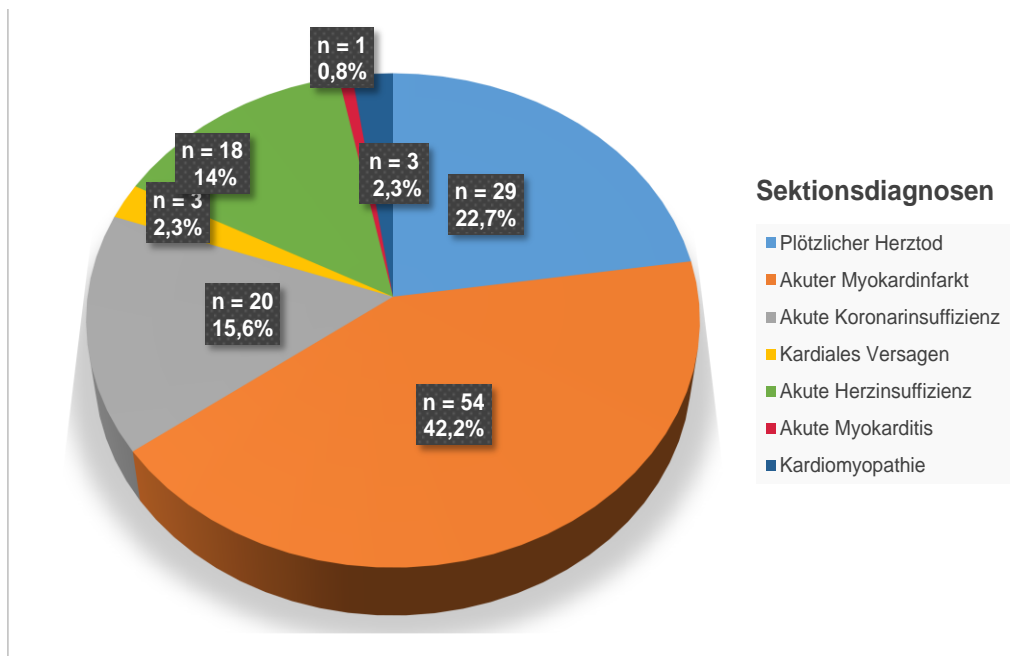


Abb. 4 Pathologisch-anatomische Todesursachen der untersuchten Fälle (n=128)

Nach Instituten aufgeschlüsselt zeigte sich, dass die meisten plötzlichen Herztodesfälle am Brandenburgischen Landesinstitut für Rechtsmedizin Potsdam auftraten (n=20). In der Gruppe aus dem Institut für Pathologie Cottbus war die häufigste Todesursache "Akute Koronarinsuffizienz" (n=18), während die meisten akuten Myokardinfarkte bei den Charité-Fällen zu finden waren (n=30).



	Pathologie Charité		Pathologie Cottbus		Rechtsmedizin Potsdam	
	Häufigkeit	Prozent	Häufigkeit	Prozent	Häufigkeit	Prozent
Plötzlicher Herztod	5	10,6	4	10,5	20	46,5
Akuter Myokardinfarkt	30	63,8	11	29,0	13	30,3
Akute Koronarinsuffizienz	0	0	18	47,4	0	0
Akute Herzinsuffizienz	5	10,7	1	2,6	1	2,3
Kardiales Versagen	6	12,8	2	5,3	6	14,0
Akute Myokarditis	1	2,1	0	0	0	0
Kardiomyopathie	0	0	2	5,3	1	2,3
Gesamt	47	100,0	38	100,0	43	100,0

Tab. 10 Häufigkeitsverteilung der pathologisch-anatomischen Todesursachen

### 4.3.3 Mikroskopische Untersuchungen

#### HE-Färbung

Die in den HE-gefärbten Schnitten erhobenen Befunde dienten in allen 128 Fällen als Referenz für die Beurteilung der Sonderfärbungen. Bereits im HE-Schnitt erkennbare Herzmuskelzellnekrosen sollten auch bei den Sonderfärbungen zu sehen sein. Anhand der HE-Befunde wurden 12 Fälle mit typischen akuten Myokardinfarkten als Kontrollen ausgewählt (Tab. 13).

Als zusätzlicher pathologischer Befund konnte in den meisten Fällen regionale Herzmuskelzellhypertrophie festgestellt werden und wird daher nachfolgend nicht gesondert aufgeführt, ausgenommen Fälle ohne oder mit nur geringen pathologischen Veränderungen, wie z.B. kleinsten disseminierten Narben. Neben den Kontrollfällen gab es 14 weitere Fälle mit großflächigen Nekrosearealen, insgesamt somit 26 Fälle (20,3%). Außer den akuten Infarkten konnten in der HE-Färbung nur in wenigen Fällen disseminierte Einzelzellnekrosen (3,1%) oder Gruppennekrosen (2,3%) identifiziert werden. 74% der Fälle wiesen keine frischen Herzmuskelzellnekrosen auf (Tab. 13 und 14).

## Fall-Nr.      Histologische Befunde

Abkürzungen für die topografischen Herzabschnitte wie folgt:

LV = linker Ventrikel, VW = Vorderwand, HW = Hinterwand, KS = Kammerseptum,  
RV = rechter Ventrikel, PM = Papillarmuskel.

Bei allen mit \* gekennzeichneten Fällen war die topografische Zuordnung der Gewebsproben zu bestimmten Herzwandabschnitten nur teilweise oder gar nicht möglich.

Alle Befunde der mit † gekennzeichneten Fälle wurden fotografisch dokumentiert.

- |     |  |
|-----|--|
| 1   | Perivasale Fibrose und Lipomatose in VW, HW, KS, keine Narben (6 Herzgewebsproben).  |
| 2   | Kleinere und größere disseminierte Narben in der HW, Herzmuskelzellhypertrophie (4 Herzgewebsproben).  |
| 3 † | Überwiegend kleinere disseminierte Narben in VW und HW, auch wenige in KS und im RV (4 Herzgewebsproben).  |
| 4   | Disseminierte Myokardnarben in VW, HW, KS, Lipomatose im RV (4 Herzgewebsproben).  |
| 5 † | Geringe perivaskuläre Fibrose sowie perivaskuläre Lipomatose im KS, geringe Lipomatose auch im RV (nur KS und RV vorhanden) (2 Herzgewebsproben).  |
| 6   | Kleinere disseminierte Narben und herdförmige perivaskuläre Lipomatose in der VW. Ausgedehnte, fast diffuse disseminierte Narben in HW und KS (4 Herzgewebsproben).  |
| 7   | Perivasale Fibrose in VW und HW, kleine disseminierte Narben und fokale Lipomatose im KS. In einer zweiten Gewebsprobe dieser Lokalisation frische Einblutungen (4 Herzgewebsproben).  |
| 8   | Anteile einer Infarkt Narbe in der VW. Sehr kleine, überwiegend perivasale Narben mit geringer Lipomatose in HW und KS (4 Herzgewebsproben).   |
| 9 † | Akuter Reinfarkt der HW mit Übergreifen auf den RV, hämorrhagische Randzone, größere disseminierte Narben (4 Herzgewebsproben).  |
| 10  | Akuter mehrzeitiger Myokardinfarkt, größere disseminierte Narben in VW, HW und KS mit perivasaler Lipomatose. Intramurale Lipomatose im RV (4 Herzgewebsproben).   |
| 11  | Kleinere disseminierte Narben in der VW, größere Narbenareale bzw. Ausläufer einer Infarkt Narbe mit perivasaler Lipomatose in der HW, ausgedehnte kleine disseminierte Narben im KS. Größere disseminierte Narben im RV (6 Herzgewebsproben). |
| 12  | Kleine disseminierte Narben und geringe intramurale Lipomatose in VW und HW. Ausgedehnte disseminierte Narben im KS, Lipomatose im RV (4 Herzgewebsproben).  |

- 13 Mehrere kleinere lymphohistiozytäre Infiltrate in der VW, kleinere und größere disseminierte Narben in HW und KS, außerdem im KS und HW herdförmige muzinöse Degeneration mit mehrkernigen Riesenzellen. Geringe perivasale Lipomatose in allen Regionen (4 Herzgewebsproben).
- 14 † Akuter Myokardinfarkt und größere disseminierte Narben in VW und HW mit Bevorzugung der HW. Wenige kleine disseminierte Narben im KS und im RV, geringe intramurale Lipomatose im RV (5 Herzgewebsproben).
- 15 \* † Größere Narben bzw. Anteile einer Infarktnarbe mit akutem Myokardinfarkt, restliche Blöcke andere Organe (2 Herzgewebsproben).
- 16 Größere Narben bzw. Anteile einer Infarktnarbe in VW und HW, starke regionale Herzmuskelzellhypertrophie. Perivasale Fibrose und Lipomatose im KS, Lipomatose im RV (4 Herzgewebsproben).
- 17 Intramurale perivasale Fibrose und Lipomatose in VW und HW, einzelne kleinere Narben und Lipomatose im KS, Lipomatose im RV (4 Herzgewebsproben).
- 18 Anteile einer Infarktnarbe mit Blutungsresiduen in VW und KS, größere disseminierte Narben in HW und KS. Herdförmige Narben und intramurale Lipomatose im RV (4 Herzgewebsproben).
- 19 Sehr kleine disseminierte Narben in VW und HW, größere disseminierte Narben im KS mit einem kleinen frischen leukozytär demarkierten Nekroseareal. Kleine disseminierte Narben und Lipomatose im RV (4 Herzgewebsproben).
- 20 In der VW kleine und größere disseminierte Narben, fibrinöse Perikarditis. KS falsche Lokalisation, da viel subepikardiales Fettgewebe (4 Herzgewebsproben).
- 21 Größere disseminierte Narben in VW, HW und KS, ausgedehnte intramurale Lipomatose in HW, weniger ausgeprägt auch im KS. Disseminierte Narben und Lipomatose im RV sowie herdförmige Verkalkungen, offenbar im Perikardbereich (4 Herzgewebsproben).
- 22 Teilweise frische disseminierte Narben in der VW, zellarme disseminierte Narben in der HW und KS, fokale intramurale Lipomatose in KS und im RV (4 Herzgewebsproben).
- 23 Kleine zellarme disseminierte Narben und geringe Lipomatose in VW und KS, frischer Myokardinfarkt und zellreiche disseminierte Narben in der HW, RV intramurale Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 24 VW mit frischem Myokardinfarkt, kleine disseminierte Narben und stärkere Lipomatose in der HW, geringere Lipomatose und kleine disseminierte Narben im KS, Lipomatose im RV (4 Herzgewebsproben).
- 25 Kleinere und größere disseminierte Narben in VW und HW, geringe perivasale Lipomatose. Im KS geringe fokale Fibrose und Lipomatose, geringe Lipomatose im RV (4 Herzgewebsproben).

- 26 \* † Ausgedehnter akuter Myokardinfarkt, teilweise mit Restmyokard und größeren disseminierten Narben (4 Herzgewebsproben).
- 27 Ausgedehnte größere disseminierte Narben in VW und HW. Hochgradig stenosierende und verkalkende Koronarsklerose eines subepikardialen Koronargefäßes, fibrinöse Perikarditis in allen Wandabschnitte (4 Herzgewebsproben).
- 28 † In der HW ein akuter Myokardinfarkt bei ausgedehnten zellreichen disseminierten Narben. Weitere frische Nekrosen und zellreiche disseminierte Narben in VW und KS und auch im RV (4 Herzgewebsproben).
- 29 \* † Frische Myokardnekrosen (Infarkt), kleinere und größere disseminierte Narben (4 Herzgewebsproben).
- 30 \* † Akuter Myokardinfarkt ohne disseminierte Narben, nur geringe perivasale Fibrose und Lipomatose. Übergreifen des Infarkts auf den RV mit fibrinöser Perikarditis (2 Herzgewebsproben).
- 31 \* † Transmuraler akuter Myokardinfarkt, stark leukozytär demarkiert. Herdförmige frische Nekrosen, disseminierte Narben, Anteile des Infarkts und intramurale Lipomatose. Kleinste disseminierte Narben im PM (5 Herzgewebsproben).
- 32 \* Zellreiche disseminierte Narben, fokale Blutungsresiduen (4 Herzgewebsproben).
- 33 \* Kleine disseminierte Narben und intramurale Lipomatose (3 Herzgewebsproben).
- 34 \* Überwiegend kleine disseminierte Narben, frische Einblutungen ins subepikardiale Fettgewebe (4 Herzgewebsproben).
- 35 \* Ausgedehnte kleine und größere disseminierte Narben sowie Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 36 \* Kleinere disseminierte Narben mit intramuraler Lipomatose, hochgradig stenosierende und verkalkende Koronarsklerose, perivasale Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 37 \* Größere disseminierte Narben, an anderer Stelle überwiegend kleinere disseminierte Narben. Geringe intramurale Lipomatose und kleinste Narben (4 Herzgewebsproben).
- 38 \* Große disseminierte Narben bzw. Anteile einer Infarktnarbe sowie kleinere und größere disseminierte Narben, Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 39 \* † Großer akuter Myokardinfarkt mit beginnender Organisation (3 Herzgewebsproben).
- 40 \* Größere disseminierte Narben bzw. Anteile einer Infarktnarbe mit frischem Reinfarkt (3 Herzgewebsproben).
- 41 \* Kleinste disseminierte Narben und perivasale Fibrose (2 Herzgewebsproben).

- 42 \* Infarkt Narbe, außerdem größere und kleinere disseminierte Narben (3 Herzgewebsproben).
- 43 \* Überwiegend größere disseminierte Narben und fokale Lipomatose, außerdem größere Narben (Infarkt Narbe) mit Lipomatose und kleinere disseminierte Narben (3 Herzgewebsproben).
- 44 \* † Frischer Myokardinfarkt bei zellreicher Infarkt Narbe, außerdem kleinere disseminierte Narben und Lipomatose (3 Herzgewebsproben).
- 45 \* Größere und kleinere disseminierte Narben, perivasale Fibrose und Lipomatose (3 Herzgewebsproben).
- 46 \* Einzelne disseminierte Narben, perivasale Lipomatose und interstitielle Fibrose (3 Herzgewebsproben).
- 47 \* Wenige kleine Narben, perivasale Fibrose und Lipomatose (2 Herzgewebsproben).
- 48 \* Disseminierte frische und ältere Myokardnarben, möglicher Reinfarkt (5 Herzgewebsproben).
- 49 \* Kleine disseminierte Myokardnarben, teilweise perivasal mit lipomatöser Transformation (3 Herzgewebsproben).
- 50 \* Größere disseminierte Herzmuskelnarben (8 Herzgewebsproben).
- 51 \* Disseminierte Myokardnarben, intramurale Lipomatose (2 Herzgewebsproben).
- 52 \* Kleine disseminierte Myokardnarben, Hyperämie (3 Herzgewebsproben).
- 53 \* † Kleinere und größere Myokardnarben, Herzmuskelzellhypertrophie (6 Herzgewebsproben).
- 54 \* Größere Narben, frische Herzmuskelnekrosen = akuter Myokardinfarkt (3 Herzgewebsproben).
- 55 \* Kleine disseminierte Narben, fokale perivasale Lipomatose (2 Herzgewebsproben).
- 56 \* Kleine disseminierte Herzmuskelnarben, disseminierte intramurale Lipomatose. Fortgeschrittene Autolyse (5 Herzgewebsproben).
- 57 \* Größere Herzmuskelnarben im PM, intramurale perivasale Fibrose und kleine Narben sowie Lipomatose. Herzmuskelfaserhypertrophie bei Hypoplasie der Koronararterien (8 Herzgewebsproben).
- 58 \* Größere mehrzeitige Myokardnarben, geringe perivasale Lipomatose (3 Herzgewebsproben).
- 59 \* Disseminierte Herzmuskelnarben, frische Herzmuskelnekrosen in der Umgebung der Narben (3 Herzgewebsproben).

- 60 † In der VW kleinere und größere disseminierte Narben, akuter Myokardinfarkt der HW, stenosierende Koronararteriosklerose mit herdförmigen Wandverkalkungen (7 Herzgewebsproben).
- 61 \* Riesenzellmyokarditis mit ausgedehnten Vernarbungen in der gesamten linken Ventrikelwand (13 Herzgewebsproben).
- 62 \* † Keine pathologischen Veränderungen außer Dilatation der Blutkapillaren (5 Herzgewebsproben).
- 63 \* Multiple kleine disseminierte Herzmuskelnarben, herdförmige intramurale Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 64 \* † Akuter Myokardinfarkt mit leukozytärer Demarkation (4 Herzgewebsproben).
- 65 \* Kleine und größere disseminierte Herzmuskelnarben, fragliche frische Herzmuskelnekrosen (4 Herzgewebsproben).
- 66 \* † Kleine, fast diffuse disseminierte Myokardnarben und einzelne größere Narbenareale. Ältere und frische Narbenbereiche, intramurale Lipomatose (7 Herzgewebsproben).
- 67 \* Wenige kleine disseminierte Herzmuskelnarben, geringe intramurale perivasale Lipomatose (3 Herzgewebsproben).
- 68 \* † Kleine und größere disseminierte Myokardnarben, geringe fokale perivasale Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 69 \* Einzelne kleine Myokardnarben und ausgeprägte intramurale Lipomatose, vorwiegend im RV (3 Herzgewebsproben).
- 70 \* † Kleine disseminierte Narben, herdförmige perivasale Lipomatose (8 Herzgewebsproben).
- 71 \* Kleinere und größere disseminierte Myokardnarben (3 Herzgewebsproben).
- 72 \* Kleine disseminierte Herzmuskelnarben, perivasale Fibrose und geringe Lipomatose (3 Herzgewebsproben).
- 73 † In der VW größere Narbenareale, im KS akuter Myokardinfarkt mit leukozytärer Demarkation und hämorrhagischem Randsaum, herdförmige dystrophische Verkalkungen (5 Herzgewebsproben).
- 74 Frische Narbe in der VW, akuter Myokardinfarkt der HW mit leukozytärer Demarkation und Hämorrhagien, perivasale Lipomatose in HW und KS (6 Herzgewebsproben).
- 75 \* Überwiegend kleine disseminierte Myokardnarben, perivasale Lipomatose im KS (12 Herzgewebsproben).

- 76 \* Alte und frische disseminierte Narben, herdförmige perivasale Lipomatose. Hämorrhagische Perikarditis in Organisation bei postoperativer Blutung (7 Herzgewebsproben).
- 77 \* Kleine disseminierte Narben (4 Herzgewebsproben).
- 78 \* Große Infarkt Narbe und kleinere disseminierte Narben, Herzmuskelfragmentierung in der HW (4 Herzgewebsproben).
- 79 \* Akuter Myokardinfarkt in der VW, disseminierte Myokardnarben, multiple kleine Lipomatoseherde (7 Herzgewebsproben).
- 80 \* Frische und ältere disseminierte Narben mit fokalen dystrophischen Verkalkungen (7 Herzgewebsproben).
- 81 \* Disseminierte, fast diffuse Myokardnarben, stenosierende und verkalkende Koronarsklerose in subepikardial miterfassten Arterien (4 Herzgewebsproben).
- 82 \* † Hochgradig stenosierende und verkalkende Koronarsklerose, frische und ältere disseminierte Myokardnarben, in der HW eine Infarkt Narbe (5 Herzgewebsproben).
- 83 \* † Kleine und große mehrzeitige Narben sowie ein akuter Myokardinfarkt (7 Herzgewebsproben).
- 84 \* Kleine disseminierte Narben, Herzmuskelzellhypertrophie (4 Herzgewebsproben).
- 85 \* † Akuter Myokardinfarkt, kleine und große frische Narben sowie alte disseminierte Narben (4 Herzgewebsproben).
- 86 \* Disseminierte Myokardnarben, fragliche frische Nekrosen. Außerdem größere Narben bzw. Anteile von Infarkt Narben sowie feinfleckige disseminierte Narben und intramurale Lipomatose (8 Herzgewebsproben).
- 87 \* Frische disseminierte Narben, kleine mehrzeitige disseminierte Narben, fokale intramurale Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 88 \* Frische disseminierte Narben, herdförmige intramurale Lipomatose, RV mit hochgradiger Hypertrophie (chronisches Cor pulmonale) und Lipomatose (6 Herzgewebsproben).
- 89 \* Residuelle Entzündungszellen, Veränderungen wie bei Zustand nach Myokarditis. Außerdem intramurale Lipomatose und perivasale Fibrose (1 Herzgewebsprobe).
- 90 \* PM mit mehrzeitigen disseminierten Narben, kleine frische disseminierte Narben und fokale intramurale Lipomatose. RV mit kleinen disseminierten Narben und subepikardiale Lipomatose (1 Herzgewebsprobe).
- 91 \* Disseminierte Narben im PM links, intramurale perivasale Lipomatose, kaum Fibrose, kleinste disseminierte Narben (5 Herzgewebsproben).

- 92 \* Perivasale Fibrose mit geringer Lipomatose (3 Herzgewebsproben).
- 93 \* † Kleinste disseminierte Narben links und rechts, links überwiegend perivasal (3 Herzgewebsproben).
- 94 \* Einzelne disseminierte Narben, vorwiegend im PM.  
Intramurale perivasale Fibrose und Lipomatose, RV mit Lipomatose (6 Herzgewebsproben).
- 95 \* † Akuter Myokardinfarkt mit frischen Herzmuskelzellnekrosen, PM mit mehrzeitigen disseminierten Narben, vorwiegend in der PM-Spitze.  
Intramurale Lipomatose, RV mit starker subepikardialer und intramuraler Lipomatose (5 Herzgewebsproben).
- 96 \* Frische und ältere disseminierte Narben, intramurale Lipomatose (5 Herzgewebsproben).
- 97 \* Kleine disseminierte Narben und Lipomatose (subepikardial und intramural), PM mit disseminierten Narben, vorwiegend in der PM-Spitze (4 Herzgewebsproben).
- 98 \* Frische Infarktnarbe (PM links), kleine frische und ältere disseminierte Narben, RV mit geringer Lipomatose (5 Herzgewebsproben).
- 99 \* Multiple kleine disseminierte Narben, geringe fokale Lipomatose, RV mit starker Lipomatose (6 Herzgewebsproben).
- 100 \* Akuter mehrzeitiger Myokardinfarkt mit Granulationsgewebe. Kleine frische disseminierte Narben und frische Herzmuskelzellnekrosen, Ausläufer eines Reinfarkts (1 Herzgewebsprobe).
- 101 \* Ausgedehnter akuter Myokardinfarkt (2 Herzgewebsproben).
- 102 \* Kleinere und größere disseminierte Narben, Infarktnarbe und größere disseminierte Narben sowie ein Myokardabschnitt ohne Kernfärbungen wie bei frischen Nekrosen (4 Herzgewebsproben).
- 103 \* Kleinere und größere Narbenbezirke im PM, kleine disseminierte Narben im übrigen Myokard, geringe fokale intramurale Lipomatose (3 Herzgewebsproben).
- 104 \* Disseminierte Myokardnarben besonders im linken PM, perivasale Lipomatose und kleinste Narben in der linken Kammerwand, RV mit geringer Lipomatose (6 Herzgewebsproben).
- 105 \* † Größere und kleinere disseminierte Narben, RV mit Lipomatose (6 Herzgewebsproben).
- 106 \* Anteile einer großen Infarktnarbe, disseminierte Narben, fortgeschrittene Autolyse (5 Herzgewebsproben).
- 107 \* Ausgedehnte disseminierte Narben (3 Herzgewebsproben).



- 108 \* Größere disseminierte Narben im PM links, Myokardinfarktnarbe links (Innenschicht). Außerdem disseminierte Narben und intramurale Lipomatose (6 Herzgewebsproben).
- 109 \* Kleine disseminierte Narben und intramurale Lipomatose (3 Herzgewebsproben).
- 110 \* Jüngere Infarktnarbe, frischer Reinfarkt im umgebenden Myokard. Herdförmige Lipomatose links und rechts (4 Herzgewebsproben).
- 111 \* Große disseminierte Narbenareale und Anteile einer Infarktnarbe bei hochgradig stenosierender und verkalkender subepikardialer Koronarsklerose. In der Umgebung der Narben möglicherweise frische Nekrosen (3 Herzgewebsprobe).
- 112 \* Kleinere und größere disseminierte Narben im LV und PM, geringe Lipomatose und perivasale Fibrose (4 Herzgewebsproben).
- 113 \* Kleinere und größere, teilweise netzförmige disseminierte Narben, intramurale Lipomatose (3 Herzgewebsproben).
- 114 \* Kleinste disseminierte Narben, stenosierende Koronarsklerose, RV mit Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 115 \* Größere Narben im PM, kleine disseminierte Narben und Lipomatose im übrigen Myokard, RV mit Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 116 \* Ausgedehnte disseminierte, teilweise diffuse Narben, intramurale Lipomatose links, RV mit Lipomatose (5 Herzgewebsproben).
- 117 \* Einzelne kleinste disseminierte Narben, perivasale Fibrose und Lipomatose, RV mit Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 118 \* Kleine disseminierte Narben (4 Herzgewebsproben).
- 119 \* Kleinere und größere disseminierte Narben, fokale intramurale Lipomatose (4 Herzgewebsproben).
- 120 \* Kleine unterschiedlich alte disseminierte Narben, RV mit Lipomatose (6 Herzgewebsproben).
- 121 \* ‡ Ausgedehnte Verschwielung beider PM, Anteile einer Infarktnarbe. Bindegewebige Obliteration intramuraler Koronararterienäste (4 Herzgewebsproben).
- 122 \* Kleine disseminierte mehrzeitige Narben, außerdem geringe perivasale Fibrose und Lipomatose (5 Herzgewebsproben).
- 123 \* Kleine und größere disseminierte Narben, teilweise diffuse Verschwielung besonders im PM, geringe Lipomatose. Fortgeschrittene Autolyse (5 Herzgewebsproben).
- 124 \* Zahlreiche disseminierte, teilweise diffuse kleine Narben unterschiedlichen Alters, geringe Lipomatose (3 Herzgewebsproben).

- 125 \* ‡ Kleinere und größere mehrzeitige disseminierte Narben, intramurale Lipomatose (6 Herzgewebsproben).
- 126 \* ‡ Kleine mehrzeitige disseminierte Narben, einzelne Narben wie bei nicht ganz frischen Nekrosen. Intramurale Lipomatose (7 Herzgewebsproben).
- 127 \* Kleine disseminierte Narben, intramurale perivasale Lipomatose (6 Herzgewebsproben).
- 128 \* Ausgedehnte mehrzeitige Vernarbungen des PM, einzelne kleine disseminierte Narben im übrigen Myokard. Fokale perivasale Lipomatose, RV ebenfalls mit Lipomatose (4 Herzgewebsproben).

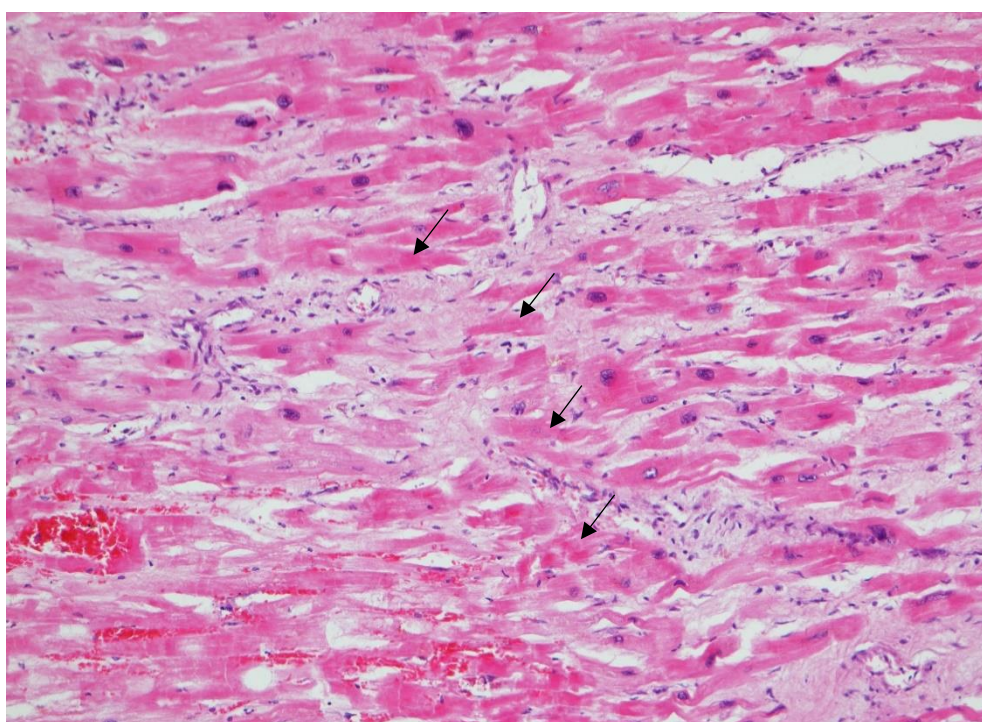


Abb. 5 Übergangszone von vitalen HMZ in frische Nekrosen mit Zellkernverlust (Pfeile). Klinische Todesursache: Myokardiales Pumpversagen. Sektionsdiagnose: Akuter Myokardinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 3 Tage. HE, Objektiv 10x. Fall-Nr. 9, Sektions-Nr. A 742/10, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

Die in der histologischen Befunderhebung erzielten Ergebnisse weichen teilweise von den zuvor in den Instituten erhobenen mikroskopischen Erstbefunden ab. Anhand der für diese Studie neu angefertigten HE-Schnitte konnten die von den Erstuntersuchern erhobenen Befunde (nachfolgend als primäre Befunde bezeichnet) nur in etwa der Hälfte der Fälle bestätigt werden (Tab. 11). Von den insgesamt 128 Fällen lagen nur in 97 Fällen mikroskopische Befunde vor. Von den 43 Fällen aus dem Institut für Rechtsmedizin war

nur in 12 Fällen ein histologischer Befund vorhanden. In 55% der Fälle bestand keine Übereinstimmung mit den für die Studie neu erhobenen Befunden.

	Anzahl der Fälle		Übereinstimmung		Abweichung	
		fehlend	Häufigkeit	Prozent	Häufigkeit	Prozent
Pathologie Charité	47	0	16	34,0	31	65,9
Pathologie Cottbus	38	0	17	44,7	21	55,3
Rechtsmedizin Potsdam	12	31	11	91,7	1	8,3
Gesamt	97	31	44	45,3	53	54,6

Tab. 11 Abweichung der neu erhobenen Befunde im Vergleich zu den primären mikroskopischen Befunden (Paraffinschnitte, HE)

Nach den primären histologischen Befunden wurden in 70 der 97 befundeten Fälle (72%) Herzmuskelzellnekrosen festgestellt. In der vorliegenden Studie konnten hingegen mit der HE-Färbung nur bei 26 der 97 Fälle (27%) Einzelzell- und Gruppennekrosen sowie Infarktareale nachgewiesen werden (Tab. 12).

	Anzahl der Fälle		Primärer histologischer Befund		Histologischer Befund in dieser Studie	
		fehlend	Nachweis von Herzmuskelzellnekrosen		Nachweis von Herzmuskelzellnekrosen	
			Häufigkeit	Prozent	Häufigkeit	Prozent
Pathologie Charité	47	0	40	85,1	15	31,9
Pathologie Cottbus	38	0	29	76,3	11	28,9
Rechtsmedizin Potsdam	12	31	1	8,3	0	0
Gesamt	97	31	70	72,2	26	26,8

Tab. 12 Nachweis von Herzmuskelzellnekrosen nach den primären und neu erhobenen mikroskopischen Befunden (Paraffinschnitte, HE)

### HBFP-Färbung nach Lie

Die Purpurrotfärbung ischämisch geschädigter Myokardzellen durch das basische Fuchsin dieser Färbemethode ist deutlich zu erkennen (Abb. 6). Im Gegensatz zur modifizierten LFB-Färbung konnte eine differenziertere Anfärbung einzelner Zelluntergänge und von Gruppennekrosen in den Präparaten beobachtet werden. Bei 55 Fällen (57,9%) wurde eine positive Reaktion festgestellt, während im HE-Schnitt keine Zelluntergänge zu erkennen waren (95 Fälle). Eine Übereinstimmung dieser angefärbten Zelluntergänge mit der C9c-Immunhistochemie konnte allerdings nur in 12 Fällen beobachtet werden (Tab. 13). Auffällig war die hohe Anzahl an unklaren Ergebnissen, bei 15 Fällen (11,7%) konnten Artefakte nicht sicher abgegrenzt werden (Tab. 14). In der HE-Färbung waren davon in 13 Fällen keine Zelluntergänge sichtbar. Demgegenüber konnten mit dem C9c-Antikörper in 6 dieser Fälle Einzelzellnekrosen nachgewiesen werden (Tab. 13). Die Rotfärbung wurde zum Teil durch die Fixierung beeinflusst, wodurch bei einigen Fällen eher eine braunrote Färbung der geschädigten Zellen zu beobachten war, was einen schwächeren Kontrast zum hellbraun angefärbten gesunden Myokard zur Folge hatte. Ältere Herzmuskelzellnekrosen werden mit der *Lie*-Färbung nicht erkennbar angefärbt, da das Fuchsin nur eine Affinität zu frisch ischämisch geschädigten Zellen aufweist. Bei fortgeschrittener Zellschädigung bis hin zur Nekrose geht die Zellaffinität des Fuchsins verloren, und zwar nach einer Überlebenszeit von 8-12 h. Schon im HE-Schnitt erkennbare Myokardinfarkte werden daher mit der *Lie*-Färbung nicht purpurrot dargestellt, der Verlust der Zellkerne der devitalen Herzmuskelzellen ist aber erkennbar (Abb. 7). Die Färbung ist aufgrund dieser Tatsache mit den anderen Färbungen nur bedingt vergleichbar und setzt Erfahrung in der Interpretation voraus.

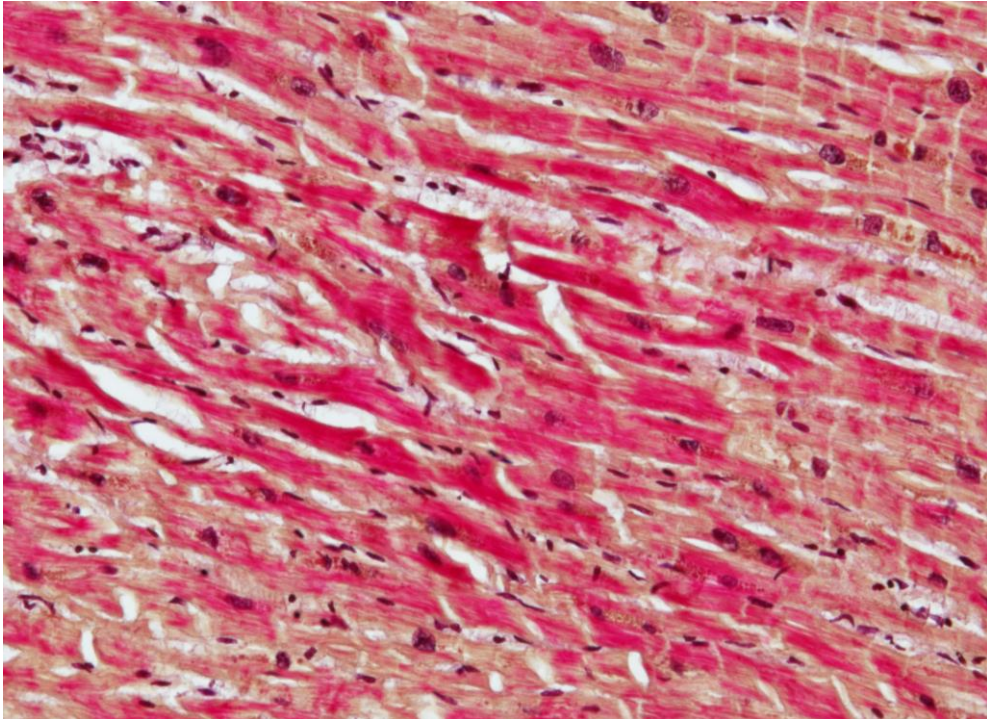


Abb. 6 Purpurrotfärbung ischämisch geschädigter HMZ. Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akute Koronarinsuffizienz. Histologie: Akuter Myokardinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 5 Tage. *Lie*-Färbung, Objektiv 20x. Fall-Nr. 70, Sektions-Nr. S 60/14, Institut für Pathologie des CTK Cottbus.

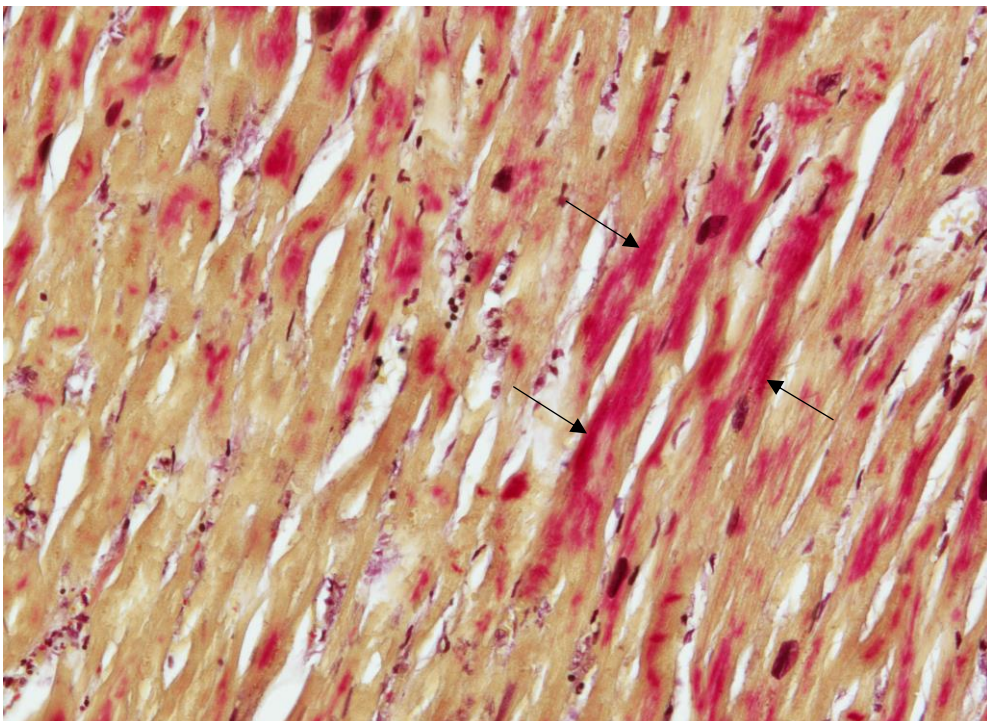


Abb. 7 Purpurrotfärbung früher HMZ-Nekrosen (Pfeile) neben älteren Zellnekrosen mit Verlust der Zellaffinität des Fuchsin. Klinische Todesursache: Kardiogener Schock. Sektionsdiagnose: Akute Koronarinsuffizienz. Histologie: Akuter Myokardinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 4 Tage. *Lie*-Färbung, Objektiv 20x. Fall-Nr. 85, Sektions-Nr. S 20/15, Institut für Pathologie des CTK Cottbus.

### Modifizierte LFB-Färbung nach Arnold

Die von *Arnold*<sup>112</sup> beschriebene diffuse Blaufärbung des gesamten Zytoplasma bei geschädigten Zellen sowie die intensive Blaufärbung von Kontraktionsbandnekrosen waren in den Präparaten deutlich erkennbar, jedoch sehr undifferenziert. 44,1% der Fälle waren von ausgedehnten, unterschiedlich intensiv angefärbten Myokardarealen geprägt, die diagnostisch irrelevant sind (Abb. 8, Tab. 14). In 48,8% der Fälle zeigte sich eine Anfärbung wie man sie bei disseminierten Gruppennekrosen beobachtet (Tab. 14). Gelegentlich fanden sich auch tiefblau angefärbte Herzmuskelzellgruppen mit Kontraktionsbändern (Abb. 9). Dieser Befund blieb in der primären Diagnostik, die nur am HE-Schnitt erfolgte, unberücksichtigt. Andererseits wurden alle bereits mit der HE-Färbung erkennbaren akuten Myokardinfarkte auch in der modifizierten LFB-Färbung dargestellt. Bei 87 Fällen ohne Nachweis von Herzmuskelzellnekrosen im HE-Schnitt zeigte sich mittels LFB eine unspezifische Anfärbung. Dieses Färbeergebnis konnte erwartungsgemäß nicht in diesem Umfang durch die anderen Sonderfärbungen bestätigt werden (Tab. 13). Nur in 21 Fällen mit positiver LFB- und negativer HE-Färbung wurde immunhistochemisch eine fokale Expression von C9c beobachtet und Einzelzellnekrosen nachgewiesen (Tab. 13). Bei der modifizierten LFB-Färbung waren zum Teil andere Bereiche angefärbt als die bereits im HE-Schnitt erkennbaren Gruppen- oder Flächennekrosen. Insofern war eine Unterscheidung von gesunden und nekrotischen Myokardbereichen nicht immer eindeutig möglich. Einige ausgeprägte Myokardinfarkte wurden wiederum kleiner und weniger deutlich dargestellt als in den HE-Schnitten. Lediglich bei 7 Fällen (5,5%) konnten einzelne tiefblau angefärbte Zellen beobachtet werden. Diese Einzelzellnekrosen konnten wiederum nicht mit den anderen Färbungen nachgewiesen werden. In 2 Fällen (1,6%) war die Abgrenzung zu Artefakten nicht sicher möglich. Insgesamt wurde eine deutliche Abweichung der Ergebnisse der modifizierten LFB-Färbung von den Ergebnissen der HE-Färbung und der beiden anderen Sonderfärbungen festgestellt (Tab. 13 und Abb. 14).

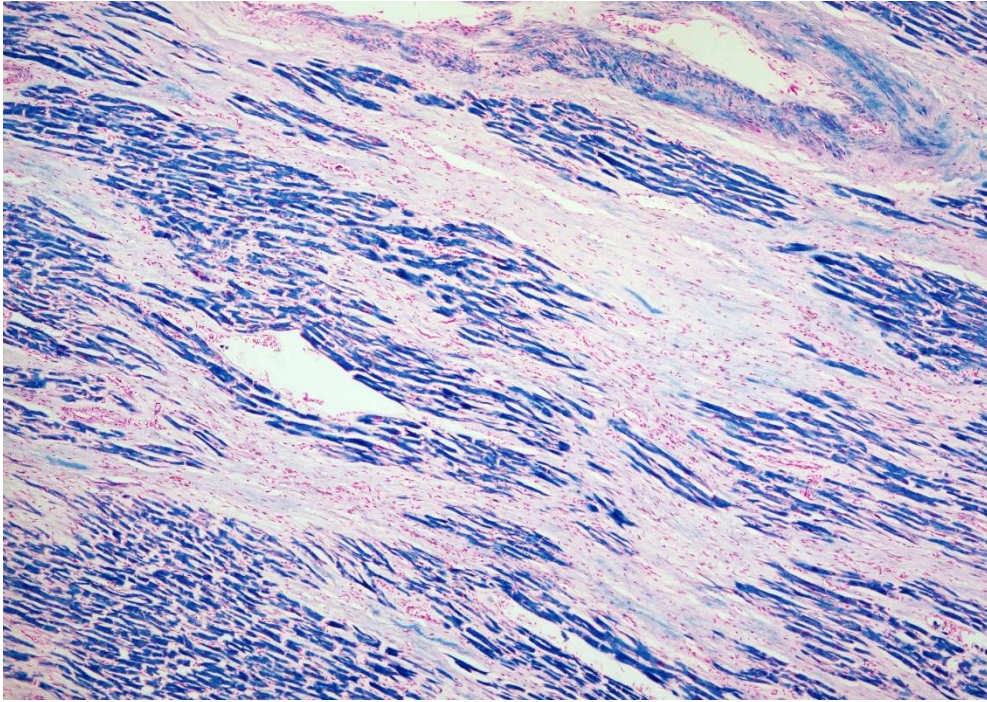


Abb. 8 Disseminierte Narben mit Blaufärbung des umliegenden Myokards. Kein akuter Myokard-Reinfarkt! Klinische Todesursache: Kammerflimmern. Sektionsdiagnose: Akute Koronarinsuffizienz. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. LFB, Objektiv 40x. Fall-Nr. 68, Sektions-Nr. S 55/14, Institut für Pathologie des CTK Cottbus.

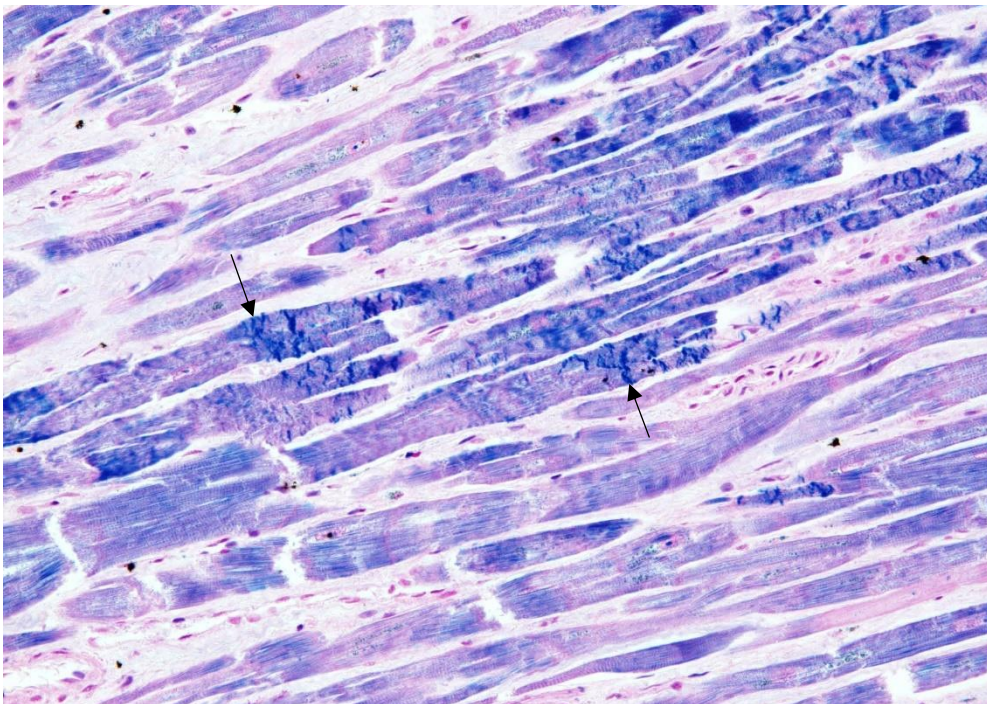


Abb. 9 Intensive Blaufärbung von Kontraktionsbändern als Zeichen von HMZ-Untergängen (Pfeile). Klinische Todesursache: V. a. akuten Myokardinfarkt. Sektionsdiagnose: Plötzliches Herzversagen infolge hochgradiger Koronarinsuffizienz. Postmortale Liegezeit ca. 6 Tage. LFB, Objektiv 20x. Fall-Nr. 105, Sektions-Nr. PS 17/2014, Brandenburgisches Landesinstitut für Rechtsmedizin Potsdam.

### C9c – Immunhistochemie

Die C9c-Immunreaktivität lässt sich qualitativ und quantitativ gut beurteilen, weil der Farbstoff nur an die nekrotischen Zellen gebunden wird und die restlichen Gewebestrukturen im Schnitt blassgrau erscheinen (Abb. 10-11). Es kann von einer echten Positivität ausgegangen werden, wenn die subendothelialen Arterienwände, die als interne Kontrolle dienen, ebenfalls positiv reagieren (Abb. 14-15). In 26 Fällen (20,3%) waren Einzelzellnekrosen nachweisbar, die im HE-Schnitt nicht zu erkennen waren (Abb. 14-15, Tab. 13). Die bereits mit der HE-Färbung dargestellten größeren Nekroseareale und Gruppenzellnekrosen konnten auch immunhistochemisch mit C9c nachgewiesen werden. Durch den Kontrast waren die Myokardbereiche sofort zu indentifizieren (Abb. 12-13). Lediglich in 2 Fällen blieb die C9c-Reaktion trotz erkennbarer großflächiger Nekrosebereiche im HE-Schnitt negativ, 3 Fälle (2,3%) wiesen Artefakte auf. Die Intensität der Färbung nahm bei stärker autolytischen Fällen teilweise leicht ab (Abb. 13). Die mit der modifizierten LFB- und *Lie*-Färbung angefärbten Myokardareale konnten mit der C9c-Immunhistochemie überwiegend nicht als Nekrosen verifiziert werden. 21 Fälle mit stark positiver LFB-Reaktion zeigten auch immunhistochemisch eine Anfärbung, wobei es sich nur um Einzelzell- bzw. Gruppennekrosen und nicht um Infarktareale handelte. Bei Anwendung der *Lie*-Färbung konnte nur in 12 Fällen eine Übereinstimmung mit der C9c-Färbung beobachtet werden. In insgesamt 73 von 128 Fällen (57%) war die Immunhistochemie mit dem C9c-Antikörper negativ.



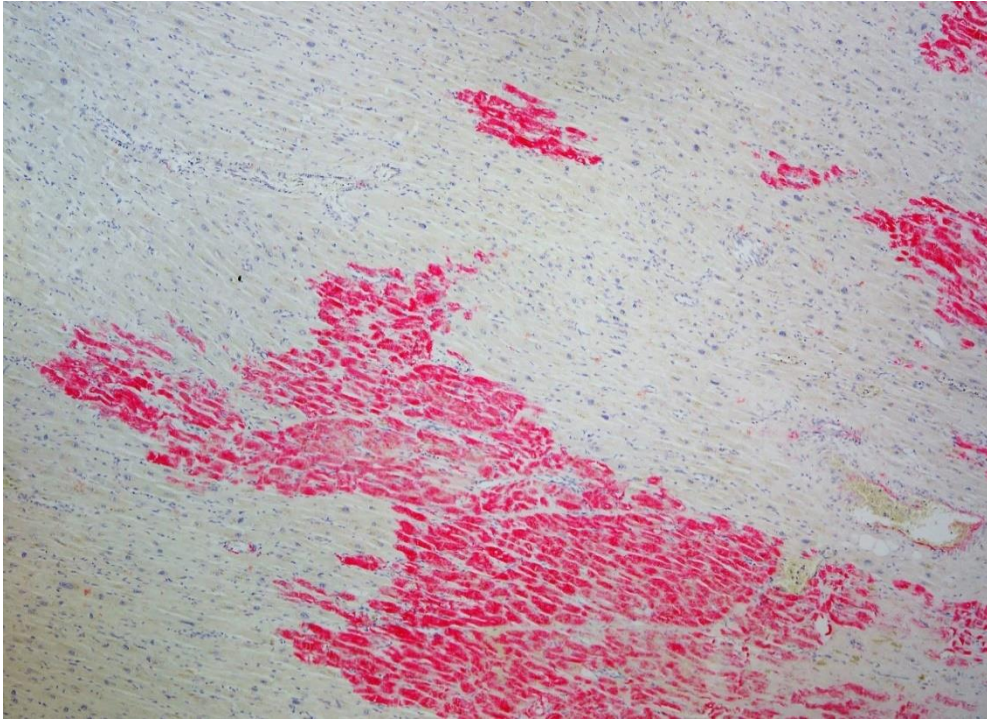


Abb. 10 Anteile eines Infarktareals mit frischen Gruppzellnekrosen (rot). Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. IHC, AK C9c, Objektiv 4x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

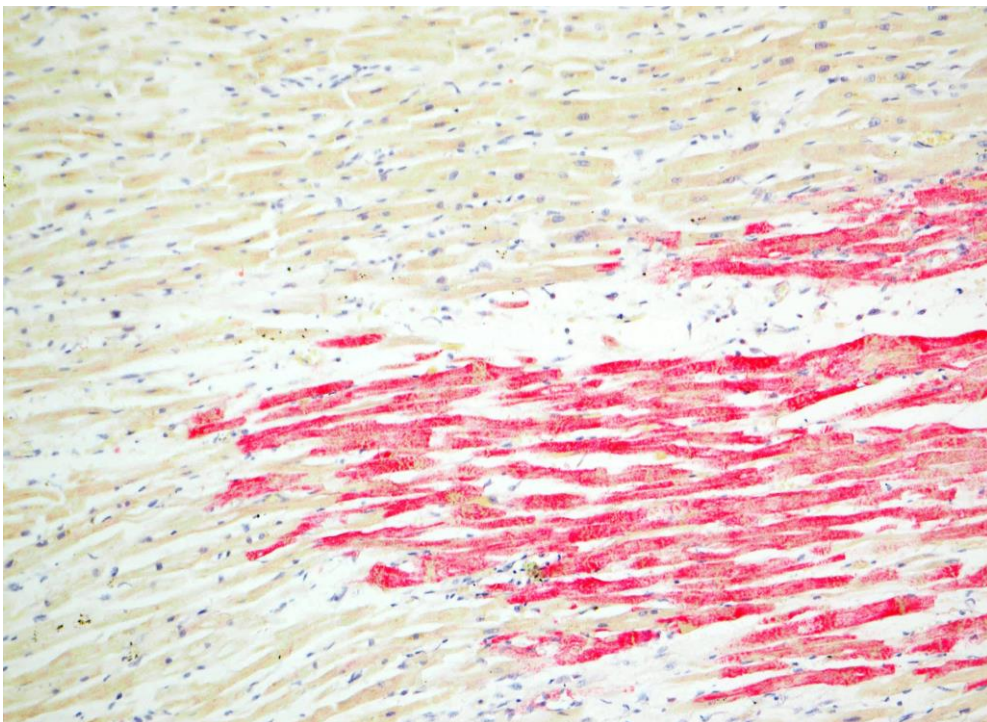


Abb. 11 Ausläufer frischer HMZ-Nekrosen an der Grenzzone eines Infarktareals. Klinische Todesursache: Hirnödem. Sektionsdiagnose: Akuter Myokardinfarkt. Postmortale Liegezeit: ca. 5 Tage. IHC, AK C9c, Objektiv 10x. Fall-Nr. 83, Sektions-Nr. S 90/14, Institut für Pathologie des CTK Cottbus.

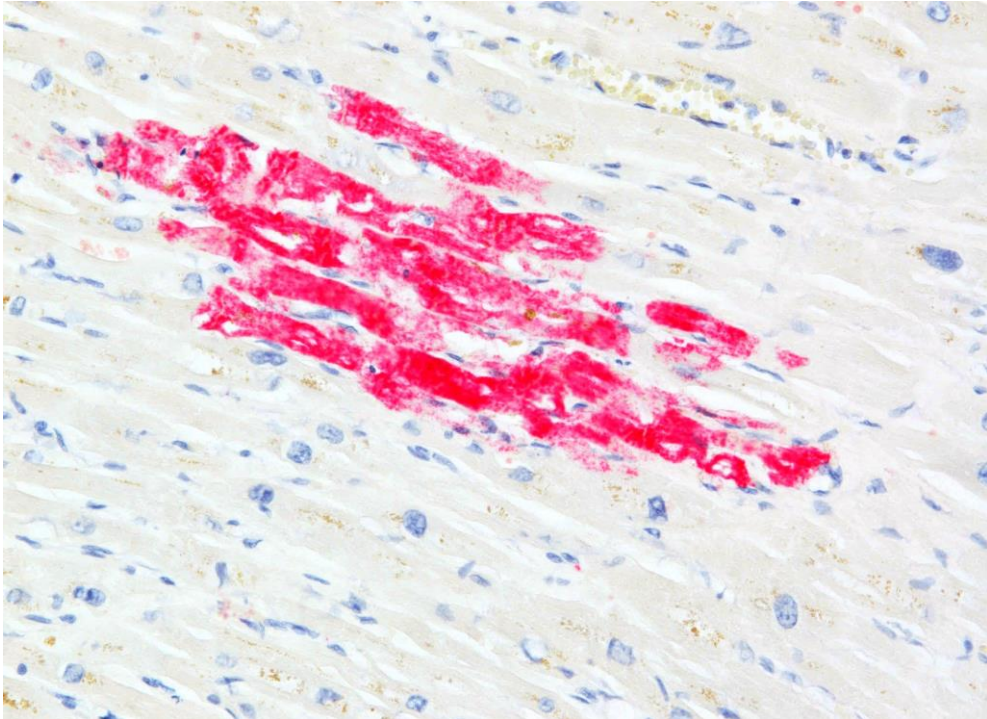


Abb. 12 Gruppennekrosen bei gut erhaltenem Myokard. Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. IHC, AK C9c, Objektiv 4x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

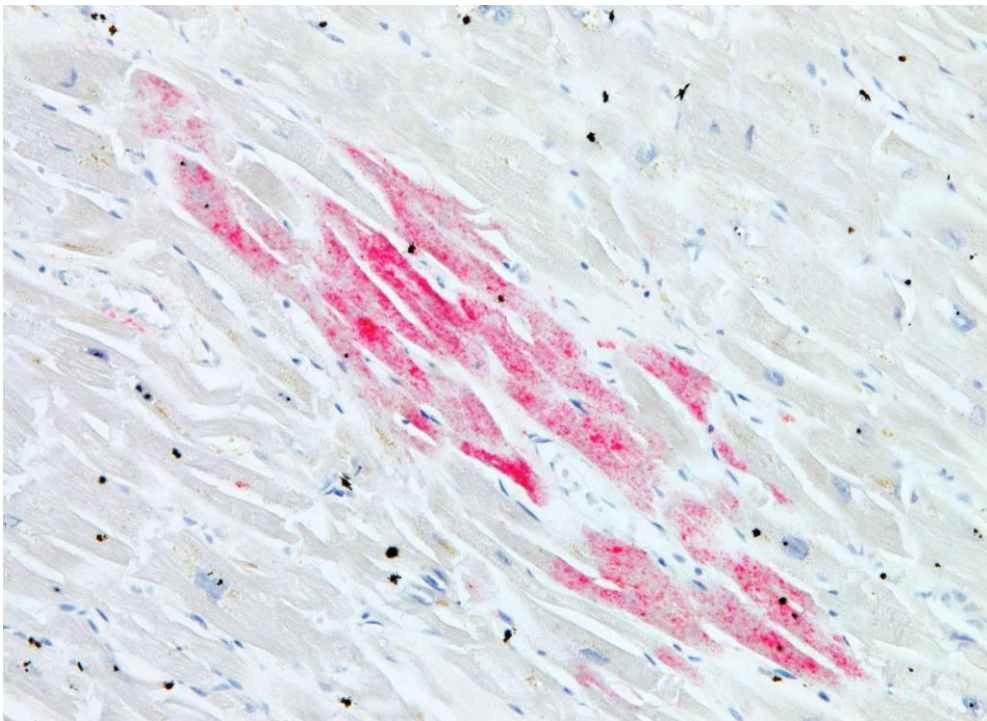


Abb. 13 Gruppennekrosen bei mäßig autolytischem Myokard. Klinische Todesursache: V. a. akuten Myokardinfarkt. Sektionsdiagnose: Plötzliches Herzversagen infolge hochgradiger Koronarinsuffizienz. Postmortale Liegezeit ca. 6 Tage. IHC AK C9c, Objektiv 20x. Fall-Nr. 105, Sektions-Nr. PS 17/2014, Brandenburgisches Landesinstitut für Rechtsmedizin Potsdam.

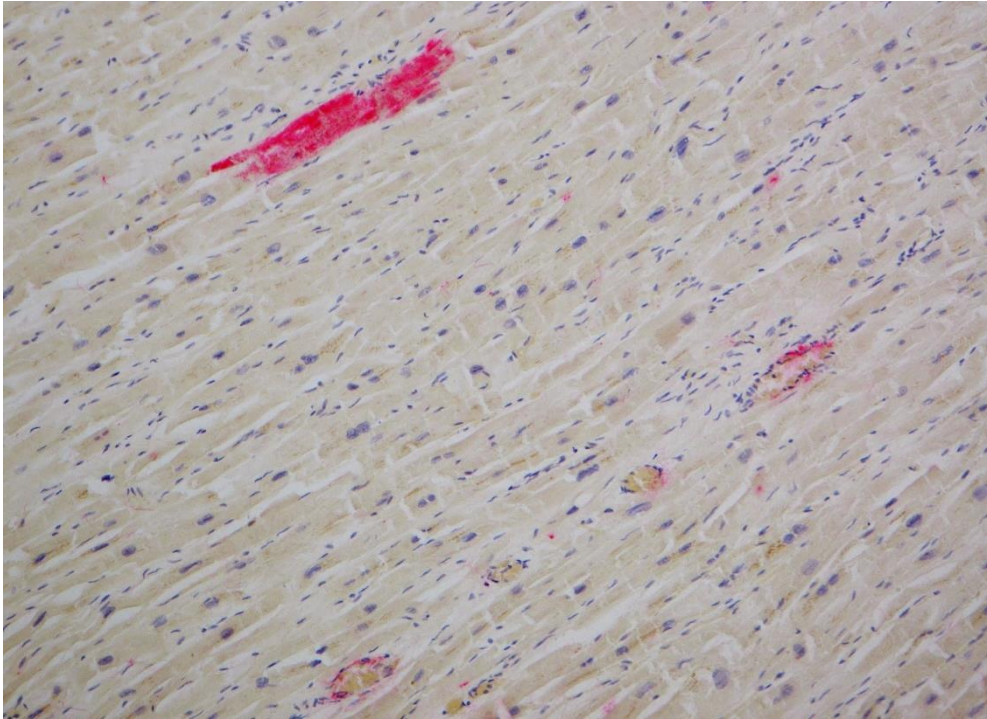


Abb. 14 Einzelzellnekrosen und angefärbte Arterienwände (positive interne Kontrolle). Klinische Todesursache: Herz-Kreislauf-Versagen bei kardiogenem Schock. Sektionsdiagnose: Kardiale Dekompensation. Postmortale Liegezeit ca. 1,5 Tage. IHC AK C9c, Objektiv 10x. Fall-Nr. 3, Sektions-Nr. A 233/10, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

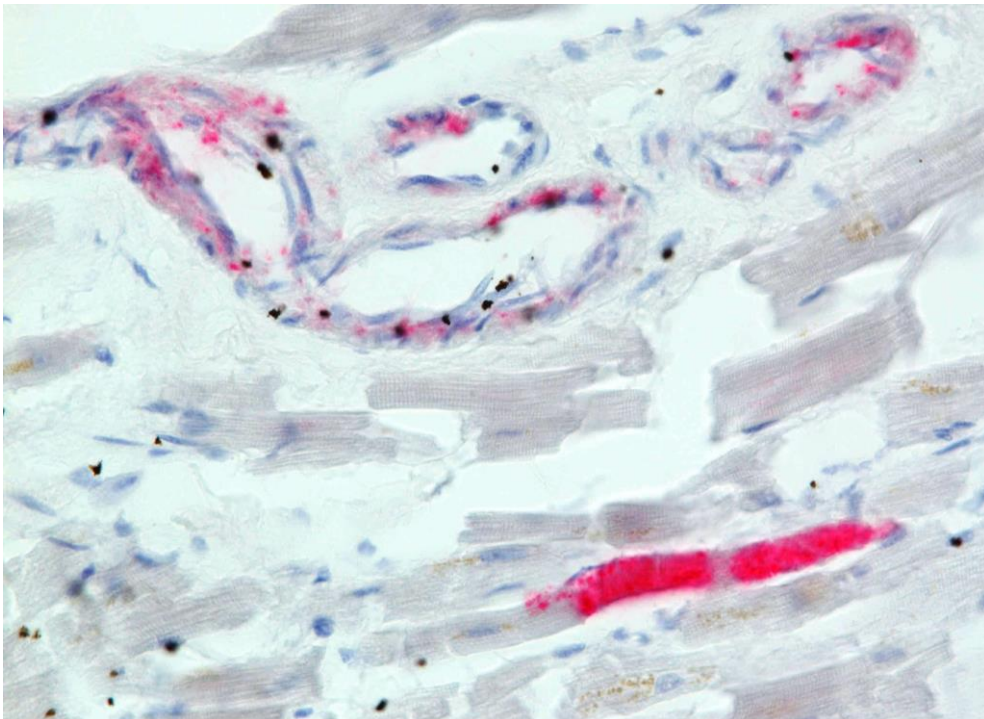


Abb. 15 Einzelzellnekrosen mit pos. int. Kontrolle. Fragmentierte HMZ mit Kernverlust (Autolyse). Klinische Todesursache: unklar. Sektionsdiagnose: Muskuläre Wandverbreiterung bei verengender Herzkranzschlagaderverkalkung. Postmortale Liegezeit ca. 6 Tage. IHC, AK C9c, Objektiv 40x. Fall-Nr. 93, Sektions-Nr. PS 123/2013, Brandenburgisches Landesinstitut für Rechtsmedizin Potsdam.

### Vergleichende Ergebnisse

Nachfolgend sind die Ergebnisse der HE-Färbung und der Sonderfärbungen tabellarisch zusammengefasst. Die Darstellung frischer Herzmuskelzellnekrosen wurde mit Hilfe einer semiquantitativen Einteilung von 0-3 bewertet. Der Wert 0 bedeutet, dass keine frischen Nekrosen erkennbar waren, 1 steht für disseminierte Einzelzellnekrosen, 2 für Gruppennekrosen und 3 für großflächige Nekroseareale. Da in einigen Fällen Nekrosen nicht sicher von Artefakten abgegrenzt werden konnten, wurden diese mit 0,5 bewertet. Die Ergebnisse für die Fälle, bei denen aufgrund der fehlenden internen positiven Kontrolle die C9c-Immunhistochemie wiederholt wurde, sind gesondert aufgeführt. Bei allen 36 Wiederholungsfällen war im 2. Durchgang die interne Kontrolle positiv, es gilt in diesen Fällen das zweite Ergebnis.

Die Kontrollfälle (n=12) mit einem im HE-Schnitt nachweisbaren akuten Myokardinfarkt und die fotografisch dokumentierte Fälle sind besonders gekennzeichnet (K = Kontrolle, ‡ = Fotodokumentation).

Die Zuordnung der Fallnummern zu den Sektionsnummern der untersuchten Fälle und den Instituten findet sich im Anhang.

Fall-Nr.	HE	Lie	LFB	C9c	C9c (W)	Postmortale Liegezeit [h]
1	0	0	2	0		40
2	0	1	3	0		97
3 ‡	0	0	2	0	1	36
4	0	0	2	0	0	52
5 ‡	0	1	2	0	0	26
6	0	0	2	0		30
7	0	1	2	0		38
8	0	0	3	0		21
9 K‡	3	1	3	3		75
10	3	0	3	3		44
11	0	0	3	0		35
12	0	2	2	0		44
13	0	0	2	0		34
14 ‡	3	1	3	3		37
15 K‡	3	1	3	3		98
16	0	1	3	0	0	64
17	0	0,5	2	0		192
18	0	0	2	0		106
19	2	1	3	2		88
20	0	1	3	1		72
21	0	1	3	0	0	123
22	0	1	2	0		93

23 <sup>K</sup>	3	1	3	3		148
24 <sup>K</sup>	3	2	3	1		85
25	0	2	3	0		79
26 <sup>K‡</sup>	3	2	3	2		93
27	0	2	2	0		40
28 <sup>K‡</sup>	3	0	3	3		39
29 <sup>K‡</sup>	3	2	3	2		94
30 <sup>K‡</sup>	3	1	3	2		30
31 <sup>K‡</sup>	3	1	3	1	2	38
32	0	2	3	0		50
33	0	2	2	0		34
34	0	2	3	1		92
35	0	0	2	2		73
36	0	1	3	0		168
37	0	1	3	2		76
38	0	1	3	0		97
39 <sup>K‡</sup>	3	0	3	3		89
40 <sup>K</sup>	3	2	3	1	2	44
41	0	2	2	2		14
42	0	1	3	0,5		25
43	0	0	2	1		83
44 <sup>K‡</sup>	3	0	3	3		26
45	0	2	2	0		131
46	0	0	2	0		70
47	0	1	3	0		93
48	1	2	3	0		24
49	0	2	2	0		24
50	0	2	2	0		48
51	0	1	2	0		96
52	0	0,5	2	0		696
53 <sup>‡</sup>	0	1	2	1		48
54	3	2	2	0		48
55	0	1	2	0		120
56	0	1	2	0		240
57	0	2	2	0		72
58	0	2	3	0		48
59	2	1	1	0		120
60 <sup>‡</sup>	3	2	2	2		96
61	0	2	2	0	0	168
62 <sup>‡</sup>	0	2	2	0	1	168
63	0	2	2	0		48
64 <sup>‡</sup>	3	2	3	3		120
65	1	1	3	1		48
66 <sup>‡</sup>	0	2	2	0		96
67	0	2	2	0		168
68 <sup>‡</sup>	0	1	2	0		24
69	0	1	2	0	0	48
70 <sup>‡</sup>	0	2	2	1		120
71	0	2	3	0		96
72	0	2	2	0		48

73 †	3	2	3	3		120
74	3	1	2	1	2	48
75	0	2	2	0		24
76	0	0	2	0		48
77	0	2	2	0		96
78	0	0,5	0,5	0	1	144
79	3	0	3	3		168
80	0	0	2	0	1	48
81	0	1	1	0	1	72
82 †	0	2	2	0	1	192
83 †	3	0	3	3		120
84	0	0	2	0		24
85 †	3	1	2	3		96
86	1	0	2	0		96
87	0	0	3	0	0	115
88	0	0	2	0		237
89	0	0	3	0	1	93
90	0	0	3	0	1	69
91	0	0,5	2	0	1	90
92	0	0,5	3	0	1	114
93 †	0	0	3	0	1	144
94	0	2	3	0		54
95 †	3	0	2	3		unbekannt
96	0	0	3	0	1	40
97	0	0	3	0		51
98	0	0,5	2	0		37
99	0	2	3	0	0	396
100	3	0,5	2	2		116
101	3	0	3	3		144
102	2	0,5	3	0,5		81
103	0	0	2	0	0	74
104	0	2	3	0	0	unbekannt
105 †	0	0,5	1	0	1	144
106	0	0	1	0		unbekannt
107	0	2	2	0	1	24
108	0	1	2	0	0	169
109	0	2	3	0	0	131
110	3	1	3	0	0	144
111	1	1	2	0		115
112	0	0	1	0		unbekannt
113	0	0,5	2	0	0	111
114	0	0	1	0	1	69
115	0	0,5	3	0	1	96
116	0	0,5	1	0	0	66
117	0	0,5	3	0		106
118	0	0	2	0		146
119	0	0,5	3	0	0	240
120	0	0,5	3	0,5		192
121 †	0	1	2	0		144
122	0	1	3	0		114

<b>123</b>	0	0	0,5	0		unbekannt
<b>124</b>	0	2	3	0		134
<b>125</b> †	0	2	2	0		96
<b>126</b> †	0	2	2	0	1	144
<b>127</b>	0	2	2	0		130
<b>128</b>	0	1	2	1		38

Tab. 13 Vergleichende Ergebnisse der HE-Färbung und der Sonderfärbungen  
 0 = keine frischen Nekrosen, 0,5 = nicht sicher von Artefakten abzugrenzen,  
 1 = disseminierte Einzelzellnekrosen 2 = einzelne oder disseminierte Gruppennekrosen,  
 3 = großflächige Nekroseareale, W = Wiederholung, K = Kontrolle, † = Fotodokumentation

Eine zusammenfassende Bewertung der Ergebnisse ergibt folgenden Befund: Bei der modifizierten LFB-Färbung wiesen 44,1% der Fälle großflächige und meist intensiv angefärbte Myokardareale auf, die nach der semiquantitativen Einteilung zwar mit Wert 3 zu bewerten waren, aber im Vergleich mit den Ergebnissen der anderen Färbungen nicht als Nachweis von Infarktarenalen angesehen werden können, sondern als falsch positiv zu interpretieren sind (Tab. 14). Mit der C9c-Immunhistochemie konnten tatsächlich in 57% der Fälle keine Herzmuskelzellnekrosen festgestellt werden (Tab. 14). Disseminierte Einzelzellnekrosen (Wert 1) und Gruppennekrosen (Wert 2) waren in der *Lie*- und der C9c-Färbung gut erkennbar. Es konnten mehr Einzelzell- und Gruppennekrosen nachgewiesen werden als mit der HE-Färbung. Die Anzahl der möglichen Artefakte (Wert 0,5) ist bei der *Lie*-Färbung jedoch am höchsten (11,7%). Infarktareale (Wert 3) können mit der *Lie*-Färbung nicht purpurrot markiert werden, da das Fuchsin nur eine Affinität zu frisch ischämisch geschädigten Herzmuskelzellen aufweist (Tab. 14). Frische bzw. frühe Herzmuskelzellnekrosen sind als Nekrosen ohne leukozytäre Demarkation definiert und werden in der vorliegenden Arbeit als identisch betrachtet.

Wert	HE		LFB		Lie		C9c	
	Häufigkeit	Prozent	Häufigkeit	Prozent	Häufigkeit	Prozent	Häufigkeit	Prozent
0	95	74,2	0	0	36	28,1	73	57,0
0,5	0	0	2	1,6	15	11,7	3	2,3
1	4	3,1	7	5,5	36	28,1	25	19,5
2	3	2,3	62	48,8	41	32,0	12	9,4
3	26	20,3	57	44,1	0	0	15	11,7
Gesamt	128	100,0	128	100,0	128	100,0	128	100,0

Tab. 14 Ergebnisse der HE-Färbung und der Sonderfärbungen in Prozent  
 0 = keine frischen Nekrosen, 0,5 = nicht sicher von Artefakten abzugrenzen,  
 1 = disseminierte Einzelzellnekrosen 2 = einzelne oder disseminierte Gruppennekrosen,  
 3 = großflächige Nekroseareale

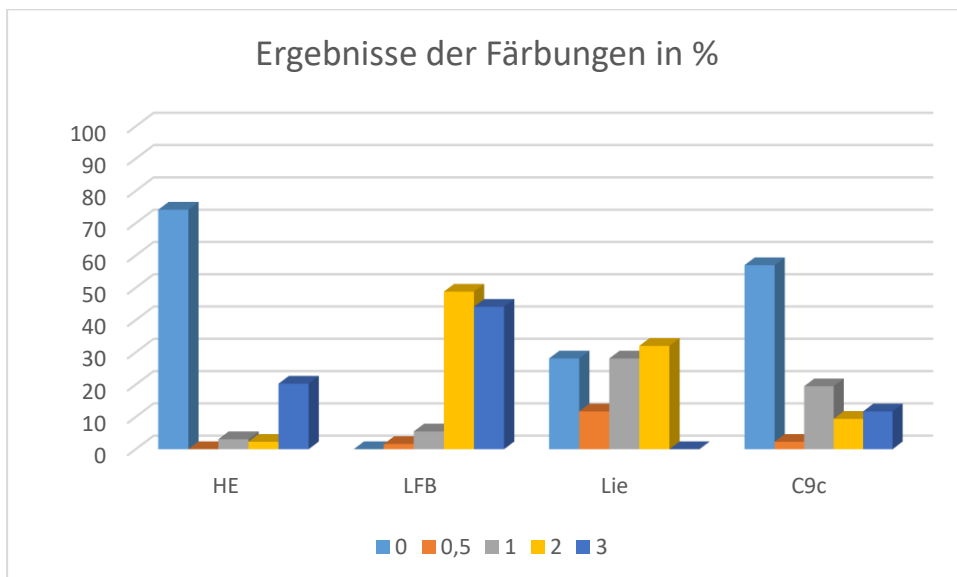


Abb. 16 Prozentuale Verteilung der Färbungsergebnisse  
 0 = keine frischen Nekrosen, 0,5 = nicht sicher von Artefakten abzugrenzen,  
 1 = disseminierte Einzelzellnekrosen, 2 = einzelne oder disseminierte  
 Gruppennekrosen, 3 = großflächige Nekroseareale



Die in dieser Studie angewandten Färbungen sind nachfolgend exemplarisch im Vergleich von zwei unterschiedlichen Myokardarealen von Fall-Nr. 44 (S 139-14, Charité) dargestellt. Hierbei wird die unterschiedliche Aussagekraft der Färbungen deutlich, insbesondere die selektive Anfärbung von frühen Herzmuskelzellnekrosen mit der C9c-Immunhistochemie. Die Färbungen wurden an histologischen Stufenschnitten angefertigt, die deshalb weitgehend identische Myokardabschnitte zeigen. Als Orientierungshilfe dient im Beispiel 1 (Abb. 17-20) ein intramuraler Koronararterienast (im Bild links unten), der jeweils mit einem Pfeil gekennzeichnet ist.

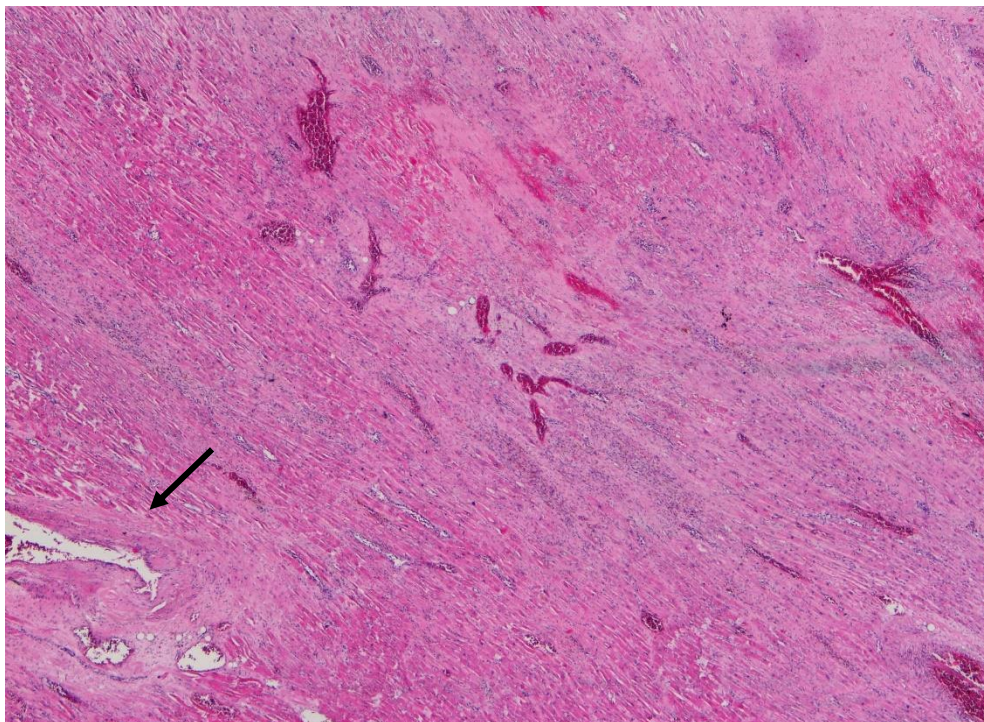


Abb. 17 Myokardareal mit akutem Reinfarkt, Hyperämie und Hämorrhagien. Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. HE, Objektiv 4x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

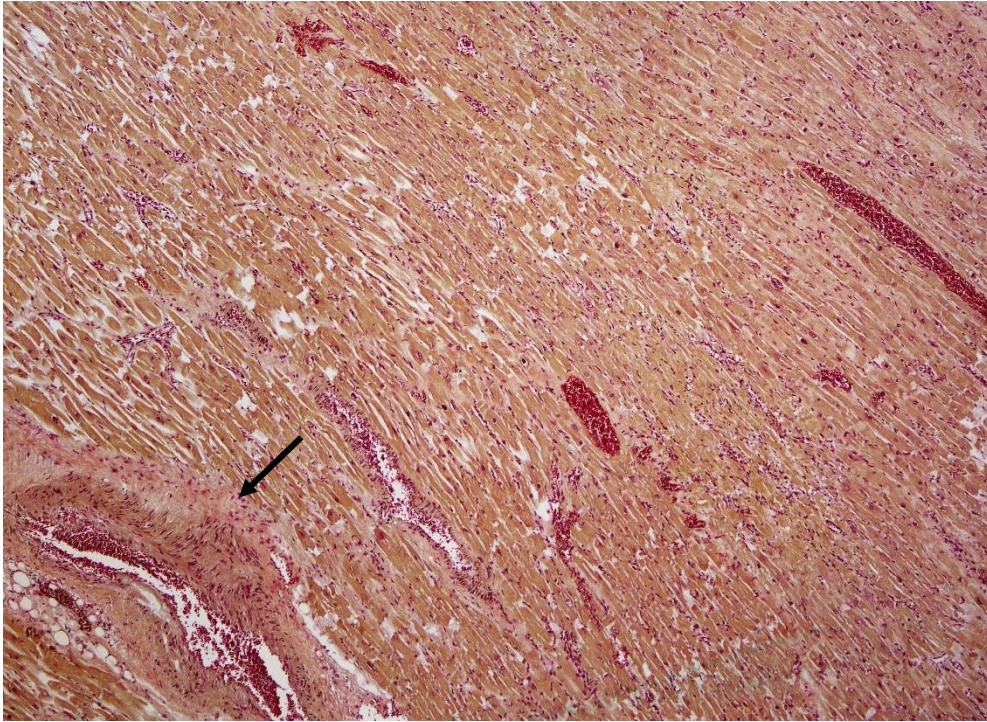


Abb. 18 Ältere HMZ-Nekrosen, aufgrund des Affinitätsverlustes des Fuchsin nicht erkennbar angefärbt (s. S. 63). Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. Lie-Färbung, Objektiv 4x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

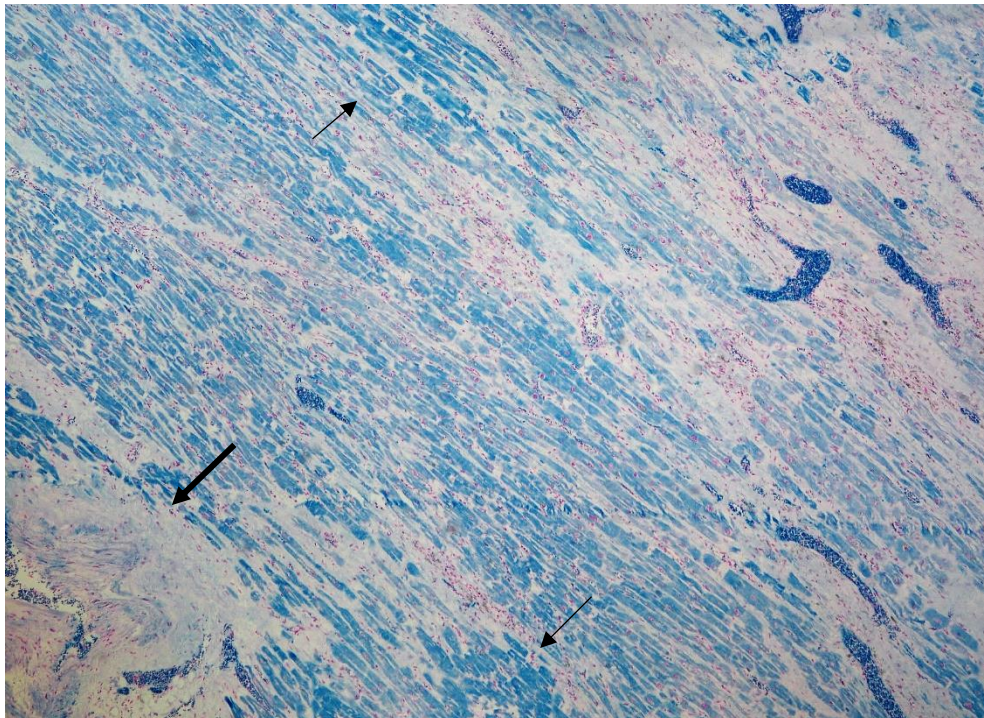


Abb. 19 Nicht selektive Darstellung von HMZ-Nekrosen (Pfeile). Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. LFB, Objektiv 4x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

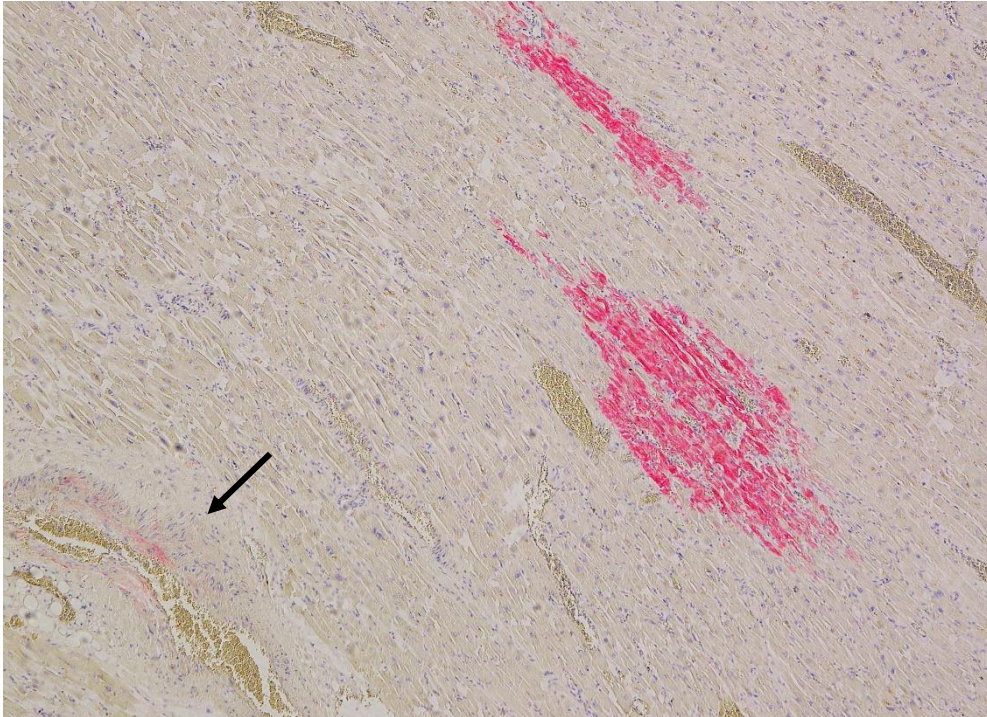


Abb. 20 Selektive Darstellung von Gruppenzellnekrosen. Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. IHC, AK C9c, Objektiv 4x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

Das zweite Beispiel zum Vergleich der Aussagekraft der verschiedenen Färbungen zeigt einen größeren Myokardanteil der linken Ventrikelwand mit einem Papillarmuskel. In der Übersicht sind keine Herzmuskelzelluntergänge zu erkennen (Abb. 21). In stärkerer Vergrößerung ist eine Gruppenzellnekrose im Zentrum des Papillarmuskels in allen 4 Färbungen zu sehen. Die *Lie*-Färbung weist in diesem Bereich nur noch eine mikrofokale Purpurfärbung auf (Abb. 23), die bei alleiniger Betrachtung dieser Färbung nicht als Nachweis für eine Nekrose interpretiert werden würde. Die modifizierte LFB-Färbung zeigt eine tiefblaue Anfärbung der Gruppenzellnekrose, jedoch ebenfalls eine Blaufärbung ähnlicher Intensität von anderen Myokardbereichen. Im Vergleich mit der HE-Färbung ist erkennbar, dass es sich hierbei um gesundes Myokard und damit um eine unspezifische Anfärbung handelt. Mit der C9c-Immunhistochemie gelingt eine selektive kontrastreiche Darstellung der Nekrose, die somit auf den ersten Blick zu erkennen ist (Abb. 25), während die Gruppennekrose in der HE-Färbung nur vermutet werden kann (Abb. 22).

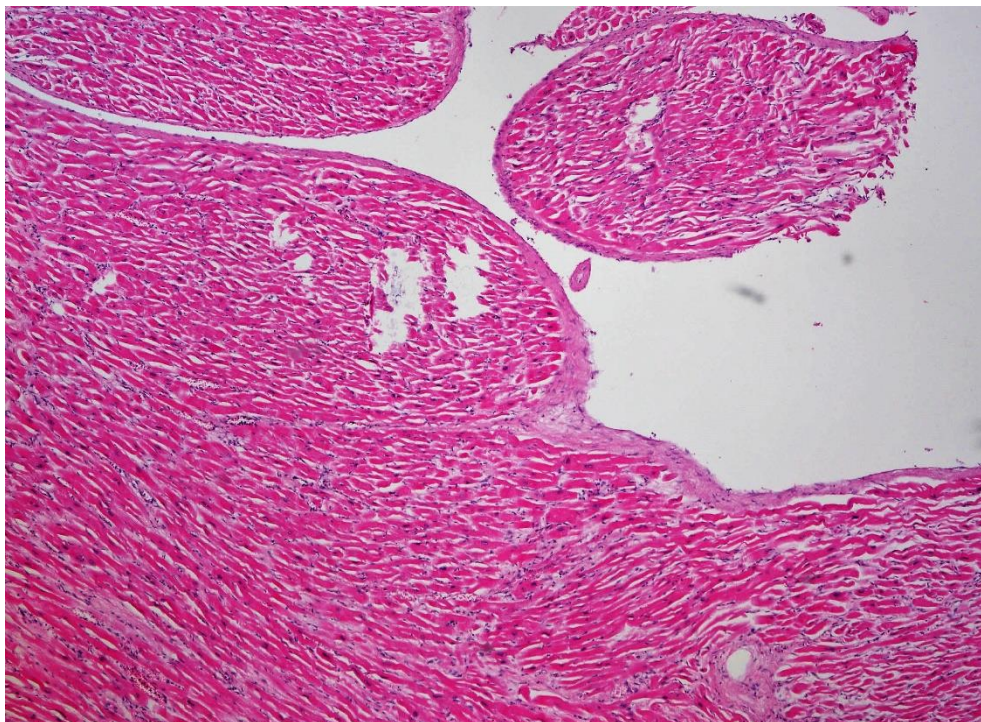


Abb. 21 Linke Ventrikelwand mit Papillarmuskelanschnitt in der Übersicht. Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. HE, Objektiv 4x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

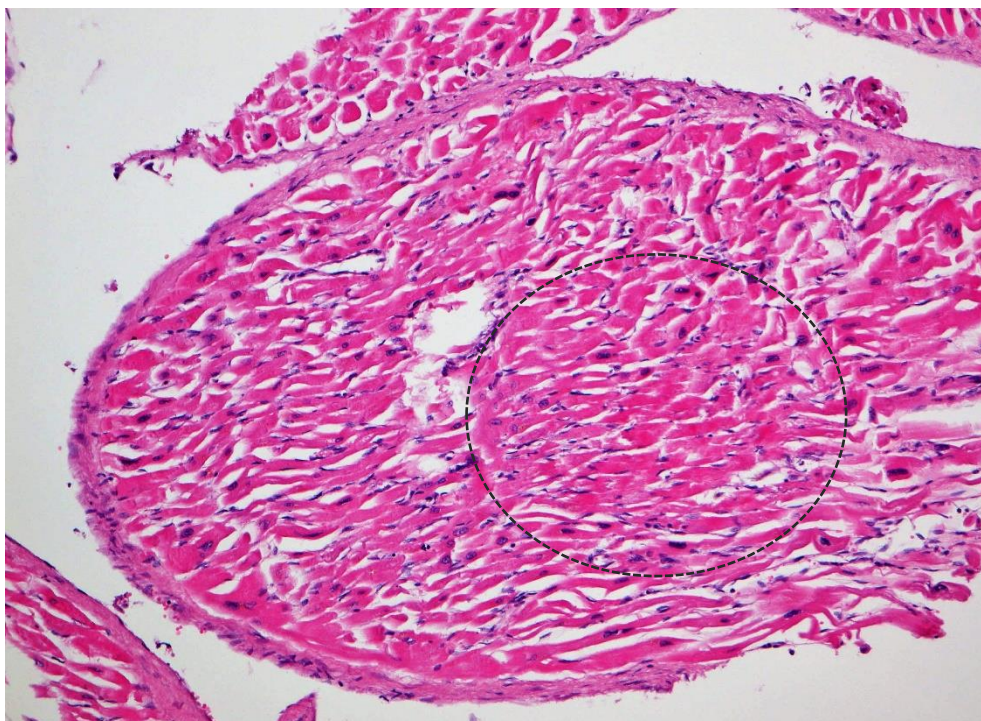


Abb. 22 Papillarmuskel mit Gruppenzellnekrosen (Kreis). Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. HE, Objektiv 10x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

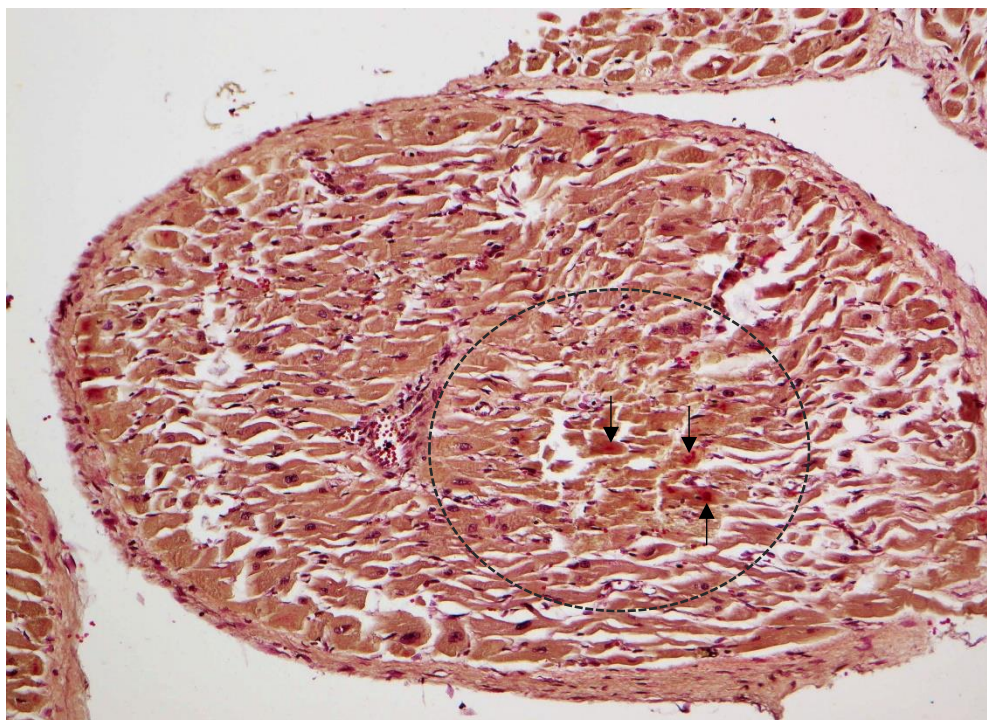


Abb. 23 Angedeutete Purpurfärbung der Gruppenelemente (Pfeile). Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. Lie-Färbung, Objektiv 10x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

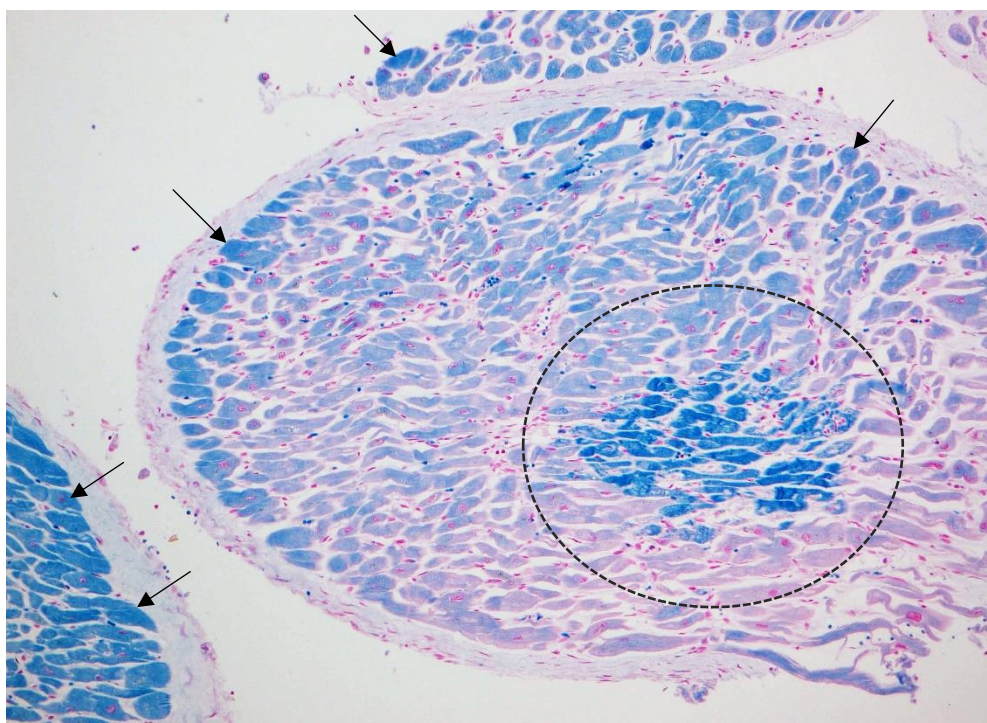


Abb. 24 Intensive Blaufärbung der Gruppenelemente (Kreis), unspezifische Anfärbung im Randbereich und in der Ventrikelwand (Pfeile). Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. LFB-Färbung, Objektiv 10x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

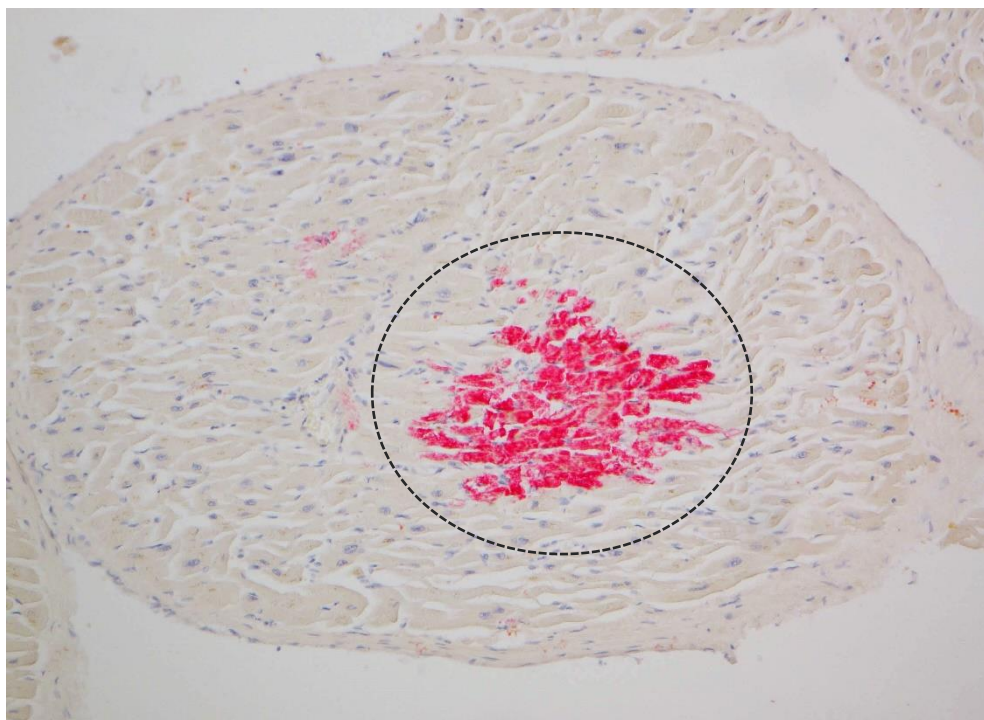


Abb. 25 Selektiver Nachweis der Gruppenzellnekrosen mittels C9c-Immunhistochemie. Klinische Todesursache: Herzinsuffizienz. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 1 Tag. IHC, AK C9c, Objektiv 10x. Fall-Nr. 44, Sektions-Nr. S 139/14, Institut für Pathologie der Charité Berlin.

#### 4.3.4 Einfluss der Autolyse

Ein direkter Zusammenhang zwischen den Färbeargebnissen und dem Einfluss autolytischer Veränderungen ließ sich nicht nachweisen. Das Ausmaß der Autolyse hängt wesentlich von der Umgebungstemperatur des Verstorbenen und der postmortalen Liegezeit ab. Die Umgebungstemperatur war in den untersuchten Fällen nicht dokumentiert und konnte deshalb nicht ausgewertet werden. Die postmortale Liegezeit war hingegen in 123 der 128 untersuchten Fälle bekannt. Die kürzeste Liegezeit betrug 14 Stunden, die längste 29 Tage (Tab. 7). Immunhistochemisch konnte in 97,7% der Fälle eine positive interne Kontrolle festgestellt werden, und zwar auch bei postmortalen Liegezeiten von mehreren Wochen. Der Befund belegt eine korrekt abgelaufene Färbungsreaktion. Daraus lässt sich jedoch nicht schlussfolgern, dass bei stärker autolytisch veränderten Gewebeproben auch eine C9c-Immunreaktivität abgestorbener Herzmuskelzellen nachgewiesen werden kann. Diese wurde in der vorliegenden Studie nur bis zu einer Liegezeit von 8 Tagen beobachtet (Abb. 26, Fall-Nr. 82). Drei Fälle mit unterschiedlichen Liegezeiten wiesen mögliche Artefakte auf, die sich als geringe

punktueller Anfärbungen von Herzmuskelzellen äußerten. In einem Fall (Fall-Nr. 42) betrug die postmortale Liegezeit nur 25 Stunden, eine Zeitspanne, bei der die Gewebsveränderungen durch Autolyse im Gegensatz zur Liegedauer der anderen beiden Fälle von 3 (Fall-Nr. 102) bzw. 8 Tagen (Fall-Nr. 120) als gering einzustufen sind (Tab. 13). Wie aus den Untersuchungen hervorgeht, nimmt die Intensität der C9c-Immunreaktivität mit fortschreitender Autolyse leicht ab (S. 70, Abb. 12-15, Abb. 26). Bei der *Lie*-Färbung traten einige Fälle auf, bei denen sich mögliche Nekrosen nicht sicher von Artefakten abgrenzen ließen (Wert 0,5; Tab. 14). 12 der insgesamt 15 Fälle mit möglichen Artefakten stammen aus dem Institut für Rechtsmedizin Potsdam (Tab. 13). Die Gewebeproben wurden meist über lange Zeit in Formalin asserviert, während das Gewebe in den Instituten für Pathologie kurz nach der Sektion eingebettet wurde. Die postmortalen Liegezeiten der rechtsmedizinischen Fälle (Fall-Nr. 86-128) reichten von 37 Stunden bis zu 29 Tagen und bewegten sich überwiegend in einem Bereich von 4-6 Tagen (Tab. 13). Die modifizierte LFB-Färbung zeigte unabhängig von der postmortalen Liegezeit in 44,1% der Fälle eine großflächige Anfärbung (Wert 3) und somit in annähernd der Hälfte der Fälle ein falsch positives Ergebnis (Tab. 14).

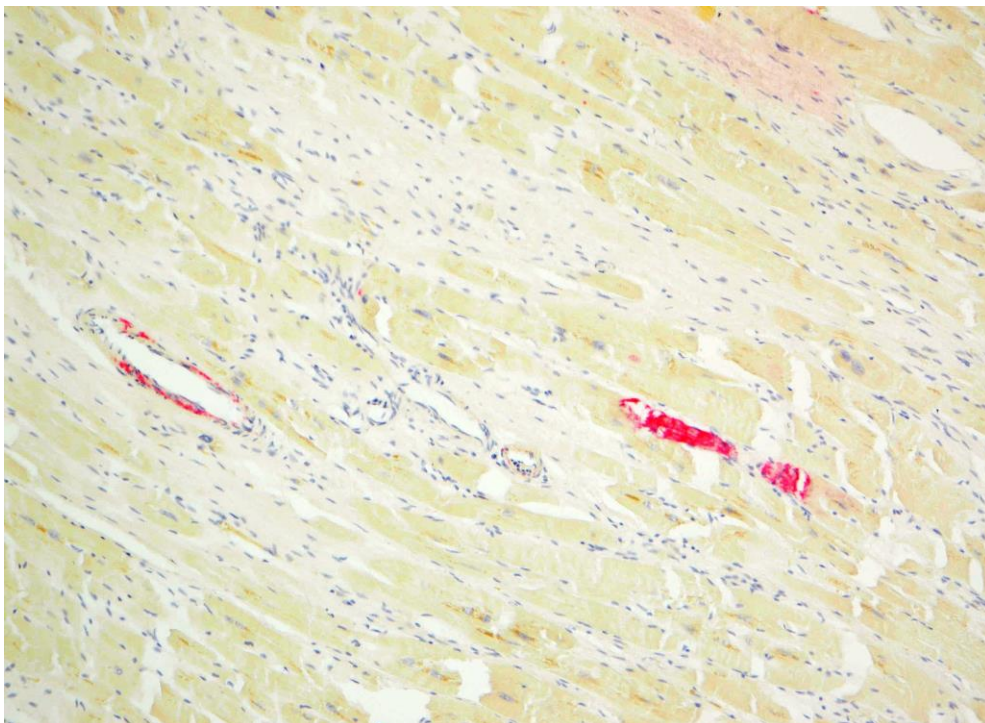


Abb. 26 Nachweis von Einzelzellnekrosen mit positiver interner Kontrolle bei fortgeschrittener Autolyse. Klinische Todesursache: unklar. Sektionsdiagnose: Akuter Reinfarkt. Postmortale Liegezeit ca. 8 Tage. IHC, AK C9c, Objektiv 10x. Fall-Nr. 82, Sektions-Nr. S 88/14, Institut für Pathologie des CTK Cottbus.

## 4.4 Diskussion

### 4.4.1 Material

Für die vorliegende Studie wurden Sektionsfälle ausgewählt, bei denen die Überlebenszeit der Patienten bzw. betroffenen Personen ab Beginn der Symptomatik weniger als 6 h betrug. Dafür wurde eine systematische Archivsuche in zwei Instituten für Pathologie und einem Institut für Rechtsmedizin durchgeführt. Es wurden hauptsächlich Fälle mit den Sektionsdiagnosen plötzlicher Herztod, akuter Myokardinfarkt und akute Koronarinsuffizienz einbezogen, denen frische Myokardnekrosen zugrunde lagen, aber auch alle Fälle mit anderen pathologisch-anatomischen Todesursachen, die das Vorhandensein frischer Herzmuskelzellnekrosen vermuten ließen. Die Diagnose eines plötzlichen Herztodes wurde aufgrund der begrenzten Nachweismöglichkeiten vermutlich seltener gestellt als es in Wirklichkeit zutreffend gewesen wäre. Stattdessen fand sich in den Sektionsprotokollen eine Reihe unpräziser, umschreibender Begriffe, die nach den Richtlinien der WHO als Todesursache unzulässig sind. So lautete in knapp 11% der Fälle die Sektionsdiagnose „Kardiales Versagen“, eine Diagnose, die weder als klinische noch als pathologische oder forensische Todesursache verwendet werden soll, weil sich dahinter verschiedene Krankheiten verbergen, für die oft kein adäquates Korrelat (beispielsweise eine signifikante Koronarstenose mit ischämischen Myokardnekrosen) gefunden wird. Die Sektionsdiagnose „Herzversagen“ wurde gehäuft bei den Sektionsfällen des rechtsmedizinischen Instituts festgestellt. Für die Studie wurde eine Vielzahl ähnlich lautender Bezeichnungen zusammengefasst, was die fehlende Einheitlichkeit in der Anwendung der Nomenklatur deutlich widerspiegelt. Der akute Myokardinfarkt war in der ausgewählten Stichprobe mit 42,2% am häufigsten als Sektionsdiagnose vertreten, gefolgt von den Diagnosen plötzlichem Herztod (22,7%) und akute Koronarinsuffizienz (15,6%).

Das durchschnittliche Alter aller untersuchten Fälle lag bei 62,5 Jahren. 63% der Fälle waren männlichen Geschlechts. Diese Häufigkeit bestätigt die in der Literatur beschriebene höhere Inzidenz des plötzlichen Herztodes bei Männern mittleren Alters.<sup>23</sup> Der mittlere BMI von 28,7 deutet auf den Risikofaktor Übergewicht hin. Das durchschnittliche Herzgewicht von 532 g und die mittlere Kammerwandstärke des linken Ventrikels von 16 mm sind bei einem Großteil der Fälle Ausdruck einer pathologischen Herzhypertrophie und ein häufiger Befund bei der koronaren Herzkrankheit. Bei 52,8%



der Fälle lag das Herzgewicht über 500 g und bei 89,7% der Fälle betrug die Kammerwandstärke des linken Ventrikels mehr als 12mm. Insgesamt betrachtet wiesen die meisten der untersuchten Fälle typische Merkmale einer koronarbedingten ischämischen Vorschädigung auf. Andererseits gab es auch immer wieder Fälle eines plötzlichen Herztodes bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen (das Mindestalter in der untersuchten Fallpopulation betrug 20 Jahre) ohne Anzeichen einer koronaren Vorschädigung.<sup>20, 22</sup>

Die Herzgewebsproben der Sektionsfälle wurden unterschiedlich konserviert. Während die Proben in den beiden Instituten für Pathologie als Paraffinblöcke vorlagen, wurden die Gewebsproben aus dem Institut für Rechtsmedizin zum überwiegenden Teil über lange Zeit (bis zu 3 Jahren) in Formalin asserviert, da eine histologische Untersuchung nur in Einzelfällen erfolgte. Diese Gewebsproben mussten zunächst zugeschnitten und in Paraffin eingebettet werden. Das Gewebe befand sich in einem deutlich schlechteren Zustand als die Proben aus den pathologischen Instituten, so dass histologisch gehäuft Artefakte auftraten. Beispielsweise wurden veränderte Färbeergebnisse beobachtet, die sich bei der *Lie*-Färbung in einem erweiterten Farbspektrum von Purpurrot hin zu einem bräunlichen Rot äußerten. Weiterhin musste bei den rechtsmedizinischen Fällen die in der Regel längere postmortale Liegezeit von mehreren Tagen bis einigen Wochen berücksichtigt werden, so dass der Einfluss autolytischer Veränderungen eine deutlich größere Rolle spielte.

Die Vergleichbarkeit der untersuchten Fälle war nicht nur durch die unterschiedlichen postmortalen Liegezeiten und Lagerungsbedingungen der Verstorbenen eingeschränkt, sondern auch durch differente Vorgehensweisen, insbesondere hinsichtlich der Fixierungsdauer der Gewebsproben bis zur Paraffineinbettung und die nicht standardisierte Entnahme der Myokardproben, die jedoch für das Ziel der Studie von geringerer Bedeutung waren.

#### **4.4.2 Methoden**

Die sicherste Methode zum Nachweis früher ischämischer Herzmuskelzellschäden ist die Elektronenmikroskopie. Dafür müssen die Gewebsproben sofort nach Eintritt des Todes entnommen werden. Das ist nur in den seltensten Fällen möglich, da die juristische Grundlage fehlt. In der Vergangenheit gab es nur wenige genehmigte Studien zur

Durchführung einer sog. Cito-Sektion, wie beispielsweise von 1966-68 in der Charité Berlin zum histologischen Nachweis des akuten Nierenversagens. In Moskau wurden auf der Grundlage einer Genehmigung des Ministeriums für Gesundheitswesen der UdSSR im Rahmen einer groß angelegten wissenschaftlichen Studie in Kooperation mit den USA von 1977-82 Obduktionen von plötzlich Verstorbenen innerhalb von 2 Stunden durchgeführt, um unter anderem ultrastrukturelle Veränderungen in den Herzmuskelzellen, den extrakardialen Ganglien und bestimmten Hirnarealen zu charakterisieren.<sup>46</sup> Die umfangreichen Ergebnisse wurden in drei Kongressbänden veröffentlicht.<sup>3, 26, 37, 38, 43, 46, 48, 51, 53, 54, 168</sup> In der Routinepraxis ist es aufgrund der Rechtslage kaum möglich, innerhalb weniger Stunden nach dem Tode eine Autopsie durchzuführen. Deshalb war es ein Anliegen der vorliegenden Studie, andere praktikable Methoden zu prüfen, die durch den Nachweis gravierender morphologischer Veränderungen, wie z.B. disseminierte Herzmuskelzelluntergänge, zur Aufklärung der Ursache eines plötzlichen Herztodes beitragen können.

Zwei ausführlich beschriebene histologische Methoden zur Erkennung früher ischämischer Myokardschäden sind die Hämatoxylin-Basisches Fuchsin-Pikrinsäure (HBFP)-Färbung nach *Lie*<sup>99</sup> und die modifizierte Luxol-Fast-Blue (LFB)-Färbung nach *Arnold*<sup>112</sup>. Nach Einführung der Immunhistochemie wurden zunächst an Gefrierschnitten<sup>124</sup> und später auch an Paraffinschnitten Antikörper zum Nachweis frischer Herzmuskelzellnekrosen getestet.<sup>132</sup> Dabei wurden mit dem Komplementantikörper C9c gute und vergleichbare Ergebnisse erzielt.<sup>140-142</sup> In einigen Untersuchungen wurden verschiedene Methoden (z.B. PTAH-, modifizierte LFB-, in einer Studie auch die *Lie*-Färbung, immunhistochemische Marker wie Desmin, Myoglobin, Fibrinogen, Troponin T und C9c) in unterschiedlichen Kombinationen zum Nachweis frischer Herzmuskelzellnekrosen eingesetzt, um diese an menschlichen Gewebeproben miteinander zu vergleichen.<sup>80, 81, 83, 140, 141, 148, 150</sup> Allerdings wurden bisher in keiner Studie die *Lie*-, modifizierte LFB- und C9c-Färbungen unter dem Aspekt ihrer Eignung zum Nachweis einer frühen, in der HE-Färbung nicht erkennbaren irreversiblen Herzmuskelschädigung in der praktischen Diagnostik geprüft.

Die HBFP-Färbung nach *Lie* muss mit dem Hintergrundwissen betrachtet werden, dass das basische Fuchsin nur akut ischämisch geschädigte Zellen anfärbt, um Fehlinterpretationen zu vermeiden. Mit dem Fortschreiten der Zellschädigung bis hin zur Nekrose verliert das Fuchsin zunehmend seine Zell-Affinität, und zwar nach einer Überlebenszeit von 8-12 Stunden. Insofern können mit der HE-Färbung nachweisbare

Myokardinfarkte mit der *Lie*-Färbung nicht mehr vollständig dargestellt werden, sondern nur noch einzelne geschädigte Zellen oder Zellgruppen in den Randbereichen von Infarktarealen.<sup>99</sup> Die Färbung wurde wohl auch deshalb in mehreren Studien als unzuverlässig und nicht reproduzierbar eingeschätzt.<sup>60, 80, 107-112</sup> Andererseits gibt es Autoren, die die positiven Erfahrungen mit der Methode bestätigt haben.<sup>101-106</sup> Wie von *Knight*<sup>110</sup> und *Leadbeatter et al.*<sup>80</sup> betont wurden, ist die *Lie*-Färbung sehr techniksensitiv. Die Ergebnisse hängen entscheidend von der richtigen individuellen Abschätzung der abschließenden Differenzierung durch den Anwender ab; es bedarf viel Übung und Erfahrung im Umgang mit der *Lie*-Färbung. Daher wurde die Färbung am Institut für Pathologie des Carl-Thiem-Klinikums Cottbus durchgeführt und auf die dortige Kompetenz und umfassende Sachkenntnis zurückgegriffen. *Emmanual* und *Tan*<sup>111</sup> kamen zu dem Schluss, dass die Differenzierungszeit mit der Pikrinsäure bei bereits gelagerten Proben verlängert werden muss, während bei frisch geschnittenen Proben ca. 15 Sekunden ausreichend sind.

In der vorliegenden Studie wurde der Ablauf der *Lie*-Färbung nach Erfahrungswerten modifiziert: Die Färbezeit in der Hämatoxylin-Lösung wurde von 10 Sekunden auf 10 Minuten und die Spülungen mit Aqua dest. und Aceton vor der abschließenden Differenzierung auf 5-10 Minuten verlängert. Die Differenzierung mit Pikrinsäure erfolgte nach Augenmaß ca. 90 Sekunden lang. Ohne jahrelange Erfahrung in der Anwendung der *Lie*-Färbung kann es leicht zu verfälschten Ergebnissen kommen. Bei zu kurzer Differenzierungszeit verbleibt zu viel Fuchsin und es wird ein falsch positives Ergebnis erzielt, bei zu langer Differenzierungszeit wird ein falsch negatives Ergebnis vorgetäuscht.<sup>80, 110</sup> Die Reproduzierbarkeit hängt daher tatsächlich maßgeblich von der Erfahrung des Anwenders ab, so dass dem von *Lie*<sup>99</sup> herausgestellten Vorteil der unkomplizierten Durchführung nur bedingt zugestimmt werden kann. Die *Lie*-Färbung ist im Gegensatz zur modifizierten LFB-Färbung zwar schnell und einfach durchzuführen, ohne ausreichende Erfahrungswerte ist die Ergebnisqualität jedoch sehr variabel.

Nach *Arnold* sollten mit der modifizierten LFB-Färbung zwei Formen der sog. myofibrillären Degeneration,<sup>76</sup> die von anderen Autoren auch als koagulative Myozytolyse<sup>114</sup> oder Kontraktionsbandnekrosen<sup>115</sup> bezeichnet wird, als differente ischämische Frühveränderungen unterschieden werden können: Erstens die diffuse Form, die sich durch Blaufärbung des gesamten Zytoplasmas der betroffenen Herzmuskelzellen auszeichnet, und zweitens die Querbandform, bei der die Kontraktionsbänder intensiv blau angefärbt werden.<sup>112</sup> Als interne Kontrolle diente die

Anfärbung der elastischen Fasern. Beide Formen konnten zwar in der vorliegenden Studie beobachtet werden, jedoch war das Färbeargebnis bei einem Großteil der Fälle ähnlich und äußerte sich meist in einer diffusen, wenngleich unterschiedlich starken Blaufärbung der Gewebeschnitte. Die Durchführung der modifizierten LFB-Färbung ist zeitintensiv, weil die Einwirkzeit der Farbstoff-Lösung 5 Stunden beträgt, wobei die Einhaltung einer konstanten Temperatur von 60°C zu beachten ist. Die Differenzierung mit Ethanol muss individuell für jeden einzelnen Schnitt erfolgen. Da diese Färbung viel Erfahrung erfordert, wurde die modifizierte Luxol-Fast-Blue-Färbung, die ursprünglich eine von *Klüver* und *Barrera* entwickelte Färbung zum Nachweis von Myelinscheiden und Nervenzellen ist, im Institut für Neuropathologie der Charité durchgeführt.

Die Darstellung von Einzelzell- bzw. Gruppennekrosen mit dem C9c-Antikörper konnten mehrere Untersuchungen aus den letzten 25 Jahren belegen.<sup>124, 132-143</sup> Mit anderen immunhistochemischen Markern wie Desmin, Myoglobin, C-reaktives Protein, Fibrinogen, kardialen Troponinen konnten keine besseren Ergebnisse erzielt werden, mit Komplementfaktor C4d wurden ähnlich gute Resultate erreicht.<sup>80, 81, 140-142, 148, 150-153, 157</sup> Die Methodik der C9c-Immunhistochemie hat sich stetig weiter verbessert, eine automatisierte Durchführung in Färbeautomaten mit Positiv- und Negativkontrolle in jeder Serie sowie die Anfärbung der Arterieninnenwand als interne Kontrolle ermöglichen einen guten Erfolg bei geringem Arbeitsaufwand. Ist die interne Kontrolle negativ, sollte die Reaktion wiederholt werden.<sup>124, 132</sup> Geschädigte bzw. abgestorbene Zellen werden selektiv angefärbt, während die übrigen Gewebsstrukturen ungefärbt bleiben. Die Färbung kann als spezifisch für ischämische Herzmuskelzellnekrosen betrachtet werden, da das Komplementsystem erst mit einer Verzögerung von 20-30 Minuten nach einem ischämischen Ereignis aktiviert wird<sup>146, 147</sup> und der Membran-Angriffs-Komplex, an den der Antikörper bindet, erst nach 40 Minuten im Myokard nachweisbar ist.<sup>134</sup> Bei anderen mit einer Hypoxie einhergehenden Todesursachen, wie beispielsweise Ertrinken, Erhängen, Ersticken oder bei globaler kardialer Dekompensation nach einem Polytrauma erfolgt der Tod innerhalb weniger Minuten und die Überlebenszeit ist zu kurz für eine Aktivierung des Komplementsystems. Eine Verwechslung mit autolytischen Veränderungen kann durch die Bindung an den Membran-Angriffs-Komplex ausgeschlossen werden.<sup>124</sup>

#### 4.4.3 Ergebnisse

Wie in den Ergebnissen (s. Abs. 4.3) ausgeführt, wurden deutliche Abweichungen der primären (d.h. von den Erstuntersuchern erhobenen) histologischen Befunde zu den für diese Studie neu beurteilten HE-Schnitten festgestellt. In den primären histologischen Befunden, welche für 97 von den 128 Fällen vorlagen, wurden in 70 der 97 Fälle (72%) frische Herzmuskelzellnekrosen diagnostiziert. Dagegen konnten in der vorliegenden Studie nur in 26 der 97 Fälle (27%) Nekrosen nachgewiesen werden. Von den insgesamt 128 Fällen konnten bei 74% (n=95) in der HE-Färbung keine frischen Herzmuskelzellnekrosen dargestellt werden. Deshalb muss man annehmen, dass die Diagnose eines plötzlichen Herztodes oder eines „frühen Myokardinfarktes“ in der täglichen Praxis oftmals anhand klinischer Angaben und morphologischer Befunde, die für eine koronare Herzkrankheit typisch sind, gestellt wird, weil in diesen Fällen Herzmuskelzellnekrosen vermutet werden können, die aber mit der HE-Färbung nicht zweifelsfrei nachzuweisen sind. Beschriebene Frühveränderungen wie „wavy fibers“, Myokardfragmentierung, Myozytolyse, Dilatation von Venolen, erhöhte Eosinophilie, Kernpyknose und partieller Verlust der Querstreifung können auf Zelluntergänge hindeuten, aber auch fehlinterpretiert werden, weil schnitttechnisch bedingte Artefakte und/oder autolytische Vorgänge ähnliche Veränderungen hervorrufen können.<sup>11, 173, 174</sup> Diese „weichen“ Zeichen für beginnende Zelluntergänge galten in der vorliegenden Untersuchung nicht als Beweis für Herzmuskelzellnekrosen, was die o.g. Diskrepanz in der Bewertung eines adäquaten morphologischen Korrelats des plötzlichen Herztodes zumindest teilweise erklären könnte. In diesem Zusammenhang wird die sog. Myozytolyse besonders häufig als frühes Zeichen vitaler Herzmuskelzelluntergänge gedeutet, eine Läsion, die sich am HE-Schnitt nicht verifizieren lässt und somit Raum für spekulative Interpretationen bietet, um die pathologische Diagnose eines plötzlichen Herztodes oder „frühen Myokardinfarktes“ durch ein morphologisches Korrelat zu erhärten.

Die häufigste Sektionsdiagnose „Plötzlicher Herztod“ wurde mit 20 Fällen im Brandenburgischen Landesinstitut für Rechtsmedizin gestellt. Diese Auffälligkeit könnte dadurch bedingt sein, dass im Gegensatz zu klinisch-pathologischen Sektionen bei rechtsmedizinischen Autopsien nicht immer eine histologische Sicherung erfolgt. Ob es sich dabei tatsächlich um Fälle eines plötzlichen Herztodes im Sinne der WHO-Definition handelte, muss deshalb offen bleiben.

Mit der *Lie*-Färbung konnten in 55 (57,9%) von den 95 Fällen, bei denen in der HE-Färbung keine Zelluntergänge nachweisbar waren, devitale Einzelzellen und Zellgruppen identifiziert werden. Allerdings wiesen nur 12 dieser Fälle auch eine C9c-Immunreaktivität auf. Leider traten bei der *Lie*-Färbung auch gehäuft Fälle mit nicht eindeutig beurteilbaren Ergebnissen auf. Bei 15 Fällen (11,7%) konnte keine klare Unterscheidung zu Artefakten getroffen werden, 13 dieser Fälle wiesen in der HE-Färbung keine Nekrosen auf. Eine eindeutige Interpretation ist durch die hohe Anzahl an Fällen mit möglichen Artefakten schwierig. Insgesamt betrachtet ist die *Lie*-Färbung jedoch besser für die Diagnostik früher ischämischer Herzmuskelzelluntergänge geeignet als die modifizierte LFB-Färbung. Die Ergebnisse dieser Färbung stehen teilweise im Gegensatz zu den Ergebnissen der anderen Färbungen. Ein Großteil der Fälle (44,1%) wies eine ausgedehnte Blaufärbung auf, wobei sich diese häufig über eine größere Fläche der Gewebeproben erstreckte und nicht, wie von *Arnold* beschrieben, auf „einzelne Foci intensiv blau gefärbter Myozyten in Kontrast zum rot gefärbten gesunden Myokard“. <sup>112</sup> Damit dürfte es sich um Färbungsartefakte handeln. Bei den 12 Kontrollfällen und weiteren Fällen mit im HE-Schnitt gut erkennbaren akuten Myokardinfarkten wurde eine blaue Anfärbung der entsprechenden Areale beobachtet. Eine vollständig ausgebildete Koagulationsnekrose soll jedoch nach *Arnold et al.* <sup>112</sup> mit LFB nur schwach angefärbt sein. 33 Fälle, bei denen in der HE-Färbung keine Herzmuskelzellnekrosen nachgewiesen wurden, zeigten eine ausgeprägte LFB-Anfärbung, 54 Fälle eine Anfärbung ähnlich wie bei Gruppennekrosen. Dass bei diesen Fällen eine zum Teil ausgedehnte ischämische Myokardschädigung vorgelegen hat, die mit der HE-Färbung nicht nachzuweisen war, ist unwahrscheinlich. Eine selektive Färbung vermutlich ischämisch geschädigter Zellgruppen mit LFB wurde nur in insgesamt 5,5% der Fälle beobachtet.

Der Einfluss von Autolyse auf die modifizierte LFB-Färbung soll gering sein. In der Untersuchung von *Arnold* <sup>112</sup> wurden auch nach einer postmortalen Liegezeit von 6 Tagen akzeptable Ergebnisse erzielt. Dieses Intervall wurde in der vorliegenden Studie zwar häufig überschritten, jedoch zeigten auch die Fälle mit kurzer postmortaler Liegezeit ein undifferenziertes Färbeergebnis. Auf Serienschnitte zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit der modifizierten LFB-Färbung wie in der Untersuchung von *Arnold et al.* <sup>112</sup> wurde in der vorliegenden Studie verzichtet. *Ståhl* <sup>63</sup> kam zu dem Schluss, dass die modifizierte LFB-Färbung unter experimentellen Bedingungen im Labor gute Ergebnisse liefern kann, sich für die Routinediagnostik jedoch nicht bewährt hat.

Die Färbung mit dem C9c-Antikörper lieferte in der vorliegenden Studie die besten Ergebnisse. In 26 Fällen wurden Einzelzellnekrosen nachgewiesen, die mit der HE-Färbung nicht zu erkennen waren. Die mit der HE-Färbung sichtbaren Nekroseareale wurden bestätigt. Die Identifizierung geschädigter Myozyten war durch die intensive Rotfärbung bei einem Großteil der Fälle bereits in der Übersichtsvergrößerung möglich. Bei fortgeschrittener Autolyse war eine weniger kontrastreiche Anfärbung zu beobachten. C9c-positive Herzmuskelzellen konnten in der vorliegenden Studie bis zu einer postmortalen Liegezeit von 8 Tagen (s. Abschnitt 4.3.4) nachgewiesen werden. Schon frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass ein Nachweis von Infarktarealen bis zu 7 Tage bzw. experimentell bis zu 11 Tage post mortem möglich ist.<sup>132, 133</sup> In einer Untersuchung an exhumierten Leichen konnten angeblich noch nach über 400 Tagen C9c-positive Herzmuskelzellen nachgewiesen werden.<sup>145</sup>

#### 4.4.4 Schlussfolgerungen

Aus den Ergebnissen der LFB-Färbung müsste die Schlussfolgerung gezogen werden, dass in den meisten Fällen ausgedehnte ischämische Myokardschädigungen vorgelegen haben, die mit frischen im HE-Schnitt nicht erkennbaren Myokardinfarkten gleichzusetzen wären. Dies wurde durch die *Lie*-Färbung und insbesondere durch die immunhistochemische Untersuchung widerlegt. Lediglich in 21 Fällen mit positiver LFB-Färbung konnte auch die C9c-Färbung einen Nachweis von Myokardschäden erbringen, wobei mit der C9c-Immunhistochemie in diesen Fällen allerdings nur disseminierte Einzelzellnekrosen und keine Infarktareale nachgewiesen wurden. Insofern ist die modifizierte LFB-Färbung in der Mehrzahl der Fälle als unspezifisch einzuschätzen. Wenn mit der modifizierten LFB-Färbung tatsächlich frühe ischämische Zellschäden nachgewiesen werden könnten, die, wie von *Arnold*<sup>112</sup> postuliert, mit anderen Methoden nicht nachweisbar sind, müsste die Färbemethode, analog zur Anwendung der einfachen LFB-Färbung in der Neuropathologie, längst Eingang in die klinisch-pathologische und forensische Routinediagnostik gefunden haben. Bisher haben aber nur wenige Autoren, wie z.B. die Arbeitsgruppe um *Pedal* und *Oehmichen*<sup>86, 117, 118</sup> mit dieser Methode die Darstellung einer myofibrillären Degeneration als Zeichen einer irreversiblen Schädigung vitaler Herzmuskelzellen bestätigen können. Myofibrilläre Degenerationen treten jedoch nicht nur bei plötzlichen Herztodesfällen, sondern auch bei anderen plötzlichen

Todesfällen nicht kardialer Ursache auf, z.B. Schädel-Hirn-Traumen oder Reanimationsmaßnahmen,<sup>86</sup> weshalb das Phänomen als Indikator für frühe Myokardinfarkte umstritten ist<sup>83</sup>. Auch *Arnold et al.*<sup>112</sup> untersuchten vorrangig Fälle mit anderen Todesursachen. Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Studie kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass die modifizierte LFB-Färbung für die Frühdiagnostik ischämischer Herzmuskelzellnekrosen nicht geeignet ist.

Dies trifft für die *Lie*-Färbung aufgrund der selektiven Darstellung von Einzelzell- und Gruppennekrosen zwar nicht zu, die Methode ist jedoch aus anderen Gründen nicht für die Routinediagnostik geeignet, da sie nur manuell durchgeführt werden kann und viel Erfahrung erfordert, um Färbeartefakte zu vermeiden.

Hinsichtlich der Fragestellung der vorliegenden Arbeit ist der immunhistochemische Nachweis früher disseminierter oder konfluierter Herzmuskelzellnekrosen mit dem Antikörper C9c den aufwendigen Spezialfärbungen nach *Arnold* und *Lie* überlegen. In der Studie wurden nicht nur alle bereits in der HE-Färbung sichtbaren Nekrosen bestätigt, sondern darüber hinaus in 20,3% der Fälle Herzmuskelzellnekrosen nachgewiesen, die im HE-Schnitt nicht zu erkennen waren. Nach den eigenen Untersuchungsergebnissen und unter Berücksichtigung der Literatur eignet sich die immunhistochemische C9c-Reaktion für die postmortale Diagnostik früher ischämischer Herzmuskelzellnekrosen.



## 5 Literaturverzeichnis

1. Haissaguerre M, Hocini M, Sacher F, Shah A. [Sudden cardiac death, a major scientific challenge]. *Bull Acad Natl Med* 2010;194(6):983-93; discussion 93-5.
2. de la Grandmaison GL. Is there progress in the autopsy diagnosis of sudden unexpected death in adults? *Forensic Sci Int* 2006;156(2-3):138-44.
3. Titus JL. Pathology of sudden cardiac death. First USA-USSR Joint Symposium on Sudden Death 1977. Yalta, USSR: U.S. Department of Health, Education and Welfare; 1977. p. 309-21.
4. Adams SM, Ward CE, Garcia KL. Sudden infant death syndrome. *Am Fam Physician* 2015;91(11):778-83.
5. Zheng ZJ, Croft JB, Giles WH, Mensah GA. Sudden cardiac death in the United States, 1989 to 1998. *Circulation* 2001;104(18):2158-63.
6. Martens E, Sinner MF, Siebermair J, Raufhake C, Beckmann BM, Veith S, Duvel D, Steinbeck G, Kaab S. Incidence of sudden cardiac death in Germany: results from an emergency medical service registry in Lower Saxony. *Europace* 2014;16(12):1752-8.
7. Myerburg RJ, Kessler KM, Castellanos A. Sudden cardiac death. Structure, function, and time-dependence of risk. *Circulation* 1992;85(1 Suppl):I2-10.
8. Stecker EC, Vickers C, Waltz J, Socoteanu C, John BT, Mariani R, McAnulty JH, Gunson K, Jui J, Chugh SS. Population-based analysis of sudden cardiac death with and without left ventricular systolic dysfunction: two-year findings from the Oregon Sudden Unexpected Death Study. *J Am Coll Cardiol* 2006;47(6):1161-6.
9. Wellens HJ, Schwartz PJ, Lindemans FW, Buxton AE, Goldberger JJ, Hohnloser SH, Huikuri HV, Kaab S, La Rovere MT, Malik M, Myerburg RJ, Simoons ML, Swedberg K, Tijssen J, Voors AA, Wilde AA. Risk stratification for sudden cardiac death: current status and challenges for the future. *Eur Heart J* 2014;35(25):1642-51.
10. Schnell O, Standl E. [Cardiovascular risk in diabetes--diagnostic and therapeutic aspects]. *MMW Fortschr Med* 2004;146(35-36):36-8.
11. Bouchardy B, Majno G. Histopathology of early myocardial infarcts. A new approach. *Am J Pathol* 1974;74(2):301-30.

12. Zaijia C, James TN, Kulbertus H, Maseri A, Oliver MF, Pobe JOM, Vihert AM, Zanchetti A. Sudden cardiac death: report of a WHO scientific group [meeting held in Geneva from 24 to 27 October 1984]. WHO Tech Rep Ser: World Health Organisation; 1985.
13. Hering HE. Der Sekundenherztod mit besonderer Berücksichtigung des Herzkammerflimmerns. Berlin: Springer Verlag; 1917.
14. Kuller LH. Sudden death--definition and epidemiologic considerations. *Prog Cardiovasc Dis* 1980;23(1):1-12.
15. Doerr W. Sekundenherztod. *Beitr Gerichtl Med* 1981(39):1-25.
16. Seipel L, Breithardt G. Plötzlicher Herztod. In: Roskamm H, editor. *Koronarerkrankungen*. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer Verlag 1984. p. 835-84.
17. Zipes DP, Camm AJ, Borggrefe M, Buxton AE, Chaitman B, Fromer M, Gregoratos G, Klein G, Moss AJ, Myerburg RJ, Priori SG, Quinones MA, Roden DM, Silka MJ, Tracy C, Smith SC, Jr., Jacobs AK, Adams CD, Antman EM, Anderson JL, Hunt SA, Halperin JL, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B, Blanc JJ, Budaj A, Dean V, Deckers JW, Despres C, Dickstein K, Lekakis J, McGregor K, Metra M, Morais J, Osterspey A, Tamargo JL, Zamorano JL, American College of Cardiology/American Heart Association Task F, European Society of Cardiology Committee for Practice G, European Heart Rhythm A, Heart Rhythm S. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (writing committee to develop Guidelines for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death): developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Circulation* 2006;114(10):e385-484.
18. Priori SG, Blomstrom-Lundqvist C, Mazzanti A, Blom N, Borggrefe M, Camm J, Elliott PM, Fitzsimons D, Hatala R, Hindricks G, Kirchhof P, Kjeldsen K, Kuck KH, Hernandez-Madrid A, Nikolaou N, Norekval TM, Spaulding C, Van Veldhuisen DJ, Group ESCSD. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the

- Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC). *Eur Heart J* 2015;36(41):2793-867.
19. Guski H, Schwalew W, Meyer R, Wichert A. Der plötzliche Herztod aus Sicht des Pathologen. *Z Klin Med* 1985;40:631-36.
  20. Hecht A. Chronisch-ischämische Herzkrankheit. Fakten und Probleme. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag; 1981.
  21. Hecht A, Löffler D. [Significance of chronic ischemic heart disease and its various forms for sudden death]. *Zentralbl Allg Pathol* 1983;128(3-4):175-82.
  22. Hecht A, Löffler D. [Acute natural death in adults with special reference to the under-50 age group]. *Zentralbl Allg Pathol* 1984;129(2):127-35.
  23. Albert CM, Chae CU, Grodstein F, Rose LM, Rexrode KM, Ruskin JN, Stampfer MJ, Manson JE. Prospective study of sudden cardiac death among women in the United States. *Circulation* 2003;107(16):2096-101.
  24. Milovanovic B, Milinic N, Trifunovic D, Krotin M, Filipovic B, Bisenic V, Djuric D. Autonomic dysfunction in alcoholic cirrhosis and its relation to sudden cardiac death risk predictors. *Gen Physiol Biophys* 2009;28 Spec No:251-61.
  25. Bajanowski T, Puschel K, Dettmeyer R. [Sudden cardiac death. Selected forensic aspects]. *Pathologe* 2012;33(3):217-27.
  26. Velisheva LS, Goldina BG, Boguslavsky VI. Sudden death in alcohol-induced cardiopathy. First USA-USSR Joint Symposium on Sudden Death 1977. Yalta, USSR: U.S. Department of Health, Education and Welfare; 1977. p. 377-86.
  27. Curb JD, Rodriguez BL, Burchfiel CM, Abbott RD, Chiu D, Yano K. Sudden death, impaired glucose tolerance, and diabetes in Japanese American men. *Circulation* 1995;91(10):2591-5.
  28. Kilian JG, Kerr K, Lawrence C, Celermajer DS. Myocarditis and cardiomyopathy associated with clozapine. *Lancet* 1999;354(9193):1841-5.
  29. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB, American Heart A, Council on Clinical Cardiology HF, Transplantation C, Quality of C, Outcomes R, Functional G, Translational Biology Interdisciplinary Working G, Council on E, Prevention. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and

- Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2006;113(14):1807-16.
30. Beckmann BM, Pfeufer A, Kaab S. Inherited cardiac arrhythmias: diagnosis, treatment, and prevention. *Dtsch Arztebl Int* 2011;108(37):623-33; quiz 34.
  31. Haissaguerre M, Fleury B, Gueguen A, Bonnet J, Lorente P, Nakache JP, Broustet JP, Dallochio M, Besse P. [Mortality of dilated cardiomyopathies as a function of continuation of alcohol drinking. Multivariate analysis concerning 236 patients]. *Presse Med* 1989;18(14):711-4.
  32. McKenna CJ, Codd MB, McCann HA, Sugrue DD. Alcohol consumption and idiopathic dilated cardiomyopathy: a case control study. *Am Heart J* 1998;135(5 Pt 1):833-7.
  33. Guzzo-Merello G, Cobo-Marcos M, Gallego-Delgado M, Garcia-Pavia P. Alcoholic cardiomyopathy. *World J Cardiol* 2014;6(8):771-81.
  34. Gore SM. Fatal uncertainty: death-rate from use of ecstasy or heroin. *Lancet* 1999;354(9186):1265-6.
  35. Norris KC, Thornhill-Joynes M, Robinson C, Strickland T, Alperson BL, Witana SC, Ward HJ. Cocaine use, hypertension, and end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 2001;38(3):523-8.
  36. Cebelin MS, Hirsch CS. Human stress cardiomyopathy. Myocardial lesions in victims of homicidal assaults without internal injuries. *Hum Pathol* 1980;11(2):123-32.
  37. Sudakov KV, Yumatov EA. Acute psychosocial stress as the cause of sudden death. *First USA-USSR Joint Symposium on Sudden Death 1977*. Yalta, USSR: U.S. Department of Health, Education and Welfare; 1977. p. 405-16.
  38. Ulyaninsky LS, Stepanyan EP, Krymsky LD. Cardiac arrhythmia of hypothalamic origin in sudden death. *First USA-USSR Joint Symposium on Sudden Death 1977*. Yalta, USSR U.S. Department of Health, Education and Welfare; 1977. p. 417-29.
  39. Reynen K. Frequency of primary tumors of the heart. *Am J Cardiol* 1996;77(1):107.
  40. Hoppe UC, La Rosee K, Beuckelmann DJ, Erdmann E. [Heart tumors--their manifestation through uncharacteristic symptoms]. *Dtsch Med Wochenschr* 1997;122(17):551-7.

41. Kaufenstein S, Kiehne N, Neumann T, Pitschner HF, Bratzke H. Cardiac gene defects can cause sudden cardiac death in young people. *Dtsch Arztebl Int* 2009;106(4):41-7.
42. Spooner PM, Albert C, Benjamin EJ, Boineau R, Elston RC, George AL, Jr., Jouven X, Kuller LH, MacCluer JW, Marban E, Muller JE, Schwartz PJ, Siscovick DS, Tracy RP, Zareba W, Zipes DP. Sudden cardiac death, genes, and arrhythmogenesis : consideration of new population and mechanistic approaches from a national heart, lung, and blood institute workshop, part I. *Circulation* 2001;103(19):2361-4.
43. James TN. Neural lesions in the heart and sudden death. USA-UDSSR Second Joint Symposium on Sudden Cardiac Death 1979. Indianapolis, USA: U.S. Department of Health and Human Services; 1980. p. 159-82.
44. Guski H, Schwalew WN, Sosunow AA. [Morphometric studies of the vegetative nervous system in sudden cardiac death]. *Zentralbl Allg Pathol* 1986;132(3):243-52.
45. Shvaley VN, Zhuchkova NI, Vikhert AM. [Changes in the intracardiac nerve plexuses in sudden death]. *Kardiologiya* 1980;20(7):80-3.
46. Shvaley VN, Stropus RA, Bogdanovich NK, Kiseleva ZM, Zhuchkova NI, Tsyplenkova VG, Sosunov AA, Abraytis RI, Chmelev AB. Neurohumoral disturbances in the heart and it's intra- and extraorgan nerve system in sudden death compared with the amount of nervous system mediators in these regions as a function of age. Second USA-USSR Joint Symposium on Sudden Cardiac Death 1979. Indianapolis, USA: U.S. Department of Health and Human Services; 1980. p. 213-37.
47. Shepherd JT. Sensory function of the heart. Third USA-USSR Joint Symposium on Sudden Cardiac Death 1982. Kaunas, USSR: U.S. Department of Health and Human Services; 1984. p. 345-60.
48. James TN. Normal and abnormal variations in morphology of the atrioventricular node and his bundle: Functional significance relative to sudden death. Third USA-USSR Joint Symposium on Sudden Cardiac Death 1982. Kaunas, USSR: U.S. Department of Health and Human Services 1984. p. 1-23.
49. Mewis C. Der plötzliche Herztod. In: Mewis C, Riessen R, Spyridopoulos I, editors. *Kardiologie compact*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2006. p. 629-49.

50. Lie JT, Titus JL. Pathology of the myocardium and the conduction system in sudden coronary death. *Circulation* 1975;52(6 Suppl):III41-52.
51. Velisheva LS, Vikhert AM, Shvalev VN, Ushkalov AF, Cherpachenko NM, Zhuchkova NI. Morphological and biochemical characteristics of the myocardium and its innervation in alcohol cardiomyopathy. Second USA-USSR Joint Symposium on Sudden Cardiac Death 1979. Indianapolis, USA: U.S. Department of Health and Human Services; 1980. p. 255-67.
52. Vikhert AM, Tsyplenkova VG, Sharov VG, Sosunov AA. [Ultrastructure of the myocardium in alcohol cardiomyopathy]. *Arkh Patol* 1980;42(7):95-96.
53. Shvalev VN, Stropus RA, Morozov EK. State of the adrenergic and cholinergic components of the nerve apparatus of the human heart in cases of sudden death. First USA-USSR Joint Symposium on Sudden Death 1977. Yalta, USSR: U.S. Department of Health, Education and Welfare; 1977. p. 339-56.
54. Bogdanovich NK, Vikhert AM, Bragin MA, Galakhov IE, Kiseleva ZM, Riff IM. Morphobiochemical changes of the myocardium and hypothalamohypophyseal-adrenal system in sudden cardiac death. Third USA-USSR Joint Symposium on Sudden Cardiac Death 1982. Kaunas, USSR: U.S. Department Of Health And Human Services; 1984. p. 53-64.
55. Roffi M, Patrono C, Collet JP, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, Bax JJ, Borger MA, Brotons C, Chew DP, Gencer B, Hasenfuss G, Kjeldsen K, Lancellotti P, Landmesser U, Mehilli J, Mukherjee D, Storey RF, Windecker S, Baumgartner H, Gaemperli O, Achenbach S, Agewall S, Badimon L, Baigent C, Bueno H, Bugiardini R, Carerj S, Casselman F, Cuisset T, Erol C, Fitzsimons D, Halle M, Hamm C, Hildick-Smith D, Huber K, Iliodromitis E, James S, Lewis BS, Lip GY, Piepoli MF, Richter D, Rosemann T, Sechtem U, Steg PG, Vrints C, Luis Zamorano J, Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent STSEotESoC. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2016;37(3):267-315.
56. Delius W Herzinfarkt: Untersuchungen & Diagnose. BDI Berufsverband Deutscher Internisten e.V. 2017. "<https://www.internisten-im->

- [netz.de/krankheiten/herzinfarkt/untersuchungen-diagnose/](http://netz.de/krankheiten/herzinfarkt/untersuchungen-diagnose/)". Accessed 18.08.2017.
57. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, Caforio ALP, Crea F, Goudevenos JA, Halvorsen S, Hindricks G, Kastrati A, Lenzen MJ, Prescott E, Roffi M, Valgimigli M, Varenhorst C, Vranckx P, Widimsky P, Group ESCSD. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2018;39(2):119-77.
  58. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, Katus HA, Lindahl B, Morrow DA, Clemmensen PM, Johanson P, Hod H, Underwood R, Bax JJ, Bonow RO, Pinto F, Gibbons RJ, Fox KA, Atar D, Newby LK, Galvani M, Hamm CW, Uretsky BF, Steg PG, Wijns W, Bassand JP, Menasche P, Ravkilde J, Ohman EM, Antman EM, Wallentin LC, Armstrong PW, Simoons ML, Januzzi JL, Niemenen MS, Gheorghide M, Filippatos G, Luepker RV, Fortmann SP, Rosamond WD, Levy D, Wood D, Smith SC, Hu D, Lopez-Sendon JL, Robertson RM, Weaver D, Tendera M, Bove AA, Parkhomenko AN, Vasilieva EJ, Mendis S. Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation* 2012;126(16):2020-35.
  59. Baroldi G, Fineschi V. Specific heart diseases and sudden death. In: Fineschi V, Baroldi G, Silver M, editors. *Pathology of the heart and sudden death in forensic medicine*. Boca Raton: Taylor & Francis; 2006. p. 77-147.
  60. Vargas SO, Sampson BA, Schoen FJ. Pathologic detection of early myocardial infarction: a critical review of the evolution and usefulness of modern techniques. *Mod Pathol* 1999;12(6):635-45.
  61. Lie JT, Pairolero PC, Holley KE, Titus JL. Macroscopic enzyme-mapping verification of large, homogeneous experimental myocardial infarcts of predictable size and location in dogs. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1975;69(4):599-605.
  62. Sandritter W, Jestadt R. Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) als Reduktionsindikator zur makroskopischen Diagnose des frischen Herzinfarktes. *Verh Dsch Ges Pathol* 1958;41:165.

63. Jestadt R, Sandritter W. Erfahrungen mit der TTC (Triphenyltetrazoliumchlorid) Reaktion für die pathologisch-anatomische Diagnose des frischen Herzinfarktes. *Z Kreislaufforsch* 1959;48:802.
64. Barnard RJ, Okamoto F, Buckberg GD, Sjostrand F, Rosenkranz ER, Vinten-Johansen J, Allen BS, Leaf J. Histochemical studies: inability of triphenyltetrazolium chloride nonstaining to define tissue necrosis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;92(3 Pt 2):502-12.
65. Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, Lando U, Kanmatsuse K, Mercier JC, Corday E, Ganz W. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J* 1981;101(5):593-600.
66. Kloner RA, Darsee JR, DeBoer LW, Carlson N. Early pathologic detection of acute myocardial infarction. *Arch Pathol Lab Med* 1981;105(8):403-6.
67. Siegel RJ, Fishbein MC. Evaluation of fluorescence microscopy for the identification of necrotic myocardium. *Hum Pathol* 1982;13(12):1091-4.
68. Adegboyega PA, Adesokan A, Haque AK, Boor PJ. Sensitivity and specificity of triphenyl tetrazolium chloride in the gross diagnosis of acute myocardial infarcts. *Arch Pathol Lab Med* 1997;121(10):1063-8.
69. Kundal RK, Bhullar DS, Kaur M. The autopsy diagnosis of early myocardial infarction (mi) by triphenyltetrazolium chloride (ttc) or nitrobluetetrazolium (nbt) dye test. *J Punjab Acad Forensic Med Toxicol* 2012;12(1):60-61.
70. Nachlas MM, Shnitka TK. Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alterations in dehydrogenase activity. *Am J Pathol* 1963;42:379-405.
71. Ramkissoon RA. Macroscopic identification of early myocardial infarction by dehydrogenase alterations. *J Clin Pathol* 1966;19(5):479-81.
72. McVie JG. Postmortem detection of inapparent myocardial infarction. *J Clin Pathol* 1970;23(3):203-9.
73. Feldman S, Glagov S, Wissler RW, Hughes RH. Postmortem delineation of infarcted myocardium. Coronary perfusion with nitro blue tetrazolium. *Arch Pathol Lab Med* 1976;100(1):55-8.
74. Derias NW, Adams CW. Nitroblue tetrazolium test: early gross detection of human myocardial infarcts. *Br J Exp Pathol* 1978;59(3):254-8.



75. Vivaldi MT, Kloner RA, Schoen FJ. Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats. *Am J Pathol* 1985;121(3):522-30.
76. Reichenbach DD, Benditt EP. Myofibrillar degeneration. A response of the myocardial cell to injury. *Arch Pathol* 1968;85(2):189-99.
77. Mallory FB. On Certain Improvements in Histological Technique : I. A Differential Stain for Amoebae Coli. li. Phosphotungstic-Acid-Haematoxylin Stain for Certain Tissue Elements. liii. A Method of Fixation for Neuroglia Fibres. *J Exp Med* 1897;2(5):529-33.
78. Armiger LC, Wheeler EE, Geraghty DE, Herdson PB. An experimental evaluation of staining techniques for the detection of early ischaemic injury to the myocardium. *Pathology* 1977;9(2):161-71.
79. Penttila A, Liesto K. Effects of anoxia on the isolated perfused rat heart: histological, histochemical and electron-microscopic observations. *Forensic Sci Int* 1980;16(3):191-200.
80. Leadbeater S, Wawman HM, Jasani B. Immunocytochemical diagnosis of early myocardial ischaemic/hypoxic damage. *Forensic Sci Int* 1989;40(2):171-80.
81. Leadbeater S, Wawman HM, Jasani B. Further evaluation of immunocytochemical staining in the diagnosis of early myocardial ischaemic/hypoxic damage. *Forensic Sci Int* 1990;45(1-2):135-41.
82. Edston E. Evaluation of agonal artifacts in the myocardium using a combination of histological stains and immunohistochemistry. *Am J Forensic Med Pathol* 1997;18(2):163-7.
83. Stahl E. Screening of myocardial contraction bands: a comparison between two histological staining methods. *Forensic Sci Int* 1990;45(1-2):151-7.
84. Silverman L, Glick D. The reactivity and staining of tissue proteins with phosphotungstic acid. *J Cell Biol* 1969;40(3):761-7.
85. Puchtler H, Waldrop FS, Meloan SN. On the mechanism of Mallory's phosphotungstic acid-haematoxylin stain. *J Microsc* 1980;119(3):383-90.
86. Pedal I, Oehmichen M. [Myofibril degeneration of heart muscle: histologic picture and pathophysiologic significance]. *Beitr Gerichtl Med* 1990;48:237-44.
87. Barbieto-Lopez J. New Trichrome Stain. *Am J Clin Pathol Technol* 1946;16:53-56.

88. Fujiwara H, Fujiwara T, Tanaka M, Onodera T, Miyazaki S, Wu DJ, Matsuda M, Sasayama S, Kawai C. Detection of early myocardial infarction in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Am J Cardiovasc Pathol* 1988;2(1):57-61.
89. Milei J, Bolomo NJ. A routine method for diagnosis of early myocardial infarction. *Int J Cardiol* 1983;4(3):319-21.
90. Milei J, Storino R. Early myocardial infarction. A feasible histologic diagnostic procedure. *Jpn Heart J* 1986;27(3):307-19.
91. Morales AR, Fine G. Early human myocardial infarction. A histochemical study. *Arch Pathol* 1966;82(1):9-14.
92. Selye H. The chemical prevention of cardiac necrosis. New York: The Ronald Press Company 1958.
93. Poley RW, Fobes CD, Hall MJ. Fuchsinophilia in Early Myocardial Infarction. *Arch Pathol* 1964;77:325-9.
94. Berry CL. Myocardial ischaemia in infancy and childhood. *J Clin Pathol* 1967;20(1):38-41.
95. Lie JT. Detection of early myocardial infarction by the acid fuchsin staining technic. *Am J Clin Pathol* 1968;50(3):317-9.
96. Connor RC. The demonstration of recent myocardial injury: a simple method suitable for routine use. *J Pathol* 1970;101(1):71-4.
97. Baroldi G, Hatt PY, Málek P, Milam J, Paulin SJ, Pearse AGE, Rajska ME, Ringler RL, Spiro D, Teare RD, Thomson JG. The pathological diagnosis of acute ischaemic heart disease: report of a WHO scientific group [meeting held in Geneva from 24 to 29 March 1969]. WHO Tech Rep Ser. Technical Report Series ed: World Health Organisation; 1970. p. 5-27.
98. Zugibe FT, Jr., Zugibe FT. Fuchsinophilia and fuchsinorrhagia staining techniques. Use in the early detection of myocardial infarction. *Arch Pathol* 1973;96(4):243-4.
99. Lie JT, Holley KE, Kampa WR, Titus JL. New histochemical method for morphologic diagnosis of early stages of myocardial ischemia. *Mayo Clin Proc* 1971;46(5):319-27.
100. Connor RC. Focal myocytolysis and fuchsinophilic degeneration of the myocardium of patients dying with various brain lesions. *Ann N Y Acad Sci* 1969;156(1):261-70.

101. Nayar A, Olsen EG. The use of the basic fuchsin stain in the recognition of early myocardial ischaemia. *Cardiovasc Res* 1974;8(3):391-4.
102. Scherer AT, Masi AT. Technical aspects of the Haematoxylin--Basic Fuchsin--picric acid (HBFP) stain applied to skeletal muscle. *Histochem J* 1975;7(4):335-41.
103. Serov RA, Chekareva GA, Raguzin KK, Shmureva TA. [Staining with hematoxylin--basic fuchsin-picric acid (HBFP) for detection of myocardial lesions of different etiology]. *Arkh Patol* 1977;39(5):70-2.
104. Tausch D, Platt W. Early demonstration of experimental aludrin-induced myocardial damage by the stain according to Lie et al. (HBFP). *Exp Pathol (Jena)* 1977;13(2-3):101-5.
105. Al-Rufaie HK, Florio RA, Olsen EG. Comparison of the haematoxylin basic fuchsin picric acid method and the fluorescence of haematoxylin and eosin stained sections for the identification of early myocardial infarction. *J Clin Pathol* 1983;36(6):646-9.
106. Fujita M, Fujioka Y, Ommura Y. [Histopathological diagnosis of early stages of myocardial infarction--applications of the improved hematoxylin basic fuchsin picric acid (HBFP) staining method to human autopsy hearts]. *Hokkaido Igaku Zasshi* 1985;60(3):313-20.
107. Lichtig C, Brooks H, Chassagne G, Glagov S, Wissler RW. Basic fuchsin picric acid method to detect acute myocardial ischemia. An experimental study in swine. *Arch Pathol* 1975;99(3):158-61.
108. Van Reempts J, Borgers M, Reneman RS. Early myocardial ischaemia: evaluation of the histochemical haematoxylin-basic fuchsin-picric acid (HBFP) staining technique. *Cardiovasc Res* 1976;10(2):262-7.
109. Rajs J, Jakobsson S. Experiences with the hematoxylin basic fuchsin picric acid staining method for morphologic diagnosis of myocardial ischemia - an experimental study in forensic pathology. *Forensic Sci* 1976;8(1):37-48.
110. Knight B. A further evaluation of the reliability of the HBFP stain in demonstrating myocardial damage. *Forensic Sci Int* 1979;13(3):179-81.
111. Emmanuel J, Tan KL. Variability of haematoxylin - basic fuchsin - picric acid (HBFP) staining of infarcted myocardium due to tissue storage. *Malays J Pathol* 1982;5:67-9.

112. Arnold G, Kaiser C, Fischer R. Myofibrillar degeneration--a common type of myocardial lesion and its selective identification by a modified luxol fast blue stain. *Pathol Res Pract* 1985;180(4):405-15.
113. Kluver H, Barrera E. A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 1953;12(4):400-3.
114. Baroldi G. Different types of myocardial necrosis in coronary heart disease: a pathophysiologic review of their functional significance. *Am Heart J* 1975;89(6):742-52.
115. Bulkley BH, Ridolfi RL, Salyer WR, Hutchins GM. Myocardial lesions of progressive systemic sclerosis. A cause of cardiac dysfunction. *Circulation* 1976;53(3):483-90.
116. Muller W, Firsching R. Magnesium in cross bands of injured myocytes. *Zentralbl Pathol* 1991;137(2):130-2.
117. Oehmichen M, Pedal I, Hohmann P. Diagnostic significance of myofibrillar degeneration of cardiocytes in forensic pathology. *Forensic Sci Int* 1990;48(2):163-73.
118. Oehmichen M, Pedal I, Hohmann P. [Myofibril degeneration of heart muscle: diagnostic value of selected forensic pathology case material]. *Beitr Gerichtl Med* 1990;48:245-9.
119. Yokoyama HO, Jennings RB, Clabaugh GF, Wartman WB. Histochemical studies of early experimental myocardial infarction; periodic acid-Schiff method. *AMA Arch Pathol* 1955;59(3):347-54.
120. Fine G, Morales A, Scerpella JR. Experimental myocardial infarction. A histochemical study. *Arch Pathol* 1966;82(1):4-8.
121. Bhakdi S, Tranum-Jensen J. Membrane damage by complement. *Biochim Biophys Acta* 1983;737(3-4):343-72.
122. Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Human heart generates complement proteins that are upregulated and activated after myocardial infarction. *Circ Res* 1998;83(8):860-9.
123. Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med* 2001;344(15):1140-4.
124. Schafer H, Mathey D, Hugo F, Bhakdi S. Deposition of the terminal C5b-9 complement complex in infarcted areas of human myocardium. *J Immunol* 1986;137(6):1945-9.

125. Pinckard RN, Olson MS, Giclas PC, Terry R, Boyer JT, O'Rourke RA. Consumption of classical complement components by heart subcellular membranes in vitro and in patients after acute myocardial infarction. *J Clin Invest* 1975;56(3):740-50.
126. Kagiya A, Savage HE, Michael LH, Hanson G, Entman ML, Rossen RD. Molecular basis of complement activation in ischemic myocardium: identification of specific molecules of mitochondrial origin that bind human C1q and fix complement. *Circ Res* 1989;64(3):607-15.
127. Lagrand WK, Niessen HW, Wolbink GJ, Jaspars LH, Visser CA, Verheugt FW, Meijer CJ, Hack CE. C-reactive protein colocalizes with complement in human hearts during acute myocardial infarction. *Circulation* 1997;95(1):97-103.
128. Pries AR, Zakrzewicz A. Abwehr und Immunität. In: Deetjen P, Speckmann EJ, Hescheler J, editors. *Physiologie*. 4 ed. München: Elsevier GmbH; 2005. p. 385.
129. Langlois PF, Gawryl MS. Detection of the terminal complement complex in patient plasma following acute myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1988;70(1-2):95-105.
130. Yasuda M, Takeuchi K, Hiruma M, Iida H, Tahara A, Itagane H, Toda I, Akioka K, Teragaki M, Oku H, et al. The complement system in ischemic heart disease. *Circulation* 1990;81(1):156-63.
131. Ilczuk T, Wasiutynski A, Wilczek E, Gornicka B. Possible role of complement factors and their inhibitors in the myocardial infarction: an immunohistochemical study. *Cent Eur J Immunol* 2014;39(2):253-9.
132. Thomsen H, Schulz A, Bhakdi S. [Immunohistochemical C5b-9-complement complex demonstration in early stages of myocardial necroses using paraffin sections]. *Z Rechtsmed* 1990;103(3):199-206.
133. Thomsen H, Held H. Susceptibility of C5b-9(m) to postmortem changes. *Int J Legal Med* 1994;106(6):291-3.
134. Thomsen H, Held H. Immunohistochemical detection of C5b-9(m) in myocardium: an aid in distinguishing infarction-induced ischemic heart muscle necrosis from other forms of lethal myocardial injury. *Forensic Sci Int* 1995;71(2):87-95.
135. Edston E, Kawa K. Immunohistochemical detection of early myocardial infarction. An evaluation of antibodies against the terminal complement complex (C5b-9). *Int J Legal Med* 1995;108(1):27-30.

136. Doran JP, Howie AJ, Townend JN, Bonser RS. Detection of myocardial infarction by immunohistological staining for C9 on formalin fixed, paraffin wax embedded sections. *J Clin Pathol* 1996;49(1):34-7.
137. Ortmann C, Pfeiffer H, Brinkmann B. A comparative study on the immunohistochemical detection of early myocardial damage. *Int J Legal Med* 2000;113(4):215-20.
138. Robert-Offerman SR, Leers MP, van Suylen RJ, Nap M, Daemen MJ, Theunissen PH. Evaluation of the membrane attack complex of complement for the detection of a recent myocardial infarction in man. *J Pathol* 2000;191(1):48-53.
139. Piercecchi-Marti MD, Lepidi H, Leonetti G, Vire O, Cianfarani F, Pellissier JF. Immunostaining by complement C9: a tool for early diagnosis of myocardial infarction and application in forensic medicine. *J Forensic Sci* 2001;46(2):328-34.
140. Campobasso CP, Dell'Erba AS, Addante A, Zotti F, Marzullo A, Colonna MF. Sudden cardiac death and myocardial ischemia indicators: a comparative study of four immunohistochemical markers. *Am J Forensic Med Pathol* 2008;29(2):154-61.
141. Jenkins CP, Cardona DM, Bowers JN, Oliai BR, Allan RW, Normann SJ. The utility of C4d, C9, and troponin T immunohistochemistry in acute myocardial infarction. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134(2):256-63.
142. Jasra SK, Badian C, Macri I, Ra P. Recognition of early myocardial infarction by immunohistochemical staining with cardiac troponin-I and complement C9. *J Forensic Sci* 2012;57(6):1595-600.
143. Morita S, Furukawa S, Nishi K. Classification of contraction bands using immunohistochemistry. *Am J Forensic Med Pathol* 2015;36(1):23-6.
144. Bhakdi S, Muhly M. A simple immunoradiometric assay for the terminal SC5b-9 complex of human complement. *J Immunol Methods* 1983;57(1-3):283-9.
145. Ortmann C, Pfeiffer H, Brinkmann B. Demonstration of myocardial necrosis in the presence of advanced putrefaction. *Int J Legal Med* 2000;114(1-2):50-5.
146. Rossen RD, Michael LH, Kagiya A, Savage HE, Hanson G, Reisberg MA, Moake JN, Kim SH, Self D, Weakley S. Mechanism of complement activation after coronary artery occlusion: evidence that myocardial ischemia in dogs causes release of constituents of myocardial subcellular origin that complex with human C1q in vivo. *Circ Res* 1988;62(3):572-84.

147. Homeister JW, Satoh P, Lucchesi BR. Effects of complement activation in the isolated heart. Role of the terminal complement components. *Circ Res* 1992;71(2):303-19.
148. Brinkmann B, Sepulchre MA, Fechner G. The application of selected histochemical and immunohistochemical markers and procedures to the diagnosis of early myocardial damage. *Int J Legal Med* 1993;106(3):135-41.
149. Aljakna A, Fracasso T, Sabatasso S. Molecular tissue changes in early myocardial ischemia: from pathophysiology to the identification of new diagnostic markers. *Int J Legal Med* 2018;132(2):425-38.
150. Sepulchre MA, Fechner G. [Detection of ischemic myocardial damage]. *Beitr Gerichtl Med* 1992;50:161-7.
151. Hansen SH, Rossen K. Evaluation of cardiac troponin I immunoreaction in autopsy hearts: a possible marker of early myocardial infarction. *Forensic Sci Int* 1999;99(3):189-96.
152. Fishbein MC, Wang T, Matijasevic M, Hong L, Apple FS. Myocardial tissue troponins T and I. An immunohistochemical study in experimental models of myocardial ischemia. *Cardiovasc Pathol* 2003;12(2):65-71.
153. Martinez Diaz F, Rodriguez-Morlensin M, Perez-Carceles MD, Noguera J, Luna A, Osuna E. Biochemical analysis and immunohistochemical determination of cardiac troponin for the postmortem diagnosis of myocardial damage. *Histol Histopathol* 2005;20(2):475-81.
154. Fedson SE, Daniel SS, Husain AN. Immunohistochemistry staining of C4d to diagnose antibody-mediated rejection in cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2008;27(4):372-9.
155. Gupta S, Mitchell JD, Lavingia B, Ewing GE, Feliciano MN, Kaiser PA, Ring WS, Stastny P, Patel PC, Markham DW, Mammen PP, Dimaio JM, Drazner MH. Utility of routine immunofluorescence staining for C4d in cardiac transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2009;28(8):776-80.
156. Miller DV, Roden AC, Gamez JD, Tazelaar HD. Detection of C4d deposition in cardiac allografts: a comparative study of immunofluorescence and immunoperoxidase methods. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134(11):1679-84.
157. Cohen D, Colvin RB, Daha MR, Drachenberg CB, Haas M, Nickleit V, Salmon JE, Sis B, Zhao MH, Bruijn JA, Bajema IM. Pros and cons for C4d as a biomarker. *Kidney Int* 2012;81(7):628-39.

158. Badir B, Knight B. Fluorescence microscopy in the detection of early myocardial infarction. *Forensic Sci Int* 1987;34(1-2):99-102.
159. Hecht A, Korb G, David H. [Comparative histochemical, fluorescent microscopic and electronoptic studies on the early diagnosis of heart infarction in the rat]. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klin Med* 1961;334:267-84.
160. Kondratev VS, Lushnikov EF. [Fluorescence Microscope Study of the Early Stages of Experimental Myocardial Infarct]. *Biull Eksp Biol Med* 1963;55:105-10.
161. Korb G, Knorr G. [Comparative light and fluorescence microscopic studies on fresh myocardial lesions in man]. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klin Med* 1962;335:159-64.
162. Knight B. Early myocardial infarction. Practical methods for its post-mortem demonstration. *J Forensic Med* 1967;14(3):101-7.
163. Sajkiewicz K. Zur Problematik des Herzversagens und der Manifestation des Herzmuskelzelltodes bei der ischämischen Herzkrankheit: autoptische und tierexperimentelle Untersuchungen [Diss.]. Berlin: Humboldt-Universität Berlin; 1984.
164. Sahai VB, Knight B. The post-mortem detection of early myocardial infarction by a simple fluorescent method. *Med Sci Law* 1976;16(1):17-20.
165. Carle BN. Autofluorescence in the identification of myocardial infarcts. *Hum Pathol* 1981;12(7):643-6.
166. Allwork SP, Bentall HH. Usefulness of the phenomenon of histofluorescence in the identification of early myocardial necrosis. *Cardiovasc Res* 1986;20(6):451-7.
167. Caulfield J, Klionsky B. Myocardial ischemia and early infarction: an electron microscopic study. *Am J Pathol* 1959;35(3):489-523.
168. Beskrovnova NN, Ulyaninsky LS, Makarychev VA, Vikhert AM. Dynamics of functional and ultrastructural changes in the myocardium at various times after administration of reserpine. *Second USA-USSR Joint Symposium on Sudden Cardiac Death 1979*. Indianapolis, USA: U.S. Department of Health and Human Services; 1980. p. 277-89.
169. Greve G, Rotevatn S, Svendby K, Grong K. Early morphologic changes in cat heart muscle cells after acute coronary artery occlusion. *Am J Pathol* 1990;136(2):273-83.



170. Vlaicu R, Niculescu F, Rus HG, Cristea A. Immunohistochemical localization of the terminal C5b-9 complement complex in human aortic fibrous plaque. *Atherosclerosis* 1985;57(2-3):163-77.
171. Niculescu F, Rus H, Cristea A, Vlaicu R. Localization of the terminal C5b-9 complement complex in the human aortic atherosclerotic wall. *Immunol Lett* 1985;10(2):109-14.
172. Niculescu F, Hugo F, Rus HG, Vlaicu R, Bhakdi S. Quantitative evaluation of the terminal C5b-9 complement complex by ELISA in human atherosclerotic arteries. *Clin Exp Immunol* 1987;69(2):477-83.
173. Edwalds GM, Said JW, Block MI, Herscher LL, Siegel RJ, Fishbein MC. Myocytolysis (vacuolar degeneration) of myocardium: immunohistochemical evidence of viability. *Hum Pathol* 1984;15(8):753-6.
174. Turillazzi E, Baroldi G, Silver MD, Parolini M, Pomara C, Fineschi V. A systematic study of a myocardial lesion: colliquative myocytolysis. *Int J Cardiol* 2005;104(2):152-7.

## 6 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Lisa Hottelmann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Zum Nachweis früher Herzmuskelzellnekrosen bei plötzlichen Herztodesfällen“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **7 Lebenslauf**

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

## 8 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. em. Dr. med. Dr. h. c. Hans Guski, vormals stellv. Direktor des Instituts für Pathologie der Charité Berlin, für die Überlassung des Themas und die hervorragende Betreuung in allen Etappen dieser Arbeit. Ich hatte großes Glück, in Prof. Guski einen außerordentlich engagierten und fachlich exzellenten Mentor zu finden. Sein kompetenter Rat und seine fachliche Betreuung waren mir in vielen Fragen eine große Hilfe.

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. med. Manfred Dietel, emeritierter Direktor des Instituts für Pathologie der Charité Berlin, bei Herrn Chefarzt Dr. med. Muin Tuffaha, Direktor des Instituts für Pathologie des Carl-Thiem-Klinikums Cottbus, und bei Herrn Dr. med. Jörg Semmler, emeritierter Direktor des Brandenburgischen Landesinstituts für Rechtsmedizin, sowie Herrn Oberarzt Dr. Jürgen Becker, ebenfalls Brandenburgisches Landesinstitut für Rechtsmedizin, für die Möglichkeit, die Daten der Sektionsfälle und die Gewebeproben für diese Studie aus den Institutsarchiven verwenden zu dürfen.

Mein besonderer Dank gebührt Frau PD Dr. med. Katharina Wassilew, ehemals Leiterin der Abteilung für Pathologie am Deutschen Herzzentrum Berlin, für die praktische Unterstützung bei der Durchführung der immunhistochemischen Untersuchungen.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Chefarzt Dr. Tuffaha für seine Unterstützung bei der fotografischen Dokumentation für diese Arbeit bedanken.

Für die Unterstützung bei der praktischen Ausführung der Färbungen danke ich sehr den medizinisch-technischen Assistentinnen Frau Anke Nixdorf, Institut für Pathologie des CTK Cottbus, Frau Jeanette Zoschke, Abteilung für Pathologie des DHZB, und Frau Petra Matylewski, Institut für Neuropathologie der Charité Berlin.

Von Herzen möchte ich meiner Familie danken: Meinen Eltern Dr. Antje und Dirk Hottelmann für die grenzenlose Unterstützung in allen Lebenslagen und ihr stets offenes Ohr, meinem Onkel Dr. Steffen Wagnitz für die Vermittlung des Kontaktes zu Prof. Guski und damit Initiator dieser Arbeit, und meinem Großvater Dr. Harald Wagnitz für sein festes Vertrauen in mich.

Tief verbunden und dankbar bin ich meinem Freund Steffen für seinen liebevollen Rückhalt und sein Verständnis für so manche Schwierigkeit während der Promotion.

## 9 Anhang

### Färbeprotokoll für den BOND-MAX Automaten (Leica Biosystems GmbH, Nussloch)

1. BOND Dewax Solution bei 72°C (2x)
2. BOND Dewax Solution
3. Ethanol 99,5% (3x)
4. BOND Wash Solution (2x)
5. BOND Wash Solution 5 min
6. BOND Epitope Retrieval Solution 1 (2x)
7. BOND Epitope Retrieval Solution 1 30 min bei 95°C
8. BOND Epitope Retrieval Solution 1 12 min
9. BOND Wash Solution bei 35°C (3x)
10. BOND Wash Solution 3 min
11. Novocastra™ Liquid Serum Normal Goat Serum 10 min
12. BOND Wash Solution (3x)
13. Novocastra™ Complement Component C9 30 min
14. BOND Wash Solution (3x)
15. Post Primary AP 10 min
16. BOND Wash Solution 2 min (3x)
17. Polymer AP 20 min
18. BOND Wash Solution 2 min (3x)
19. Aqua dest.
20. Mixed Red Refine 5 min (2x)
21. Aqua dest. (3x)
22. Hämatoxylin 3 min
23. Aqua dest. (4x)

Schritte ohne Zeitangabe sind als kurze Spülschritte zu verstehen. Nach der Färbung im Automaten fand die abschließende Behandlung der Schnitte von Hand statt:

24. Bläuen in Leitungswasser 10 min
25. Aufsteigende Alkoholreihe 90% (2x), 100% (2x)
26. Xylol, Eindeckmedium

**Zusammenstellung der untersuchten Autopsiefälle mit Zuordnung der Fallnummern zu den Sektionsnummern und zum Herkunftsort**

<u>Fall-Nr.</u>	<u>Sektions-Nr.</u>	<u>Institut</u>
1	S 203/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
2	A 207/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
3	A 233/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
4	A 265/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
5	A 335/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
6	A 466/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
7	A 578/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
8	A 646/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
9	A 742/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
10	A 753/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
11	A 799/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
12	A 800/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
13	A 933/10	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
14	A 71/11	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
15	O 88/11	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
16	S 93/11	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
17	S 240/11	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
18	A 325/11	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
19	A 463/11	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
20	A 707/11	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
21	A 927/11	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
22	A 1025/11	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
23	A 53/12	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
24	A 68/12	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
25	A 81/12	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
26	O 120/12	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
27	A 123/12	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
28	A 140/12	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
29	A 275/12	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin

30	A 439/12	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
31	A 467/12	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
32	A 606/12	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
33	S 46/13	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
34	A 87/13	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
35	S 95/13	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
36	S 229/13	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
37	O 242/13	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
38	S 249/13	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
39	A 411/13	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
40	S 412/13	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
41	S 68/14	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
42	S 87/14	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
43	O 119/14	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
44	S 139/14	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
45	A 146/14	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
46	O 148/14	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
47	O 220/14	Inst. f. Pathologie d. Charité Berlin
48	S/2/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
49	S/6/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
50	S/7/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
51	S/16/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
52	S/28/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
53	S/34/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
54	S/52/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
55	S/53/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
56	S/55/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
57	S/58/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
58	S/65/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
59	S/76/13	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
60	S/8/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
61	S/17/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus

62	S/21/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
63	S/25/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
64	S/26/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
65	S/31/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
66	S/37/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
67	S/54/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
68	S/55/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
69	S/56/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
70	S/60/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
71	S/61/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
72	S/62/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
73	S/63/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
74	S/66/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
75	S/70/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
76	S/74/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
77	S/75/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
78	S/79/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
79	S/80/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
80	S/84/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
81	S/87/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
82	S/88/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
83	S/90/14	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
84	S/12/15	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
85	S/20/15	Inst. f. Pathologie d. CTK Cottbus
86	PS 247/12	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
87	PS 275/12	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
88	PS 291/12	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
89	PS 64/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
90	PS 95/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
91	PS 104/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
92	PS 121/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam



93	PS 123/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
94	PS 142/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
95	PS 156/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
96	PS 157/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
97	PS 166/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
98	PS 175/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
99	PS 192/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
100	PS 193/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
101	PS 256/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
102	PS 272/13	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
103	PS 7/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
104	PS 15/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
105	PS 17/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
106	PS 28/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
107	PS 35/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
108	PS 38/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
109	PS 42/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
110	PS 68/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
111	PS 89/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
112	PS 100/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
113	PS 136/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
114	PS 178/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
115	PS 188/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
116	PS 215/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
117	PS 219/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
118	PS 233/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
119	PS 252/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
120	PS 301/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
121	PS 315/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
122	PS 322/14	Brd. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam

123	PS 335/14	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
124	PS 20/15	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
125	PS 39/15	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
126	PS 44/15	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
127	PS 65/15	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam
128	PS 77/15	Brb. Landesinst. f. Rechtsmedizin Potsdam