

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

DISSERTATION

Histologische Untersuchungen der Skelettmuskulatur beim
Plötzlichen Säuglingstod - Vergleich zwischen Zwerchfell und
Iliopsoas

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Friederike Rosseck

aus Berlin

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. med. Gisela Stoltenburg-Didinger
 2. Prof. Dr. med. Jan Sperhake
 3. Prof. Dr. med. Thomas Bajanowski

Datum der Promotion: 4. Februar 2011

Histologische Untersuchungen der Skelettmuskulatur beim Plötzlichen Säuglingstod Vergleich zwischen Zwerchfell und Iliopsoas

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	6
1.1 Der plötzliche Kindstod	6
1.2 Definition	7
1.3 Historisches	8
1.4 Epidemiologie	9
1.5 Auf der Suche nach der Ätiologie	12
1.5.1 Kardiale Funktionsstörungen	13
1.5.2 Schlafposition	13
1.5.3 Hyperthermie	14
1.5.4 Arousal	16
1.5.5 Atemregulation	16
1.5.6 Triple-Risk-Hypothese.....	18
2. Skelettmuskulatur	22
2.1 Anatomie der Skelettmuskulatur	22
2.1.1 M. Iliopsoas (repräsentativer Skelettmuskel als Vergleich).....	23
2.1.2 Zwerchfell (Diaphragma).....	24
2.2 Histologie der Skelettmuskulatur	26
2.3 Entwicklung der Fasertypen	29
2.4 Verteilung der Fasertypen	31
3. Ziel der Arbeit	32

4. Material und Methoden	34
4.1 Histologische Färbemethoden	36
4.1.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung	36
4.1.2 Immunhistochemie	37
4.2 Morphometrie	42
4.3 Statistische Auswertung der Daten	47
5. Ergebnisse	48
5.1 Anamnestische Daten	48
5.2 Morphometrische Daten	52
5.3 Histologie	72
6. Diskussion	82
6.1 Bewertung von Material und Methoden	82
6.1.1 Kollektiv	82
6.1.2 Material	83
6.1.3 Immunhistochemie	84
6.1.4 Morphometrische Methoden	85
6.1.5 Statistische Methoden.....	85
6.2 Bewertung der Ergebnisse	86
6.2.1 Beurteilung der anamnestischen Daten	86
6.2.2 Beurteilung der morphometrischen Daten.....	88
6.2.3 Beurteilung der Histologie	95
7. Zusammenfassung	96
8. Literaturverzeichnis	98
9. Danksagung	110
10. Lebenslauf	111

Abkürzungsverzeichnis

ABC	Avidin-Biotin-Peroxidase Komplex
ALTE	acute life-threatening event
(m)ATPase	(myofibrilläre) Adenosintriphosphatase
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
D.(Abb.)	Diaphragma
DAB	Diaminobenzidin
DNA/RNA	(Desoxy-)Ribonucleinsäure
Fab	antigenbindendes Fragment
Fc	kristallines Fragment
HE	Hämatoxylin-Eosin
IgG	Immunglobulin G
m	männlich
MHC	Myosin Heavy Chain
MHC-f	Myosin Heavy Chain-fast
MHC-s	Myosin Heavy Chain-slow
M.I.(Abb.)	musculus iliopsoas
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (reduziert)
NICHD	National Institute of Child Health and Human Development
Non-SID	Kontrollgruppe der nicht an SID verstorbenen Säuglinge
NTS	nucleus tractus solitarius
RAAS	retikuläres aufsteigendes aktivierendes System
REM	rapid eye movements
SID	Sudden Infant Death
SIDS	Sudden Infant Death Syndrome
SSW	Schwangerschaftswoche
SUID	Sudden unexpected intrauterine death
TropT	Troponin T
UK	United Kingdom
w	weiblich
WHO	World Health Organization

Einleitung

1.1 Der plötzliche Kindstod

Der plötzliche Säuglings- oder Kindstod, in der internationalen Terminologie als SID (Sudden Infant Death) oder früher auch SIDS (Sudden Infant Death Syndrome) bezeichnet, ist ein Phänomen, das weltweit beobachtet werden kann. Ein scheinbar gesunder, bisher unauffälliger Säugling stirbt völlig unerwartet im Schlaf, doch der Grund dafür bleibt auch nach der Autopsie verborgen. Für die Eltern eine Katastrophe, ist dies auch für die Wissenschaft schon seit langer Zeit ein viel diskutiertes Thema. Um eine erfolgreiche Prävention gegen den plötzlichen Säuglingstod betreiben zu können, müssen Ätiologie und Pathogenese erforscht werden. Doch obwohl gerade in den letzten 15-20 Jahren zahlreiche Studien zu vielfältigen Theorien und Ansätzen geführt haben, sind diese weiterhin nicht geklärt. Trotz der erheblich abnehmenden Inzidenz ist SID weiterhin eine der beiden führenden Ursachen für die Säuglingssterblichkeit in den industrialisierten Ländern (Nagler 2002) in der Postneonatalperiode.

Die Abnahme der Inzidenz ist weniger auf verbesserte diagnostische Kriterien zurückzuführen, sondern spiegelt einen realen Rückgang des plötzlichen Kindstodes wider (Bajanowski et al. 2006).

Auch andere Ursachen, die den Tod im Säuglingsalter bedingen wie Frühgeburtlichkeit, genetische Defekte, Infektionen, kongenitale Malformationen (zum Beispiel am Herzen, Gastrointestinaltrakt), spät erkannte Stoffwechselstörungen etc., nehmen z.B. dank Screeninguntersuchungen oder neuer therapeutischer Möglichkeiten ab.

Für den plötzlichen Kindstod liegt die Erklärung dafür vermutlich in den Erkenntnissen zahlreicher Untersuchungen über mögliche Risikofaktoren. Mit Aufklärung und Warnung der Erziehenden über diese Risikofaktoren, zum Beispiel das Schlafen in Bauchlage, führte die Prävention zu einer starken Abnahme der SID-Mortalität (Schellscheidt et al. 1997a). Weil immer noch keine pathognomonische Veränderung bekannt ist, die das SID-Syndrom endgültig erklärt und eine eindeutige Klassifikation zulässt, wird die SID-Diagnose immer noch nach Ausschluss aller anderen Todesursachen vergeben. Die

Forschungsbemühungen kreisen um die Entstehung, Ursachen und Faktoren, die damit im Zusammenhang stehen.

1.2 Definition

Der Begriff SIDS beschreibt plötzlich und unerwartet, aus scheinbarer Gesundheit heraus, meistens während des vermuteten Schlafes auftretende Todesfälle, für die eine postmortale Untersuchung nicht zum Nachweis einer adäquaten Todesursache führt (Beckwith 1970, Bergmann et al. 1970). Während sich ca. zwei bis sechs Prozent der plötzlichen Kindstodesfälle im zweiten Lebensjahr ereignen, bezieht sich der Begriff SIDS definitionsgemäß ausschließlich auf das Säuglingsalter.

Diese Definition von Beckwith wurde 1989 von einer Expertengruppe des National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) präzisiert und erweitert (Wilinger et al 1991). Zusätzlich zu einer Obduktion wurde eine Untersuchung des Ereignisortes („death scene investigations“) sowie eine Auswertung der klinischen Anamnese einbezogen, die ebenfalls nicht zum Nachweis einer adäquaten Todesursache führen durften. Somit stellt SIDS eine Ausschlussdiagnose dar.

Das Phänomen des Plötzlichen Säuglingstodes wurde lange Zeit in zahlreichen Studien uneinheitlich benannt und beschrieben (Valdes-Dapena 1967). Daher wurde 1963 auf dem „I. Internationalen Kongress zu den Ursachen des plötzlichen Kindstods“ in Seattle, der Begriff des „Sudden death in infants“ eingeführt (Benditt und Wedgwood 1964). Sechs Jahre später sprach man auf dem II. Kongress in Seattle erstmals vom „Sudden Infant Death Syndrome“ (SIDS). Beckwith (1970) schlug dabei folgende Definition vor:

„The sudden death of any infant or young child, which is unexpected by history, and in which a thorough post mortem examination fails to demonstrate an adequate cause of death.“

In den folgenden Jahren wurde darauf hin gearbeitet, diese Definition zu präzisieren und zu erweitern, mit dem Ziel, klare Richtlinien und Kriterien einzuführen, die eine standardisierte und damit einheitliche Diagnostik des SIDS ermöglichen. 1989

formulierte eine Expertengruppe des National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) deshalb eine erweiterte Definition:

„The sudden death of an infant under 1 year old that is unexpected by history and unexplained after a thorough postmortem examination, including a complete autopsy, investigation of the scene of death and review of the medical history“ (Wilinger et al. 1991).

Obwohl sich der Begriff „infant“ (Säugling, Kleinkind) über das erste Lebensjahr hinaus erweitern lässt, herrscht Einigkeit darüber, dass SIDS hauptsächlich im Alter zwischen 1 und 6 Monaten auftritt, selten nach dem ersten Lebensjahr. Die Definition des Plötzlichen Säuglingstodes enthält weder eine Todesursache noch die Bezeichnung einer Erkrankung mit letalem Ausgang. Vielmehr wird SIDS aufgrund der Umstände des Todesfalles und durch Ausschluss aller anderen möglichen Todesursachen diagnostiziert. In Deutschland ist man dazu übergegangen, den plötzlichen Kindstod nicht mehr als „Syndrom“ zu bezeichnen, sondern verwendet vorwiegend die Bezeichnung SID (Jorch 2001).

1.3 Historisches

Der plötzliche Kindstod ist vermutlich so alt wie die Menschheit selbst. Als frühestes Zeugnis gilt das auf 500 vor Christus datierte Buch der Könige im Alten Testament: „Nun starb der Sohn dieser Frau während der Nacht, denn sie hatte ihn im Schlaf erdrückt“ (1. Könige 3, 19 nach Norvenius 1995).

Fast zwei Jahrtausende lang glaubte man, dass die Todesursache im „Überliegen“, also im Erdrücken oder Ersticken des Kindes durch den Körper eines schlafenden Erwachsenen zu suchen sei. So zog sich das Thema von der Antike über das Mittelalter bis zur heutigen Zeit sowohl durch die medizinische als auch durch die juristische Literatur. Kindsmord und „Überliegen“ waren gleichermaßen strafbar (Limerick 1992). Erste wissenschaftliche Auseinandersetzungen mit dem „plötzlichen Kindstod“ sind Anfang des 19. Jahrhunderts zu erkennen. Favorisiert wurde das Konzept des „Status thymico-lymphaticus“ oder „Asthma thymicum“: ein stark vergrößerter Thymus sollte die Atemwege oder nahe Nervenbahnen komprimieren und so zum Tode führen. Allerdings

folgerte der schottische Polizeiarzt Templeman noch im Jahre 1892 aus seinen Untersuchungen, dass die Hauptgründe der hohen Sterblichkeit durch Überliegen 1. Unwissenheit und Nachlässigkeit der Mütter, 2. Trunkenheit, 3. Überfüllung wären (Norvenius 1995).

Im 20. Jahrhundert wurde man sich dann vollständig des Rätsels bewusst, vor das der plötzliche Kindstod die Wissenschaft bis heute stellt. Verschiedenste Untersucher stellten unzählige Hypothesen auf und tun es heute noch.

1963 wurde die erste Konferenz zu den Ursachen von SID in Seattle abgehalten, eine erste Definition vom plötzlichen Kindstod erfolgte 1969.

Erst 1979 wurde „Sudden Infant Death“ in die International Classification of Diseases der WHO aufgenommen.

1.4 Epidemiologie

Der plötzliche Säuglings- oder Kindstod, in der internationalen Terminologie als SID oder SIDS bezeichnet, nimmt unter den plötzlichen Todesfällen eine Sonderstellung ein. Die Inzidenz des SID reicht weltweit von weniger als 0,1 bis zu 2,5 von tausend lebendgeborenen Säuglingen, und in den großen Industrieländern stellt SID mittlerweile die häufigste kindliche Todesursache nach Ende der Perinatalperiode dar (Dwyer und Ponsonby 1995). In Deutschland waren regelmäßig etwa 2 von 1000 Kindern betroffen (Penning 1996) mit in den letzten Jahren stark abnehmender Tendenz (1999 ca. 0,7 von 1000 Kindern).

In Abb. 1.1 und 1.2 sind die SID-Raten sowie der Anteil von SID an der Gesamtmortalität in einigen Ländern zum Vergleich graphisch dargestellt.

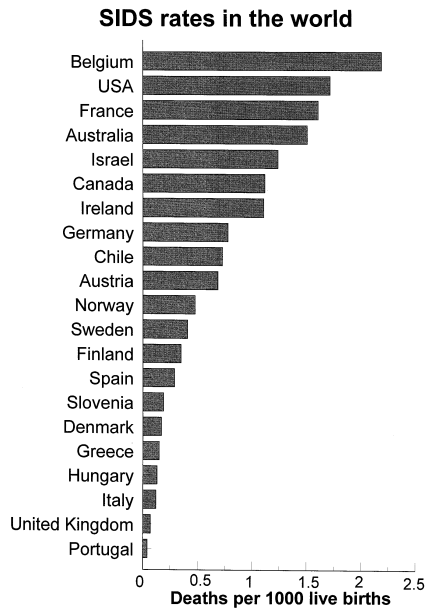


Abbildung 1.1

Häufigkeiten von SID in einigen Ländern von 1992-1996 (Quelle: 1996 World Health Statistics Annual, Genf 1998, nach Vege und Rognum 1999)

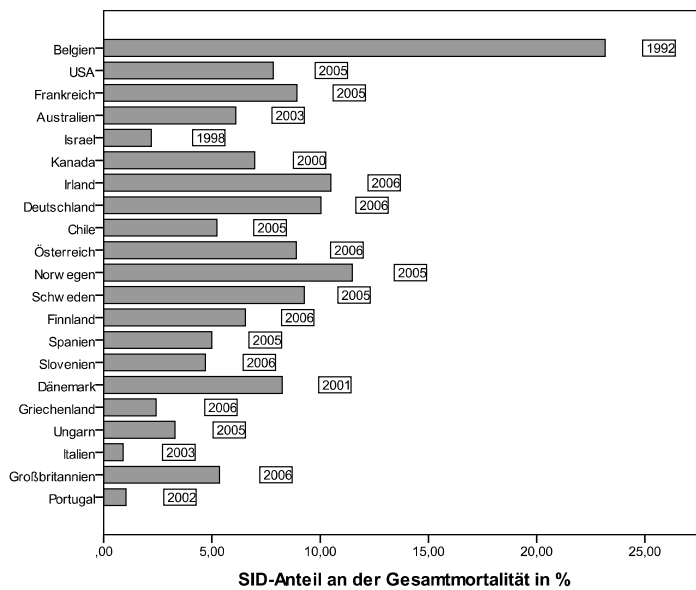


Abbildung 1.2

SID-Anteil an der Gesamtmortalität in den oben aufgeführten Ländern (Quelle: WHO), mitangegeben das Jahr, aus dem die aktuellsten verfügbaren Daten stammen

1998 verstarben in Deutschland 558 Kinder zwischen dem 7. und 365. Lebenstag unter der Verdachtsdiagnose SIDS (Statistisches Bundesamt 2000). Der Plötzliche

Säuglingstod machte demnach 1998 knapp 30% der postneonatalen Gesamtmortalität in Deutschland aus.

2008 verstarben dagegen in Deutschland nur noch 204 Kinder zwischen dem 7. und 365. Lebenstag unter der Verdachtsdiagnose SID (Statistisches Bundesamt 2010). Der Plötzliche Säuglingstod machte demnach 2008 nur noch 18 % der postneonatalen Gesamtmortalität aus und wurde in der Todesursachenstatistik hinter die angeborenen Fehlbildungen und Chromosomenanomalien (328 Todesfälle postneonatal, 27,5 %) auf den zweiten Platz verdrängt. Dabei ist jedoch zu beachten, dass Todesfälle in der Postneonatalperiode, die mit Frühgeburtlichkeit oder niedrigem Geburtsgewicht einhergingen, nicht bei den SID-Fällen berücksichtigt wurden, obwohl diese Merkmale als Risikofaktoren mit SID in Zusammenhang stehen.

SID ereignet sich vorwiegend innerhalb des ersten Lebensjahres, wobei der Altersgipfel im 2. bis 4. Lebensmonat liegt und Jungen etwas häufiger betroffen sind.

Die Kinder werden meist nach dem Schlafenlegen und häufig in Bauchlage tot aufgefunden. Teilweise sind sie - offenbar agonal - mit dem Kopf unter eine Decke gekrochen, ohne dass ein Erstickungstod in Frage käme. Vereinzelt findet sich ein agonales Erbrechen oder etwas abgeronnenes, wässriges Sekret um Mund und Nase. Nicht ganz selten sind die Kinder völlig durchgeschwitzt - Temperaturen bis 40°C wurden unmittelbar postmortal beobachtet. SID-Fälle treten aber auch in Krankenhäusern bei laufendem Alarmmonitor auf, selbst unmittelbar einsetzende Reanimationsmaßnahmen sind nicht immer erfolgreich.

Als stark gefährdet gelten auch Kinder, die ein ALTE (acute life-threatening event) durchgemacht haben. ALTE wurden früher auch als „near miss sudden infant death“ bezeichnet und meint, dass Kinder einen Atemstillstand oder eine Dekompensation der Vitalorgane überlebt haben oder an rezidivierenden Apnoen leiden. Viele Studienergebnisse zum plötzlichen Kindstod beruhen auf Untersuchungen an ALTE-Kindern, jedoch ist die Beziehung zum SID nicht ganz geklärt (Filiano und Kinney 1995). Demgegenüber finden sich auch spontan überlebte Near-miss-SID-Fälle (Penning 1996).

Auch die Jahreszeit scheint eine Rolle zu spielen, da die überwiegende Zahl der SID-Fälle in den Herbst- und Wintermonaten diagnostiziert wird, sowohl in der nördlichen als auch in der südlichen Hemisphäre (Douglas et al. 1996), wobei keine enge Beziehung zwischen SID und dem Auftreten einer Bronchiolitis gezeigt werden konnte (Gupta et al. 1996).

Darüber hinaus sind bestimmte Risikofaktoren beschrieben worden, die ein Auftreten von SID wahrscheinlicher machen. Dazu gehören mütterliche Faktoren wie Zigarettenrauchen während und nach der Schwangerschaft (Schoendorf und Kiely 1992), Anämie und Abruptio placentae (Klonoff-Cohen et al. 2002), niedriger sozioökonomischer Status, Alter unter 20 Jahren und mehrere Schwangerschaften (Leach et al. 1999), kurze Abstände zwischen den Schwangerschaften (Lewak et al. 1979) sowie Harnwegsinfekte (Stewart et al. 1995).

Zwischen verschiedenen ethnischen Gruppen scheint es gleichfalls Unterschiede zu geben. So sind die Inzidenzen von SID am niedrigsten in asiatischen und lateinamerikanischen, mittelhoch in weißen und am höchsten in schwarzen und nativen amerikanischen Populationen (Mathews und MacDorman 2007).

Die relativen Risikofaktoren beim Neugeborenen sind männliches Geschlecht und niedriges Geburtsgewicht (<2500g) (Leach et al. 1999), meist verbunden mit vorterminaler Geburt, sowie eine langsame Gewichtszunahme (Blair et al. 2000). Als vermeidbare Risikofaktoren gelten das Schlafen des Kindes im elterlichen Bett oder in Bauchlage (American Academy of Paediatric Task Force 1992), im zu warmen Zimmer sowie mit zu warmer Bedeckung (Fleming et al. 1990).

1.5 Auf der Suche nach der Ätiologie

Eine gesicherte Ätiologie für SID ist noch nicht gefunden worden. Die gängige Theorie besagt, dass ein scheinbar ruhig schlafendes Kind eine Kaskade von pathophysiologischen Ereignissen erlebt, die gekennzeichnet sind durch eine progressive oder rapide Entwicklung von Hypoxie, Hyperkapnie und Azidose, von denen alle als Trigger für zentrale Apnoe und respiratorischen Arrest wirken, was schließlich zu tödlichen kardialen Arrhythmien führt (Sparks und Hunsaker 2002, Prandota 2004).

1.5.1 Kardiale Funktionsstörungen

Da Störungen der Herzleistung ja auch der häufigste Grund für einen sogenannten „plötzlichen“ Tod beim Erwachsenen sind, befürworteten viele Autoren zunächst die Möglichkeit einer kardialen Ursache des plötzlichen Kindstodes.

Naeye et al. (1976) fanden eine Rechtsherzhypertrophie, andere Autoren fanden aberrante Reizleitungsbündel (Guntheroth 1977). Durch Untersuchungen an ALTE-Kindern oder SID-Risikokindern, die an Monitoren angeschlossen waren, stellten Physiologen mehr tachykarde Episoden, höhere Herzfrequenz, längere QT-Intervalle und Arrhythmien als bei Kontrollkindern fest (Southall et al. 1988, Guntheroth und Spiers 1999, Makielski 2006, Wedekind et al. 2006). Die Arbeitsgruppe Kelly konnte beispielsweise Anfang der 1990er Jahre anhand der zur Prävention propagierten Heimmonitoren die Herz-Kreislauf- und Atmungsfunktionsprotokolle auswerten, die bei SID-Todesfällen direkt aufgezeichnet wurden. Sie entdeckten, dass noch vor einer Beeinträchtigung der Atmungsfunktion eine Bradykardie auftrat, die schließlich zum Herzstillstand führte (Kelly et al. 1991, Meny et al. 1994).

1.5.2 Schlafposition

In den letzten Jahren ist die Mortalität von SID zunehmend mit der Schlafposition der Kinder in Zusammenhang gebracht worden. Im Zeitraum der Jahre 1980 bis 1992 wurde in mehreren Ländern, die einen rapiden Wechsel der Schlafposition bei Säuglingen von der Bauch- zur Rückenlage verzeichneten, eine Abnahme der SID-Todesfälle um etwa 50% festgestellt (Willinger et al. 1994). Insbesondere die in Großbritannien 1991 durchgeführte „Back-To-Sleep-Campaign“, die sich auf Ergebnisse aus einer Studie beruft, die in Großbritannien zwischen 1984 und 2003 durchgeführt wurde, war wegweisend. Demzufolge nahm die SID-Rate in England und Wales um 75% ab (Blair et al. 2006a und b). Weitere Studien bestätigten, dass der Rückgang des Schlafens in Bauchlage, die somit einen vermeidbaren Risikofaktor darstellt, hauptsächlich für die Verringerung der SID-Mortalität verantwortlich ist (Schellscheidt et al. 1997a und b, Centers for Disease Control 1999). Obwohl ungefähr zeitgleich die verbesserten diagnostischen Standards und Kriterien zur Diagnosestellung von SID vom NICHD in den USA herausgegeben wurden, und somit der Rückgang der SID-

Mortalität auch im veränderten diagnostischen Vorgehen begründet sein könnte (Sawaguchi et al. 1998), empfahlen klinische Forscher das Schlafen in Rückenlage als einen Weg, SID zu verhindern, was aufgrund von diesbezüglich durchgeführten Werbekampagnen auch eine zunehmende Akzeptanz erfuhr (American Academy of Pediatric Task Force 1992, Gibson et al. 1995, Willinger et al. 1998).

Einen Erklärungsansatz für den offensichtlichen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von SID und der Schlafposition bot eine Studie, in der nach pharyngealer Flüssigkeitsapplikation im Schlaf eine signifikante Verminderung des Schluckreflexes und vermindertes Einsetzen der Atmung in der Bauchlage im Vergleich zur Rückenlage beobachtet wurde. Dieser Befund lässt reduzierte Schutzreflexe der Atemwege beim Schlafen in der Bauchlage vermuten und könnte somit ein höheres Risiko für SID erklären (Jeffery et al. 1999).

1.5.3 Hyperthermie

Die bereits erwähnten erhöhten Temperaturen, die bei einer Anzahl von SID-Opfern gefunden wurden, oft verbunden mit starkem Schwitzen, haben die Aufmerksamkeit auf die Hyperthermie als mögliche Ursache von SID gelenkt.

In diesem Zusammenhang wurden sowohl eine Überwärmung durch unangemessen wärmende Bekleidung in Verbindung mit hohen Umgebungstemperaturen als auch endogene Wärmeproduktion in Betracht gezogen. Ebenso wurde erwogen, dass unreife zentrale Thermoregulationszentren zur Hyperthermie führen könnten (Byard 1991).

Dabei wurde die Überhitzung durch externe Wärmezufuhr als unabhängiger Risikofaktor für SID identifiziert und akzeptiert (Fleming et al. 1990; Kleemann et al. 1996). In Verbindung mit dem Schlafen in Bauchlage könnte eine behinderte Wärmeabgabe über das Gesicht Ursache einer gestörten Thermoregulation sein (Nelson et al. 1989). Verschiedene pathophysiologische Erklärungsmodelle wie eine Störung der respiratorischen Chemorezeptoren (Gozal et al. 1988) oder eine Instabilität des Surfactants bei höheren Temperaturen (Talbert 1990) wurden diskutiert, ohne letztlich ganz zu überzeugen.

Andererseits könnte die erhöhte Temperatur auch als Reaktion des Körpers auf eine Infektion interpretiert werden. In diesem Zusammenhang fällt die Gemeinsamkeit anerkannter Risikofaktoren für SID auf der einen und Infektionen der oberen Atemwege

auf der anderen Seite auf (GeSID-Studienprotokoll, Findeisen et al. 2004, Vennemann et al. 2005, Kinney und Thach 2009).

Zusammenfassend ergeben sich folgende Risikofaktoren: Exposition gegenüber Zigarettenrauch, Schlafen in Bauchlage, das nächtliche Auftreten der Todesfälle, das Alter von zwei bis vier Monaten sowie das Wegfallen des protektiven Effekts der Muttermilch (Blackwell und Weir 1999).

Morris (1999) ermittelte in seiner „common bacterial hypothesis“ mittels eines mathematischen Modells eine Altersverteilung von SID, die der tatsächlichen Verteilung entspricht. Das Modell berücksichtigt die abnehmenden mütterlichen IgG-Antikörper auf der einen sowie zunehmende Immunkompetenz des kindlichen Organismus auf der anderen Seite. Außerdem forderte er, dass das auslösende Agens so weit verbreitet sein müsse, dass 50% der Bevölkerung innerhalb von 50 Tagen damit in Berührung kommen müssten. Das wiederum trifft nur für Bakterien zu, so dass, wenn eine infektiöse Ursache die Altersverteilung erklären kann, nur Bakterien, nicht aber Viren dafür in Frage kämen (Morris 1999).

Man hat jedoch in der Mehrzahl der Fälle keine invasive bakterielle Infektion bei SID gefunden, wobei die Diagnose SID dann auch nicht mehr zutreffen würde (Blackwell und Weir 1999).

Nachdem das Schlafen in Bauchlage als Risikofaktor für SID erkannt worden war, richtete sich die Aufmerksamkeit auf Faktoren, die das Versterben in dieser Position triggern könnten. Diese umfassen eine verminderte Wärmeabgabe über das Gesicht, wenn dieses nach unten gerichtet in das Kissen gedrückt wird. Aus der Hyperthermie resultiert eine gestörte kardiorespiratorische Regulation sowie gleichzeitig eine Asphyxie durch Verlegung der Atemwege, bzw. Rückatmung der desoxygenierten kohlendioxidreichen Luft bei nach unten gerichtetem Gesicht (Kinney und Thach 2009). Dadurch wiederum wird der Aufwachvorgang (Arousal) beeinträchtigt.

1.5.4 Arousal

Es wurden eine Verlängerung der Tiefschlafphasen und eine verminderte Aufwachreaktion auf verschiedene Stimuli während des Schlafens in Bauchlage als ursächlich für das Auftreten von SID diskutiert, die wiederum mit einer Veränderung autonomer kardiovaskulärer Funktionen einhergehen, und damit einen Beitrag zur pathophysiologischen Endstrecke von SID leisten könnten (Horne et al. 2002).

Der Aufwachvorgang wird durch abnormale Partialdrücke für Kohlendioxid (erhöht) bzw. Sauerstoff (erniedrigt) ausgelöst und ist als Schutzmechanismus von essentieller Bedeutung zur Sicherung der Luftzufuhr, indem das Kopfdrehen und die Einatmung frischer Luft dadurch überhaupt erst ermöglicht wird (Patel et al. 2001). Man unterscheidet zwischen kortikalem und subkortikalem Aufwachmechanismus. Beim kortikalen Arousal sind noradrenerge, serotonerge (5-Hydroxytryptamin), dopaminerge, cholinerge und histaminerge Neurone in Hirnstamm, basalem Vorderhirn und Hypothalamus beteiligt, die den cerebralen Kortex aktivieren (Sinton und McCarley 2004). Das subkortikale Arousal hingegen wird hauptsächlich im Hirnstamm verschaltet, wodurch die Herzfrequenz, der Blutdruck, die Atmung und der Muskeltonus steigen, ohne dass sich die kortikale Aktivität ändert. In prospektiven Studien an Kindern, die im Nachhinein mit der Diagnose SID verstorben sind, wurden bei den SID-Kindern häufigere und längere Episoden des subkortikalen Arousals und weniger Episoden des kortikalen Arousals festgestellt als bei den Kontrollfällen. Diese Befunde deuten auf einen subklinisch defizitären Aufwachmechanismus hin. (Kahn et al. 1992, Schechtman et al. 1996, Kato et al. 2003, vgl. Abb. 1.3).

1.5.5 Atemregulation

Gefunden wurden dabei in polysomnographischen Studien u.a. längere zentrale und obstruktive Apnoephasen bei späteren SID-Opfern (Kahn et al. 1988 und 1992, Erler et al. 1999, Erler 2002), ein erschwertes Erwachen aus dem Schlaf v.a. in den frühen Morgenstunden (Schechtman et al. 1995 und 1996) sowie allgemein eine veränderte

Schlafperiodizität mit einer Verschiebung der verschiedenen Schlafstadien (Harper et al. 1981; Schechtman et al. 1992a).

Außerdem fanden sich bei SID-Opfern prolongierte Asystolien aufgrund vagaler Hyperreaktivität verglichen mit Kontrollen (Kahn et al. 1983), höhere Herzfrequenzen mit reduzierter Variabilität (Schechtman et al. 1992b) sowie eine Imbalance des autonomen Nervensystems (Franco et al. 1998).

All dies hat dazu geführt, nach neuropathologischen Veränderungen im Hirnstamm und dort speziell in der Medulla oblongata zu suchen. Diese beherbergt Kerngebiete, die den kardialen Tonus [Retikuläres aufsteigendes aktivierendes System (RAAS), vagale Kerngebiete und Ncl. tractus solitarii (NTS)], die Atmung während des Schlafes (dorsale und ventrale respiratorische Kerne, NTS), das Erwachen aus dem Schlaf (RAAS, NTS) und Muskeln, die die Atemwege offen halten (Ncl. hypoglossi, NTS), kontrollieren. Untersuchungen mit spezifischen Radioliganden zeigten eine generalisierte Reduktion der Serotoninbindung an den 5-HT_{1A}-Rezeptor bei SID-Kindern im Vergleich zu den Kontrollfällen (Paterson et al. 2006, Kinney und Thach 2009, Duncan et al. 2010). Die Medulla enthält auch eine Neuronengruppe (Ncl. arcuatus), von der angenommen wird, dass sie den paCO_2 (Kohlendioxidpartialdruck) erfassen und damit ein Erwachen verursachen oder die Atmung als Antwort auf Hyperkapnie beeinflussen kann (Franco et al. 1998).

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

Bei schwerer Hypoxie oder Ischämie versagt die normale Atmung und wird ersetzt durch sog. „gasping“ (Luftschnappen). Dieses Gasping steigert das Atemzugvolumen und dadurch den Sauerstofftransport zum Herzen und die Ejektionsfraktion. Dies verbessert die cerebrale Durchblutung und Sauerstoffversorgung. Die für das Gasping

verantwortlichen Neurone befinden sich in der rostralen Medulla (Paton et al. 2006, Tryba et al. 2006, St.-John und Leiter 2008). Untersuchungen an späteren SID-Kindern deuten darauf hin, dass deren Gasping ineffektiv ist und es nicht zum Anstieg der Herzfrequenz kommt (Sridhar et al. 2003).

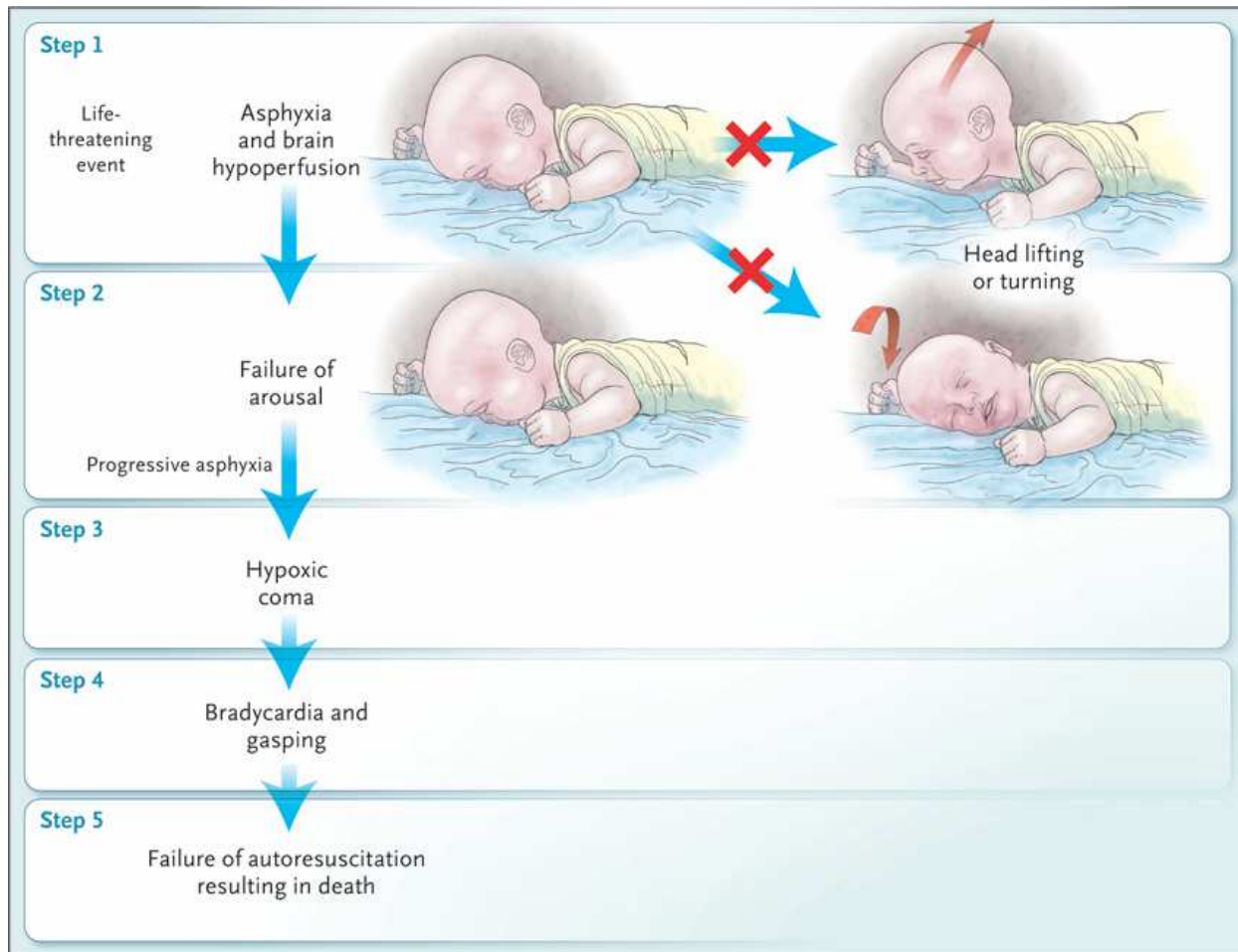


Abbildung 1.3

Fünf-Stufen-Modell des anzunehmenden terminalen Atemversagens bei SID (Kinney und Thach 2009)

1.5.6 Triple-Risk-Hypothese

Ein zusammenfassendes Konzept zur Erklärung und Darstellung der multifaktoriellen Daten stellt das Triple-Risk-Modell dar (Abb. 1.4).

Das Modell unterstreicht die Interaktion der multiplen Faktoren in der Pathogenese des SID. Demnach tritt SID auf, wenn drei Faktoren gleichzeitig zusammenkommen. Den

ersten Faktor stellt eine besondere Vulnerabilität oder Prädisposition des Kindes dar, den zweiten Faktor eine kritische Phase in der Entwicklung des Kindes und den dritten Faktor exogene Stressoren (Abb. 1.4, Filiano und Kinney 1994, Eler 2002).

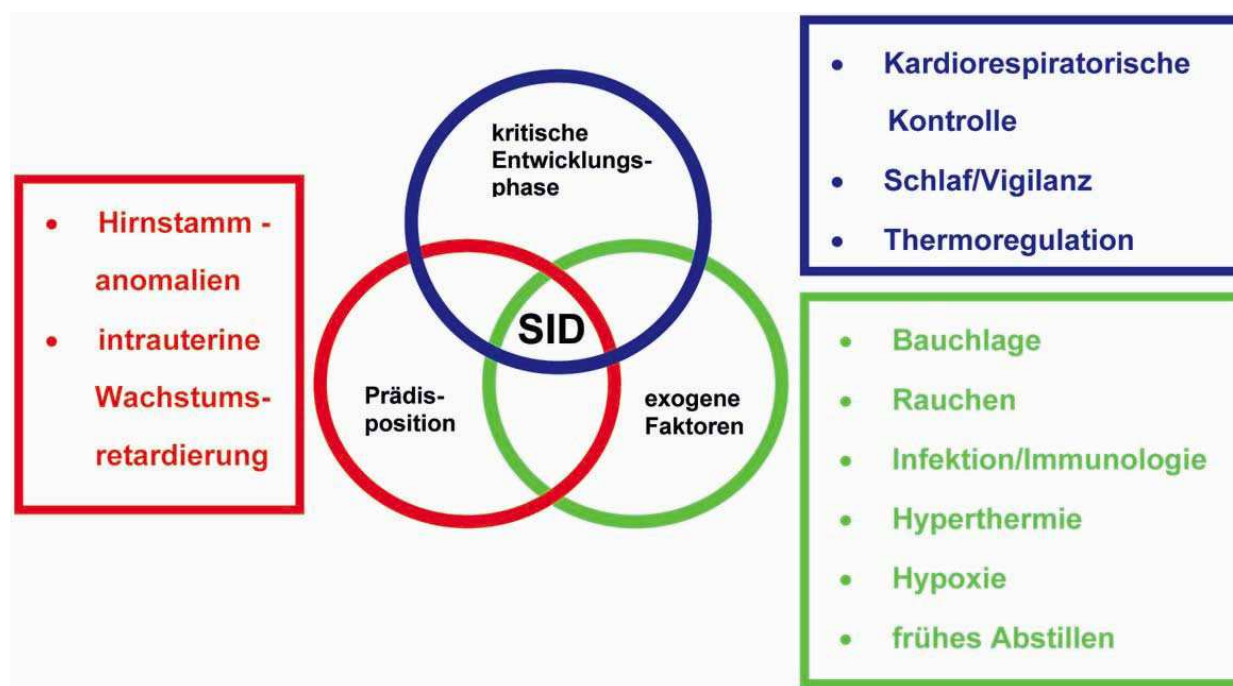


Abbildung 1.4

Das Schaubild mit drei sich überlagernden Kreisen stellt das Triple-risk-Modell für SID dar. SID resultiert aus drei überlappenden Faktoren: 1) Prädisposition, 2) kritische Entwicklungsphase, 3) exogene Faktoren/Stressoren (Eler 2002)

Diese exogenen Stressoren, die auch als extrinsische Faktoren bezeichnet werden, umfassen unter anderem das Schlafen in Bauchlage, ggf. mit Bedeckung des Gesichts, Rauchen der Mutter oder die Umgebungstemperatur (Abb. 1.5, Kahn et al. 2003).

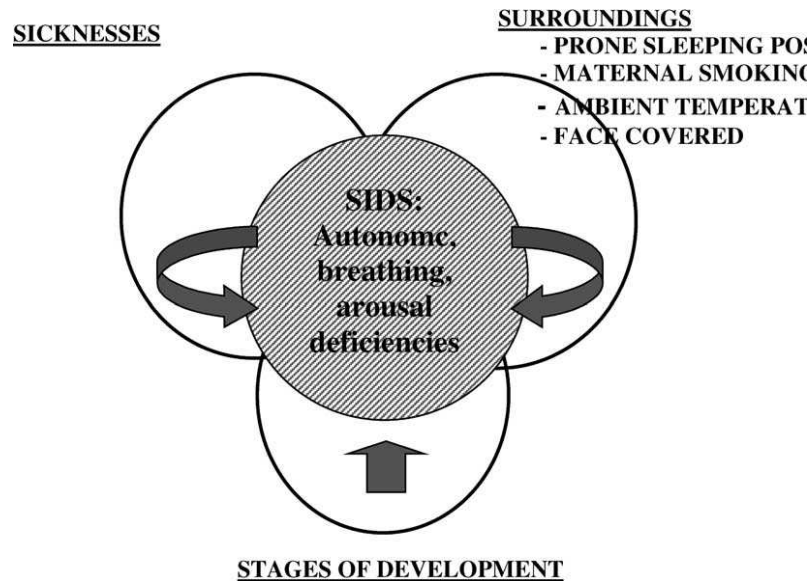


Abbildung 1.5

Der Begriff „Sicknesses“ ist irreführend und wird besser beschrieben durch die von Filiano und Kinney (1994) vorgeschlagene Bezeichnung „Vulnerabilities“, die auch Entwicklungsstörungen beinhaltet

Dieses Triple-Risk-Modell ist eine stark vereinfachte Darstellung des Zusammenspiels der Faktoren. In einer ausführlicheren Auflistung der genetischen Faktoren gehen Hunt und Hauck (2006) auf dieses komplexe Zusammenspiel näher ein (Abb. 1.6).

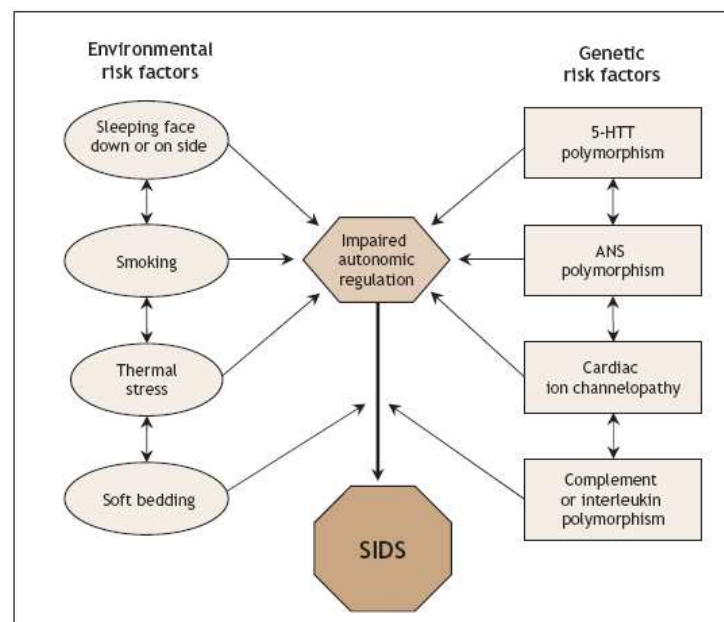


Abbildung 1.6

Schematische Zusammenfassung möglicher Interaktionen zwischen Umwelteinflüssen und genetischen Faktoren bei SID. Die klinischen Konsequenzen hinsichtlich des Phänotyps sind für das autonome Nervensystem und die Serotonintransporter-Polymorphismen unbekannt.

Die genannten Faktoren können auch in so genannte intrinsische und extrinsische Faktoren unterteilt werden. Die intrinsischen Faktoren lassen sich in Genetik (männliches Geschlecht, Polymorphismen des Serotonintransporters, ethnische Abstammung), Entwicklung (Frühgeburtslichkeit) und Umwelteinflüsse (perinatale Rauchexposition, bzw. elterlicher Konsum von Tabak, Alkohol oder Drogen, niedriger sozioökonomischer Status) unterteilen. Die extrinsischen Faktoren sind wie oben erwähnt die Schlafposition, weiche Lagerung, Schlafen im elterlichen Bett und geringe Infekte wie z.B. eine Erkältung (Kinney und Thach 2009).

Nach dem derzeitigen Kenntnisstand resultiert SID aus einem Zusammentreffen mehrerer Komponenten oder Stressoren. Diese bewirken in ihrem Zusammenspiel letztendlich eine Asphyxie bei einem vulnerablen Kind, das über unzureichende kardiorespiratorische, bzw. Arousal-assoziierte Schutzmechanismen verfügt. Wenn dies zusätzlich in einer kritischen Entwicklungsphase des Kindes passiert, in der die unreifen Schutzmechanismen nicht greifen, kommt es zum plötzlichen Kindstod.

Demnach besagt die derzeit gültige Theorie der Pathogenese des SID, dass das gleichzeitige zufällige Eintreffen mehrerer – einzeln betrachtet – vergleichsweise harmloser Ereignisse in der Kombination den schlimmstmöglichen Ausgang nimmt (Kinney und Thach 2009).

Aufgrund der Annahme, dass der Atemregulation in der Pathogenese des SID eine zentrale Rolle zukommt, wurde die Atemmuskulatur als ausführendes Organ im Vergleich zu dem M. Iliopsoas in dieser Arbeit untersucht. Da als pathophysiologische Basis des Rückgangs der Inzidenz von SID eine Assoziation mit der Empfehlung, die Rückenlage der Bauchlage als Schlafposition für das Kind zu bevorzugen, angenommen wird, wurden bereits von Rehan et al. (2000) Untersuchungen zur Dicke des Zwerchfells bei Kindern in diesen beiden Lagen verglichen. Demzufolge ist in Bauchlage die Länge der Muskelfasern des Diaphragmas verkürzt und dadurch die Muskelkraft reduziert. Dies könnte die Möglichkeiten des Kindes, auf eine respiratorischen Stresssituation wie beispielsweise eine Verlegung der Atemwege, Hypoxie oder Hyperkapnie zu reagieren, beeinträchtigen und somit Ursache für die Assoziation des SID mit der Bauchlage sein.

2. Skelettmuskulatur

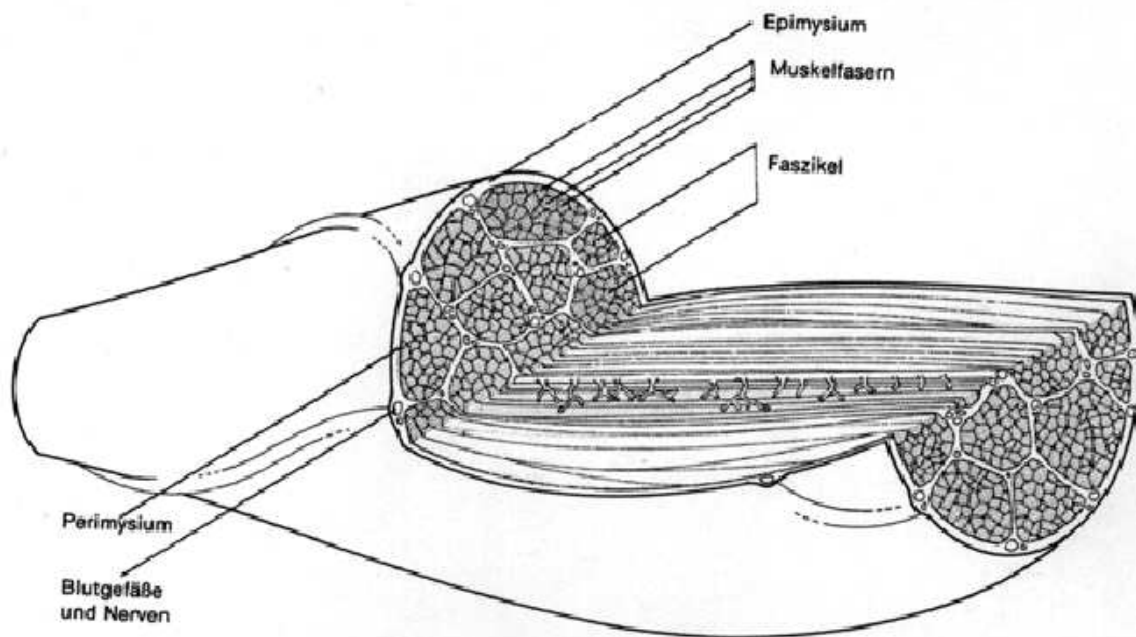


Abbildung 2.1:

Schematische Darstellung des Aufbaus eines Skelettmuskels (Wheater et al. 1987)

2.1 Anatomie der Skelettmuskulatur

Die Skelettmuskulatur setzt sich aus 434 Einzelmuskeln zusammen, die etwa 25-35% des Gesamtkörpergewichts bei Frauen und 40-50% bei Männern ausmachen (Hollmann und Hettinger 1997), womit sie das größte Organ des Menschen darstellt. Muskeln bestehen aus polygonalen, mehrkernigen Muskelzellen mit spindelförmiger Konfiguration, sogenannten Muskelfasern. Muskelfasern können eine Länge von bis zu 30 cm und einen Durchmesser von ca. 10 bis 100 μm erreichen (Wheater et al. 1987). Länge und Durchmesser der Muskelfasern hängen von Geschlecht, Alter und körperlicher Aktivität ab.

Jenseits der lichtmikroskopisch beurteilbaren Muskelfasern sind die kleinsten fassbaren funktionellen Einheiten der Muskulatur die aus kontraktile Myosin- und Aktinfilamenten bestehenden Myofilamente. Benachbarte Muskelfasern werden von einem dünnen Netzwerk aus Bindegewebe, dem Endomysium, umgeben. Einige hundert Muskelfasern

bilden einen Sekundärfaszikel, der von einer kräftigeren Schicht aus Bindegewebe, dem Perimysium internum umgeben wird. Das Perimysium internum enthält versorgende Blutgefäße und Nerven, welche sich in das Endomysium fortsetzen. Der Durchmesser eines Sekundärfaszikels liegt bei etwa einem Millimeter. Einige Dutzend dieser Sekundärfaszikel bilden einen Primärfaszikel, der wiederum von einer breiteren Bindegewebe-schicht, dem Perimysium externum, umfasst wird. Der eigentliche Muskel ist aus einer unterschiedlichen Anzahl solcher Primärfaszikel aufgebaut und wird von einer starken Bindegewebe-schicht, der Faszie, umschlossen. Die subfaszialen Bindegewebeanteile, die sich kontinuierlich in das Perimysium fortsetzen, werden als Epimysium bezeichnet (Schröder 1982, Engel 2004).

Eine variable Anzahl von Muskelfasern wird von einer spinalen Vorderhornzelle innerviert: in der extraokularen Muskulatur versorgt eine Vorderhornzelle etwa 10 Fasern, in der Extremitätenmuskulatur bis zu 2000 Fasern (Sisson 1974).

2.1.1 M. Iliopsoas (repräsentativer Skelettmuskel als Vergleich)

Die Wirkung des Muskels M. iliopsoas (Hüftlendenmuskel) besteht in einer Antevertierung, Außenrotation und Abduktion am Spielbein. Der Rumpf wird durch ihn auf der Seite des Standbeines seitwärts bzw. vorwärts geneigt. Von Bedeutung ist der Iliopsoas zudem bei der Stabilisierung der Beckenstellung, da er das Becken nach vorne zu drehen vermag und in Verbindung mit anderen Hüftbeugern als Antagonist gegenüber der Bauch- und Glutealmuskulatur wirkt. Der Muskel wird als der typische Laufmuskel bezeichnet, da er den Oberschenkel nach vorne oben führt. Die Schrittlänge bzw. die Konstanz dieser Schrittlänge wird durch seine Kraft bzw. Kraftdauer beeinflusst.

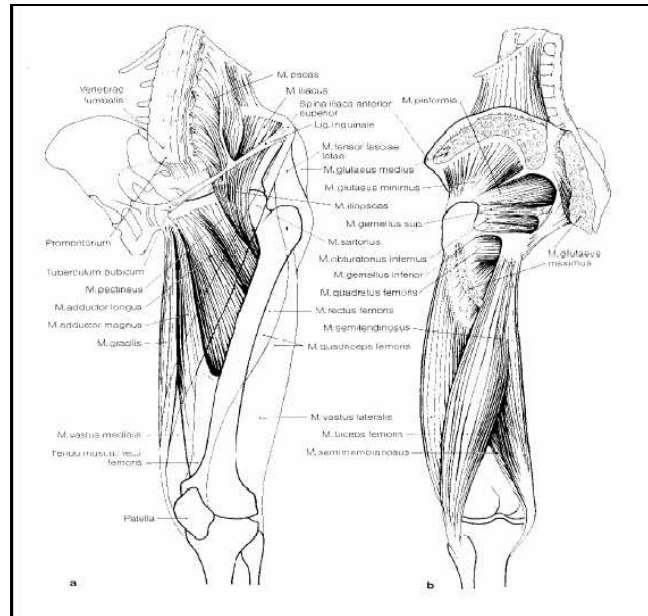


Abbildung 2.2

Muskulatur des Hüftgelenkes, von ventral (a) und dorsal (b) dargestellt (Tönnis 1984)

2.1.2 Zwerchfell (Diaphragma)

Der kuppelförmige Zwerchfellmuskel besitzt einen rechten und einen linken Anteil. Diese sind zentral an einer Sehnenplatte, dem Centrum tendineum, verwachsen. Das Zwerchfell trennt die Oberbauchorgane räumlich von der Thoraxhöhle, wobei drei Zwerchfelllücken den Durchtritt von Gefäßen und Ösophagus ermöglichen. Die rechte Zwerchfellkuppel projiziert sich in Ruhe in Höhe des vierten, die linke Kuppel in Höhe des fünften Interkostalraumes, wobei der rechte Anteil aufgrund des Leberstands einen Zwischenrippenraum höher liegt.

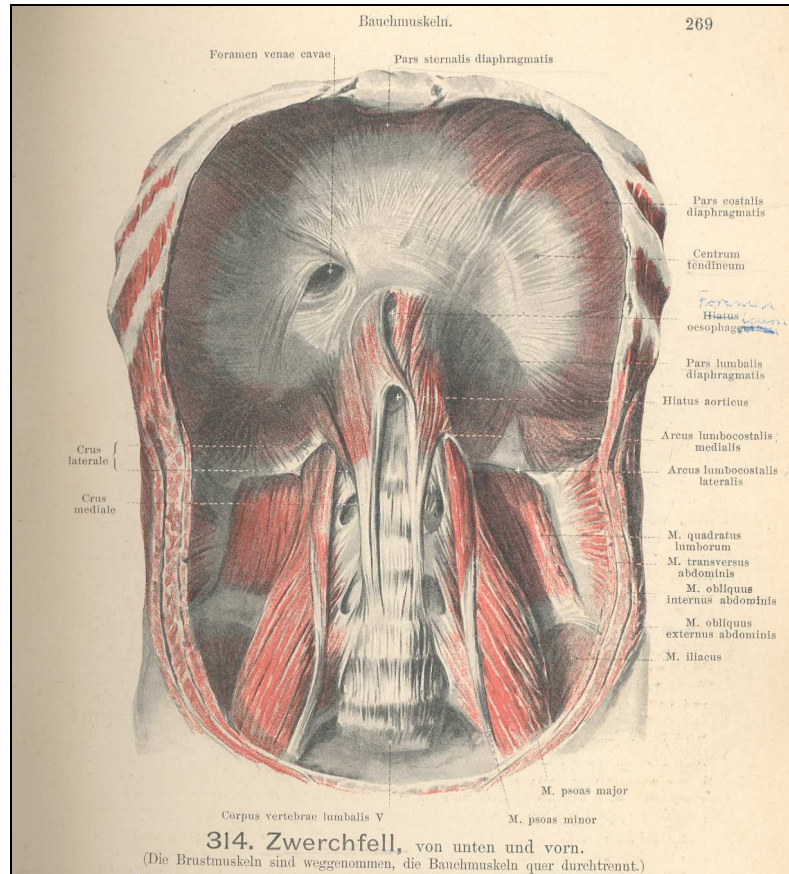


Abbildung 2.3

Zwerchfell und Psoas (in: Spalteholz 1904)

Das Zwerchfell wird innerviert vom Nervus phrenicus. Ursprungsort des Zwerchfellnerven (Nervus phrenicus) sind die Vorderhornzellen des Rückenmarks auf Höhe von C3-C5. Die Nervenfasern lagern sich anschließend zum Plexus cervicalis zusammen. Im Halsbereich verläuft der Nervus phrenicus auf dem Musculus scalenus anterior, wo er zwischen Arteria subclavia und Vena brachiocephalica in die Brusthöhle eintritt. Er zieht anschließend zwischen Perikard und Pleura mediastinalis zum Zwerchfell. Rechtsseitig verläuft er lateral der Vena cava inferior und linksseitig hinter der Herzspitze zum Zwerchfell. Im Unterschied zum Nervus vagus kreuzt er den Lungenhilus dabei ventral (Schumacher und Aumüller 1994, Fell 1998).

Eine funktionierende Atemmuskulatur ist abhängig von der Integrität der Atemzentren, der spinalen Motoneurone, der peripheren Nerven und ihrer neuromuskulären Verbindungen. Als der wichtigster inspiratorischer Muskel gehört das Zwerchfell zum motorischen Teil des Atemsystems. Er ist für annähernd 2/3 des normalen

Atemzugvolumens verantwortlich (Kizilcan et al. 1993). Bei der Inspiration sind normalerweise drei unabhängige Muskelsysteme beteiligt: Zwerchfell, inspiratorische Atemhilfs- und Bauchmuskulatur. Während des REM-Schlaf ist ausschließlich das Zwerchfell aktiv, die Interkostalmuskulatur wird währenddessen vollständig inhibiert. Die Atemhilfsmuskulatur benötigt der Mensch vor allem zur intensivierten Atmung, zum Beispiel bei sportlicher Betätigung oder bei obstruktiven und restriktiven Lungenerkrankungen. Die Kontraktion des Zwerchfells und der Atemhilfsmuskulatur sowie Relaxation der Bauchmuskulatur bewirken einen Abfall des intrapleurale Drucks und Wölbung der Thoraxwand. Duomarco und Rimini (1947) untersuchten, wie sich die Verhältnisse ändern, wenn eine der zusammenwirkenden Komponenten ausfällt. Unter Zwerchfellkontraktionen erhöht sich der intraabdominelle Druck und die Bauchwand wölbt sich nach außen. Ohne Zwerchfellaktivität verändern sich intrapleurale und abdomineller Druck gleichsinnig ins Negative und die Bauchwand wird nach innen gezogen. Dieses paradoxe Atemmuster kann zu rascher Ermüdung und schlimmstenfalls zu Atemversagen führen (Duomarco und Rimini 1947).

2.2 Histologie der Skelettmuskulatur

Die aktiv kontrahierende quergestreifte Muskulatur ist das am meisten Energie beanspruchende Gewebe des Körpers. Die Effizienz der Kontraktion der Skelettmuskulatur ist daher in der Evolutionsgeschichte zusammen mit der Ermüdungsresistenz ein entscheidendes Überlebenskriterium. Skelettmuskeln, bzw. ihre Muskelfasern, sind in der Lage, eine breite Spanne von Kraft und Bewegungen zu erzeugen. Als Anpassung an diese Anforderungen haben sich spezielle Fasern mit verschiedenen Eigenschaften entwickelt (Rubinstein und Kelly 2004).

Bei Untersuchungen fiel zunächst auf, dass sich die Muskeln sowohl in ihrer Kontraktionsgeschwindigkeit als auch in ihrer Farbe unterschieden (Ranvier 1873 und 1874). Während langsam kontrahierende Muskeln allesamt rot erschienen, konnten schnell kontrahierende Muskeln sowohl rot als auch weißlich aussehen. Die rote Farbe des Muskels ist abhängig von der Konzentration des sauerstoffspaltenden Moleküls Myoglobin und korreliert mit einer hohen Konzentration von Enzymen des aeroben Stoffwechsels sowie einer stärkeren Vaskularisierung.

Heute weiß man, dass die Kontraktionsgeschwindigkeit eines Muskels direkt mit der ATPase-Aktivität des Myosins verknüpft ist und vom Vorhandensein spezifischer Isoformen myofibrillärer Proteine und Enzyme des sarkoplasmatischen Retikulums abhängt.

Im Allgemeinen wird die myofibrilläre ATPase-Reaktion im Säugermuskel als das wichtigste und konstanteste (histochemische) Unterscheidungsmerkmal angesehen. Bárány (1967) zeigte, dass schnell und langsam zuckende Muskeln Myosin enthielten, das sich in der Aktivität der aktinaktivierten und calciumabhängigen ATPase unterschied, und dass diese ATPase-Aktivität direkt mit der Kontraktionsgeschwindigkeit korrelierte. Die Existenz einer ATPase-Aktivität in der wasserunlöslichen Proteinfraction von Muskelfasern wurde zum ersten Mal von Engelhardt und Ljubimowa (1939) gezeigt. Mit Hilfe einer von Padykula und Herman (1955) entwickelten histochemischen Nachweismethode konnte Engel 1962 zum ersten Mal zwei myofibrilläre ATPasen (mATPasen) mit unterschiedlicher Aktivität, das heißt unterschiedlich hoher Umsatzrate von Adenosintriphosphat (ATP) zu Adenosindiphosphat (ADP) + Pi zeigen. In schnellen Muskeln ist die ATPase dreimal so aktiv wie in langsamen; außerdem ist sie in schnellen Muskeln alkalistabil und säurelabil, während sie in langsamen Muskeln säurestabil und alkalilabil ist (Dubowitz und Brooke 1973).

Die Aktivität der mATPase konnte in der Folge mit unterschiedlichen Kontraktionsgeschwindigkeiten verschiedener Muskeln in Vertebraten (Bárány 1967, Guth und Samaha 1969, Barnard et al. 1971, Staron und Pette 1986) korreliert werden. Brooke und Kaiser (1970) zeigten, dass mithilfe der heute allgemein üblichen myofibrillären ATPase-Reaktionen bei pH 9,4 und nach Präinkubation bei pH 4,6 und 4,2 sich die Muskelfasern relativ leicht und zuverlässig in die Typen 1, 2A, 2B und 2C einteilen lassen. Die nach Vorinkubation bei pH 4,6 und 4,3 stark gefärbten Muskelfasern entsprechen den Typ 1-Fasern, sie bleiben blass bei Präinkubation bei einem pH von 9,6 bis 10,4. Die Fasern, die sich hingegen bei einem pH von 9,6 bis 10,4 stark anfärben, sind Typ 2-Fasern. Bei pH 4,3 bleiben Typ 2A- und Typ 2B-Fasern ungefärbt. Nach Vorinkubation bei pH 4,6 lassen sich die Typ 2B-Fasern geringgradig anfärben, während die Typ 2A-Fasern weiterhin blass bleiben (Dubowitz und Brooke 1973, Staron 1997). Die Typ 1-Fasern mit alkalistabiler ATPase-Reaktion zeigen auch eine starke Reaktion mit oxidativen Enzymen (NADH-Dehydrogenase,

Succinatdehydrogenase, Cytochrom-Oxidase). Pette et al. (1972) konnten zeigen, dass Muskeln anhand der Aktivität der Enzyme des Energiestoffwechsels unterschieden werden können, und dass das Verhältnis der ausgewählten Enzyme sinnvoll zur Unterscheidung der metabolischen Typen der Muskulatur ist. Dubowitz und Pearce zeigten bereits 1960, dass sich die Fasern anhand ihres reziproken Gehalts an oxidativen Enzymen und an Phosphorylase unterscheiden und einteilen lassen. Ein weiterer Gesichtspunkt der Energieeffizienz ist die Ermüdungsresistenz, die ebenso mit der oxidativen Kapazität der Muskeln korreliert; Muskeln mit hoher oxidativer Enzymaktivität können mit vergleichsweise geringem Energieaufwand konstante Kräfte über längere Zeit aufrechterhalten.

Skelettmuskeln sind zusammengesetzt aus einer Mischung der zwei Haupttypen von Muskelfasern. Typischerweise ergibt die räumliche Verteilung der beiden Haupttypen im Querschnitt ein „Schachbrettmuster“. Die einzelnen Fasern können auf dieselbe Weise wie ganze Muskeln anhand ihrer Eigenschaften eingeteilt und unterschieden werden in schnell oder langsam und rot oder weiß. Die anfänglichen Versuche, zwischen den individuellen Fasern zu unterscheiden, basierten auf histochemischen Reaktionen entweder für myofibrilläre Actomyosin-ATPase-Aktivitäten oder für aerobe oder glykolytische Enzymaktivitäten.

Neben Enzymhistochemie gewinnt zunehmend die Immunhistochemie an Bedeutung zur Unterscheidung zwischen den jeweiligen Fasertypen. Immunhistochemische Färbungen wie z. B. die Färbung mit Antikörpern für Myosin-Heavy-Chain-Isoenzyme der unterschiedlichen Fasertypen ermöglichen eine Unterscheidung der Muskelfasern in Typ 1- und Typ 2-Muskelfasern. Die langsamzuckenden („slow twitch“) Typ 1-Fasern zeichnen sich durch eine geringere Kontraktionsgeschwindigkeit aus und werden vermehrt in der Haltemuskulatur angetroffen, während die schnellzuckenden („fast-twitch“) Typ 2-Muskelfasern eine hohe Kontraktionsgeschwindigkeit aufweisen. Darüberhinaus unterscheiden sich diese beiden Muskelfasertypen durch die Art der Energiebereitstellung, den Gehalt an Glykogen, Lipiden, Myoglobin, Cytochromen und Mitochondrien. Die Dichotomie der verschiedenen Isoformen der kontraktilen Proteine bei schnell und langsam zuckenden Muskeln konnte biochemisch für die schweren Myosinketten (myosin heavy chains, MHC), die leichten Myosinketten, Troponin T, I und C, Aktin und C-Proteine nachgewiesen werden (Rubinstein und Kelly 2004).

Immunhistochemisch entscheidend ist der unterschiedliche Gehalt der beiden Fasertypen an den verschiedenen Isoformen der schweren Kette des Myosins (Myosin Heavy Chain), besonders der beiden Isoformen Myosin-Heavy-Chain slow (MHC-s) und fast (MHC-f). Es konnte gezeigt werden, dass die histochemischen Unterschiede zwischen einzelnen Fasern in der Regel mit dem Auftreten der verschiedenen Isoformen der schweren Kette des Myosins (Myosin Heavy Chain) korrelieren (Lutz et al. 1979, Staron and Pette 1993, Rivero et al. 1996).

Ein Problem stellt dar, dass die Muster kontraktiver Proteinisoformen und Enzymaktivitäten bei in der Entwicklung befindlichen und pathologischen Muskeln nicht mit den normalen standardisiert histochemisch dargestellten Fasertypen korrelieren (siehe 2.3 Entwicklung der Fasertypen).

Daher ist es, obwohl die enzymhistochemische Identifizierung der Fasertypen ein extrem nützliches Hilfsmittel für Muskelpathologen ist, wichtig, genau zu verstehen, welche Technik aussagekräftig ist, und welche nicht. Auch ist es wichtig, ein umfassenderes und dadurch notwendigerweise auch komplexeres System zur Beschreibung von Muskelfasertypen anzustreben.

2.3 Entwicklung der Fasertypen

Muskelfasern von Säugern entstehen durch die Fusion mononukleärer Myoblasten zu Myotuben. Dieser Prozess erscheint biphasisch mit zwei verschiedenen Generationen von Muskelfasern (Kelly und Zacks 1969, Tomanek und Colling-Saltin 1977, Barbet et al. 1991). Die erste Fasergeneration (primäre Myotuben/ Muskelfasern) tritt im menschlichen Skelettmuskelzwischen der 8. und der 10. Schwangerschaftswoche (SSW) auf (noch vor der motorischen Innervation), wobei offenbar all diese Fasern MHC-slow sowie die beiden entwicklungspezifischen MHC-Isoformen MHC-emb und MHC-neo exprimieren (Draeger et al. 1987, Barbet et al. 1991). Die zweite Fasergeneration bildet sich um die primären Fasern herum während der 10. bis 18. SSW (Fidzianska 1980, Draeger et al. 1987, Barbet et al. 1991). Da die MHC-Zusammensetzung aus primären und sekundären Myotuben/ Muskelfasern zu sowohl alkali- als auch säurestabiler mATPase-Aktivität führt, wurden diese Fasern ursprünglich als Typ 2C klassifiziert (Farkas-Bargeton et al. 1977, Colling-Saltin 1978).

Ungefähr um die 18. bis 20. SSW sind die meisten Fasern, die aus den primären Myotuben gebildet wurden, als ein kleiner Anteil von Typ 1-Fasern mit großem Durchmesser abgrenzbar (Dubowitz 1966, Fenichel 1963, Fidzianska 1980). Diese Fasern entsprechen den B-Fasern, die Wohlfart 1937 beschrieb, und exprimieren nur langsames Myosin, wie immunhistochemische Untersuchungen in zahlreichen Studien zeigen (z.B. Thornell et al. 1984, Pons et al. 1986, Draeger et al. 1987, Ecob-Prince et al. 1989).

Die sekundäre Generation Fasern, die zwischen 15. und 18. SSW schrittweise an Größe zunimmt, exprimiert zunächst MHC-fast sowie die beiden entwicklungspezifischen MHCs (Ecob-Prince et al. 1989, Barbet et al. 1991, Cho et al. 1994). Während der Reifung nimmt die Expression der entwicklungspezifischen MHCs ab, sodass ausschließlich MHC-fast exprimiert wird. In einigen Fällen wird auch das MHC-fast eliminiert, und die Fasern beginnen MHC-slow zu exprimieren (Pons et al. 1986, Draeger et al. 1987, Soussi-Yanicostas 1990, Barbet et al. 1991). In den frühesten sekundären Fasern scheint die endgültige Expression von MHC-fast oder MHC-slow durch extrinsische Faktoren wie Innervation, Schilddrüsenhormonlevel oder Umwelteinflüsse und nicht durch Abstammung von spezifischen Myoblasten bestimmt zu werden (Cho et al. 1993). Unterstützt wird diese Annahme dadurch, dass gezeigt werden konnte, dass durch Innervation die Expression von erwachsenem MHC-slow in Zellkulturen menschlicher Muskelzellen signifikant ansteigt (Kameda et al. 1993).

Dem ist gegenüberzustellen, dass Stockdale et al. bereits 1985 an Hühnern demonstrieren konnten, dass sich *in vitro* aus Myoblasten verschiedene Familien von Myotuben entwickeln und diesen Phänotyp über mehrere Generationen beibehalten, was als ebenso überraschende wie provokative Beobachtung angesehen wird (Miller et al. 1985, Miller und Stockdale 1986). Diese Daten deuten darauf hin, dass die endgültige Generierung verschiedener Fasertypen das Resultat multipler Einflüsse darstellt, die auf Zellen einwirken, die aufgrund ihrer Abstammung bezüglich ihres Phänotyps bereits festgelegt sind (Rubinstein und Kelly 2004). Dagegen ist einzuwenden, dass letztendlich über die Rolle der Myoblasten bezüglich des erwachsenen Phänotyps keine Schlüsse gezogen werden können, da in der Kultur die Entwicklung der Myotuben hinsichtlich ihrer MHC-Expression nicht in Abhängigkeit von

Innervation oder jeglicher untersuchter Einflüsse voranschreitet (Miller und Stockdale 1986).

Histochemischen Analysen zufolge treten die ersten Typ 1-Fasern mit normalem Faserdurchmesser erst in späteren Schwangerschaftsabschnitten um die 30. bis 34. SSW auf (Schloon et al. 1979), nachdem die Entwicklung der motorischen Innervation eingesetzt hat, und ihre Anzahl nimmt schrittweise zu, während gleichzeitig die großkalibrigen Typ 1-Fasern und die als Typ 2C klassifizierten Fasern abnehmen (Colling-Saltin 1978, Pons et al. 1986, Draeger et al. 1987, Ecob-Prince et al. 1989). Kurz danach (während der 32. bis 36. SSW) werden Typ 2A- und Typ 2B-Fasern abgrenzbar (Pons et al. 1986).

2.4 Verteilung der Fasertypen

Im Iliopsoas beträgt das Verhältnis Typ 1 zu Typ 2-Fasern bei Erwachsenen 49,2 : 50,8 bei einem mittleren Faserdurchmesser von 54,5 μm für Typ 1-Fasern und 51,5 μm für Typ 2-Fasern (Johnson et al. 1973 und Polgar et al. 1973). Für Neugeborene liegen keine morphometrischen Daten für den M. Iliopsoas vor. Beim M. deltoideus beträgt der mittlere Faserdurchmesser im ersten Lebensjahr zwischen 11 und 20 μm für Typ 1-Fasern und zwischen 10 und 17 μm für die Typ 2-Fasern; für den Vastus lateralis beträgt der mittlere Faserdurchmesser im ersten Lebensjahr zwischen 13 und 17 μm für Typ 1-Fasern und zwischen 11 und 17 μm für die Typ 2-Fasern (Oertel 1988).

Im Diaphragma beträgt das Verhältnis Typ 1 zu Typ 2-Faser bei reifen Neugeborenen 40 : 60, während die Typ 2-Fasern sich zur Hälfte aus Typ 2B- und Typ 2C-Fasern zusammensetzt. Bei Erwachsenen beträgt das Verhältnis Typ 1 zu Typ 2-Fasern 60 : 40. Hier sind keine Typ 2C-Fasern mehr nachweisbar (Esnous et al. 1993, Orliaguet et al. 2004). Der mittlere Faserdurchmesser beträgt für Säuglinge (mit eindeutig definierter Todesursache, „Non-SID“) 17,57 \pm 5,11 μm für Typ 1-Fasern und 15,33 \pm 4,12 μm für Typ 2-Fasern (Tennyson et al. 1994).

3. Ziel der Arbeit

Im Jahr 2002 starben insgesamt 359 Säuglinge in Deutschland mit der Diagnose „Plötzlicher Säuglingstod“. Auch weiterhin ist der plötzliche Säuglingstod die führende Todesursache in der Postneonatalperiode. Die Inzidenz ist von 1,5 auf 0,6 pro 1000 Lebendgeburten in den Jahren von 1990 bis 2000 gesunken. Die unter 1.6 beschriebenen Risikofaktoren wie Schlafen in Bauchlage, Rauchen der Mutter und Überwärmung wurden in den Jahren zuvor ermittelt und kamen in einer groß angelegten Präventions-Kampagne zum Tragen. Der Effekt zeigte sich im Rückgang der Inzidenz insbesondere zu Beginn der 1990er Jahre (Blair et al. 2006b). Die Epidemiologie von SID hat sich seitdem vielleicht verändert, da mehr Kinder auf dem Rücken schlafen. Die im Folgenden beschriebene Studie wurde unternommen, um die neuen Risikofaktoren für SID zu ermitteln.

Diese populationsbasierte Fallstudie, die sogenannte GeSID-Studie, an der 18 Zentren beteiligt waren, wurde in 11 von 16 Ländern in der Bundesrepublik Deutschland durchgeführt. Beteiligt waren in den ersten 18 Monaten 13 rechtsmedizinische Institute, später wurde sie auf 18 Institute ausgeweitet. Die Studie lief von November 1998 bis Oktober 2001. Alle 18 Zentren hatten die Zustimmung ihrer jeweiligen Ethikkommission. Alle Fälle von plötzlichem und unerwartetem Säuglingstod im ersten Lebensjahr und nach dem 7. Lebenstag wurden an das Studienzentrum in Münster gemeldet (Findeisen et al. 2004, Vennemann et al. 2005).

Es wurde ein standardisiertes Autopsieprotokoll an allen Studienzentren eingeführt. Dieses orientierte sich an den Richtlinien für rechtsmedizinische Autopsien und spiegelt das international standardisierte Autopsieprotokoll sowie in anderen Studien verwendete Protokolle wider. Für die histologischen Untersuchungen wurden insgesamt 20 Proben von bestimmten Organen und Geweben entnommen und für verschiedene Färbungen aufbereitet (Brinkmann 1999).

Teil dieser Entnahmen waren Proben aus der Zwerchfellmuskulatur und dem M. iliopsoas, die in dieser Arbeit histologisch weiter aufgearbeitet und morphologisch sowie morphometrisch untersucht wurden. Dem Zwerchfell wurde besondere Aufmerksamkeit gewidmet aufgrund seiner zentralen Rolle bei der Atmung als wichtigster

inspiratorischer Muskel. Der M. iliopsoas als weiterer Skelettmuskel diene als Vergleich.

Als Kontrollen wurden Zwerchfell und M. iliopsoas von verstorbenen Kindern untersucht, bei denen eine eindeutige Todesursache festgestellt wurde, und deren Alter dem Zeitraum entsprach, in den auch definitionsgemäß die Diagnose des SID fällt.

Uns wurden von 39 Fällen aus der GeSID-Studie Muskelproben aus Diaphragma und Zwerchfell zur Verfügung gestellt. Diese wurden im Rahmen dieser Arbeit in zwei Gruppen aufgeteilt (SID und Non-SID) und hinsichtlich anamnestischer sowie morphometrischer Daten wie Fasertypenverteilung, Anteile der Fasertypen, Größenverhältnisse in Beziehung zu Alter, Geburtsgewicht, Reife, Gruppenzugehörigkeit untersucht und mit den Ergebnissen entsprechender Studien verglichen mit dem Ziel, SID-spezifische Unterschiede festzustellen.

4. Material und Methoden

Bearbeitet wurden Paraffinblöcke aus dem Institut für Rechtsmedizin in Münster, welche im Rahmen der GeSID-Studie (30 Fälle) entnommen worden sind, sowie Blöcke aus rechtsmedizinischen Autopsien, die als Kontrollen dienten (9 Fälle). Die bearbeiteten Fälle sind mit den erhobenen und ausgewerteten anamnestischen Daten in Tabelle 4.1 aufgeführt.

Im neuropathologischen Institut der Charite am Campus Rudolph-Virchow-Klinikum in Berlin wurden die Blöcke im Mikrotom 7 µm dick geschnitten. Die Schnitte wurden auf Objektträger übertragen und über Nacht bei 37°C getrocknet.

Fall	Studiennummer	Sektionsnummer	Todesursache	Geburtsgewicht in g	Alter in d	Gestationsalter in d
1	FA0097S	640/99	Pneumonie	2050	107	-
2	FR0021S	21/99	Pneumonie	-	20	-
3	MS0035S	63/99	Pneumonie	2370	68	259
4	MS0107S	236/99	DiGeorge Syndr.	-	160	-
5	MS0250P	138/00	Ersticken	-	229	-
6	MS0258P	59/00	Ersticken	-	399	-
7	MS0305P	269/00	Erstochen	-	731	-
8	MS0380S	483/00	Pneumonie	2890	70	276
9	MS0392S	22/01	obstr. Bronch.	3360	123	289
10	ES0118S	389/99	SID	650	261	173
11	ES0128S	439/99	SID	3450	81	294
12	FA0044S	207/99	SID	-	35	-
13	FA0355S	1123/00	SID	3620	46	283
14	HA0088S	313/99	SID	-	229	-
15	HN0290S	305/00	SID	-	57	-
16	HN0327S	450/00	SID	3015	44	280
17	MS0009S	390/98	SID	2900	241	273
18	MS0013S	410/98	SID	3470	97	279
19	MS0015S	4/99	SID	3640	143	-
20	MS0019S	17/99	SID	3180	68	288
21	MS0096S	220/99	SID	3350	107	-
22	MS0121S	286/99	SID	4900	146	283
23	MS0205S	36/00	SID	3269	321	266
24	MS0228S	110/00	SID	3500	63	257
25	MS0232S	122/00	SID	3550	91	284
26	MS0233S	123/00	SID	3950	326	267
27	MS0238S	130/00	SID	2950	229	-
28	MS0264S	193/00	SID	3130	144	270
29	MS0266S	201/00	SID	3300	122	283
30	MS0277S	161/00	SID	3500	69	280
31	MS0340S	370/00	SID	3120	95	277
32	MS0358S	419/00	SID	1380	107	201
33	MS0384S	482/00	SID	3315	76	280
34	MS0388S	09/01	SID	3700	231	287
35	MS0396S	11/01	SID	3350	95	266
36	MS0406S	61/01	SID	3180	58	-
37	MS0407S	68/01	SID	3240	204	285
38	MS0480S	277/01	SID	3750	298	290
39	MS0523S	384/01	SID	3540	59	288

Tabelle 4.1

Erhobene anamnestische Daten

4.1 Histologische Färbemethoden

4.1.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Alle Schnitte wurden routinemäßig Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt. Das basische Hämalaun färbt saure (basophile) Strukturen blau. In der Zelle ist das in erster Linie der Zellkern mit der DNA. Der saure Eosinfarbstoff färbt basische (eosinophile/acidophile) Strukturen rot, was in der Zelle das Zytoplasma mit den zahlreichen Plasmaproteinen umfasst. Ist das Zytoplasma jedoch reich an zytoplasmatischer RNA in Form von Ribosomen, was auf eine aktive Proteinsynthese hinweist, färbt sich dieses blauviolett (Abb. 4.1).

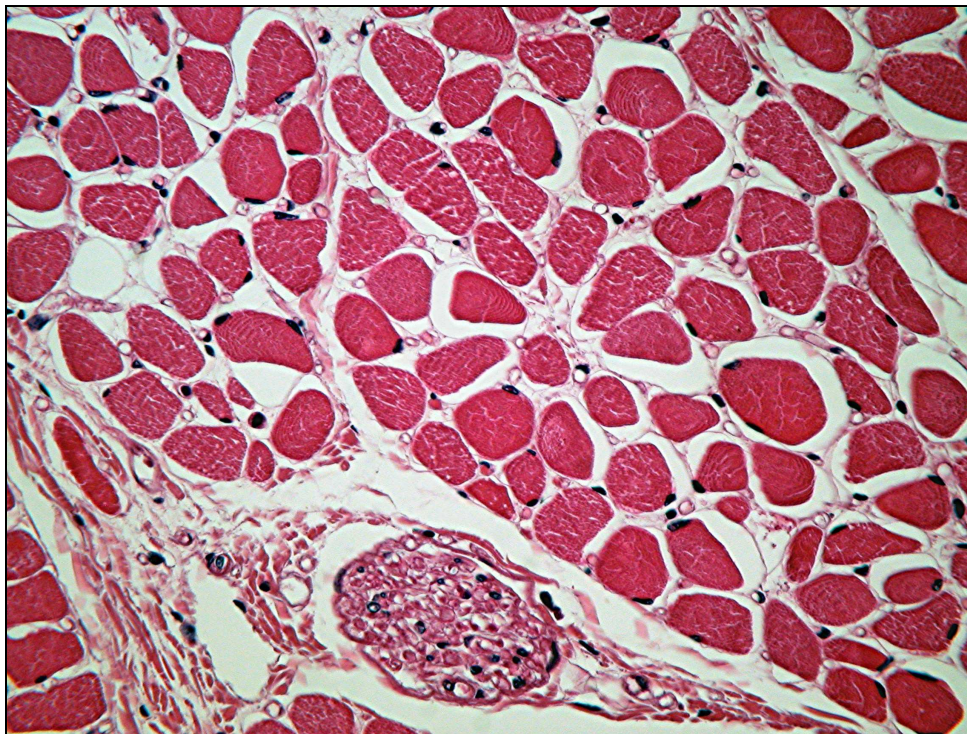


Abbildung 4.1:

Fall 5, HE, 40x1,6. Zwerchfell: Skelettmuskelfasern im Querschnitt, miterfasst ein peripherer Nerv (unten, Mitte)

Die luftgetrockneten Präparate wurden entparaffiniert mittels Xylol und in absteigender Alkoholreihe hydriert, danach eine Minute in Hämalaun gefärbt und anschließend zwei Minuten in Leitungswasser gebläut. Nach kurzem Spülen in Aqua dest. wurden sie einige Sekunden in die alkoholische Eosinlösung getaucht. Zur Entwässerung wurden

die aufsteigende Alkoholreihe und Xylol verwendet, und anschließend wurde das Präparat aus dem Xylol heraus mit Eukitt eingedeckt.

4.1.2 Immunhistochemie

Routinemäßig wird Muskelgewebe in Gefrierschnitten untersucht, da enzymhistochemische Reaktionen nur an diesen möglich sind. Da uns jedoch nur formalinfixiertes Gewebe in Form von Paraffinblöcken zur Verfügung stand, konnten die Färbungen nur an Paraffinschnitten durchgeführt werden.

Zur Unterscheidung der Fasertypen diente zunächst eine Troponin-Färbung (Novocastra [Newcastle UK], Klon T1-61, Verdünnung 1:100), bei der sich das myofibrilläre Troponin in den Typ 2-Fasern stark anfärbte, während die Typ 1-Fasern blass blieben (Abb 4.2). Durch das Chromogen Diaminobenzidin (DAB), das bei der ABC-Färbemethode verwendet wurde, entstand eine braune Färbung. Aufgrund inhomogener Färbeergebnisse wurden für die Schnitte darüberhinaus die Antikörper gegen die schwere Kette des Myosins (MHC-Reaktionen) verwendet (ebenfalls ABC-Methode mit DAB).

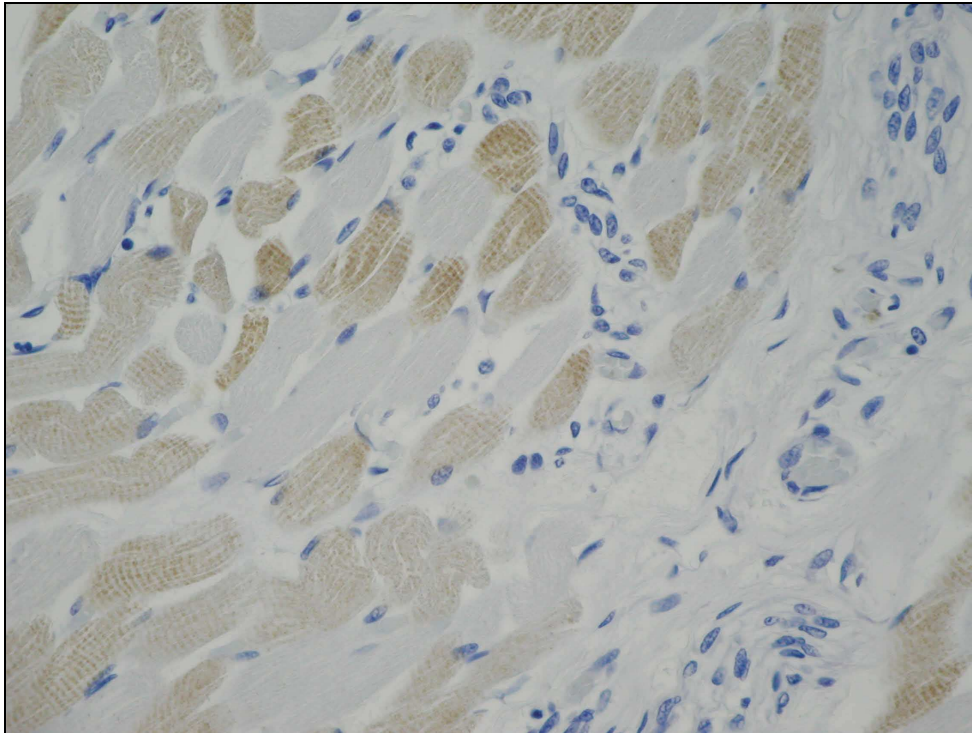


Abbildung 4.2

Fall 11, Zwerchfell Troponin T, 40x1. Die Typ 1-Fasern reagieren nicht mit dem Antikörper. Die Typ 2-Fasern reagieren zwar mit dem Antikörper, sind jedoch unterschiedlich stark angefärbt. Die Querstreifung kommt bei kräftiger Reaktion gut zur Darstellung.

Die Myosin-Heavy-Chain-Reaktion (MHC) dient der Darstellung der unterschiedlichen Muskelfasern im Skelettmuskel. Als Antikörper wurden NCL-MHCf von Novocastra (Newcastle UK), Klon WB in der Verdünnung 1:40 und NCL-MHCs von Novocastra in der Verdünnung 1:50 verwendet.

Dies erlaubt eine Unterscheidung der Fasern in Typ 1 und Typ 2. Eine genauere Unterscheidung in Typ 2a, 2b und 2c war mit dieser Färbung an Paraffinschnitten nicht sicher möglich. Zwei unterschiedliche Isoenzyme färben das Myosin entweder nur der schnell zuckenden (fast-twitch) Typ 2-Fasern (MHC-f) oder nur der langsam zuckenden (slow-twitch) Typ 1-Fasern (MHC-s). Beide Färbungen wurden an den vorliegenden Schnitten durchgeführt, die Ergebnisse aber lediglich anhand der MHC-f-Färbung ausgewertet, da hier die Vergleichbarkeit am ehesten gegeben war (Abb. 4.3 und 4.4).

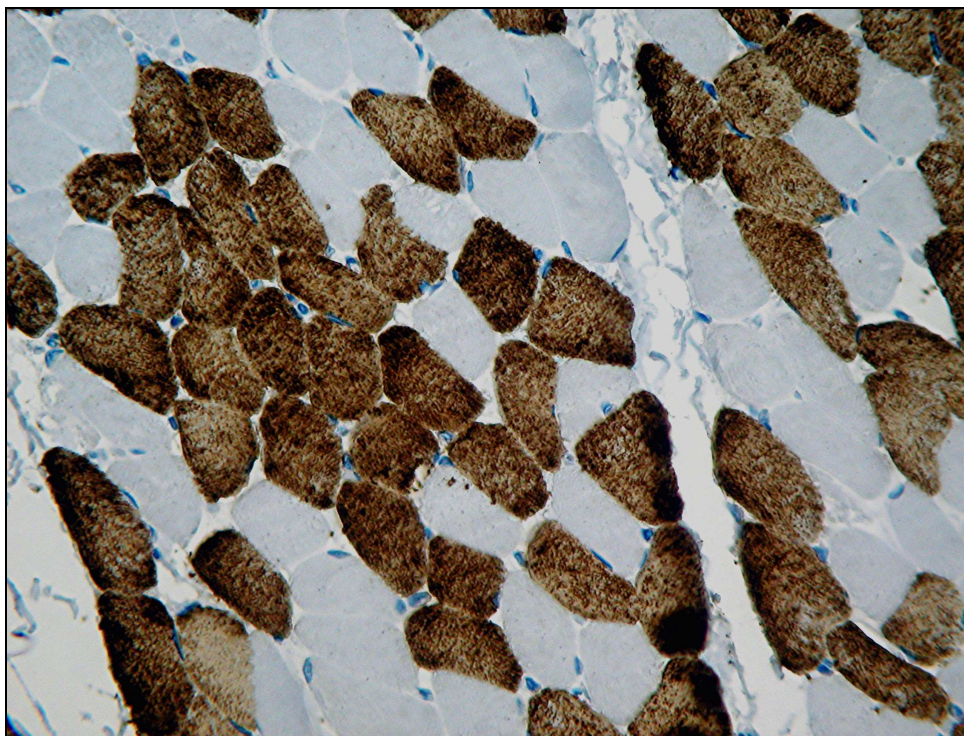


Abbildung 4.3

Fall 5, Zwerchfell: Mittels MHC-f-Reaktion dargestellte schnellzuckende (Typ 2) Fasern (braun), die langsamzuckenden (Typ 1) bleiben ungefärbt

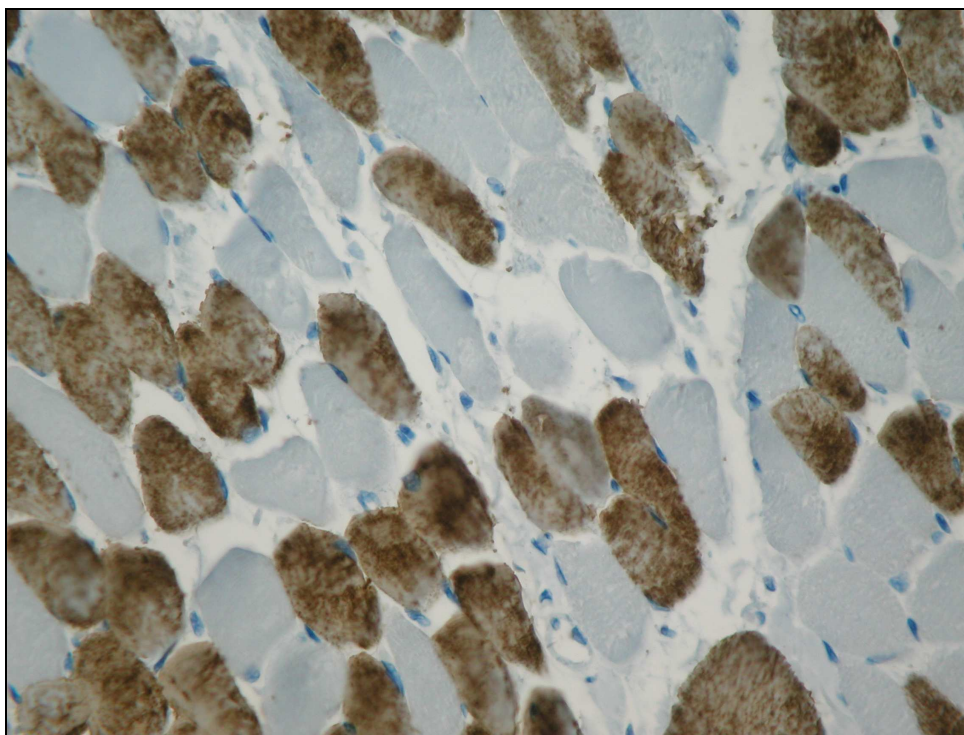


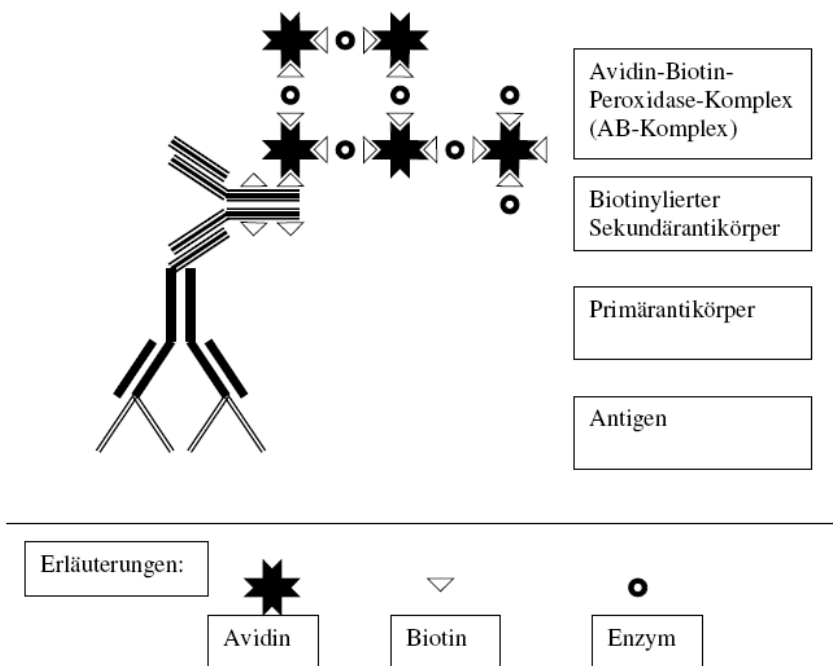
Abbildung 4.4

Fall 5, Zwerchfell: In der MHC-s-Reaktion dargestellte langsamzuckende (Typ 1) Fasern (braun), die schnellzuckenden (Typ 2) Fasern bleiben hier ungefärbt

ABC-Methode

Die Abkürzung ABC steht für Avidin-Biotin-Peroxidase Komplex und repräsentiert eine immunhistochemische Färbemethode (Hsu et al. 1981), die sich wegen ihrer hohen Sensitivität wachsender Beliebtheit erfreut. Die Vorteile dieser Technik basieren zum einen auf der Bindungsfreudigkeit zwischen Avidin und Biotin, und zum anderen auf der chemisch milden Biotinylierung des Sekundärantikörpers, der somit in seiner Bindungsfähigkeit an dem jeweiligen Primärantikörper nicht beeinträchtigt wird. Jedes Avidin-Glykoprotein ist in der Lage, vier Moleküle Biotin zu binden; diese sind jedoch nicht alle belegt, so dass mindestens eine Bindungsstelle des Avidins mit dem biotinylierten Sekundärantikörper reagieren kann. Das Biotin wird kovalent am Sekundärantikörper gebunden, ohne die empfindliche Fab-Region, die für die Erkennung des Primärantikörpers notwendig ist, zu beeinflussen. Die eigentliche Farbreaktion kommt beim Umsatz des Enzyms Peroxidase zustande, das am Biotin des präformierten ABC-Komplexes kovalent gebunden ist. Unter Zugabe von Wasserstoffperoxid (H_2O_2) zerfällt die Peroxidase zu Wasser und Sauerstoff; diese Reaktion wird durch die Ergänzung eines Chromogens, in diesem Falle 3,3-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid (DAB), in Gang gehalten. Das DAB stellt dabei die Elektronen für den laufenden Zerfall des Enzyms zur Verfügung und wird im gleichen Zug oxidiert. Die Oxidation des DAB zeigt sich in der Ausfällung eines braunen, in Alkohol unlöslichen Reaktionsproduktes.

Ablauf der ABC-Methode

**Abbildung 4.5**

Graphische Darstellung der Avidin-Biotin-Methode (Conzelmann, 2003)

Zunächst wird das Präparat mit Primärantikörper, der gegen das darzustellende Antigen gerichtet ist, inkubiert. Dann folgt der biotinylierte Sekundärantikörper. Dieser kann mit seiner Fab-Region nur an der Fc-Region des Primärantikörpers binden, wenn sie gegen das Tier (Maus im Falle der MHC z.B.) gerichtet ist, aus dem der Primärantikörper gewonnen wurde. Im dritten Schritt wird der präformierte Avidin-Biotin-Komplex hinzugegeben. In dieser Phase reagieren die freien Bindungsstellen des Avidins mit dem biotinylierten Sekundärantikörper. Im letzten Schritt wird durch das H_2O_2 der Zerfall des Enzyms gestartet und durch Ergänzung des DAB diese Reaktion unterhalten und sichtbar gemacht (Abb. 4.5).

Eine Unterscheidung der Subtypen der schnellzuckenden Fasern in Typ 2a, Typ 2b und Typ 2c ist mit dieser Färbung nicht möglich, auch wenn lichtmikroskopisch einige Fasern „hellbraun“ erschienen. Sie wurden ebenfalls den Typ 2-Fasern zugeordnet (Abb. 4.6).

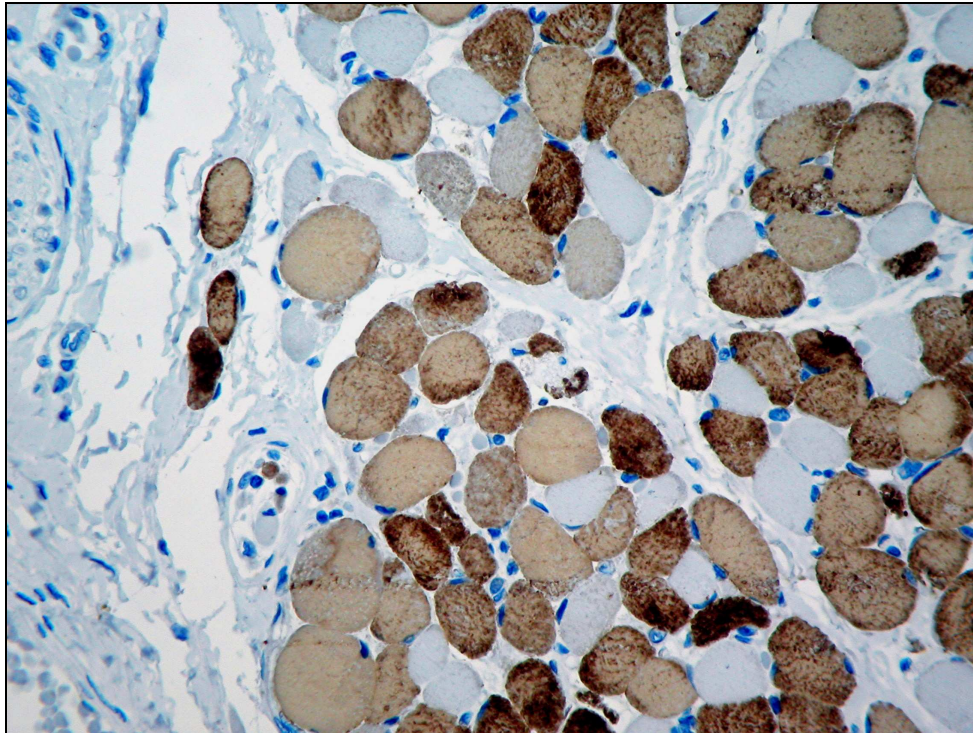


Abbildung 4.6

Fall 1, Zwerchfell: In der Reaktion mit dem Antikörper gegen MHC-f werden die schnellzuckenden Typ 2-Fasern unterschiedlich stark angefärbt, sodass einige heller erscheinen als andere. Eine sichere Unterscheidung der Typ 2a, Typ 2b oder Typ 2c-Fasern ist in dieser Immunreaktion jedoch nicht möglich.

Die Färbungen wurden entsprechend der im Institut für Neuropathologie des Charité-Campus-Virchow-Klinikum verwendeten Protokolle durchgeführt.

Die Schnitte wurden am „Olympus BX50“- Lichtmikroskop (Olympus Optical Co., Ltd., Japan) begutachtet und die Ergebnisse mit der „Olympus C3040-ADU“-Digitalkamera (Olympus Optical Co., Ltd., Japan) fotografiert.

4.2 Morphometrie

Die angewendete computergestützte Morphometrie erlaubt es, jede Muskelfaser einem Typ (1 oder 2) zuzuordnen und alle Ergebnisse elektronisch zu speichern. Neben der Typenzuordnung wird der Faserdurchmesser nach der „Zwei-Punkt-Methode“ bestimmt, auf dessen Grundlage dann die Flächenermittlung erfolgt. Dabei wird von der Faser als Zylinder mit kreisförmiger Grundfläche ausgegangen. Da jedoch die Fasern in den seltensten Fällen genau senkrecht zu ihrem Längsverlauf getroffen werden, und zusätzlich angrenzende Fasern den Faserquerschnitt verformen, stellen sich die Fasern

unter dem Lichtmikroskop als unregelmäßige, rundliche oder polygonal begrenzte Flächen dar.

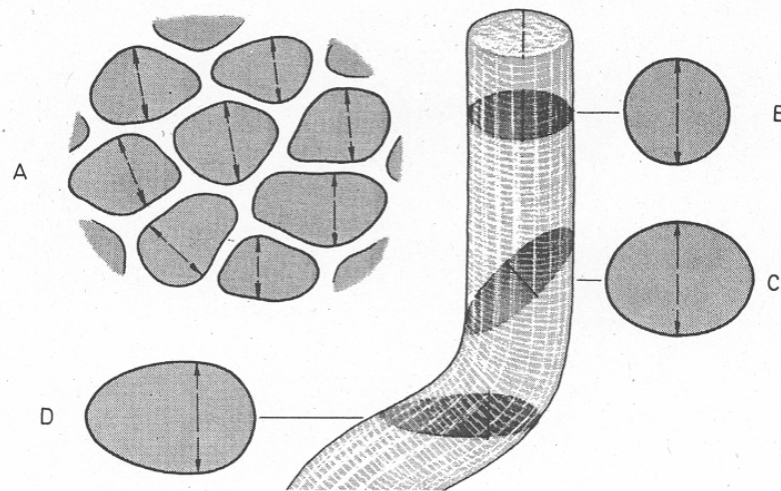


Abbildung 4.7

Vermessung der Faserdurchmesser (aus Schröder 1982)

Die verwendete Software „C.A.Mo.M. Computer assisted morphometry of muscle“ (Laboratory of Neuropathy, UCL Brussels, 1994, Version 2.1) erlaubt die Markierung einer Strecke durch die Verbindung zweier Punkte. Diese Strecke bildet den Zelldurchmesser, auf dessen Grundlage dann eine Flächenberechnung erfolgen kann. Dabei wird als Faserdurchmesser die Längste der Strecken definiert, die senkrecht zu der insgesamt längsten Strecke des Muskelfaserquerschnitts steht (Abb. 4.7).

Die Software speichert den Durchmesser jeder Faser nebst dem zugeordneten Fasertyp. Außerdem werden die insgesamt gemessene Fläche, die davon vom Endomysium und von der Muskulatur gebildete Fläche sowie die anteilige Gesamtfläche aller Muskelfasern daran berechnet. Diese Werte können unmittelbar nach Beendigung der Analyse sowohl ausgedruckt als auch elektronisch archiviert werden.

Im ausgedruckten Untersuchungsprotokoll erscheinen im Kopf die Patientendaten (Fallnummer und Laufnummer, Geburtsdatum, Todesdatum), der Name des untersuchten Muskels, die Fäbemethode und die zur Analyse verwendete Vergrößerung (Abb. 4.8). Daran schließen sich die Werte für die insgesamt vermessene Fläche, die Gesamtanzahl aller Muskelfasern, die Gesamtfläche aller Muskelfasern, die Fläche des Endomysiums, die Zahl der vermessenen Typ 1 und Typ 2-Fasern

(aufgeteilt in Typ 2a und Typ 2b, welche als Typ 2-Fasern zusammengefasst wurden, da keine Unterscheidung bei der Messung erfolgte) und ihrer jeweiligen Gesamtfläche an.

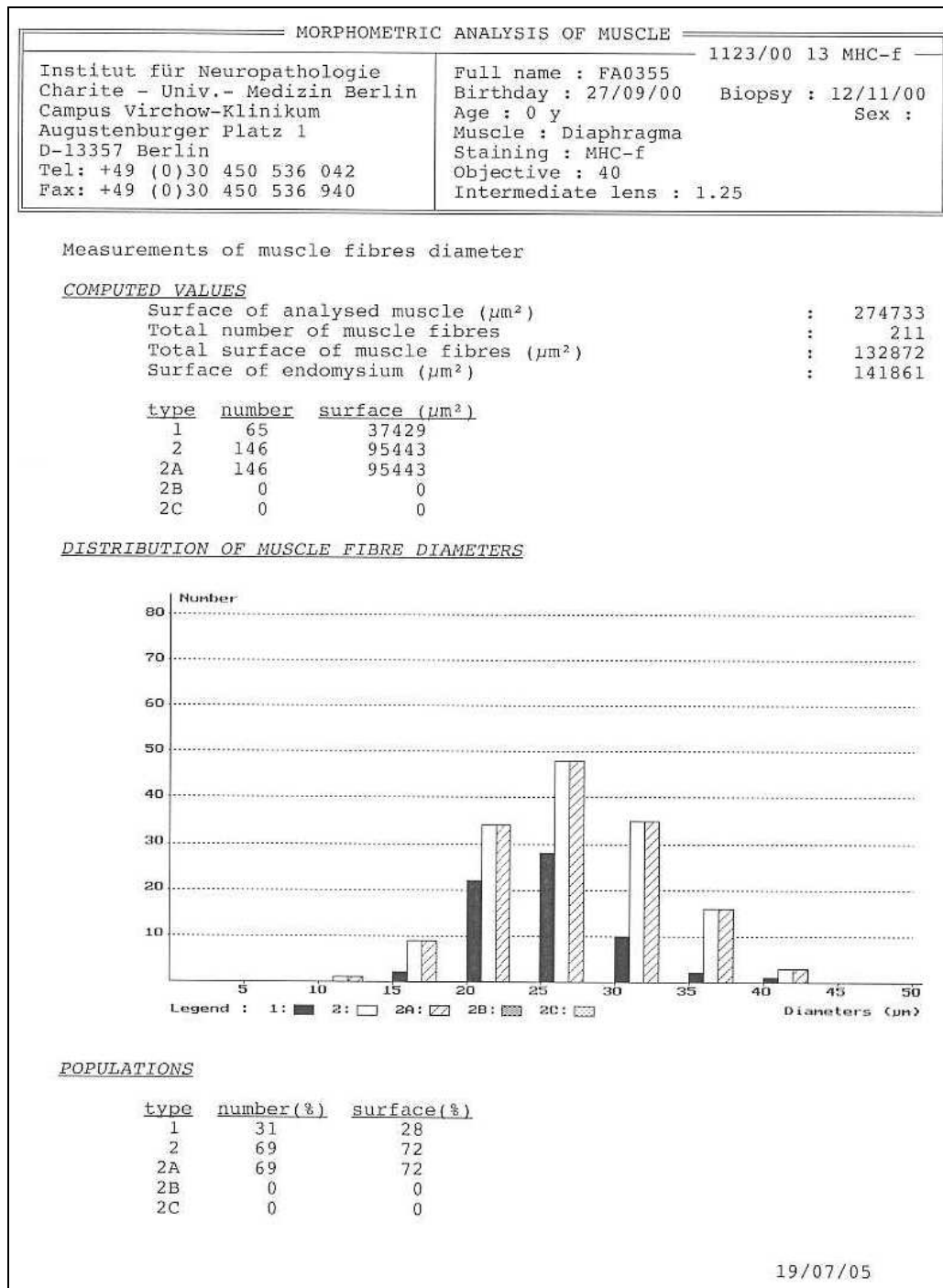


Abbildung 4.8

Auswertungsbogen der Morphometriedaten anhand des Beispiels der Laufnummer 1123-00 (= Fallnummer 13), Zwerchfell, MHC-f-gefärbt

Die Apparatur zur Analyse besteht aus folgenden Komponenten:

- einem Lichtmikroskop
- einer auf dem Mikroskop installierten Kamera
- einem Monitor, auf den das Kamerabild projiziert wird
- einem PC, 286er Prozessor, mit installierter Analysesoftware (MS-DOS-basiert)
- einem Drucker

Aufgrund der starken Schwankungen der durchschnittlichen Faserdurchmesser zwischen den verschiedenen Fällen mit z. T. sehr kleinen Fasern, wurde zur besseren Vergleichbarkeit bei sämtlichen Fällen zur Vermessung der Muskelfasern beider Muskeln eine Vergrößerung von $40 \times 1,25$ eingestellt. Vor Beginn der Vermessung wurde bei fünf- bis zehnfacher Vergrößerung ein geeigneter Ausschnitt gewählt. Auf dem angeschlossenen Monitor wird das Bild des eingestellten Ausschnittes über die Videokamera projiziert. Mit Hilfe der Computermaus wird nun die äußere Begrenzung aller zu vermessenden Fasern umrandet und vom Computerprogramm als Flächenwert angezeigt. Die innerhalb dieser Fläche markierten Fasern werden typisiert, und ihr Durchmesser wird bestimmt (Abb. 4.9). Dies geschieht Bildausschnitt für Bildausschnitt bis mindestens 200 Fasern pro Muskelschnitt vermessen wurden.

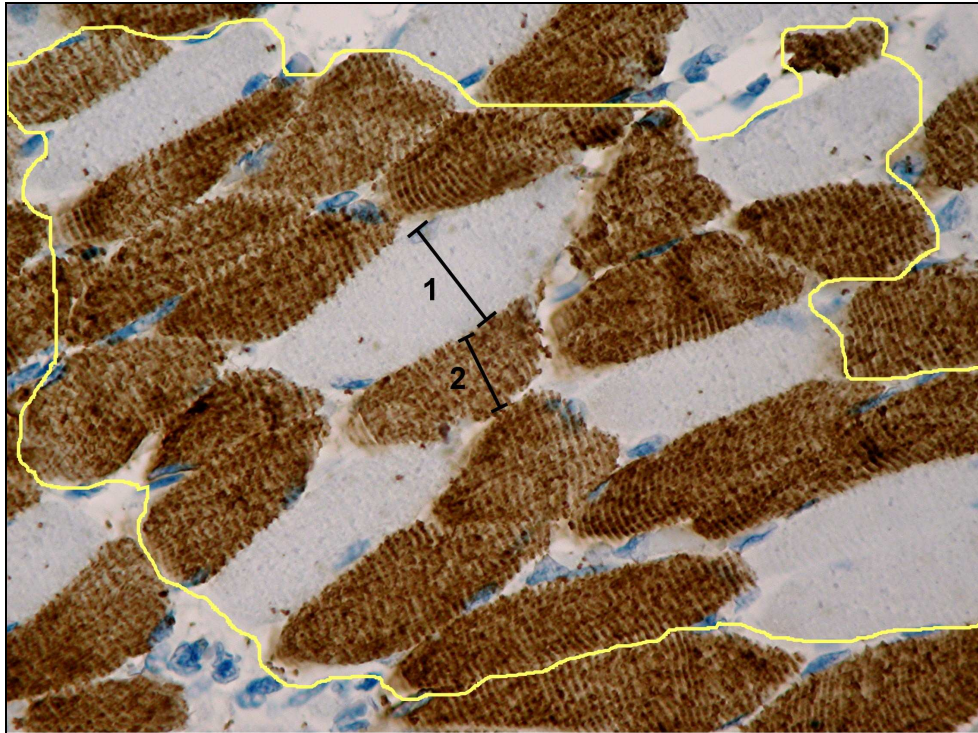


Abbildung 4.9

Fall 13, Zwerchfell, MHC-f-Färbung, Vergrößerung: 40x1,25. Auswahlfeld zur morphometrischen Auswertung

Morphometrisch wurden folgende Parameter bestimmt:

Anzahl der Fasern pro μm^2

Fläche der Muskelfasern

Fläche der Muskelfasertypen

Fläche des endomysialen Bindegewebes

Mit den erhaltenen Daten konnten rechnerisch Mittelwert, Median und Standardabweichung zu folgenden Werten bestimmt werden:

Faserdurchmesser

Größenverhältnis Typ 1/2-Fasern

Flächenanteil der Fasertypen

Die Muskelfasern wurden jeweils im M. iliopsoas und im Diaphragma einzeln vermessen und in Typ 1- und Typ 2-Fasern unterteilt (Abb. 4.9). Die Auswertung

erfolgte für jeden Fall einzeln und ist in den Morphometrie-Protokollen festgehalten. Beispielhaft hier die Darstellung eines Falles in der MHC-f –Färbung (Abb. 4.8).

4.3 Statistische Auswertung der Daten

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mittels des Programms SPSS. Angeschnittene Muskelfasern wurden nur dann gezählt, wenn sie mit mehr als der Hälfte ihres Volumens abgebildet waren.

Deskriptionen umfassen absolute und relative Häufigkeiten für kategorielle Merkmale sowie Mittelwert, Median, Standardabweichung und Range für quantitative Erhebungen. Vergleiche zwischen Gruppen wurden mit dem U-Test von Mann-Whitney durchgeführt. Zusammenhänge zwischen quantitativen Variablen wurden durch den Korrelationskoeffizienten nach Spearman mit entsprechendem p-Wert quantifiziert.

Statistische „Ausreißer“ wurden in Einzelfallanalysen gesondert dargestellt.

5. Ergebnisse

Es wurden insgesamt 39 Kinder untersucht, die im Alter zwischen 20 und 731 Tagen verstorben sind. Für 30 der Fälle wurde keine Todesursache festgestellt (SID), 9 verstarben an einer eindeutig definierten Ursache. Sie stellen die „Kontroll“-Gruppe (Non-SID) dar (Tab. 5.1).

Todesursache	Häufigkeit	Prozent
DiGeorge Syndrom	1	2,6
Ersticken	2	5,1
Erstochen	1	2,6
obstr. Bronchiolitis	1	2,6
Pneumonie	4	10,3
SID	30	76,9
Gesamt	39	100,0

Tabelle 5.1

Todesursachen im Untersuchungsmaterial

5.1 Anamnestische Daten

Zunächst wurden die Fälle allgemein verglichen hinsichtlich anamnestisch erhobener Daten, die aus den Unterlagen der GeSID-Studie hervorgingen.

Hinsichtlich anamnestischer Daten wurden folgende Werte für die untersuchten Fälle betrachtet: Todesursache, Geburtsgewicht, Alter, Reife, Gestationsalter, Geschlecht und Angaben zu Wiederbelebungsversuchen (Tab 5.2):

	Ausgewertet	Fehlende Angaben	Mittelwert	Median
Geburtsgewicht in g	31	8	3179,6	3315,0
Alter in Tagen	39	0	155,1	107,0
Geburtsreife	26	13		
Gestationsalter in Tagen	26	13	271,4	280,0
Diagnose	39	0		
Geschlecht	39	0		
Todesursache	39	0		
Wiederbelebungsversuche	29	10		

Tabelle 5.2

Anamnestische Daten

Diese Daten wurden für SID- und Non-SID-Fälle ausgewertet und verglichen. Die erfassten Daten sind in Tab. 5.3 dargestellt.

		Alter in Tagen	Geburtsgewicht in g	Gestationsalter in Tagen
Non-SID	Gültig	9	4	3
	Fehlend	0	5	6
	Mittelwert	211,9	2667,5	274,7
	Median	123,0	2630,0	276,0
	Standardabweichung	224,7	577,0	15,0
	Minimum	20	2050	259
	Maximum	731	3360	289
SID	Gültig	30	27	23
	Fehlend	0	3	7
	Mittelwert	138,1	3255,5	271,0
	Median	102,0	3350,0	280,0
	Standardabweichung	88,9	757,9	28,3
	Minimum	35,0	650	173
	Maximum	326,0	4900	294

Tabelle 5.3

Vergleich der anamnestischen Daten zwischen SID und Non-SID

Die Altersverteilung der SID- und Non-SID-Fälle ist in Abb. 5.1a und b dargestellt:

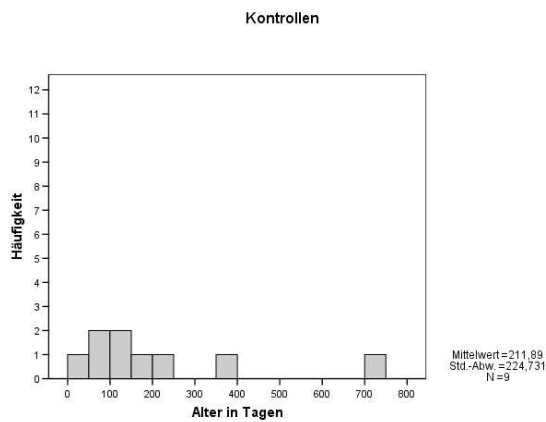


Abbildung 5.1a

Sterbealter Non-SID

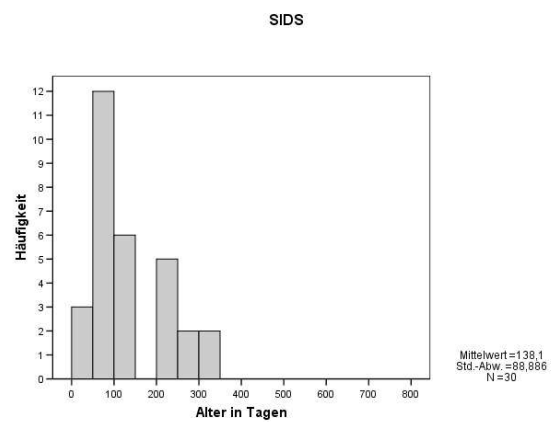


Abbildung 5.1b

Sterbealter SID

Aus Abb. 5.1a geht hervor, dass die SID-Sterbefälle sich häufig in den ersten drei bis vier Monaten ereignen.

Zusätzlich zum Sterbealter wurde auch das Gestationsalter untersucht (Abb. 5.2a und b).

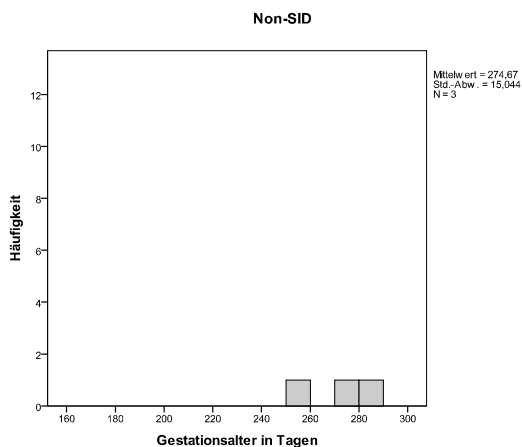


Abbildung 5.2a

Gestationsalter Non-SID

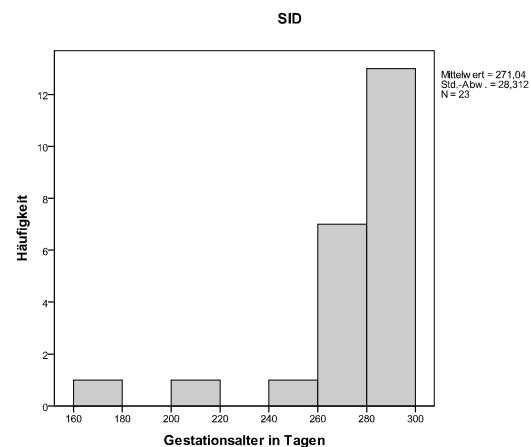


Abbildung 5.2b

Gestationsalter SID

Aus den Angaben für das Gestationsalter konnte die Geburtsreife bestimmt werden (Tab. 5.4). Hier wurde in unreif, reif und übertragen unterteilt. Die Kontrollfälle waren alle reif geboren.

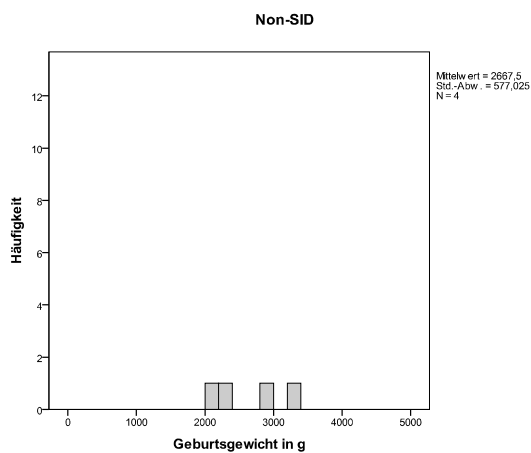
			Häufigkeit	Prozent
Non-SID	Gültig	reif	3	33,3
	Fehlend		6	66,7
	Gesamt		9	100,0
SID	Gültig	frühgeboren	3	10,0
		reif	19	63,3
		übertragen	1	3,3
		Gesamt	23	76,7
	Fehlend		7	23,3
	Gesamt		30	100,0

Tabelle 5.4

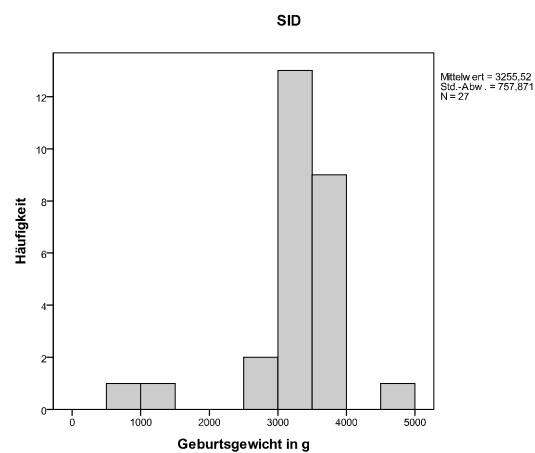
Geburtsreife im Vergleich

82,6 % der SID-Fälle waren reif geboren, lediglich ein Kind übertragen und drei frühgeboren gemäß der Definition frühgeboren = Gestationsalter < 259 Tage/ 37. SSW (Empfehlung der WHO, zitiert nach Wulf 1997).

Für das Geburtsgewicht ergaben sich nach Aufteilung folgende Werte:

**Abbildung 5.3a**

Geburtsgewicht Non-SID

**Abbildung 5.3b**

Geburtsgewicht SID

Die Geschlechterverteilung zeigt ein Überwiegen des männlichen Geschlechts in der SID-Gruppe (Tab 5.5).

		Häufigkeit	Prozent
Non-SID	m	4	44,4
	w	5	55,6
	Gesamt	9	100,0
SID	m	17	56,7
	w	13	43,3
	Gesamt	30	100,0

Tabelle 5.5

Geschlechterverteilung

Hinsichtlich erfolgter Wiederbelebungsversuche lagen für 29 Kinder Daten vor. Mit Ausnahme des Non-SID-Falles 9 wurde bei allen Kindern eine Reanimation versucht. Ein statistischer Vergleich erübrigt sich.

5.2 Morphometrische Daten

Es wurden Iliopsoas- und Zwerchfellmuskulatur in verschiedenen Färbungen verglichen. Die Morphometrie wurde an MHC-f gefärbten Schnitten durchgeführt und auch ausgewertet, da hier die Vergleichbarkeit am ehesten gegeben war. Die Ergebnisse waren nur für 27 Kinder verwertbar, davon 22 der SID-Fälle und 5 der „Kontroll“-Gruppe (Non-SID). 12 Fälle wiesen erhebliche Färbeartefakte wie z.B. eine starke Gewebeschrumpfung oder eine zu schwache Reaktion mit dem Antikörper auf und wurden mangels Vergleichbarkeit nicht berücksichtigt.

Es wurden pro Fall mindestens 200 Fasern vermessen. In Tab. 5.6 und 5.7 sind die gemessenen Werte für M. iliopsoas und Zwerchfell bei allen auswertbaren Fällen zusammengefasst.

M. iliopsoas, 27 Fälle (12 fehlend)	Mittelwert	Median	Standardabw.	Min.	Max.
Anzahl gemessener Muskelfasern	216,5	213,0	12,5	201,0	250,0
Gesamtfl. gemessener Muskel in μm^2	59866,3	54949,0	20629,2	26943,0	110893,0
Anzahl Typ1-Fasern	132,9	131,0	22,8	80,0	194,0
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	18107,7	17431,0	9134,9	7786,0	55067,0
mittl. Durchmesser Typ1-Fasern in μm	12,9	13,3	2,3	9,6	21,3
Anteil Typ1-Fasern in %	61,3	62,0	9,1	39,0	78,0
Flächenanteil Typ1 in %	59,0	59,0	11,3	36,0	80,0
Anzahl Typ2-Fasern	83,6	82,0	20,1	56,0	127,0
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	11815,0	11247,0	3730,9	4674,0	18040,0
mittl. Durchmesser Typ2-Fasern in μm	13,4	13,5	1,9	8,4	17,5
Anteil Typ2-Fasern in %	38,7	38,0	9,1	22,0	61,0
Flächenanteil Typ2 in %	41,0	41,0	11,3	20,0	64,0

Tabelle 5.6

Morphometrische Daten der untersuchten Fälle für den M.Iliopsoas (MHC-f, 40x1,25)

Zwerchfell, 27 Fälle (12 fehlend)	Mittelwert	Median	Standardabw.	Min.	Max.
Anzahl gemessener Muskelfasern	210,2	210,0	5,5	202,0	224,0
Gesamtfl. gemessener Muskel in μm^2	155450,6	144760,0	53341,4	78759,0	274733
Anzahl Typ1-Fasern	73,0	65,0	22,1	46,0	139,0
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	25036,9	24476,0	11123,6	9043,0	64248,0
mittl. Durchmesser Typ1-Fasern in μm	20,7	21,3	3,2	14,0	27,1
Anteil Typ1-Fasern in %	34,8	32,0	10,7	22,0	67,0
Flächenanteil Typ1 in %	34,8	33,0	10,5	21,0	66,0
Anzahl Typ2-Fasern	137,2	142,0	23,1	68,0	170,0
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	46673,6	46092,0	16385,9	18958,0	95443,0
mittl. Durchmesser Typ2-Fasern in μm	20,7	19,7	3,5	15,1	28,9
Anteil Typ2-Fasern in %	63,2	68,0	13,2	22,0	78,0
Flächenanteil Typ2 in %	63,3	65,0	12,9	24,0	79,0

Tabelle 5.7

Morphometrische Daten der untersuchten Fälle für das Diaphragma (MHC-f, 40x1,25)

Nachdem die Daten für den M. iliopsoas und das Zwerchfell insgesamt betrachtet wurden, wurden die Fälle in zwei Gruppen (Non-SID und SID) aufgeteilt und gegenübergestellt. In Tab. 5.8a und b sind die Daten für den M. iliopsoas dargestellt.

M. iliopsoas, 5 Fälle (4 fehlend)	Non-SID				
	Mittelwert	Median	Standardabw.	Min.	Max.
Anzahl gemessener Muskelfasern	218,2	213,0	19,5	202,0	250,0
Gesamtfl. gemessener Muskel in μm^2	67847,4	62750,0	24922,9	48689,0	110893,0
Anzahl Typ1-Fasern	140,0	131,0	35,5	106,0	194,0
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	24617,2	20405,0	17893,5	8528,0	55067,0
mittl. Durchmesser Typ1-Fasern in μm	14,3	13,9	4,4	9,8	21,3
Anteil Typ1-Fasern in %	63,8	64,0	12,2	48,0	78,0
Flächenanteil Typ1 in	64,4	69,0	16,5	47,0	80,0
Anzahl Typ2-Fasern	78,2	73,0	24,8	56,0	116,0
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	11503,4	10366,0	4756,5	5437,0	18040,0
mittl. Durchmesser Typ2-Fasern in μm	13,6	13,5	2,5	11,1	17,5
Anteil Typ2-Fasern in %	36,2	36,0	12,2	22,0	52,0
Flächenanteil Typ2 in %	35,6	31,0	16,5	20,0	53,0

Tabelle 5.8a

Morphometrische Daten des M. iliopsoas der untersuchten Non-SID-Fälle (MHC-f, 40x1.25)

Es ergab sich für beide Gruppen ein zahlenmäßiges Überwiegen von Typ 1-Fasern beim M. iliopsoas, das sich auch in einem größeren Flächenanteil niederschlägt.

M. iliopsoas, 22 Fälle (8 fehlend)	SID				
	Mittelwert	Median	Standardabw.	Min.	Max.
Anzahl gemessener Muskelfasern	216,1	212,5	11,0	201,0	237,0
Gesamtfl. gemessener Muskel in μm^2	58052,5	54175,5	19747,4	26943,0	108100
Anzahl Typ1-Fasern	131,2	130,5	19,7	80,0	173,0
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	16628,3	17346,0	5472,4	7786,0	27027
mittl. Durchmesser Typ1-Fasern in μm	12,5	13,2	1,6	9,6	14,4
Anteil Typ1-Fasern in %	60,7	61,5	8,6	39,0	74,0
Flächenanteil Typ1 in %	57,7	57,5	9,9	36,0	75,0
Anzahl Typ2-Fasern	84,9	82,5	19,3	57,0	127,0
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	11885,8	11542,0	3591,0	4674,0	17746,0
mittl. Durchmesser Typ2-Fasern in μm	13,3	13,4	1,8	8,4	15,9
Anteil Typ2-Fasern in %	39,3	38,5	8,6	26,0	61,0
Flächenanteil Typ2 in %	42,3	42,5	9,9	25,0	64,0

Tabelle 5.8b

Morphometrische Daten des M. iliopsoas der untersuchten SID-Fälle (MHC, 40x1,25)

Im direkten Vergleich der Daten in Tab. 5.8a (Non-SID) und 5.8b (SID) ergeben sich keine signifikanten Unterschiede der morphometrisch bestimmten Werte. Bei Betrachtung der mittleren Faserdurchmesser entsteht der Eindruck eines signifikanten Unterschieds zwischen der Non-SID- und der SID-Gruppe. Die Typ 1-Fasern haben bei den Non-SID-Fällen einen größeren mittleren Durchmesser als die Typ 2-Fasern, bei den SID-Fasern ist es umgekehrt. Dieser Unterschied ist jedoch einem „Ausreißer“, nämlich Fall Nr. 6 geschuldet (siehe auch Abb. 5.9 bis 5.12). Ohne Berücksichtigung des Falls Nr. 6 liegt der mittlere Faserdurchmesser der Typ 1-Fasern beim M. iliopsoas bei 12,6 μm , der der Typ 2-Fasern bei 12,9 μm . Die Problematik dieses Falls ist weiter unten näher erläutert.

Auch für das Zwerchfell wurden die Fasern getrennt für Non-SID und SID betrachtet (Tab. 5.9a und 5.9b). Hier zeigt sich kein wesentlicher Unterschied zwischen den Gruppen.

Zwerchfell, 5 Fälle (4 fehlend)	Non-SID				
	Mittelwert	Median	Standardabw.	Min.	Max.
Anzahl gemessener Muskelfasern	213,2	213,0	6,0	205,0	224,0
Gesamtfl. gemessener Muskel in μm^2	118209,0	107587	45102,0	78759,0	195491,0
Anzahl Typ1-Fasern	79,4	78,0	27,4	51,0	117,0
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	23871,4	14667,0	22815,3	9043,0	64248,0
mittl. Durchmesser Typ1-Fasern in μm	18,0	17,3	5,0	14,0	26,4
Anteil Typ1-Fasern in %	37,4	35,0	13,8	24,0	57,0
Flächenanteil Typ1 in %	35,4	33,0	14,0	21,0	58,0
Anzahl Typ2-Fasern	133,8	146,0	30,5	88,0	159,0
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	35334,8	33896,0	7574,8	25434,0	46434,0
mittl. Durchmesser Typ2-Fasern in μm	18,7	16,6	4,1	16,4	25,9
Anteil Typ2-Fasern in %	62,6	65,0	13,78	43,0	76,0
Flächenanteil Typ2 in %	64,6	67,0	14,0	42,0	79,0

Tabelle 5.9a

Morphometrische Daten des Diaphragmas der untersuchten Non-SID-Fälle (MHC-f, 40x1.25)

Zwerchfell, 22 Fälle (8 fehlend)	SID				
	Mittelwert	Median	Standardabw.	Min.	Max.
Anzahl gemessener Muskelfasern	209,5	208,5	5,1	202,0	224,0
Gesamtfl. gemessener Muskel in μm^2	163914,6	151651,0	52249,6	80162,0	274733,0
Anzahl Typ1-Fasern	71,6	65,0	21,2	46,0	139,0
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	25301,7	26137,5	7324,6	13525,0	37429,0
mittl. Durchmesser Typ1-Fasern in μm	21,3	21,3	2,5	17,2	27,1
Anteil Typ1-Fasern in %	34,2	32,0	10,2	22,0	67,0
Flächenanteil Typ1 in %	34,6	33,0	9,9	22,0	66,0
Anzahl Typ2-Fasern	137,9	141,0	21,9	68,0	170,0
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	49250,5	47250,0	16850,2	18958,0	95443,0
mittl. Durchmesser Typ2-Fasern in μm	21,1	20,7	3,3	15,1	28,9
Anteil Typ2-Fasern in %	63,3	68,0	13,4	22,0	78,0
Flächenanteil Typ2 in %	63,0	64,5	13,0	24,0	78,0

Tabelle 5.9b

Morphometrische Daten des Diaphragmas der untersuchten SID-Fälle (MHC-f, 40x1.25)

Wenn man den Anteil der Typ 1-Fasern in Bezug zum Alter betrachtet, zeigt sich ein signifikanter Anstieg des Typ 1-Faseranteils im Iliopsoas mit zunehmendem Alter (Abb. 5.4, Tab. 5.10).

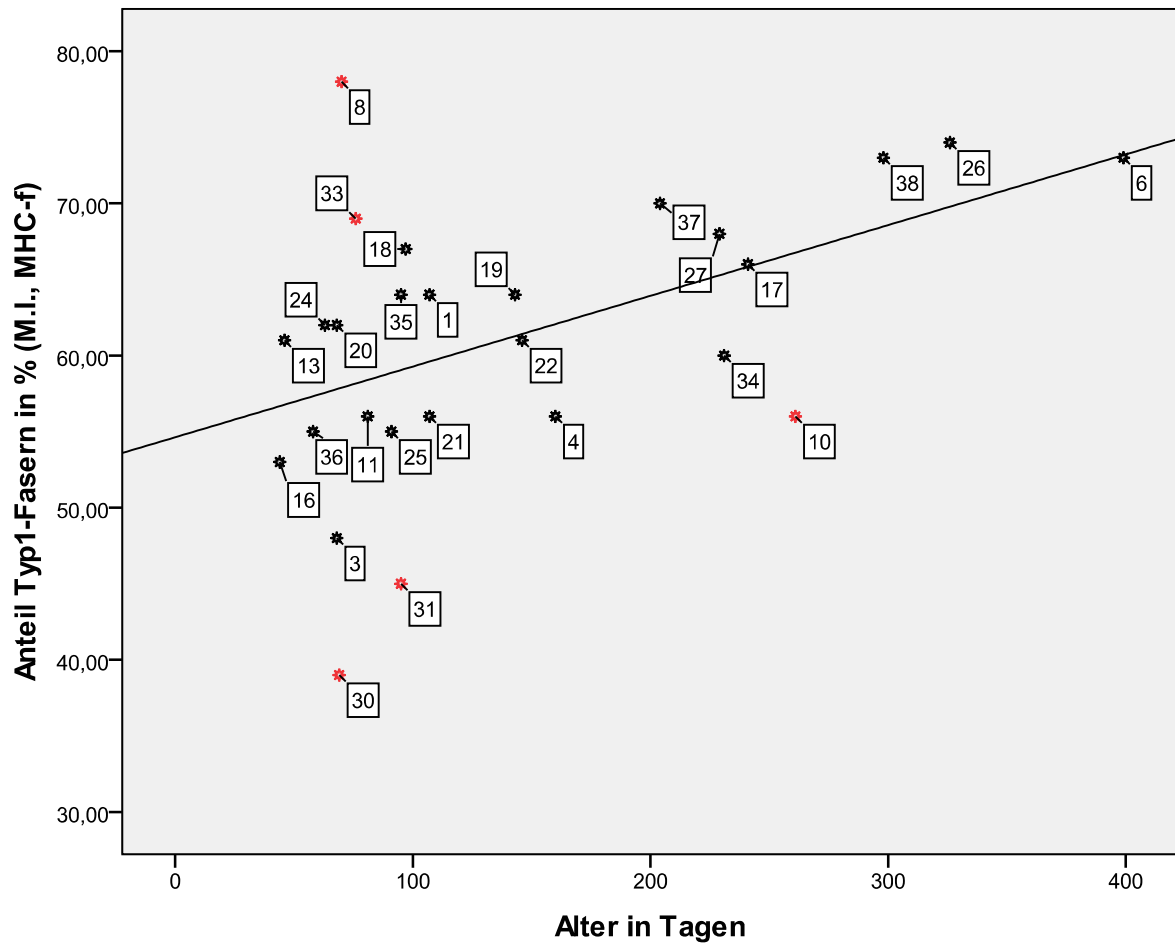


Abbildung 5.4

Prozentualer Anteil der Typ 1-Fasern im M. iliopsoas. Die in Tab. 5.12 näher dargestellten Ausreißer sind rot markiert.

Korrelationen			Alter in Tagen	Anteil Typ1-Fasern in % (M.I., MHC-f)
Spearman-Rho	Alter in Tagen	Korrelationskoeffizient	1,000	,488**
		Sig. (2-seitig)	.	,010
		N	39	27
	Anteil Typ1-Fasern in % (M.I., MHC-f)	Korrelationskoeffizient	,488**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,010	.
		N	27	27

** . Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tabelle 5.10

Korrelation des Alters mit dem prozentualen Anteil der Typ 1-Fasern beim Iliopsoas.

Einzelne früh verstorbene Fälle haben erstaunlich wenige Typ 1-Fasern (Fälle 10, 30 und 31), zwei Fälle haben einen für ihr Alter unerwartet hohen Anteil von Typ 1-Fasern (Fälle 8 und 33). Diese Fälle sind in Tabelle 5.12 in Einzelfallanalysen genauer aufgelistet und untersucht. Für Fall Nr. 8 ist zu berücksichtigen, dass es sich im Gegensatz zu den anderen Ausreißern nicht um einen Fall von plötzlichem Kindstod handelt, sondern hier die eindeutige Todesursache Pneumonie festgestellt wurde. Fall Nr. 10 fällt durch einen für sein angegebenes Sterbealter eher geringen Typ 1-Faseranteil auf. Dies könnte mit einer verzögerten Reifung aufgrund der Frühgeburtlichkeit zusammenhängen.

Auch beim Zwerchfell zeigt sich beim Vergleich des Typ 1-Faseranteils im Bezug zum Alter eine altersabhängige Zunahme des Typ 1-Faseranteils (Abb. 5.5, 5.6a, 5.6b, Tab. 5.11).

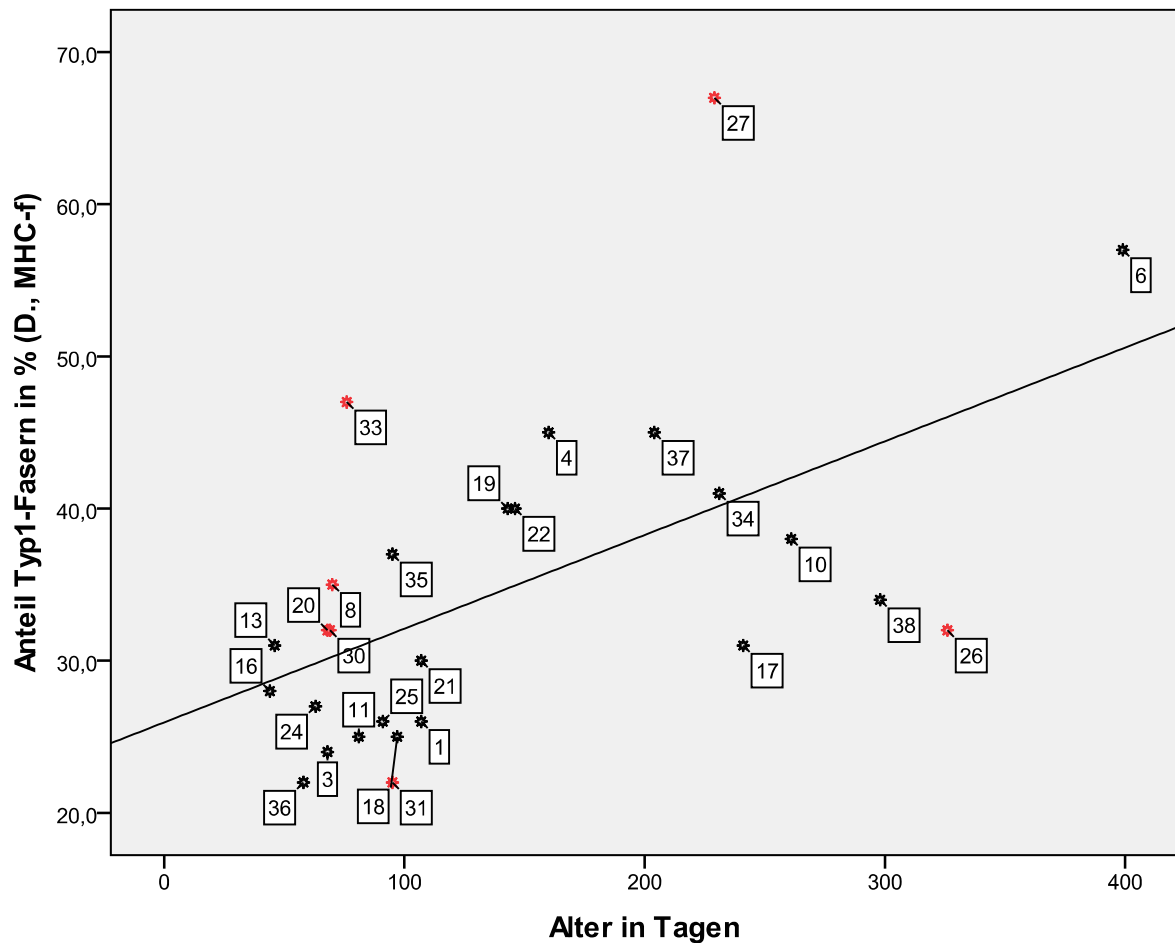


Abbildung 5.5

Prozentualer Anteil der Typ 1-Fasern im Diaphragma. Die in Tab. 5.13 näher dargestellten Ausreißer sind rot markiert.

Der prozentuale Anteil der Typ 1-Fasern ist in den Abbildungen 5.6a und 5.6b getrennt für die SID- und die Non-SID-Gruppe dargestellt. Hier fällt der deutlich geringere Anteil an Typ 1-Fasern mit zunehmendem Alter in der SID-Gruppe auf.

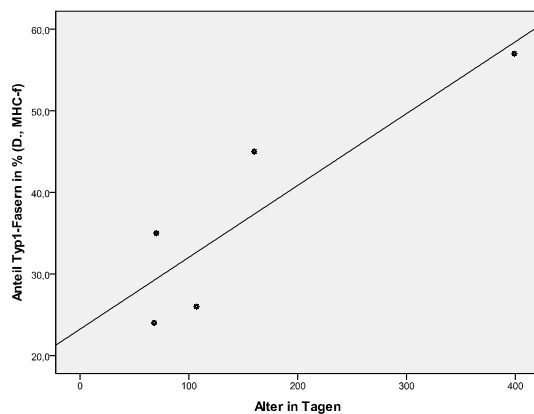


Abbildung 5.6a
Non-SID-Gruppe

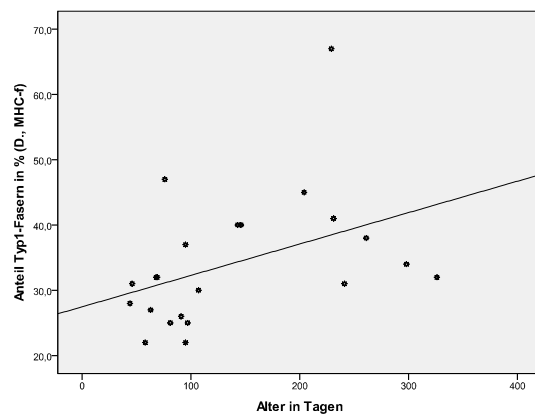


Abbildung 5.6b
SID-Gruppe

Wie schon im M. iliopsoas beobachtet, nimmt im Zwerchfell mit zunehmendem Alter der prozentuale Anteil der Typ 1-Fasern zu. Auffällig sind hier zwei SID-Fälle, die beide etwas älter verstorben sind, jedoch eine völlig unterschiedliche Fasertypenverteilung aufweisen (Fälle 26 und 27). Diese Fälle zeigen für den Iliopsoas eine alterskonforme Fasertypenverteilung und sind in Tabelle 5.13 näher untersucht. Leider waren im Fall 27 keine Daten zur Geburtsreife angegeben. Die Fälle 30 und 8, die bei der Betrachtung des M. iliopsoas aufgrund ihres ungewöhnlichen Faseranteils bei annähernd gleichem Alter ins Auge fallen, da sie ähnlich den Fällen 26 und 27 beim Zwerchfell in einem Fall ungewöhnlich viele (Fall 8), im anderen Fall ungewöhnlich wenige Typ 1-Fasern (Fall 30) aufweisen, zeigen im Zwerchfell eine nahezu normale Faserverteilung. Dies spricht dafür, dass die Muskelreifung in verschiedenen Muskelgruppen nicht mit dem gleichen Tempo verläuft. Die statistischen „Ausreißer“ werden in Einzelfallanalysen näher beschrieben (Abb. 5.5, 5.6a, 5.6b, Tab. 5.11, 5.13).

Die beschriebene Zunahme des prozentualen Anteils der Typ 1-Fasern im Zwerchfell ist signifikant (Tab. 5.11):

Korrelationen				Anteil Typ1-Fasern in % (D., MHC-f)
			Alter in Tagen	
Spearman-Rho	Alter in Tagen	Korrelationskoeffizient	1,000	,538**
		Sig. (2-seitig)	.	,004
		N	39	27
	Anteil Typ1-Fasern in % (D., MHC-f)	Korrelationskoeffizient	,538**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,004	.
		N	27	27

** . Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tabelle 5.11

Korrelation des Alters mit dem prozentualen Anteil der Typ 1-Fasern beim Zwerchfell

Zum Vergleich ist in Abb. 5.7 und 5.8 die altersabhängige Verteilung der Typ 2-Fasern dargestellt, die sich genau entgegengesetzt zu der Typ 1-Faser-Verteilung verhält, da beide Anteile addiert immer 100 % ergeben. Demzufolge nimmt der Anteil der Typ 2-Fasern mit steigendem Alter ab.

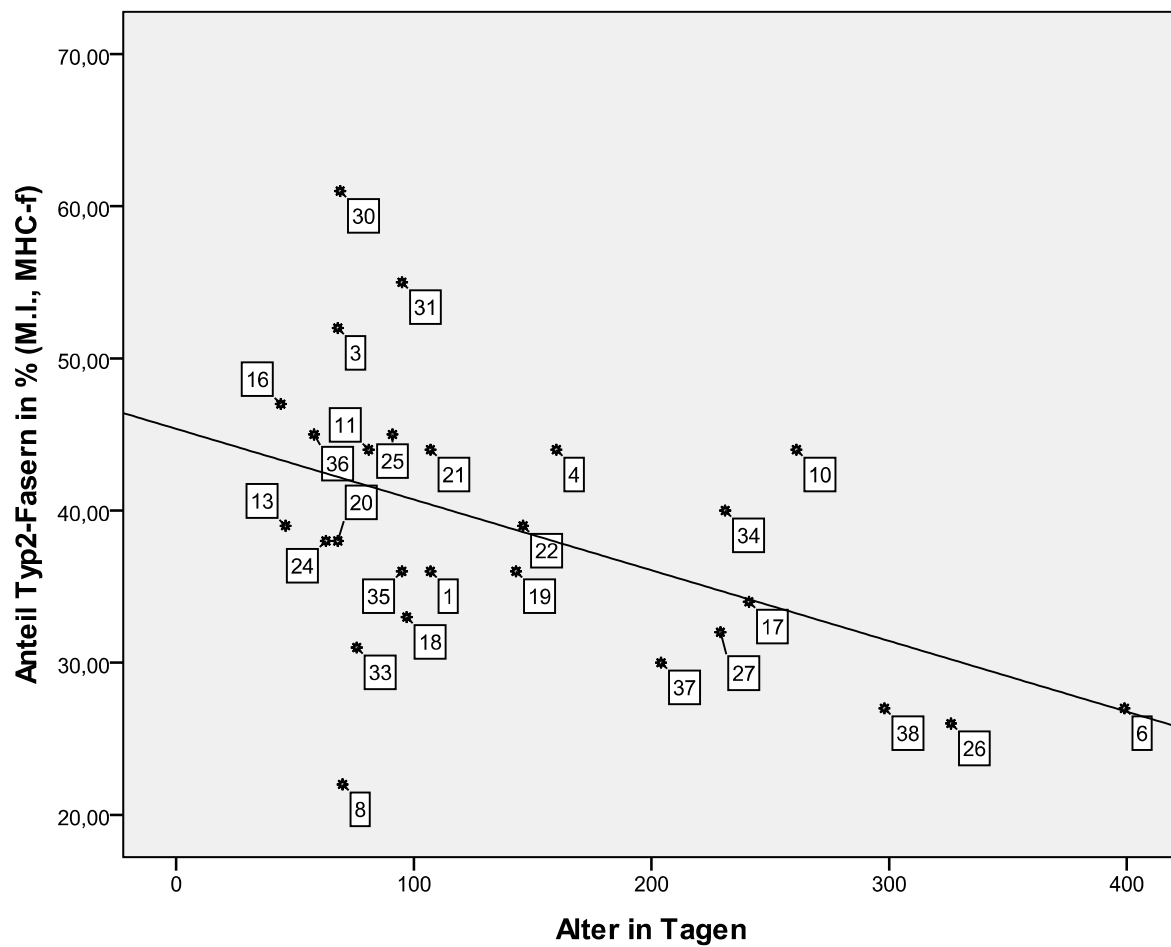


Abbildung 5.7

Prozentualer Anteil der Typ 2-Fasern im M. iliopsoas

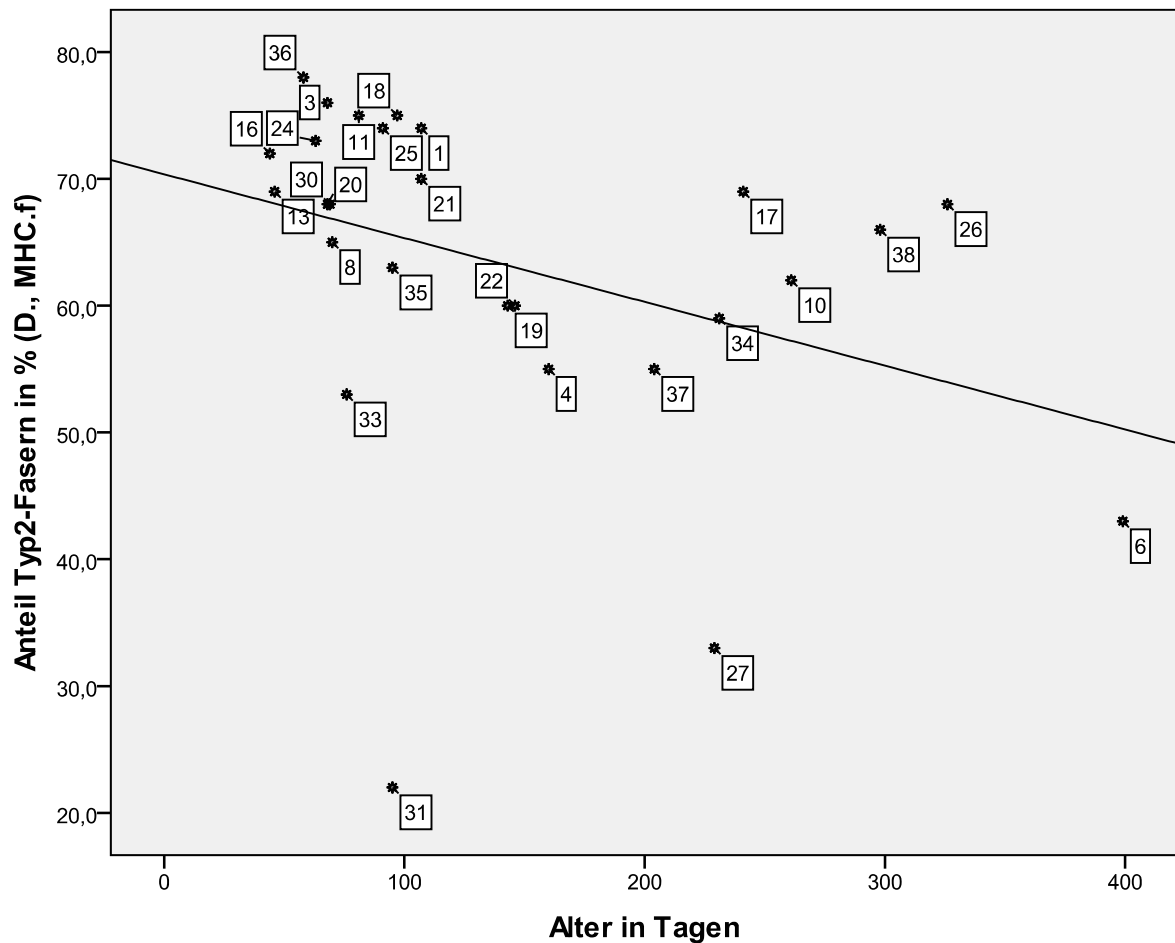


Abbildung 5.8

Prozentualer Anteil der Typ 2-Fasern im Diaphragma

Betrachtet man die mittlere Größe, d. h. die Fläche der einzelnen Muskelfasern des Zwerchfells (Quotient aus Gesamtoberfläche der Typ 1-Fasern und Anzahl gemessener Fasern), zeigt sich, dass diese für Typ 1-Fasern größer ist bei den SID-Kindern als bei den Non-SID-Fällen. Eine Signifikanz ist hier unter Berücksichtigung aller Werte nicht gegeben bei einem p-Wert von 0,064 im Spearman-Rho-Test. Dies liegt an Fall Nummer 6, der mit einem Alter von 399 Tagen - also älter als ein Jahr - die korrekte Definition für die Non-SID-Fälle eigentlich nicht erfüllt, jedoch bei nur wenigen weiteren Kontrollen dennoch in die Untersuchungen mit einbezogen wurde, da er zum Vergleich mit älteren SID-Fällen diente, wie z.B. Fall Nummer 26 mit einem Alter von 326 Tagen. Ließe man ihn aus dieser Berechnung heraus, ergäbe sich ein p-Wert von 0,004. Ein Boxplot veranschaulicht dies:

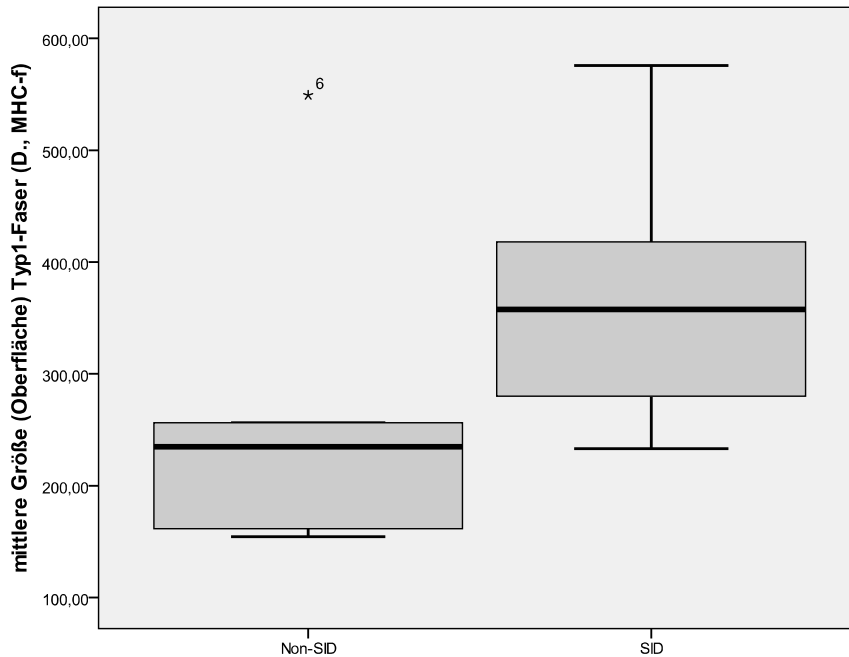


Abbildung 5.9

Vergleich der mittleren Größe der Typ 1-Fasern im Zwerchfell zwischen Non-SID und SID in μm^2

Der Vergleich der mittleren Größe, also der Fläche der einzelnen Muskelfasern vom Typ 1 des Zwerchfells, zeigte (für die oben beschriebene Population) einen signifikanten Unterschied zwischen den SID-Fällen und den Kontrollen dahingehend, dass die mittlere Fasergröße bei den SID-Kindern größer war als bei den Kontrollen. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Wohlfart-Fasern mit dem großen Durchmesser bei den SID-Fällen im Diaphragma länger persistieren als bei den Non-SID-Fällen.

Beim M. Iliopsoas hingegen waren die Fasern annähernd gleichgroß (p-Wert: 0,377).

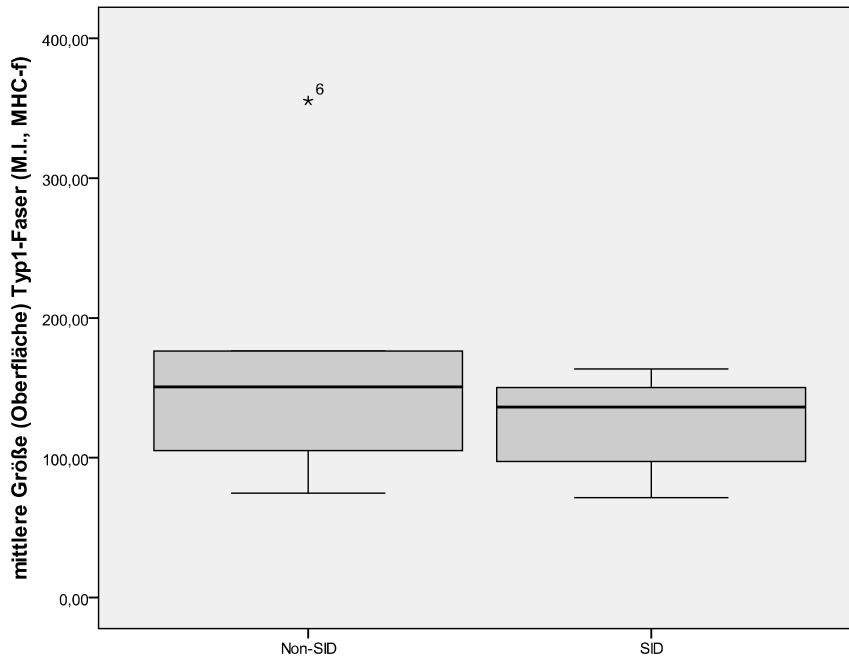
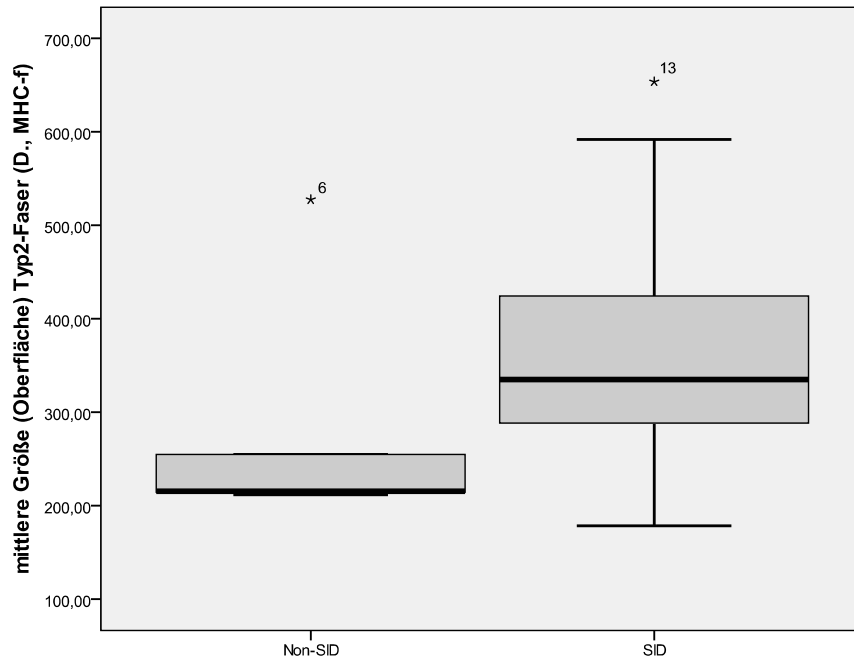


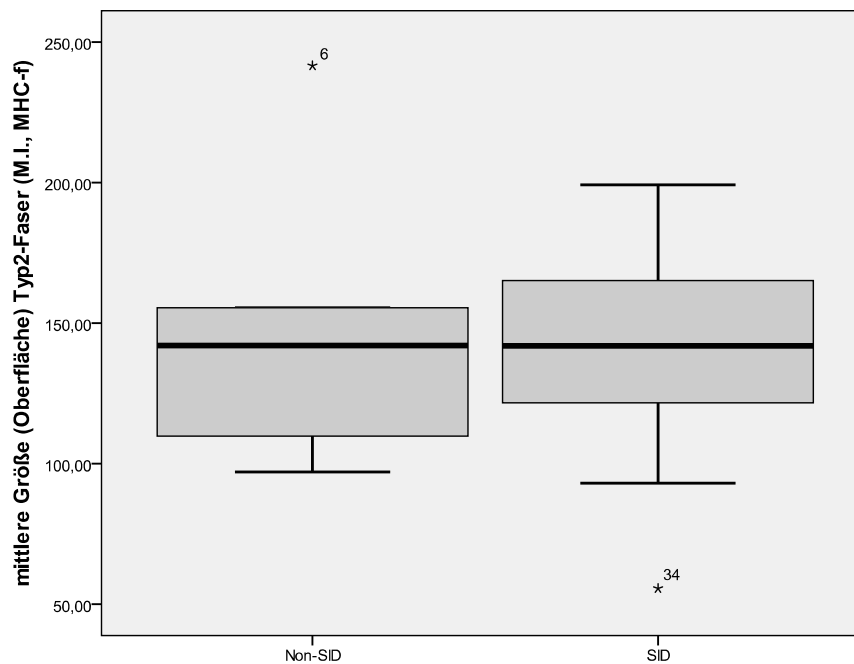
Abbildung 5.10

Vergleich der mittleren Größe der Typ 1-Fasern im M. iliopsoas zwischen Non-SID und SID

Auch die Typ 2-Fasern wurden hinsichtlich ihrer Größe verglichen. Dies ist in Abb. 5.11 und 5.12 dargestellt. Dabei zeigt sich auch hier ein deutlicher Unterschied der mittleren Fasergröße im Diaphragma, der jedoch ebenfalls nicht signifikant ist ($p=0,081$), was auch hier allein dem Ausreißer Fall 6 geschuldet ist (ohne Fall 6: $p=0,009$). Auch die Typ 2-Fasern sind bei den SID-Kindern größer als bei den Non-SID-Kindern. Die mittlere Größe der Fasern ist zum Vergleich für alle Fälle in Tab. 5.12 zusammengefasst.

**Abbildung 5.11**

Vergleich der mittleren Größe der Typ 2-Fasern im Zwerchfell zwischen Non-SID und SID in μm^2

**Abbildung 5.12**

Vergleich der mittleren Größe der Typ 2-Fasern im M. iliopsoas zwischen Non-SID und SID in μm^2

Beim M. iliopsoas zeigt sich auch für Typ 2-Fasern kein signifikanter Unterschied.

in μm^2		mittlere Größe (Oberfläche) Typ1-Faser M. iliopsoas	mittlere Größe (Oberfläche) Typ1-Faser Diaphragma	mittlere Größe (Oberfläche) Typ2-Faser M. iliopsoas	mittlere Größe (Oberfläche) Typ2-Faser Diaphragma
Non-SID	N	5	5	5	5
	Mittelwert	172,5	271,3	149,2	284,9
	Median	150,7	234,9	142,0	215,5
SID	N	22	22	22	22
	Mittelwert	125,1	359,9	141,6	358,3
	Median	136,2	357,7	141,9	335,0
Insgesamt	N	27	27	27	27
	Mittelwert	133,9	343,5	143,0	344,7
	Median	137,9	354,8	142,0	305,8

Tabelle 5.12

Mittlere Größe der Fasern in μm^2

Vergleicht man die Durchmesser der Typ 1- und Typ 2-Fasern zwischen den beiden Muskeln Diaphragma und M. iliopsoas, zeigt sich sowohl bei den SID- als auch bei den Non-SID-Kindern ein größerer Faserdurchmesser im Zwerchfell als im M. iliopsoas.

In der Zusammenschau aller Fälle zeigen sich im Vergleich der beiden Muskeln, bzw der Fasertypen folgende Faserdurchmesser für Non-SID und SID-Fälle:

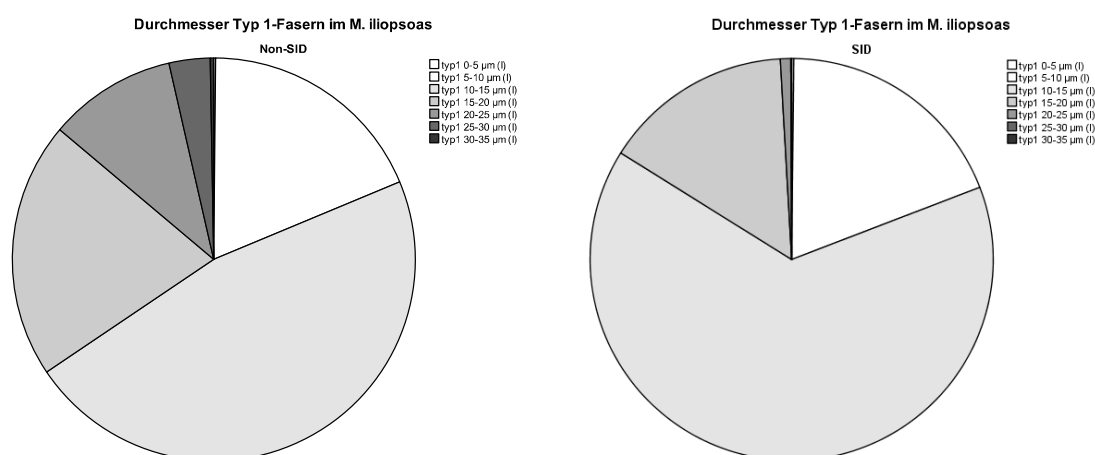


Abbildung 5.13

Anteile der unterschiedlich großen Typ 1-Fasern im M. iliopsoas

Die Faserdurchmesser der Typ 1-Fasern sind im Iliopsoas zu 2/3 kleiner als 15 μm bei Non-SID, bzw. zu 5/6 bei SID-Fällen. Es gibt jedoch einen geringfügig größeren Anteil großkalibriger Typ 1-Fasern mit einem Durchmesser von bis 35 μm in beiden Gruppen (3,58 % für Non-SID und 0,9 % für SID).

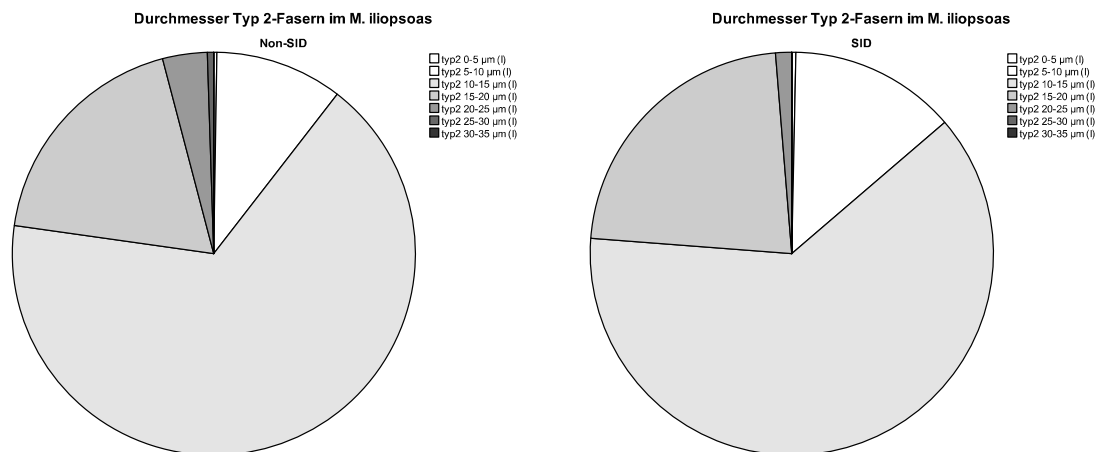


Abbildung 5.14

Anteile der unterschiedlich großen Typ 2-Fasern im M. iliopsoas

Die Typ 2-Fasern im M. iliopsoas sind zu 87,16 % kleiner als 20 μm im Durchmesser für die Non-SID-Fälle und zu 98,4 % für die SID-Fälle.

Im Vergleich zu den Faserdurchmessern im M. iliopsoas sind die Durchmesser im Zwerchfell größer (Abb. 5.15 und 5.16).

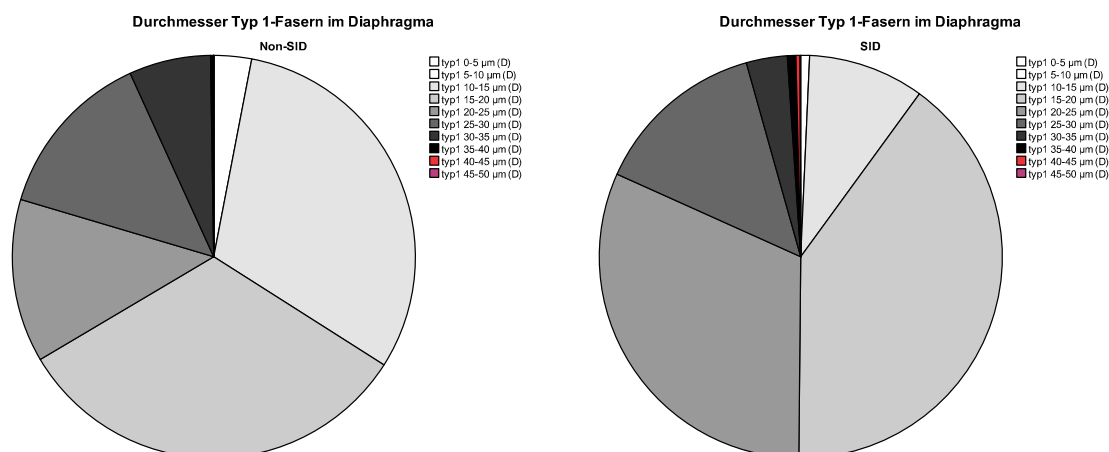


Abbildung 5.15

Anteile der unterschiedlich großen Typ 1-Fasern im Zwerchfell

Im Gegensatz zum Iliopsoas beträgt beim Zwerchfell der Anteil an Fasern, die kleiner als 15 µm sind 31,23 % für Non-SID und sogar nur 9,39 % für SID. Die größten Fasern haben einen Durchmesser von bis 40 µm und einen prozentualen Anteil von 6,8 % für Non SID und einen Durchmesser von bis 45 µm für SID mit einem Anteil von 4,29 %.

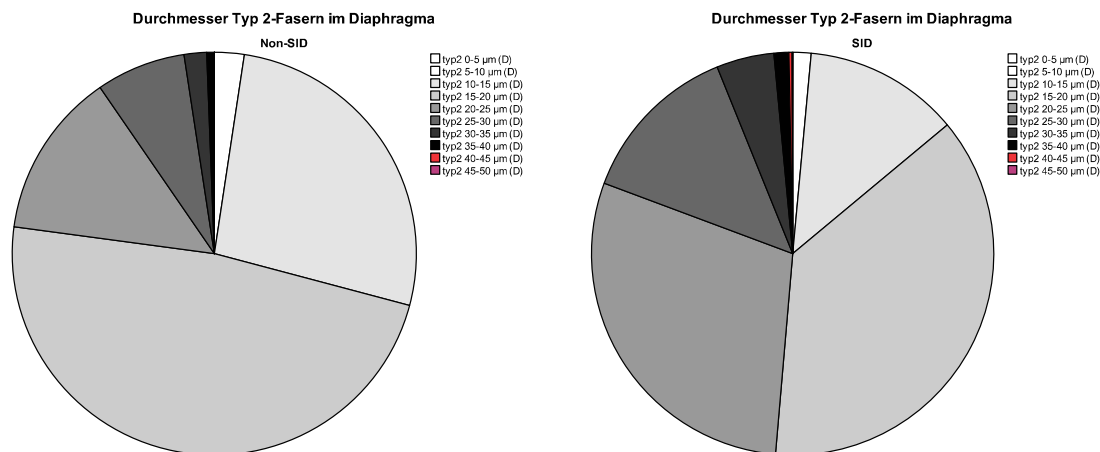


Abbildung 5.16

Anteile der unterschiedlich großen Typ 2-Fasern im Zwerchfell

Bemerkenswerterweise ist die Größendifferenz zwischen den Typ 1- und Typ 2-Fasern nicht zugunsten eines größeren Durchmessers der Typ 2-Fasern verteilt, wie es der Norm entsprechen würde. Bei Non-SID-Fällen sind ca. $\frac{3}{4}$, bei SID-Fällen ca. die Hälfte der Fasern weniger als 20 µm durchmessend. Die Größenverhältnisse von Typ 1 zu Typ 2-Fasern entsprechen sich im Diaphragma bei den SID-Fällen, die im Gegensatz zu den Non-SID-Fällen eine repräsentative Menge darstellen.

Einzelfall-Analysen

Fallnummer	8	10	30	31	33
Geschlecht	m	w	m	m	m
Todesursache	Pneumonie	SID	SID	SID	SID
Alter in Tagen	70	261	69	95	76
Gestationsalter in Tagen	276	173	280	277	280
Geburtsreife	reif	frühgeboren	reif	reif	reif
Geburtsgewicht in g	2890	650	3500	3120	3315
M. iliopsoas-MHC-f:					
Anzahl gemessener Muskelfasern	250	209	207	221	203
Gesamtoberfläche des gemessenen Muskels	52879	52256	48558	53402	46667
Anzahl Typ1-Fasern	194	116	80	99	140
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	20405	17431	7786	13318	14941
mittlerer Durchmesser Typ1-Fasern in μm	11,57	13,83	11,13	13,09	11,66
Anteil Typ1-Fasern in %	78	56	39	45	69
Flächenanteil Typ1 in %	79	50	36	47	60
Anzahl Typ2-Fasern	56	93	127	122	63
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	5437	17281	13963	14836	9760
mittlerer Durchmesser Typ2-Fasern in μm	11,12	15,38	11,83	12,44	14,04
Anteil Typ2-Fasern in %	22	44	61	55	31
Flächenanteil Typ2 in %	21	50	64	53	40
Diaphragma -MHC-f:					
Anzahl gemessener Muskelfasern	224	217	210	217	207
Gesamtoberfläche des gemessenen Muskels	112507	144760	114505	148165	211116
Anzahl Typ1-Fasern	78	82	68	47	98
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	18319	26454	17218	15420	34826
mittlerer Durchmesser Typ1-Fasern in μm	17,29	20,27	17,96	20,44	21,27
Anteil Typ1-Fasern in %	35	38	32	22	47
Flächenanteil Typ1 in %	33	36	28	24	35
Anzahl Typ2-Fasern	146	135	142	170	109
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	37215	46092	43422	49034	64518
mittlerer Durchmesser Typ2-Fasern in μm	18,02	20,85	19,73	19,16	27,45
Anteil Typ2-Fasern in %	65	62	68	22	53

Tabelle 5.13

Einzelfallanalysen der „Ausreißer“ aus Abb. 5.4

Fallnummer	26	27
Geschlecht	w	m
Todesursache	SID	SID
Alter in Tagen	326	229
Gestationsalter in Tagen	267	o. A.
Geburtsreife	reif	o. A.
Geburtsgewicht in g	3950	2950
M. iliopsoas-MHC-f:		
Anzahl gemessener Muskelfasern	233	214
Gesamtoberfläche des gemessenen Muskels	68113	38900
Anzahl Typ1-Fasern	173	146
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	27027	13511
mittlerer Durchmesser Typ1-Fasern in μm	14,1	10,86
Anteil Typ1-Fasern in %	74	68
Flächenanteil Typ1 in %	75	60
Anzahl Typ2-Fasern	60	68
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	8802	8878
mittlerer Durchmesser Typ2-Fasern in μm	13,67	12,89
Anteil Typ2-Fasern in %	26	32
Flächenanteil Typ2 in %	25	40
Diaphragma -MHC-f:		
Anzahl gemessener Muskelfasern	202	207
Gesamtoberfläche des gemessenen Muskels	155137	109998
Anzahl Typ1-Fasern	64	139
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	27158	37126
mittlerer Durchmesser Typ1-Fasern in μm	23,24	18,44
Anteil Typ1-Fasern in %	32	67
Flächenanteil Typ1 in %	40	66
Anzahl Typ2-Fasern	138	68
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	40665	18958
mittlerer Durchmesser Typ2-Fasern in μm	19,37	18,84
Anteil Typ2-Fasern in %	68	33
Flächenanteil Typ2 in %	60	34

Tabelle 5.14

Einzelfallanalysen der „Ausreißer“ aus Abb. 5.5

Die beschriebenen morphometrischen Ergebnisse beruhen, wie in Kapitel 4 erwähnt auf der Auswertung anhand mittels der MHC-f-Reaktion gefärbter Schnitte. Zum Vergleich sind in Tabelle 5.15a und 5.15b die unterschiedlichen Ergebnisse der MHC-f- und der Troponin T-Reaktion anhand der oben beschriebenen Fälle 26 und 27 aufgeführt.

M. iliopsoas Fall 26	MHC-f	TropT
Anzahl gemessener Muskelfasern	233	212
Gesamtoberfläche des gemessenen Muskels	68113	57732
Anzahl Typ1-Fasern	173	154
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	27027	19549
mittlerer Durchmesser Typ1-Fasern in μm	14,1	12,71
Anteil Typ1-Fasern in %	74	73
Flächenanteil Typ1 in %	75	78
Anzahl Typ2-Fasern	60	58
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	8802	5587
mittlerer Durchmesser Typ2-Fasern in μm	13,67	11,07
Anteil Typ2-Fasern in %	26	27
Flächenanteil Typ2 in %	25	22

Tabelle 5.15a

Fall 26: Vergleich der beiden durchgeführten immunhistologischen Untersuchungen mittels MHC-f und Troponin-T am M. iliopsoas

M. iliopsoas Fall 27	MHC-f	TropT
Anzahl gemessener Muskelfasern	214	256
Gesamtoberfläche des gemessenen Muskels	38900	43285
Anzahl Typ1-Fasern	146	193
Gesamtoberfläche Typ1 in μm^2	13511	16098
mittlerer Durchmesser Typ1-Fasern in μm	10,86	10,31
Anteil Typ1-Fasern in %	68	75
Flächenanteil Typ1 in %	60	73
Anzahl Typ2-Fasern	68	63
Gesamtoberfläche Typ2 in μm^2	8878	6054
mittlerer Durchmesser Typ2-Fasern in μm	12,89	11,06
Anteil Typ2-Fasern in %	32	25
Flächenanteil Typ2 in %	40	27

Tabelle 5.15b

Fall 27: Vergleich der beiden durchgeführten immunhistologischen Untersuchungen mittels MHC-f und Troponin-T am M. iliopsoas

5.3 Histologie

Auf den histologischen Schnitten von Zwerchfell und Iliopsoas zeigten sich in der H.E.-Färbung keine pathologischen Veränderungen.

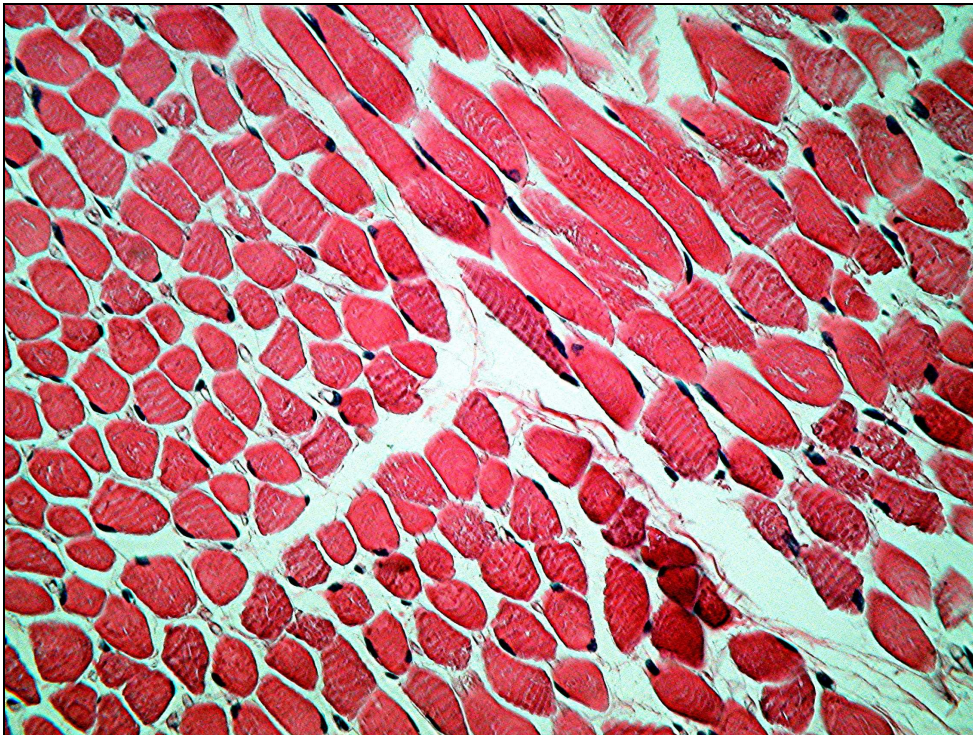


Abbildung 5.17

Fall 5, m, 229 Tage, Non-SID, M. iliopsoas, H.E.-Färbung, Vergrößerung 40x1,25.

Auf den Querschnitten des M. Iliopsoas erkennt man einen Normalbefund eines Skelettmuskels:

Die Muskelfaserkaliber variieren geringfügig mit einem mittleren Durchmesser von 10 bis 21 μm altersabhängig (vgl. Abb 5.17 sowie Abb. 5.13, 5.14 und Tab. 5.6). Die Zellkerne liegen überwiegend regelhaft randständig. Entzündungszeichen und/oder Nekrosen kommen nicht zur Darstellung. Das endomysiale Bindegewebe ist nicht vermehrt. Aufgrund der Einbettung in Paraffin und der Dehydratation des Gewebes bei der Prozessierung kam es zu Schrumpffartefakten, welche zu einer Verbreiterung der endomysialen Räume und zu einer Reduktion des Faserkalibers geführt haben. Die Fasern in der rechten oberen Bildhälfte sind tangential und längs angeschnitten. Die längs angeschnittenen Fasern weisen eine deutliche Querstreifung auf.

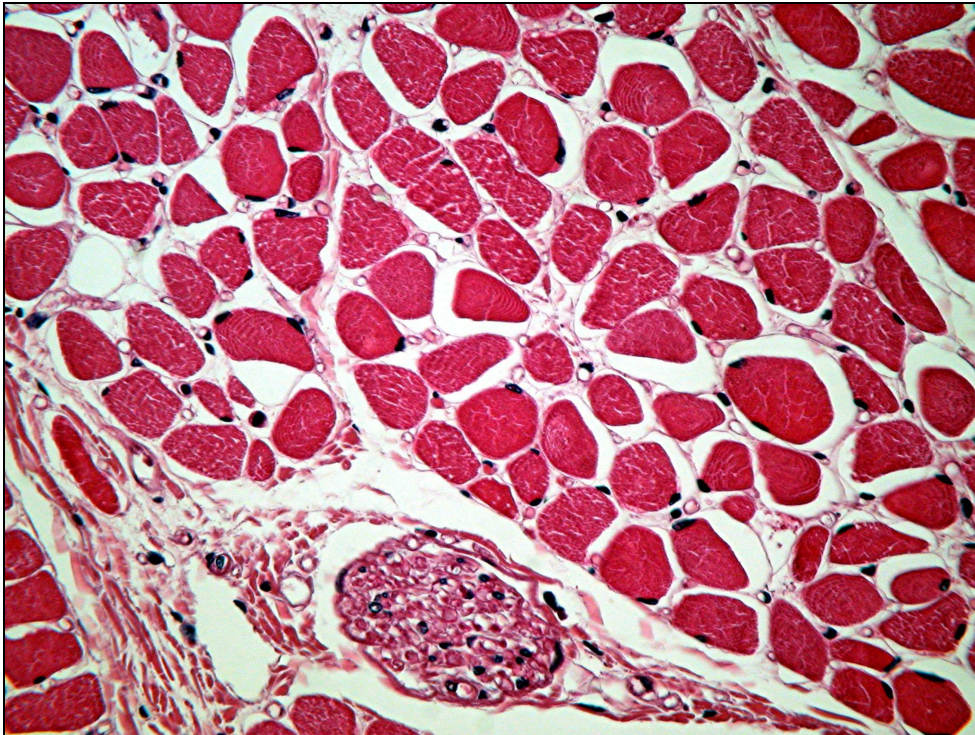


Abbildung 5.18

Fall 5, m, 229 Tage, Non-SID, Zwerchfell, , H.E, 40x1,25. Im unteren Bildrand erkennt man den Querschnitt eines peripheren Nerven.

Das Zwerchfell weist größerkalibrige Fasern auf als der M. iliopsoas des selben Falls (Abb. 5.17 und 5.18 im Vergleich) und zeigt aufgrund der Persistenz der Wohlfart-Fasern eine größere Variabilität der Faserdurchmesser.

Da die Faserdurchmesser auch altersabhängig variieren, ist in den Abbildungen 5.19 und 5.20 Fall 1 zum Vergleich abgebildet, der im Alter von 107 Tagen verstorben ist, im Gegensatz zu Fall 5, der im Alter von 229 Tagen verstarb (Abb 5.17 und 5.18).

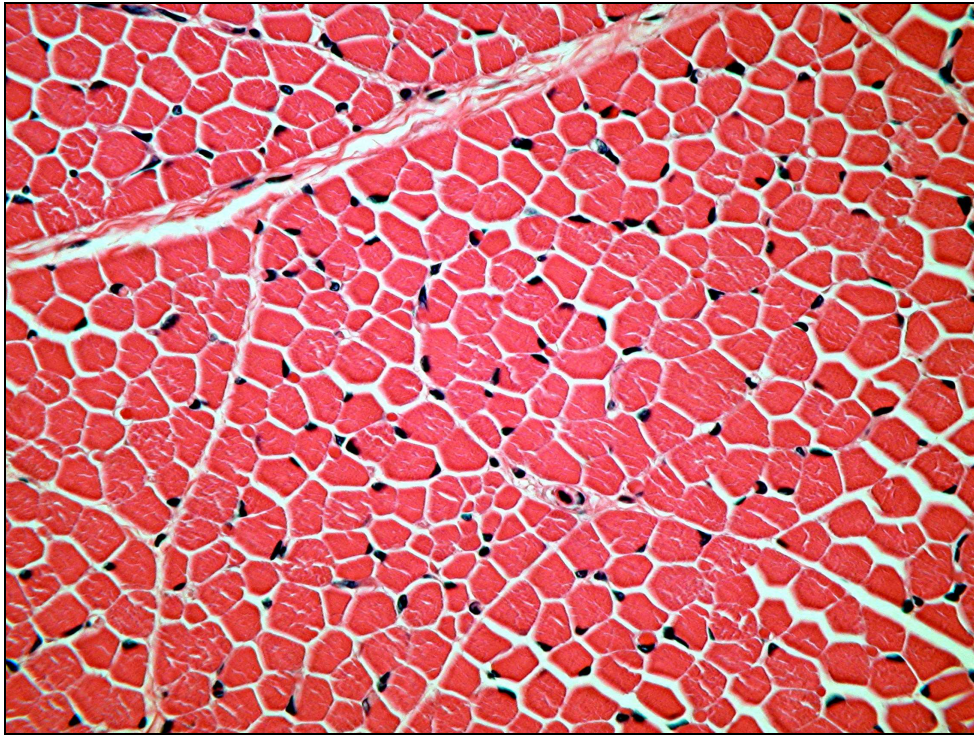


Abbildung 5.19

Fall 1, 107 Tage, Non-SID, M. iliopsoas, H.E., 20x1,25. Die Durchmesser der Muskelfaser variieren in engen Grenzen.

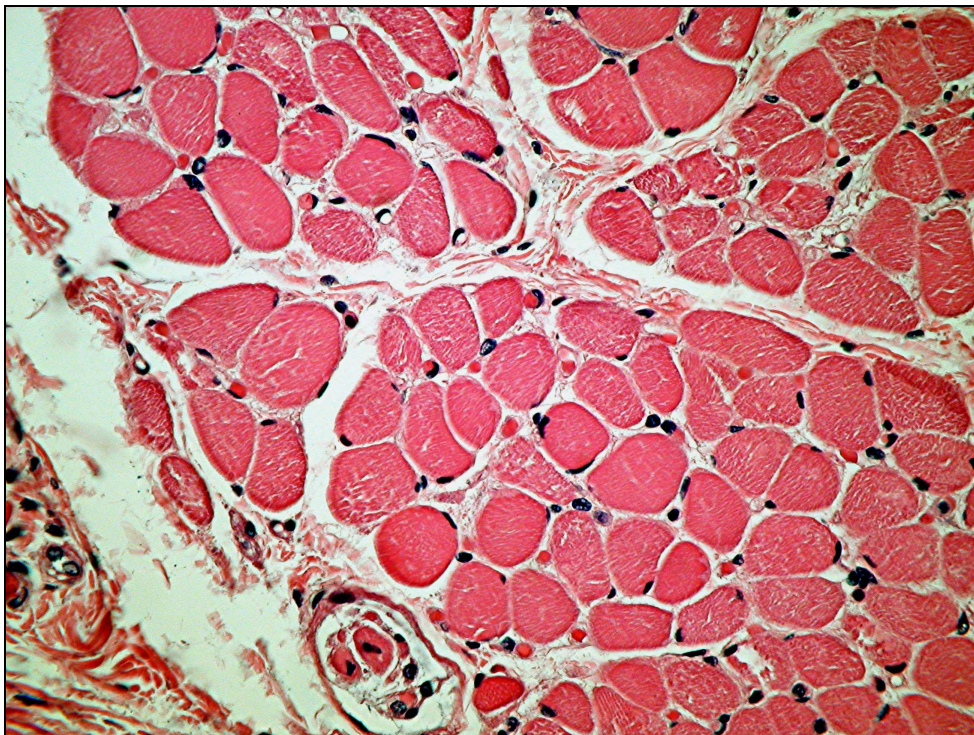


Abbildung 5.20

Fall 1, 107 Tage, Non-SID, HE, Fall 1 Zwerchfell 40x1,25. Im unteren Bildrand erkennt man eine Muskelspindel mit drei intrafusalen Muskelfasern.

Auf den Querschnitten des Diaphragmas erkennt man besonders bei Fall 1 einzelne großkalibrige Muskelfasern bei einem insgesamt größeren mittleren Faserdurchmesser als beim M. iliopsoas (vgl. Abb. 5.19 und 5.20).

Bei jedem untersuchten Fall (SID- wie Non-SID-Fälle) war der Durchmesser der Fasern des M. iliopsoas kleiner als der Faserdurchmesser des entsprechenden Schnittes beim Diaphragma (vgl. Abb. 5.17 bis 5.24).

Abb. 5.21 bis 5.24 zeigen Iliopsoas und Zwerchfell im Vergleich bei den Fällen 16 (männlich) und 13 (weiblich), die mit Diagnose SID verstorben sind.

Im Vergleich zwischen den SID-Fällen 16 und 13 (vgl. Abb. 5.21 bis 5.24), die in annähernd demselben Alter verstorben sind, fällt ein deutlicher Unterschied der Faserkaliber auf. Sowohl im M. Iliopsoas als auch im Zwerchfell weist der weibliche Säugling die größeren Faserkaliber auf.

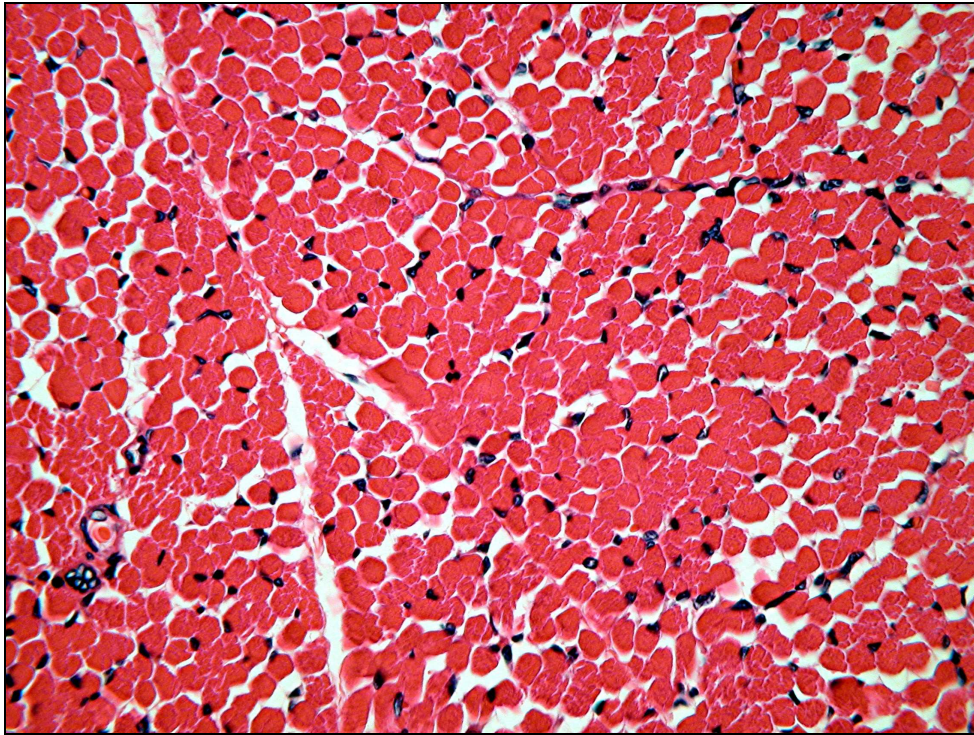


Abbildung 5.21

Fall 16, m, 44 Tage, SID, M. iliopsoas, H.E. 40x1,25. Im Vergleich zu den Muskelfasern des Zwerchfells desselben Falls (Abb. 5.22) sind die Faserdurchmesser hier kleiner

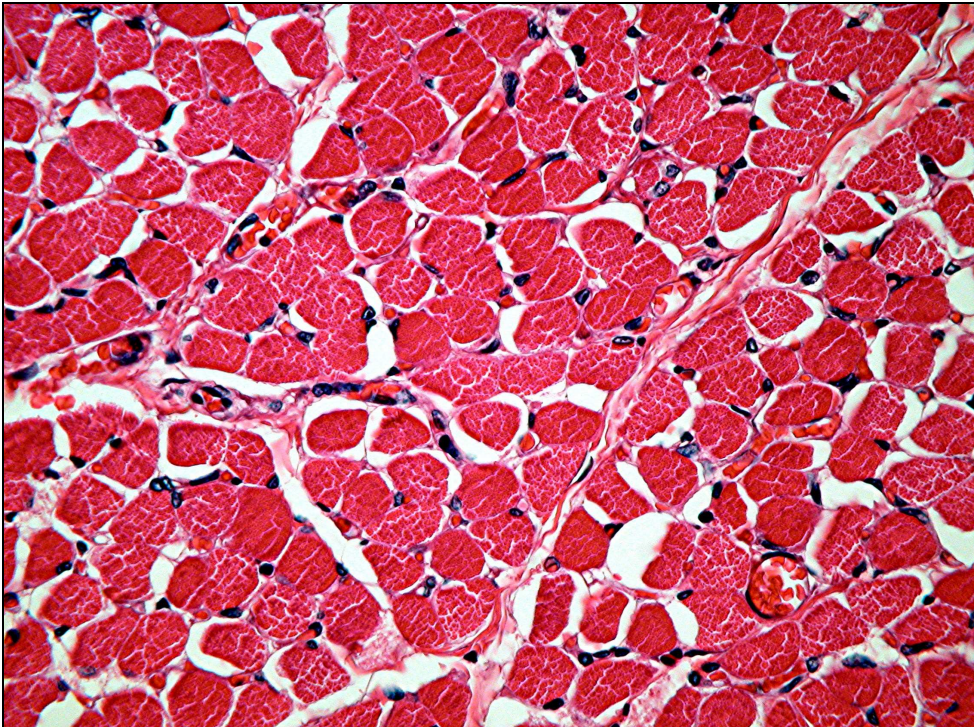


Abbildung 5.22

Fall 16, m, 44 Tage, SID, Zwerchfell 40x1,25, H.E. Die Fasern sind dehydratationsbedingt geschrumpft (paraffintypisches Artefakt). Dadurch erscheinen die Extrazellularräume verbreitert. Dennoch erkennt man, dass die Faserkaliber hier größer sind als beim zuvor abgebildeten M. iliopsoas des selben Falls (Abb. 5.21)

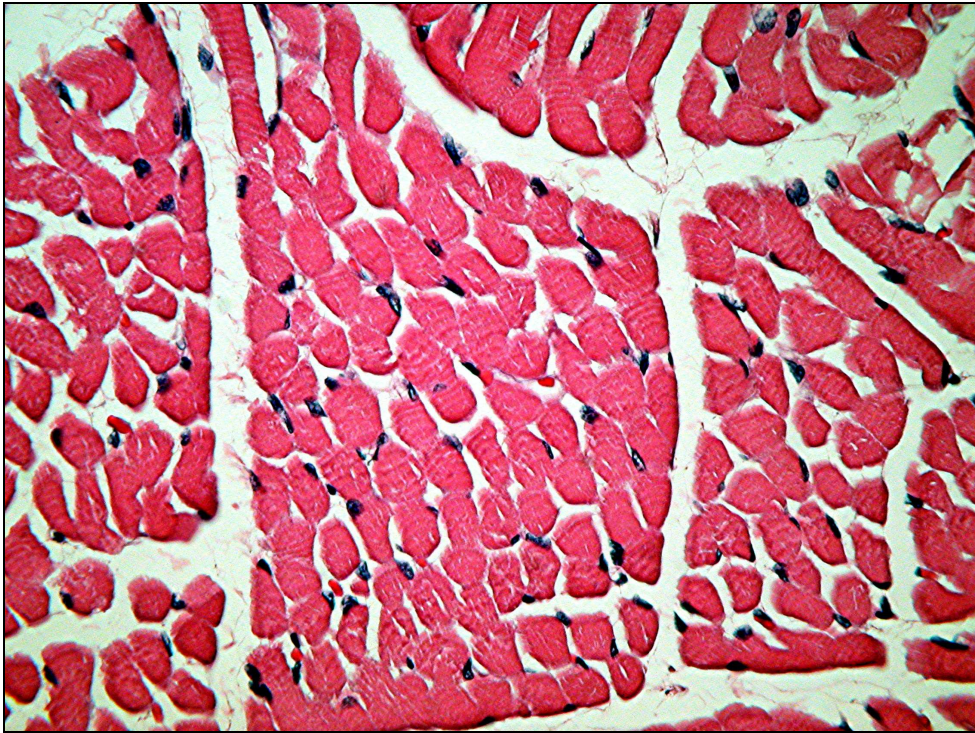


Abbildung 5.23

Fall 13, w, 46 Tage, SID, M. iliopsoas, H.E. 40x 1,25. Die Erweiterung der interstitiellen Räume ist auch bei dieser Abbildung schrumpfungsbedingt.

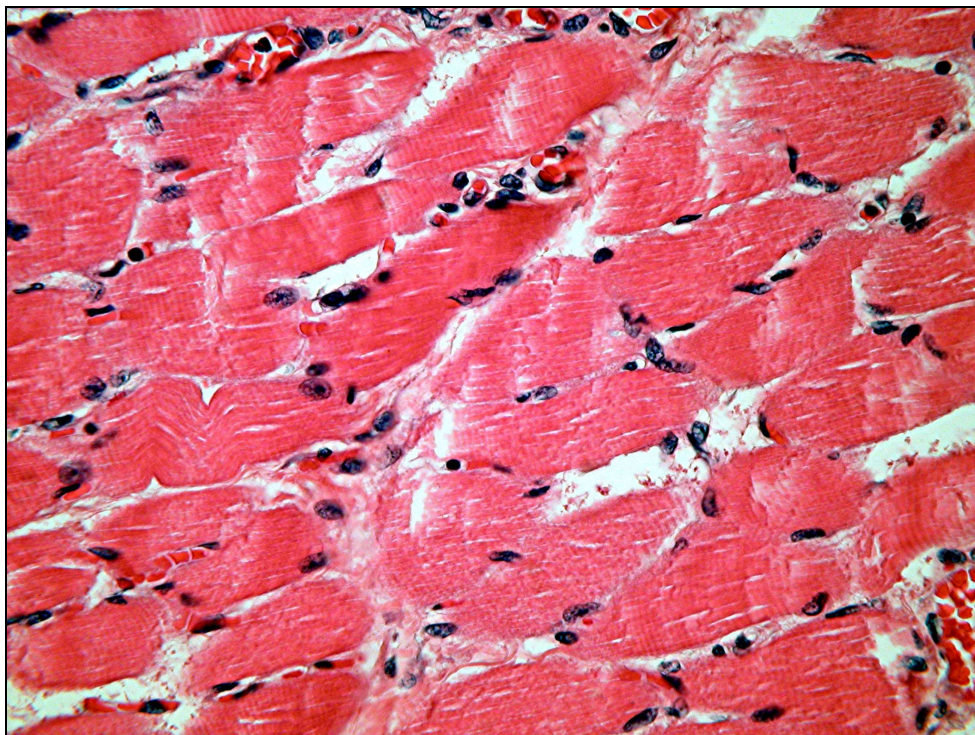


Abbildung 5.24

Fall 13, w, 46 Tage, SID, Zwerchfell, H.E. 40x 1,25. Leicht tangential angeschnittene Muskelfasern

Bei der immunhistochemischen Färbung der Fasertypen mit dem Antikörper gegen Troponin T stellt sich keine fasertypenspezifische Atrophie dar. Das Mosaikmuster der Fasertypenverteilung ist erhalten, Fasertypengruppierungen kommen nicht zur Darstellung. Es fehlen Hinweise auf eine neurogene Muskelatrophie (Abb. 5.25).

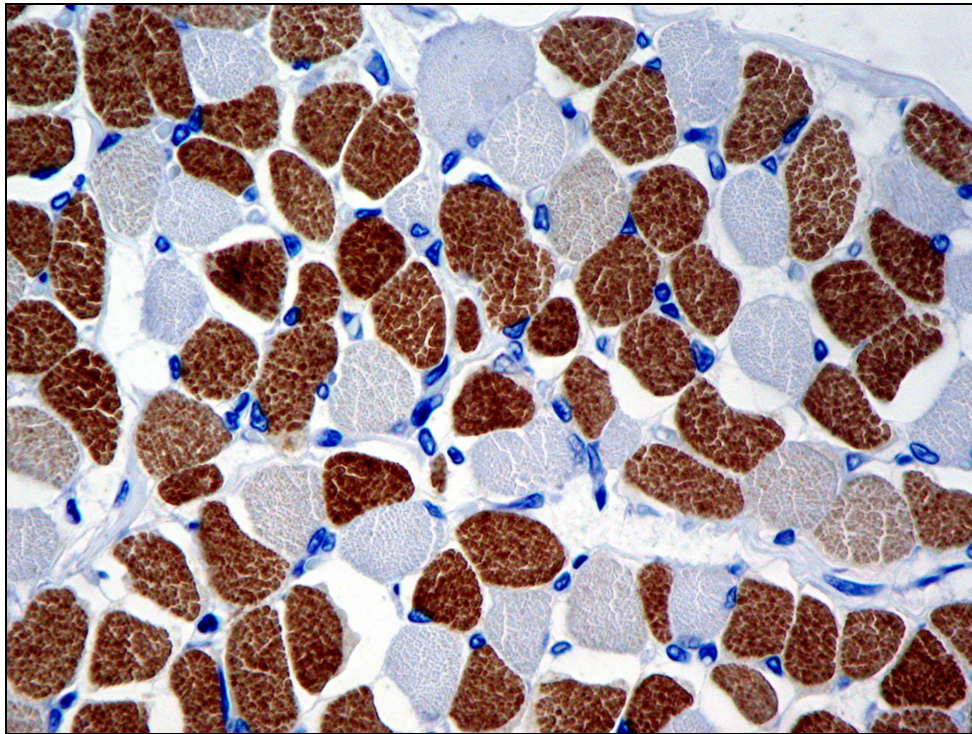


Abbildung 5.25

Fall 16, m, 44 Tage, Zwerchfell Troponin T, 40x1,6. Die Typ 2-Fasern reagieren positiv mit dem Antikörper gegen Troponin und sind hier braun gefärbt.

Auch mittels MHC-f-Reaktion stellt sich im M. Iliopsoas keine fasertypenspezifische Atrophie dar. Dies ist in Abb. 5.26 dargestellt.

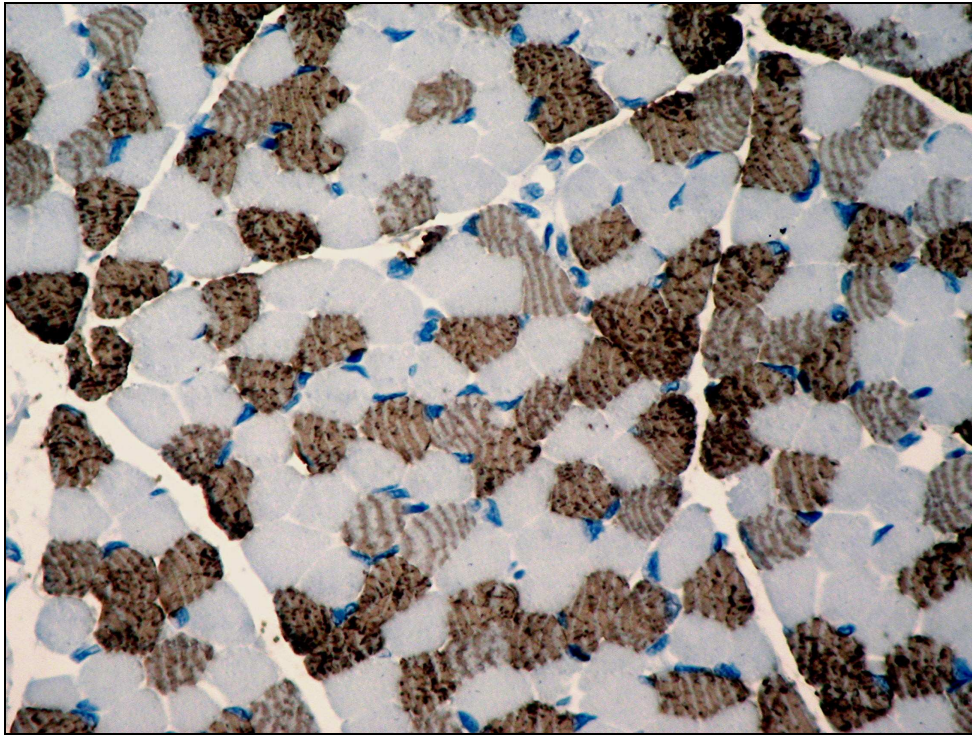


Abbildung 5.26

Fall 13, 46 Tage, w, SID, MHC-f, 40x1,25 M. Iliopsoas. In den positiv dargestellten Typ 2-Fasern ist auch im Querschnitt die Querstreifung gut zu erkennen.

In Abb. 5.27 ist die MHC-f-Färbung am M. Iliopsoas von Fall 16 dargestellt. Ergänzend ist zum Vergleich die MHC-s Färbung desselben Muskels im Serienschnitt (Abb. 5.28) abgebildet. Man erkennt gut die spiegelbildliche Darstellung im Vergleich zu Abb. 5.27, in der nur die Typ 2-Fasern positiv dargestellt sind. Im Vergleich mit den im unteren Bild (Abb. 5.28) dargestellten Typ 1-Fasern fallen einzelne Fasern auf, die in beiden Färbungen mit dem jeweiligen Antikörper reagieren. Diese Fasern sind jeweils durch eine gelbe Umrandung hervorgehoben.

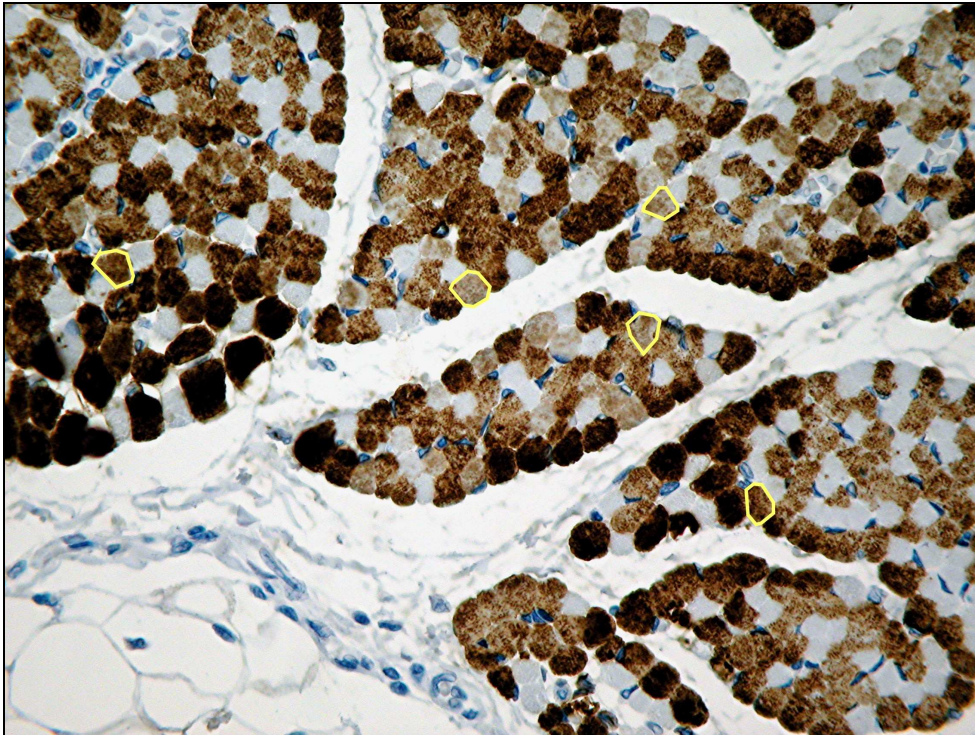


Abbildung 5.27

Fall 16, m, 44 Tage, SID, M. iliopsoas 40x1,25, MHC-f. Es zeigt sich das typische Schachbrettmuster. Das zahlenmäßige Überwiegen der schnellzuckenden, hier braun gefärbten Typ 2-Fasern ist ungewöhnlich für dieses Alter. Gelb: einzelne, hier positive Fasern reagieren auch mit MHC-s.

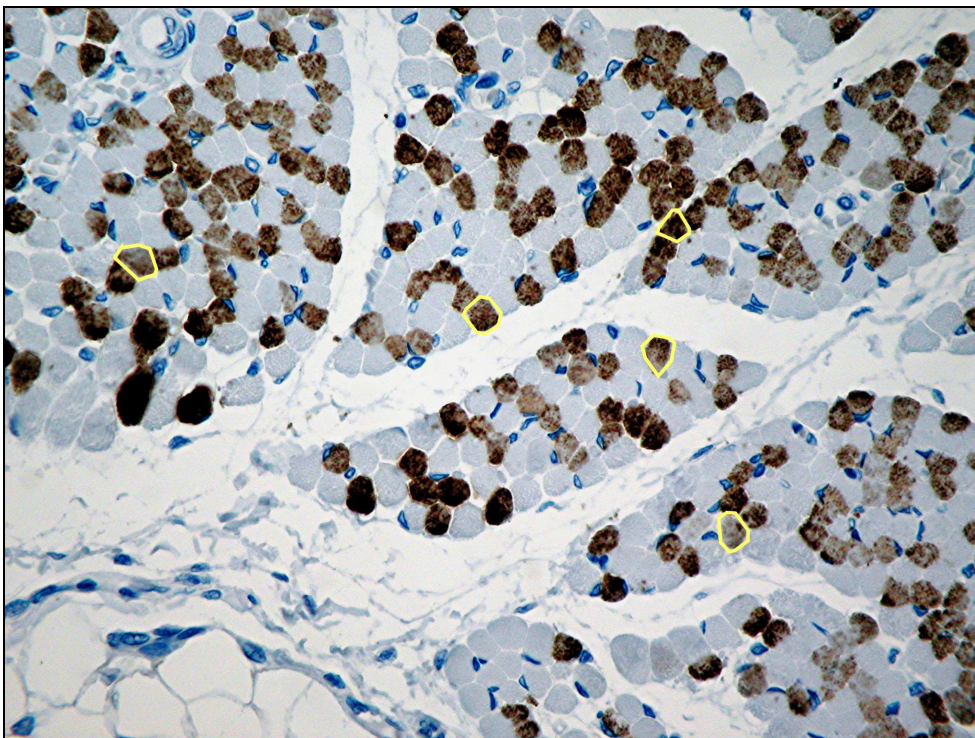


Abbildung 5.28

Fall 16, m, 44 Tage, SID, M. iliopsoas 40x1,25, MHC-s. Hier reagieren die Typ 1-Fasern mit dem Antikörper gegen MHC-s. Gelb: dieselben Fasern aus Abb. 5.27 stellen sich auch hier positiv dar.

Die Typ 2-Fasern überwiegen zahlenmäßig und weisen geringgradig größere Durchmesser auf (vgl. Abb. 5.13 bis 5.16, Tab. 5.6 und 5.7).

Beim Vergleich des M. iliopsoas mit dem Zwerchfell desselben Falles bestätigt sich der schon beschriebene größere Faserdurchmesser im Zwerchfell (Abb. 5.21 bis 5.24 sowie 5.26 und 5.29).

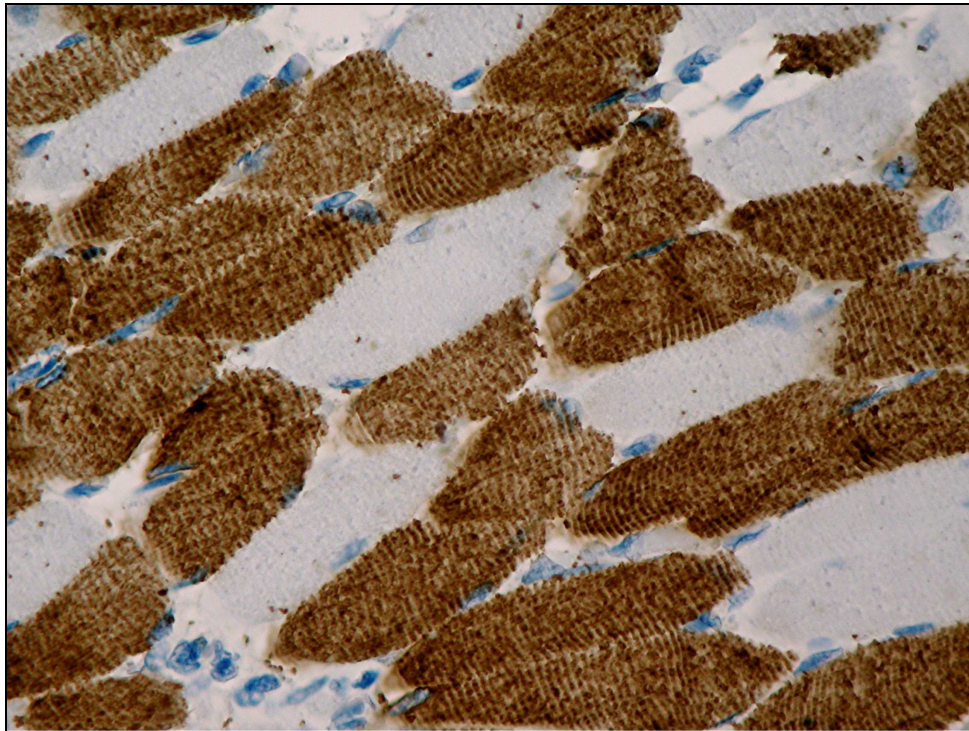


Abbildung 5.29

Fall 13, 46 Tage, w, SID, MHC-f, 40x1,25 Zwerchfell. Die Typ 1-Fasern sind ungefärbt und größer als die zahlreichen Typ 2-Fasern.

Im Zwerchfell sind die Fasern insgesamt größer als im M. iliopsoas. Auch hier überwiegen die Typ 2-Fasern zahlenmäßig. Im Gegensatz zum M. iliopsoas sind im Zwerchfell einzelne Typ 1-Fasern deutlich größer als die Typ 2-Fasern.

6. Diskussion

6.1 Bewertung von Material und Methoden

Diese Untersuchung wurde ermöglicht durch die freundliche Bereitstellung von Gewebe aus dem Zwerchfell und dem M. iliopsoas bei Sektionsgut aus den rechtsmedizinischen Instituten, die an der GeSID-Studie beteiligt waren.

6.1.1 Kollektiv

Eine Kontrollgruppe für SID-Untersuchungen zu finden, die gleich groß ist und ähnlich in der Alters- und Geschlechterverteilung, ist schwierig. SID ist in den industrialisierten Ländern die Hauptursache für den Tod im ersten Lebensjahr. Tödliche Unfälle in diesem Alter sind (glücklicherweise) sehr selten. Für viele Studien hinsichtlich spezieller Fragestellungen bei bestimmten Erkrankungen werden umgekehrt hingegen häufig SID-Fälle als Kontrollen hinzugezogen, da sie per Definition am ehesten den „Normalzustand“, also den Fall eines scheinbar gesunden Säuglings repräsentieren. Daher ist das Kriterium für einen Non-SID-Fall (Kontrollfall) in dieser Arbeit: Eindeutig zuzuordnende Todesursache und verstorben innerhalb des ersten Lebensjahres (Ausnahmen: Fallnummern 6 und 7 mit Tod im zweiten Lebensjahr).

In der Vergangenheit wurden mehrfach aufgrund zu weniger bzw. fehlender Kontrollen falsche Interpretationen von Untersuchungen an SID-Opfern gemacht. Eine fehlende Kontrollgruppe führte Anfang des 20. Jahrhunderts zu einem folgenschweren Irrtum: Da die meisten an chronischen Krankheiten verstorbenen Kinder eine verkleinerte Thymusdrüse aufwiesen, schien es einleuchtend, den scheinbar vergrößerten, in Wirklichkeit aber normal großen Thymus der SID-Opfer als Todesursache anzusehen (Limerick 1992). Um diesem „Status thymico-lymphaticus“ vorzubeugen, wurden Kinder noch in den 30er und 40er Jahren des 20. Jahrhunderts in der Thymusregion bestrahlt, was in der Folge häufig zur Ausbildung von Schilddrüsenkarzinomen führte (Poets 1996).

Aufgrund der Beschränkung des untersuchten Materials auf die GeSID-Studie ist die Anzahl der Non-SID Fälle zahlenmäßig so gering, dass keine statistisch repräsentative Gruppe vorliegt. Dies schränkt die Aussagefähigkeit der statistisch-morphometrisch erhobenen Daten von vornherein ein. Deshalb haben wir Einzelfallanalysen insbesondere bei den Ausreißerfällen durchgeführt, um die Ursachen für die Abweichungen von den Mittelwerten zu erklären.

6.1.2 Material

Die histologische Aufarbeitung erfolgte an Paraffinschnitten, die von den zugesandten Blöcken angefertigt wurden. Eine Hauptfragestellung der Muskelpathologie ist die Zuordnung zu den beiden Hauptfasertypen Typ 1 (langsamzuckend) und Typ 2 (schnellzuckend). In der Muskelbiopsie wird diese Zuordnung an Frischgewebe nach enzymhistochemischer Färbung von Gefrierschnitten vorgenommen. Nach Formalinfixierung und Paraffineinbettung ist eine enzymhistochemische Darstellung der myofibrillären ATPase nicht mehr möglich, sodass zur Fasertypendifferenzierung immunhistochemische Methoden verwendet wurden. Dafür kamen lediglich Antikörper in Frage, die gegen Proteine gerichtet sind, die nur in einem Fasertyp detektiert werden können. Diese Proteine müssen ihre Antigenität nach Formalinfixierung behalten. Die Qualität (Pufferung des Formalins) und Länge der Fixation divergierte in den an der Studie beteiligten rechtsmedizinischen Instituten, so dass die Gewebserhaltung unterschiedlich war. Für die endgültige Auswertung im Rahmen der Arbeit kamen nur Reaktionen mit dem Antikörper in Frage, der an allen Proben ein reproduzierbares homogenes Ergebnis erbrachte. Eine Orientierung am Antikörperspektrum, welches für Muskelbiopsien üblicherweise Anwendung findet, war aus den oben genannten Gründen nicht möglich. Die Bindung des jetzt zur Auswertung verwendeten Myosins MHC-f erwies sich auch insofern als zuverlässig, als glatte Muskulatur niemals angefärbt wurde und die Querstreifung in den gefärbten Fasern gut zur Darstellung kam (De Jong et al. 1984, Nguyen et al. 2000).

Durch die Formalinfixierung und nachfolgende Paraffineinbettung wird dem Gewebe Wasser entzogen, es kommt zur Schrumpfung durch Dehydratation um bis 20-30%

(Schmitz 1935, Romeis 1989). Dies führt zu einer Verkleinerung des Faserdurchmessers und einer Erweiterung der interstitiellen Räume im histologischen Bild und zu einer Reduktion der Faserdurchmesser in der Morphometrie, sodass eine Vergleichbarkeit mit Literaturdaten (Schloon et al. 1979, Tennyson et al. 1994) erschwert ist. Darüberhinaus war die Auswahl der Entnahmeorte nicht an die üblichen Lokalisationen der Muskelbiopsie angepasst, sodass in der Literatur vorhandene Normwerte als Vergleichsdaten z.B. für den M. iliopsoas nicht zur Verfügung standen. Dies ist insofern besonders ungünstig, als die Entwicklung des Faserwachstums und der Typenausreifung in den verschiedenen Muskeln unterschiedlich verläuft, und nicht von einem Muskel auf einen anderen zurückgeschlossen werden kann.

6.1.3 Immunhistochemie

Während früher die Muskelfasern immer anhand von Enzymhistochemie an Gefrierschnitten charakterisiert wurden (Dubowitz und Brooke 1973, Engel 2004), haben sich in jüngerer Zeit die Anwendungen der Immunhistochemie zur Fasertypencharakterisierung durchgesetzt (Framboise et al. 1991, Rojiani und Cho 1998, Engel 2004, Dubowitz und Sewry 2007). Gegen Ende der 1980er Jahre wurden Versuche durchgeführt, an Paraffinschnitten die verschiedenen Fasertypen z.B. mittels der Antikörper gegen Neurofilamente oder Myoglobin darzustellen (Oldfors und Seidal 1988, Krenács et al. 1989). Später wurden zur Fasertypendifferenzierung die Antikörper gegen die Troponinisoformen C, I und T verwendet (Matsumoto et al. 1997). Mittlerweile haben sich auch die bereits langjährig an Gefrierschnitten erprobten Antikörper gegen die Isoformen der schweren Kette des Myosins bei formalinfixiertem und in Paraffin gebettetem Gewebe bewährt (De Jong et al. 1984). Bedauerlicherweise haben diese Antikörper bisher nicht in die rechtsmedizinische Routinediagnostik Einzug gehalten, sodass die Bearbeitung dieser Fragestellung der Fasertypencharakterisierung noch immer in neuropathologischer Hand liegt.

6.1.4 Morphometrische Methoden

Die morphometrische Bestimmung der Faserdurchmesser erfolgte gemäß der Methode nach Schmitt (1976). Demzufolge wird der Durchmesser einer Muskelfaser definiert als der größte Durchmesser der senkrecht durch die Mitte des längsten Durchmessers geht. Dies ermöglicht die Bestimmung des größten Faserdurchmessers auch bei schräg angeschnittenen Fasern. Dieses Verfahren stellt nur eine geringfügige Modifikation der von Song et al. (1963) vorgeschlagenen Methode „orthogonal diameter“ dar. Da dieses Verfahren zur Vermessung von Muskelfasern üblich ist, können die in dieser Arbeit erhobenen Daten mit der internationalen Literatur verglichen werden (Schloon et al. 1979, Vogler und Bove 1985, Oertel 1988, Hards et al. 1990, Tennyson et al. 1994).

6.1.5 Statistische Methoden

Bei der morphometrischen Untersuchung wurden die Durchmesser der Typ 1- und Typ 2-Fasern getrennt vermessen. Daraus wurden die Anzahl der Fasern pro μm^2 , die Fläche der Muskelfasern und der Fasertypen sowie die Fläche des endomysialen Bindegewebes bestimmt.

Dabei wurden Non-SID- und SID-Fälle getrennt beurteilt und die ermittelten Werte überwiegend in deskriptiven Betrachtungen verglichen.

Mittels des Korrelationskoeffizienten nach Spearman, der zur Untersuchung von Korrelationen zwischen stetigen Variablen dient, wurde die Abhängigkeit des prozentualen Anteil der Typ 1- bzw. der Typ 2-Fasern vom Alter innerhalb der jeweiligen Gruppe (Non-SID und SID) untersucht.

Der U-Test von Mann-Whitney wurde zur vergleichenden Untersuchung des mittleren Faserdurchmesser von Typ 1- bzw. Typ-2-Fasern herangezogen, da es sich um einen Test handelt, mit dem signifikante Unterschiede zwischen kategoriellen Werten, in diesem Fall die beiden Gruppen Non-SID und SID, statistisch bewiesen werden können (Weiß 2005).

6.2 Bewertung der Ergebnisse

6.2.1 Beurteilung der anamnestischen Daten

Geschlechterverteilung

Das Kollektiv wurde für SID- und Non-SID-Fälle getrennt zunächst hinsichtlich der Geschlechterverteilung verglichen. Während bei den Non-SID-Fällen annähernd gleich viele Mädchen und Jungen das Kollektiv bildeten, überwog bei den SID-Fällen der Anteil männlicher Säuglinge. Dies entspricht den Ergebnissen der GeSID-Studie, in denen ein Verhältnis von Jungen:Mädchen von 201 : 132 (60,4 % : 39,6 %) vorlag (Vennemann et al. 2005). Auch in früheren Untersuchungen zeichnete sich diese Beobachtung ab (Carpenter und Gardner 1982, Wilske 1984, Veelken 1986, Lohmann 1996, Kleemann und Bajanowski 2004), so dass das Merkmal „männliches Geschlecht“ in die Reihe der intrinsischen Risikofaktoren aufgenommen wurde (Kinney und Thach 2009).

Altersverteilung

Im untersuchten Kollektiv verstarben die meisten SID-Fälle innerhalb der ersten 150 Tage. Dies entspricht den Beobachtungen des San Diego SIDS Research Projects von 1990 bis 1999. Auch Jorch et al. (1994) und Mitchell (1997) beschreiben einen Altersgipfel im zweiten bis vierten Lebensmonat, Wilske (1984) findet hingegen weitere Spitzen im Alter von fünf bis sieben und neun bis zehn Lebensmonaten.

SID betrifft definitionsgemäß nur Todesfälle innerhalb des ersten Lebensjahrs.

Darüberhinaus wird der sogenannte plötzliche intrauterine Fruchttod (Totgeburt) oder SUID (sudden unexplained intrauterine death) beschrieben. Dieser ist definiert als Geburt eines toten Fetus jenseits der 22. Schwangerschaftswoche ohne eindeutigen pathologischen Befund als Todesursache (WHO 2006). Auch die Ätiopathogenese des SUID ist wie die des SID bisher ungeklärt. Für eine gemeinsame Pathogenese sprechen die molekulargenetischen Ergebnisse von Filonzi et al. (2009), die eine Assoziation von Polymorphismen des Dopamin-Transporters und der Monoaminoxidase mit SID und SUID beschrieben und damit die Serotonin-Hypothese als kausale Pathogenese von SID und SUID stützen. Damit entfällt die

Altersbegrenzung für SID und öffnet sich für die Zeit vor der Geburt und in das zweite Lebensjahr. Willinger et al. (1991) erweitern dementsprechend ihre Definition und beschreiben gemäß der vorliegenden Daten 2 % der SID-Fälle als älter als ein Jahr.

Geburtsgewicht und Reife

In früheren Arbeiten konnte bereits gezeigt werden, dass ein niedriges Geburtsgewicht zu den Risikofaktoren des SID gehört wie auch die Frühgeburtlichkeit (Spiers und Wang 1976, Malloy und Hoffman 1995, Oyen et al. 1997, Byard und Krous 2003, Leipälä et al. 2003, Findeisen et al. 2004, Blair et al. 2006a und b, Vennemann et al. 2005, Rao et al. 2009).

Das niedrige Geburtsgewicht ist häufig begründet durch eine Plazentainsuffizienz, die u.a. mit dem Rauchen der Mutter während der Schwangerschaft korreliert (Schlaud et al. 1996, Schellscheidt et al. 1997b, Blair et al. 2006a).

Für das in dieser Arbeit betrachtete Kollektiv lagen für 26 Fälle die Werte für Frühgeburtlichkeit vor. Die Kontrollfälle waren alle reif geboren. Drei SID Fälle waren frühgeboren, die weiteren SID-Fälle waren reif geboren, wobei einer übertragen geboren wurde. Somit beträgt der Anteil der Frühgeborenen unter den SID-Kindern 13 %. Dieser Wert entspricht epidemiologischen Daten, die z.T. vor Beginn der Back-To-Sleep-Kampagne erhoben wurden. Die Ergebnisse von Blair et al. (2006b) in der Fall-Kontroll-Studie über den Zeitraum von 1984 bis 2003 zeigen, dass in Großbritannien der Anteil der Reifgeborenen für SID-Fälle abgenommen hat, während der Anteil der Frühgeborenen von 12 % auf 34 % ($p < 0,001$) zunahm.

In früheren Untersuchungen wurde auch ermittelt, dass Frühgeborene eine verminderte Kraft der Atemmuskulatur in Bauchlage haben (Leipälä et al. 2003, Rao et al. 2009).

6.2.2 Beurteilung der morphometrischen Daten

Besonderheiten des Diaphragmas

Untersuchungen an Delphinen beschäftigten sich mit der Bestimmung der Reife von Muskelfasern und verglichen Neugeborene und Erwachsene verschiedener Säugetierspezies insbesondere im Hinblick auf den unterschiedlichen Reifegrad bei sogenannten „Nestflüchtern“ und „Nesthockern“. Dabei entspricht die Skelettmuskulatur der neugeborenen Individuen der „Nesthockerspezies“ morphologisch und immunhistochemisch weitestgehend der erwachsenen Individuen.

Eine Ausnahme stellt das Diaphragma dar. Dort beschrieb Dearolf (2003) 52 % weniger Typ 1-Fasern bei den Neugeborenen (34 % Typ 1-Fasern bei Neugeborenen, 66 % Typ 1-Fasern bei Erwachsenen). Dies wurde auch bei anderen Säugern wie Ratten, Hasen, Katzen, Menschen, Affen, Schafen und Pferden beobachtet (Keens et al. 1978, Maxwell et al. 1983, Le Souef et al. 1988, Sieck et al. 1991, Finkelstein et al. 1992, Watchko und Sieck 1993, Cobb et al. 1994 a und b, Fratacci et al. 1996). Bei allen Säugetieren besitzt das Zwerchfell der Neugeborenen einen höheren Anteil der Typ 2-Fasern als das der Erwachsenen der jeweiligen Spezies. Dearolf et al. (2000) haben einen Index zur Beurteilung der Reife der jeweiligen Muskeln eingeführt, indem sie den Quotienten aus dem prozentualen Anteil der Typ 1-Fasern bei Neugeborenen dividiert durch den bei Erwachsenen gebildet haben. Demzufolge weisen die Muskelfasern des Diaphragmas der sogenannten „Nestflüchter“ wie Schafe oder Pferde – und gemäß den Untersuchungen auch Delphine – einen höheren Muskelentwicklungsindex auf als die der sogenannten „Nesthocker“. Die Muskelfasern beim menschlichen Diaphragma haben einen intermediären Muskelentwicklungsindex (Dearolf et al. 2003).

Atemmuskulatur

Frühgeborene Kinder weisen inkomplettes Wachstum und Reife der Skelettmuskulatur auf, wobei eine verminderte Muskelmasse bei den meisten Frühgeborenen bereits visuell erkennbar ist und auf eine verminderte Muskelkraft

schließen lässt. Kraft und Ausdauer eines Muskels werden jedoch nicht allein durch seine Masse bestimmt, sondern ebenso durch seine oxidativen und kontraktiven Eigenschaften (Awan und Goldspink 1970, Schiaffino et al. 1970, Burke et al. 1973, Fitts et al. 1975). Die Ermüdungsresistenz eines Muskels korreliert mit seinem Anteil oxidativer (Typ 1-) Muskelfasern (Burke et al. 1973). Der Anteil der Typ 1-Fasern beträgt bei Frühgeborenen nur 9,7 +/- 1,3%, bei reifen Neugeborenen 25 +/- 1,1% und bei Kleinkindern über zwei Jahren 54,9 +/- 1,3% (Keens et al. 1978).

Auch beim Schwein nimmt der Anteil der Typ 1-Fasern im Zwerchfell in den ersten Lebensjahren zu (Mayock et al. 1987).

Skelettmuskeln passen sich wechselnden funktionalen Anforderungen an (Ianzuzo et al. 1976). Bereits intrauterin sind gegen Ende der Schwangerschaft fetale Atembewegungen in bis zu 70% der Fälle zu beobachten, was eine Form von vorbereitendem „Training“ der Muskulatur auf kommende Aufgaben bei der Atmung darstellen könnte. Durch Steigerung des Anteils der Typ 1-Fasern mit dem Alter ändern sich auch die kontraktiven Eigenschaften. Eine verbesserte Effizienz der Typ 1-Fasern erhöht die Widerstandsfähigkeit des Muskels gegenüber Ermüdung (Awan und Goldspink 1970, Keens et al. 1978).

Anteil Typ 1-Fasern

In den morphometrischen Untersuchungen zeigte sich für den M. iliopsoas ein zahlenmäßiges Überwiegen der Typ 1-Fasern (61,3%), die daher auch mit 59,9% den größeren Flächenanteil bildeten. Bei Jugendlichen und Erwachsenen beträgt das Verhältnis von Typ 1 zu Typ 2-Fasern hingegen 49,2:50,8 und damit annähernd 1:1 (Johnson et al. 1973 und Polgar et al. 1973). Beim Zwerchfell hingegen ergaben unsere Messungen einen deutlich geringeren Anteil der Typ 1-Fasern (34,8%). Das normale Wachstumsmuster des Zwerchfells besteht in einer stetigen postnatalen Zunahme der Typ 1-Fasern, die im reifen Zwerchfell 50-55% erreicht (Tennyson et al. 1994).

Dass der Anteil der Typ 1-Fasern prozentual mit zunehmendem Alter steigt, beschrieben bereits Sieck et al. (1991) für den Faseranteil im Zwerchfell. Der Anteil der Typ 1-Fasern ist hier in den ersten sechs Lebenswochen sogar noch geringer angegeben. Die Zunahme der Typ 1-Fasern während der postnatalen Entwicklung

wird zurückgeführt auf die zunehmende Transition des MHC-Typs insbesondere der Typ 2c-Fasern mit vermehrter Expression der langsamzuckenden Myosinisoform und dementsprechender Umdifferenzierung zu Typ 1-Fasern.

Wir konnten exemplarisch an Einzelfällen eine Zunahme der Typ 1-Fasern sowohl mittels der MHC-f- als auch der MHC-s-Reaktion darstellen, wobei in Serienschnitten zusätzlich die Co-Expression beider Antikörper in einzelnen Fasern nachgewiesen werden konnte. Da dies bei einem reifgeborenen SID-Fall im Alter von 44 Tagen zu beobachten war, könnte dies als Hinweis auf eine verzögerte Umdifferenzierung der Muskelfasern bei SID aufgefasst werden. In diesem Zusammenhang sind auch die einzelnen Fasern zu interpretieren, die sich in beiden Reaktionen mit dem jeweiligen Antikörper positiv darstellen. Es könnte sich hierbei um Hybridfasern handeln, die möglicherweise eine Retardierung der Entwicklung anzeigen (Rubinstein und Kelly 2004). Andererseits könnte es sich bei diesen Hybridfasern auch um reaktive Veränderungen im Sinne eines Remodelings bei erhöhter Belastung des Zwerchfells handeln (Jubran 2006).

Einzelne Fälle haben erstaunlich wenige Typ 1-Fasern im Vergleich zu anderen Fällen, die annähernd im gleichen Alter verstorben sind.

Bei Fall 10 könnte dies damit zusammen hängen, dass dieses Mädchen in der 25. Woche (Gestationsalter 173 Tage), also 12 Wochen zu früh geboren wurde. Das Kind ist im Alter von 261 Tagen (37 Wochen) verstorben. Zieht man die 86 Tage (12 Wochen) ab, die das Kind benötigt hätte, um reif geboren zu werden, kommt man auf ein korrigiertes Alter von 175 Tagen. Auch für dieses Alter ist der Typ 1-Faseranteil im M. iliopsoas zu gering. Dies könnte mit einer verzögerten Reifung aufgrund der Frühgeburtlichkeit zusammenhängen.

Die Entwicklung der Skelettmuskelfasern bei Frühgeborenen ist von Schloon et al. (1979) in einem größeren Kollektiv von Frühgeborenen, die zwischen der 25. und 40. Woche zur Welt kamen, untersucht worden. Vor der 34. Woche stellen sich in den Faszikeln nur einzelne große Typ 1-Fasern (Wohlfart-Fasern) dar. Bis zum Zeitpunkt einer reifen Geburt steigt der Anteil der Typ 1-Fasern linear auf bis zu 40 %. Somit bestätigt Schloon die Ergebnisse von Wohlfart (1937), der erstmals das Auftreten

großer Typ 1-Muskelfasern – von ihm als „B-Fasern“ bezeichnet – bei menschlichen Fetten beschrieb.

Im Zwerchfell überwiegt der Anteil der Typ 2-Fasern. In unseren Untersuchungen betrug der Anteil der Typ 1-Fasern bei Non-SID-Fällen 37 % und bei den SID-Fällen 34 %. Diese Ergebnisse gehen in die gleiche Richtung wie die Untersuchungen von Lamont et. al (1995), welche eine deutliche Reduktion des Typ 1-Faseranteils bei SID-Opfern beobachteten und dies mit der verminderten Resistenz gegenüber Ermüdbarkeit in Zusammenhang brachten. Bei Lamont et al. beträgt die Reduktion des Faseranteils von Typ 1-Fasern fast 10 %, während in unseren Untersuchungen lediglich ein nicht signifikanter Unterschied von 3 % auszumachen war. Dies könnte mit der inhomogenen Altersverteilung der Non-SID-Fälle, die nur ein kleines Kollektiv von sechs Fällen bildeten, zusammenhängen.

Die Bedeutung der Zunahme des Typ 1-Faseranteils für die Ermüdungsresistenz wurde auch bereits von Sieck et al. (1983 und 1991) am Zwerchfell der Katze während der postnatalen Entwicklung beschrieben.

Dass auch im Zwerchfell, dem wichtigsten Atemmuskel des Menschen, eine Ermüdbarkeit von Muskelfasern auftreten kann, konnte erstmals durch Roussos und Macklem (1977) gezeigt werden.

Im M. Iliopsoas beträgt der Anteil der Typ 1-Fasern bei den Non-SID-Fällen 64 % und bei den SID-Fällen 61 %. Auch dies entspricht tendenziell den Ergebnissen von Lamont et al. (1995), bei denen die Faseranteile von Typ 2-Fasern sogar gleich waren für SID und Non-SID und um die 60 % betragen.

Der Anteil der Typ 1-Fasern, der mit der Resistenz des Muskels gegenüber Ermüdbarkeit (fatigue resistance) korreliert, nimmt im Zwerchfell bei Erwachsenen mit chronisch obstruktiver Lungenerkrankung von 52 auf 75 % zu (Nguyen et al. 2000). Dies wird zurückgeführt auf die vermehrte Atemarbeit gegen den erhöhten Widerstand im Bronchialsystem. Das Zwerchfell von Erwachsenen ist demnach in der Lage, sich durch eine Änderung der Fasertypenverteilung an Belastungen anzupassen. Die Gruppe um Lamont (1995) hat nachgewiesen, dass bei SID-

Kindern ein noch geringerer Anteil Typ 1-Fasern im Zwerchfell als bei den gleichaltrigen Kontroll-Fällen vorliegt. Bei der zusätzlich untersuchten Interkostalmuskulatur fand sich dieser Unterschied ebensowenig wie im M. iliopsoas, was darauf hindeutet, dass dieses Phänomen zwerchfellspezifisch und möglicherweise SID-spezifisch ist.

In spirometrischen Untersuchungen konnten Sauleda et al. (1998) zeigen, dass der Durchmesser der Muskelfasern beim Zwerchfell und der äußeren Interkostalmuskulatur mit der erzeugten Kraft korreliert.

Mittlere Größe und Durchmesser

Die Muskelfasern im Zwerchfell haben einen größeren Durchmesser als im M. iliopsoas.

Unsere Messungen ergaben einen durchschnittlichen Faserdurchmesser für Typ 1-Fasern von 12,85 μm und für Typ 2-Fasern von 13,37 μm beim M. iliopsoas sowie einen Durchmesser von 20,67 μm für Typ 1-Fasern und von 20,66 μm für Typ 2-Fasern beim Zwerchfell in der Gesamtpopulation.

Betrachtet man die Faserdurchmesser im Zwerchfell für SID und Non-SID getrennt, fällt ein deutlich größerer Durchmesser sowohl der Typ 1-Fasern (21,27 μm) als auch der Typ 2-Fasern (21,11 μm) bei den SID-Kindern auf im Gegensatz zu den Typ 1-Fasern (18,03 μm) und Typ 2-Fasern (18,69 μm) bei Non-SID Kindern, wobei der beschriebene „Ausreißer“ Nr. 6 sogar noch mit eingerechnet wurde.

In früheren Arbeiten ist jedoch kein derart signifikanter Unterschied in den Faserdurchmessern dargestellt. Weis et al. (1998) beschrieben für das Zwerchfell signifikant größere Muskelfasern bei SID-Fällen (24 Fälle) als bei Non-SID (7 Fälle). Tennyson et al. (1994) beschrieben einen mittleren Faserdurchmesser für das erste Lebensjahr (bei eindeutig geklärter Todesursache) von 17,57 \pm 5,11 μm für Typ 1-Fasern und 15,33 \pm 4,12 μm für Typ 2-Fasern im Zwerchfell. In der Publikation von Lamont et al. (1995) sind Durchmesser für Typ 1-Fasern in Zwerchfell und M. iliopsoas im Vergleich zwischen SID und Non-SID zu entnehmen. Diese betragen im Zwerchfell und M. iliopsoas ca. 30 μm für Non-SID. Bei den SID-Fällen lag der mittlere Typ 1-Faserdurchmesser bei 35 μm im Zwerchfell und ca. 33 μm im M. iliopsoas.

In unseren Untersuchungen ergaben sich kleinere Durchmesser für die Typ 1-Fasern sowohl im Zwerchfell als auch im M. iliopsoas als bei Lamont et al. (1995). Dies könnte auf die unterschiedliche Methodik der histologischen Aufarbeitung des Gewebes zurückzuführen sein. Während wir an formalinfixiertem Gewebe die immunhistologischen Untersuchungen mittels MHC-Reaktion ausgewertet haben, wurden in den australischen Untersuchungen Gefrierschnitte mittels ATPase-Reaktionen ausgewertet.

Innerhalb unseres Kollektivs zeigte sich, dass die Typ 1-Fasern des Zwerchfells bei den SID-Fällen signifikant größer sind als bei den Non-SID-Fällen, während die Fasern beim M. iliopsoas annähernd gleichgroß sind. Dies deckt sich mit den Beobachtungen von Lamont et al. (1995). Dort wird diskutiert, dass die Hypertrophie der Fasern auf erhöhte Belastung des Zwerchfells, z.B. durch einen erhöhten Atemwiderstand zusätzlich zu der vermehrten Atemarbeit neugeborener Babys zurückzuführen ist, auf den SID-Kinder lediglich mit einer Hypertrophie, nicht jedoch mit einer Erhöhung der Anzahl der Typ 1-Fasern reagieren (können). Darüberhinaus decken sich unsere Ergebnisse mit denen von Tennyson et al. (1994). Auch Tennyson führt die Vergrößerung auf eine Adaptation bei erhöhter Atemarbeit zurück aufgrund der wiederholten obstruktiven Apnoe-Episoden der SID-Kinder im Gegensatz zu den Non-SID-Kindern. Als weitere Ursache diskutierten sie außerdem eine gestörte neuromuskuläre Reifung. Weder die Gruppe um Tennyson noch um Lamont zogen die Möglichkeit in Betracht, dass der durchschnittlich größere Faserdurchmesser der Typ 1-Fasern durch einige sehr großkalibrige Typ 1-Fasern zustande kommt, was ein Hinweis darauf sein könnte, dass die Wohlfart-Fasern mit dem großem Durchmesser bei den SID-Fällen im Diaphragma länger persistieren als bei den Non-SID-Fällen.

Wenn man zum Vergleich die Durchmesser anderer Skelettmuskeln wie z.B. M. vastus lateralis heranzieht, stellt sich kein wesentlicher Unterschied dar. Auch hier beträgt der mittlere Faserdurchmesser zwischen 13 und 17 μm für Typ 1-Fasern und zwischen 11 und 17 μm für Typ 2-Fasern (Oertel 1988). Für die fetale Entwicklung von M. quadriceps und M. psoas beschrieben Kumagai et al. (1984) einen mittleren Faserdurchmesser in der 28. SSW von 13,1 μm für Typ 1-Fasern und 7,1 μm für Typ 2-Fasern. Auch hier wurden die Werte für Gefrierschnitte mit Hilfe der Enzymhistochemie ermittelt.

Auch Colling-Saltin (1978) beschrieb in ihren Untersuchungen an Skelettmuskulatur intrauterin und postnatal, dass die Größe, bzw. der Durchmesser der Muskelfasern mit zunehmendem Alter steigt. Sie beschrieb einen größeren Faserdurchmesser der Typ 1-Fasern, die erst nach der 20. Schwangerschaftswoche nachweisbar waren. In unseren Untersuchungen gibt es einen geringfügig größeren Anteil großkalibriger Typ 1-Fasern mit einem Durchmesser von bis 35 μm in beiden Gruppen. Damit lässt sich jedoch keine retardierte Fasertypenentwicklung der Atemmuskulatur in der SID-Gruppe sicher belegen.

Einzelfallanalysen

Fall 8 hat einen erstaunlich hohen Anteil von Typ 1-Fasern im M. iliopsoas für sein Alter. Dieser Fall ist kein SID-Fall, sondern dieser Junge ist an einer Pneumonie verstorben. Möglicherweise hat hier eine Veränderung der Aktivität, bzw. der Mobilität des Kindes im Rahmen der Erkrankung den postnatalen Verlauf der Muskelfasertypendifferenzierung beeinflusst. Über einen kausalen Zusammenhang zwischen möglicher verminderter Aktivität und somit auch verminderter Ventilation des Kindes und der Entstehung, bzw. Verschlechterung der Pneumonie auf der anderen Seite kann nur spekuliert werden. Daten über eine stattgehabte Beatmung liegen nicht vor. Bei beatmeten Kindern beschrieb Jubran (2006) bereits ein Remodeling der Fasertypen mit einem initialen Anstieg des Typ 1-Faseranteils. Bei länger bestehender Beatmung zeigte sich in Jubrans Untersuchungen eine weitere Abnahme von Typ 2-Fasern und Bildung von Hybridfasern.

Auch im Diaphragma zeigte sich ein leicht erhöhter Anteil Typ 1-Fasern.

Möglicherweise hat in diesem Fall im Krankheitsverlauf eine längerfristige Belastung der Atemsituation den postnatalen Verlauf der Muskelfasertypendifferenzierung beeinflusst. Nguyen et al. (2000) konnten am Zwerchfell von COPD-Patienten die Vermehrung u.a. von Typ 1-Fasern immunhistochemisch durch Reaktion mit den Antikörpern gegen MHC-f und MHC-s aufgrund der vermehrten Atemarbeit bei Obstruktion nachweisen.

Der Fall 27 fällt durch seinen extrem geringen Anteil an Typ 2-Fasern von nur 32% bei einem Alter von 229 Tagen auf. Dies ist insofern bemerkenswert, als dies kein typisches Zeichen einer Reifungsstörung ist, da im Verlauf der Muskelreifung Typ 2-

Fasern erst zu Typ 1-Fasern umdifferenzieren müssen, um deren Anteil an der Gesamtzahl und damit die Widerstandsfähigkeit des Muskels gegen Ermüdbarkeit zu erhöhen (Rubinstein und Kelly 2004). Auch eine kongenitale Fasertypendisproportion scheidet hier aus, da diese eine Vergrößerung des Faserdurchmessers von Typ 2-Fasern miteinschließt, die dazu führt, dass die größten Typ 2-Fasern mindestens 13,5% größer sind als die Typ 1-Fasern (Cavanagh et al. 1979, Laing et al. 2007).

6.2.3 Beurteilung der Histologie

In den Übersichtsfärbungen mit Hämatoxylin und Eosin kamen keine pathologischen Veränderungen zur Darstellung, wobei die Größenverhältnisse und der Anteil des Bindegewebes sowie die Gefäßverhältnisse gut beurteilbar waren. In unserem Kollektiv konnten die von der Arbeitsgruppe um Silver et al. (1995) bei 50 % der untersuchten SID-Fälle beschriebenen bandförmigen Nekrosen im Zwerchfell nicht beobachtet werden.

Da konventionellmorphologisch keine Einzelfaseratrophien und damit keine Zeichen von Denervierung dargestellt werden konnten, liegt bei den untersuchten Fällen wahrscheinlich keine Innervationsstörung vor. Dies entspricht den elektronenmikroskopischen Untersuchungen am N. phrenicus von Weis et al. (1998), die eine normale Myelinisierung und gering vergrößerte Axondurchmesser bei SID fanden.

Die Anwendung der Antikörper gegen Myosin-Heavy-Chain slow und fast ermöglicht auch am formalinfixierten Material eine Differenzierung der beiden Hauptfasertypen. Diese Unterscheidung von Typ 1-Fasern und Typ 2-Fasern ermöglichte die morphologische und morphometrische Analyse der SID- und Non-SID-Fälle, welche die Grundlage der vorliegenden Arbeit bilden.

7. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden 39 Fälle aus der GeSID-Studie untersucht. Dabei handelte es sich um eine populationsbasierte Fallstudie, die in 11 von 16 Ländern in der Bundesrepublik Deutschland durchgeführt wurde, und an der 18 Zentren beteiligt waren. Beteiligt waren in den ersten 18 Monaten 13 rechtsmedizinische Institute, später wurde sie auf 18 Institute ausgeweitet. Die Studie lief von November 1998 bis Oktober 2001.

Zur Untersuchung auf histologische Unterschiede zwischen SID- und Non-SID-Kindern wurden uns Muskelproben aus Diaphragma und M. Iliopsoas zur Verfügung gestellt. Diese wurden anhand der Todesursache in zwei Gruppen aufgeteilt, 30 Fälle wurden der Gruppe SID und 9 Fälle der Gruppe Non-SID zugeordnet. Zusätzlich zu morphologischen Vergleichen wurden anamnestische sowie morphometrische Daten wie Fasertypenverteilung, Anteile der Fasertypen, Größenverhältnisse in Beziehung zu Alter, Geburtsgewicht, Reife und Gruppenzugehörigkeit ausgewertet und mit den Ergebnissen entsprechender Studien verglichen mit dem Ziel, SID-spezifische Unterschiede festzustellen.

Neben histologischen und immunhistologischen Untersuchungen fand eine quantitative Auswertung der immunhistochemisch charakterisierten Muskelfasertypen in Zwerchfell und M. iliopsoas statt. Das Zwerchfell wurde für diese Arbeit ausgesucht aufgrund seiner zentralen Rolle bei der physiologischen Atmung. Eine Störung der Atmung wurde bereits in zahlreichen Untersuchungen als Ansatz zur Erklärung des plötzlichen Säuglingstodes diskutiert, wobei in dieser Arbeit das Augenmerk auf den Effektor Zwerchfell gerichtet wurde. Der M. iliopsoas wurde zum Vergleich als ein weiterer Skelettmuskel, der jedoch nicht an der Atmung beteiligt ist, herangezogen.

Es wurden immunhistochemische Reaktionen mit verschiedenen Antikörpern durchgeführt, die eine Unterscheidung zwischen Typ 1- und Typ 2-Fasern ermöglichten. Für die quantitative Auswertung eignete sich am besten die Darstellung der schnellzuckenden Typ 2-Fasern mittels der MHC-f-Reaktion.

Für alle Kinder wurde unabhängig von der Todesursache ein größerer Faserdurchmesser im Zwerchfell als im M. iliopsoas festgestellt. Auch ließ sich eine Zunahme des Anteils von Typ 1-Fasern in beiden Muskeln sowohl für SID wie auch für Non-SID nachweisen. Der Anteil der Fasertypen lässt sich somit nicht als Unterscheidungskriterium zwischen SID und Non-SID herausarbeiten.

Ein signifikanter Unterschied ergab sich für die mittlere Größe der Typ 1- und Typ 2-Fasern im Zwerchfell. Diese sind signifikant größer bei SID-Kindern als bei Non-SID-Kindern. Wegen der zentralen Rolle des Zwerchfells bei der Atmung unterstreicht dies den pathogenetischen Zusammenhang zwischen SID, Atemarbeit und Zwerchfellreifung. Dieses Ergebnis wurde von uns erstmals in dieser Arbeit beschrieben.

Da sich darüberhinaus keine signifikanten Unterschiede ergaben, wurden statistische „Ausreißer“ genauer hinsichtlich ihrer Besonderheiten untersucht. Diese Einzelfallanalysen dienten der Erklärung des Phänomens, dass in beiden Gruppen Fälle mit besonders hohem oder besonders geringem Typ 1-Faseranteil vorkommen. Diese konnte mit verzögerter Reifung bei Frühgeburtlichkeit (niedriger Typ 1-Faseranteil) oder mit erhöhter Atemarbeit bei Pneumonie (hoher Typ 1-Faseranteil) erklärt werden.

8. Literaturverzeichnis

American Academy of Pediatrics AAP Task Force (1992) on Infant Positioning and SIDS: Positioning and SIDS. Pediatrics **89**(6):1120-1126.

Aherne W, Ayyar DR, Clarke PA, Walton JN (1971). "Muscle fibre size in normal infants, children and adolescents. An autopsy study." J Neurol Sci **14**(2): 171-82.

Amann V (2007). "Perioperative Zwerchfellparese im Kindesalter – eine klinisch relevante Komplikation." Dissertation. Berlin, Medizinische Fakultät Charité.

Argirov M (2004). "Lektinhistochemische Untersuchungen der Mikroglia an Gehirnen von SIDS-Fällen." Dissertation. München, Ludwig-Maximilians-Universität.

Awan MZ, Goldspink G (1970). "Energy utilization by mammalian fast and slow muscle in doing external work." Biochim Biophys Acta **216**(1): 229-30.

Bajanowski T, Brinkmann B, Vennemann M (2006). "The San Diego definition of SIDS: practical application and comparison with the GeSID classification." Int J Legal Med **120**(6): 331-6.

Bajanowski T, Vege A, Byard RW, et al. (2007). "Sudden infant death syndrome (SIDS)-Standardised investigations and classification: Recommendations." Forensic Sci Int **165**(2-3): 129-43.

Bárány M (1967). "ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening." J Gen Physiol **50**(6): Suppl:197-218.

Barbet JP, Thornell LE, Butler-Browne GS (1991). "Immunocytochemical characterisation of two generations of fibers during the development of the human quadriceps muscle." Mech Dev **35**(1): 3-11.

Barnard RJ, Edgerton VR, Furukawa T, Peter JB (1971). "Histochemical, biochemical, and contractile properties of red, white, and intermediate fibers." Am J Physiol **220**(2): 410-4.

Bartholomeus MG, Gabreels FJ, ter Laak HJ, van Engelen BG (2000). "Congenital fibre type disproportion a time-locked diagnosis: a clinical and morphological follow-up study." Clin Neurol Neurosurg **102**(2): 97-101.

Beckwith JB (1970). "Discussion of terminology and definition of the sudden infant death syndrome." In: Bergman AB, Beckwith JB, Ray CG (eds.): Proceedings of the second international conference on the causes of sudden deaths in infants. Seattle, University of Washington Press 14-22.

Benditt EP, Wedgwood RJ (1964). "Sudden-Death Syndrome." Science **143**(3602): 156-158.

Bergman AB, Beckwith JB, Ray CG (1970): "Proceedings of the second international conference on the causes of sudden deaths in infants." Seattle, University of Washington Press.

Blackwell CC, Weir DM (1999). "The role of infection in sudden infant death syndrome." FEMS Immunol Med Microbiol **25**(1-2): 1-6.

Blair PS, Nadin P, Cole TJ, et al. (2000). "Weight gain and sudden infant death syndrome: changes in weight z scores may identify infants at increased risk." Arch Dis Child **82**(6): 462-9.

Blair PS, Platt MW, Smith IJ, Fleming PJ (2006a). "Sudden infant death syndrome and sleeping position in pre-term and low birth weight infants: an opportunity for targeted intervention." Arch Dis Child **91**(2): 101-6.

Blair PS, Sidebotham P, Berry PJ, Evans M, Fleming PJ (2006b). "Major epidemiological changes in sudden infant death syndrome: a 20-year population-based study in the UK." Lancet **367**(9507): 314-9

- Brinkmann B (1999). "Harmonization of medico-legal autopsy rules. Committee of Ministers. Council of Europe." Int J Legal Med **113**(1): 1-14.
- Brooke MH, Engel WK (1969). "The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types. 4. Children's biopsies." Neurology **19**(6): 591-605.
- Brooke MH, Kaiser KK (1970). "Muscle fiber types: how many and what kind?" Arch Neurol **23**(4): 369-79.
- Brooke MH, Kaiser KK (1970). "Three "myosin adenosine triphosphatase" systems: the nature of their pH lability and sulfhydryl dependence." J Histochem Cytochem **18**(9): 670-2.
- Burke RE, Levine DN, Tsairis P, Zajac FE 3rd (1973). "Physiological types and histochemical profiles in motor units of the cat gastrocnemius." J Physiol **234**(3): 723-48.
- Byard RW (1991). "Possible mechanisms responsible for the sudden infant death syndrome." J Paediatr Child Health **27**(3): 147-57.
- Byard RW, Krous HF (2003). "Sudden infant death syndrome: overview and update." Pediatr Dev Pathol **6**(2): 112-27.
- Carpenter RG, Gardner A (1982). "Variations in unexpected infant death rates relating to age, sex and season. Studies on Medical and Population Subjects London." HMSO **45**: 23-31.
- Carpenter RG, Gardner A (1990). "Environmental findings and sudden infant death syndrome." Lung **168 Suppl**: 358-67.
- Cavanagh NP, Lake BD, McMeniman P (1979). "Congenital fibre type disproportion myopathy. A histological diagnosis with an uncertain clinical outlook." Arch Dis Child **54**(10): 735-43.
- Centers for Disease Control (1999). "Progress in reducing risky infant sleeping positions--13 states, 1996-1997." Morbidity and Mortality Weekly Rep **48**(39): 878-82.
- Cho M, Hughes SM, Karsch-Mizrachi I, Travis M, Leinwand LA, Blau HM (1994). "Fast myosin heavy chains expressed in secondary mammalian muscle fibers at the time of their inception." J Cell Sci **107 (Pt 9)**: 2361-71.
- Cho M, Webster SG, Blau HM (1993). "Evidence for myoblast-extrinsic regulation of slow myosin heavy chain expression during muscle fiber formation in embryonic development." J Cell Biol **121**(4): 795-810.
- Cobb MA, Schutt WA Jr, Hermanson JW (1994a). "Morphological, histochemical, and myosin isoform analysis of the diaphragm of adult horses, *Equus caballus*." Anat Rec **238**(3): 317-25.
- Cobb MA, Schutt WA Jr, Petrie JL, Hermanson JW (1994b). "Neonatal development of the diaphragm of the horse, *Equus caballus*." Anat Rec **238**(3): 311-6.
- Colling-Saltin AS (1978). "Enzyme histochemistry on skeletal muscle of the human foetus." J Neurol Sci **39**(2-3): 169-85.
- Conzelmann S (2003). „Regenerationsverhalten humaner Skelettmuskulatur bei neurogenen und myopathischen Muskelerkrankungen.“ Dissertation. Tübingen, Eberhard-Karls-Universität.
- David CM (1997). "Sudden infant death syndrome: a hypothesis." Med Hypotheses **49**(1): 61-7.
- de Silva K, Lamont P, Pamphlett R, Hilton J (1992). "Diaphragm fibre types in the sudden infant death syndrome." Med J Aust **156**(12): 886, 888.
- Dearolf JL (2003). "Diaphragm muscle development in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*)." J Morphol **256**(1): 79-88.

- Dearolf JL, McLellan WA, Dillaman RM, Frierson D Jr., Pabst DA (2000). "Precocial development of axial locomotor muscle in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*)." J Morphol **244**(3): 203-15.
- Douglas AS, Allan TM, Helms PJ (1996). "Seasonality and the sudden infant death syndrome during 1987-9 and 1991-3 in Australia and Britain." Bmj **312**(7043): 1381-3.
- Draeger A, Weeds AG, Fitzsimons RB (1987). "Primary, secondary and tertiary myotubes in developing skeletal muscle: a new approach to the analysis of human myogenesis." J Neurol Sci **81**(1): 19-43.
- Dubowitz V (1966). "Enzyme histochemistry of developing human muscle." Nature **211**(5051): 884-5.
- Dubowitz V, Sewry CA (2007). Muscle Biopsy: A Practical Approach. 3rd edition, Philadelphia, Saunders Elsevier.
- Dubowitz V, Brooke MH (1973). Muscle Biopsy: A Modern Approach (Major Problems in Neurology). London, Philadelphia, Toronto, Saunders.
- Dubowitz V, Pearse AG (1960). "A comparative histochemical study of oxidative enzyme and phosphorylase activity in skeletal muscle." Z Zellforsch Microsk Anat Histochem **2**: 105-17.
- Duncan JR, Paterson DS, Hoffman JM, et al. (2010). "Brainstem serotonergic deficiency in sudden infant death syndrome." Jama **303**(5): 430-7.
- Duomarco J, Rimini R (1947). "La Prèision Intra-abdominal in el Hombre." Revista de tuberculosis del Uruguay **15**(1): 21-34. In: Amann V (2007). Perioperative Zwerchfellparese im Kindesalter – eine klinisch relevante Komplikation. Dissertation. Berlin, Medizinische Fakultät Charité.
- Dwyer T, Ponsonby AL (1995). "SIDS epidemiology and incidence." Pediatr Ann **24**(7): 350-2, 354-6.
- Ecob-Prince M, Hill M, Brown W (1989). "Immunocytochemical demonstration of myosin heavy chain expression in human muscle." J Neurol Sci **91**(1-2): 71-8.
- Engel AG (2004). Myology. 3rd Edition. New York, McGraw-Hill Professional.
- Engel WK (1998). "The essentiality of histo- and cytochemical studies of skeletal muscle in the investigation of neuromuscular disease. 1962." Reprinted. Neurology **51**(3): 655-72.
- Engelhardt WA, Liubimova MN (1994). "[Myosin and adenosine triphosphatase (Nature, 144, 688, Oct. 14, 1939)]." Mol Biol (Mosk) **28**(6): 1229-30. In: Gruhn M. (2000). „Untersuchungen zur Muskelfaserdiversität und -plastizität an der Extensormuskulatur des Flußkrebse *Orconectes limosus* Raf.“ Dissertation. Universität Konstanz.
- Erler H, Zaknun J, Donnemiller E, et al. (1999). "One year's clinical experience of 18F-FDG PET with a modified SPET camera using molecular coincidence detection." Nucl Med Commun **20**(11): 1009-15.
- Erler T (2002). „Longitudinalstudie zur Erstellung polysomnographischer Referenzwerte für im ersten Lebensjahr unter besonderer Berücksichtigung von Grundlagen, Methodik und Anwendungsmöglichkeiten der Polysomnographie (PSG) im Säuglingsalter.“ Habilitationsschrift. Berlin, Medizinische Fakultät Charité der Humboldt-Universität.
- Esnous D, Edom F, Butler-Browne GS, Barbet JP (1993). "[Development of the diaphragmatic muscle]." Bull Assoc Anat (Nancy) **77**(239): 67-71.
- Farkas-Bargeton E, Diebler MF, Arsenio-Nunes ML, Wehrle R, Rosenberg B (1977). "[Histochemical, quantitative and ultrastructural maturation of human fetal muscle]." J Neurol Sci **31**(2): 245-59.
- Fell SC (1998). "Surgical anatomy of the diaphragm and the phrenic nerve." Chest Surg Clin N Am **8**(2): 281-94.

- Fenichel G (1963). "The B fiber of human foetal skeletal muscle - A study of fiber diameter size." Neurology **13**(3): 219-226.
- Fidzianska A (1980). "Human ontogenesis. I. Ultrastructural characteristics of developing human muscle." J Neuropathol Exp Neurol **39**(4): 476-86.
- Filiano JJ, Kinney HC (1994). "A perspective on neuropathologic findings in victims of the sudden infant death syndrome: the triple-risk model." Biol Neonate **65**(3-4): 194-7.
- Filiano JJ, Kinney HC (1995). "Sudden infant death syndrome and brainstem research." Pediatr Ann **24**(7): 379-83.
- Filonzi L, Magnani C, Lavezzi AM, et al. (2009). "Association of dopamine transporter and monoamine oxidase molecular polymorphisms with sudden infant death syndrome and stillbirth: new insights into the serotonin hypothesis." Neurogenetics **10**(1): 65-72.
- Findeisen M, Vennemann M, Brinkmann B, et al. (2004). "German study on sudden infant death (GeSID): design, epidemiological and pathological profile." Int J Legal Med **118**(3): 163-9.
- Finkelstein DI, Andrianakis P, Luff AR, Walker DW (1992). "Developmental changes in hindlimb muscles and diaphragm of sheep." Am J Physiol **263**(4 Pt 2): R900-8.
- Fitts RH, Booth FW, Winder WW, Holloszy JO (1975). "Skeletal muscle respiratory capacity, endurance, and glycogen utilization." Am J Physiol **228**(4): 1029-33.
- Fleming PJ, Gilbert R, Azaz Y, et al. (1990). "Interaction between bedding and sleeping position in the sudden infant death syndrome: a population based case-control study." Bmj **301**(6743): 85-9.
- Franco P, Szliwowski H, Dramaix M, Kahn A (1998). "Polysomnographic study of the autonomic nervous system in potential victims of sudden infant death syndrome." Clin Auton Res **8**(5): 243-9.
- Fratacci MD, Levame M, Rauss A, Bousbaa H, Atlan G (1996). "Rat diaphragm during postnatal development. I. Changes in distribution of muscle fibre type and in oxidative potential." Reprod Fertil Dev **8**(3): 391-8.
- Gibson E, Cullen JA, Spinner S, Rankin K, Spitzer AR (1995). "Infant sleep position following new AAP guidelines. American Academy of Pediatrics." Pediatrics **96**(1 Pt 1): 69-72.
- Gozal D, Colin AA, Daskalovic YI, Jaffe M (1988). "Environmental overheating as a cause of transient respiratory chemoreceptor dysfunction in an infant." Pediatrics **82**(5): 738-40.
- Gruhn M (2000). „Untersuchungen zur Muskelfaserdiversität und -plastizität an der Extensormuskulatur des Flußkrebse Orconectes limosus Raf.“ Dissertation. Universität Konstanz.
- Guntheroth WG (1977). "Sudden infant death syndrome (crib death)." Am Heart J **93**(6): 784-93.
- Guntheroth WG, Spiers PS (1999). "Prolongation of the QT interval and the sudden infant death syndrome." Pediatrics **103**: 813-4.
- Guntheroth WG, Spiers PS (2002). "The triple risk hypotheses in sudden infant death syndrome." Pediatrics **110**(5): 64.
- Gupta R, Helms PJ, Jolliffe IT, Douglas AS (1996). "Seasonal variation in sudden infant death syndrome and bronchiolitis--a common mechanism?" Am J Respir Crit Care Med **154**: 431-5.
- Guth L, Samaha FJ (1969). "Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle." Exp Neurol **25**(1): 138-52.

- Hards JM, Reid WD, Pardy RL, Pare PD (1990). "Respiratory muscle fiber morphometry. Correlation with pulmonary function and nutrition." Chest **97**(5): 1037-44.
- Harper RM, Leake B, Hoffman H, et al. (1981). "Periodicity of sleep states is altered in infants at risk for the sudden infant death syndrome." Science **213**(4511): 1030-2.
- Hayler G (2007). „Histopathologische Veränderungen im Diencephalon bei plötzlichem Kindstod.“ Dissertation. Berlin, Medizinische Fakultät Charité.
- Hollmann W, Hettinger T (1997). Sportmedizin - Arbeits- und Trainingsgrundlagen. 3. Auflage. Stuttgart, New York, Schattauer.
- Horne RS, Franco P, Adamson TM, Groswasser J, Kahn A (2002). "Effects of body position on sleep and arousal characteristics in infants." Early Hum Dev **69**(1-2): 25-33.
- Hsu SM, Raine, Fanger H (1981). "The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics." Am J Clin Pathol **75**(6): 816-21.
- Hunt CE, Hauck FR (2006). "Sudden infant death syndrome." CMAJ **174**(13): 1861-9.
- Iannaccone ST, Bove KE, Vogler CA, Buchino JJ (1987). "Type 1 fiber size disproportion: morphometric data from 37 children with myopathic, neuropathic, or idiopathic hypotonia." Pediatr Pathol **7**(4): 395-419.
- Ianuzzo CD, Gollnick PD, Armstrong RB (1976). "Compensatory adaptations of skeletal muscle fiber types to a long-term functional overload." Life Sci **19**(10): 1517-23.
- Imoto C, Nonaka I (2001). "The significance of type 1 fiber atrophy (hypotrophy) in childhood neuromuscular disorders." Brain Dev **23**(5): 298-302.
- Jeffery HE, Megevand A, Page H (1999). "Why the prone position is a risk factor for sudden infant death syndrome." Pediatrics **104**: 263-9.
- Johnson MA, Polgar J, Weightman D, Appleton D (1973). "Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. An autopsy study." J Neurol Sci **18**(1): 111-29.
- Jong AS, van Vark M, Albus-Lutter CE, van Raamsdonk W, Voute PA (1984). "Myosin and myoglobin as tumor markers in the diagnosis of rhabdomyosarcoma. A comparative study." Am J Surg Pathol **8**(7): 521-8.
- Jorch G (1994). "[Epidemiological aspects of sudden infant death]." Kinderkrankenschwester **13**(3): 64-7.
- Jorch G, Schmidt-Troschke S, Bajanowski T, et al. (1994). "Epidemiologische Risikofaktoren des plötzlichen Kindstods." Monatsschr Kinderheilkd **142**: 45-51.
- Jorch H (2001). "[Sudden infant death--a solution in sight?]." Kinderkrankenschwester **20**(5): 194-205.
- Jubran A (2006). "Critical illness and mechanical ventilation: effects on the diaphragm." Respir Care **51**(9): 1054-64.
- Kahn A, Blum D, Rebuffat E, et al. (1988). "Polysomnographic studies of infants who subsequently died of sudden infant death syndrome." Pediatrics **82**(5): 721-7.
- Kahn A, Groswasser J, Franco P, et al. (2003). "Sudden infant deaths: stress, arousal and SIDS." Early Hum Dev **75 Suppl**: S147-66.
- Kahn A, Groswasser J, Rebuffat E, et al. (1992). "Sleep and cardiorespiratory characteristics of infant victims of sudden death: a prospective case-control study." Sleep **15**(4): 287-92.

- Kahn A, Riazi J, Blum D (1983). "Oculocardiac reflex in near miss for sudden infant death syndrome infants." Pediatrics **71**(1): 49-52.
- Kameda N, Kobayashi T, Park-Matsumoto YC, Tsukagoshi H, Shimizu T (1993). "Developmental studies of the expression of myosin heavy chain isoforms in cultured human muscle aneurally and innervated with fetal rat spinal cord." J Neurol Sci **114**(1): 85-98.
- Kato I, Franco P, Groswasser J, et al. (2003). "Incomplete arousal processes in infants who were victims of sudden death." Am J Respir Crit Care Med **168**(11): 1298-303.
- Keens TG, Bryan AC, Levison H, Ianuzzo CD (1978). "Developmental pattern of muscle fiber types in human ventilatory muscles." J Appl Physiol **44**(6): 909-13.
- Kelly AM, Zacks SI (1969). "The histogenesis of rat intercostal muscle." J Cell Biol **42**(1): 135-53.
- Kelly DH, Pathak A, Meny R (1991). "Sudden severe bradycardia in infancy." Pediatr Pulmonol **10**(3): 199-204.
- Kinney HC, Filiano JJ, White WF (2001). "Medullary serotonergic network deficiency in the sudden infant death syndrome: review of a 15-year study of a single dataset." J Neuropathol Exp Neurol **60**(3): 228-47.
- Kinney HC, Thach BT (2009). "The sudden infant death syndrome." N Engl J Med **361**(8): 795-805.
- Kizilcan F, Tanyel FC, Hicsonmez A, Buyukpamukcu N (1993). "The long-term results of diaphragmatic plication." J Pediatr Surg **28**(1): 42-4.
- Kleemann WJ, Bajanowski T (2004). „Plötzlicher Tod im Säuglings- und Kindesalter.“ In: Brinkmann B, Madea B (eds.). Handbuch der Gerichtlichen Medizin. Berlin, Heidelberg, New York. Springer-Verlag. **1**: 1071-1128.
- Kleemann WJ, Schlaud M, Poets CF, Rothamel T, Troger HD (1996). "Hyperthermia in sudden infant death." Int J Legal Med **109**(3): 139-42.
- Klonoff-Cohen HS, Srinivasan IP, Edelstein SL (2002). "Prenatal and intrapartum events and sudden infant death syndrome." Paediatr Perinat Epidemiol **16**(1): 82-9.
- Krenacs T, Molnar E, Dobo E, Dux L (1989). "[Characterization of striated muscle fiber types by Ca²⁺-ATPase and myoglobin immunohistochemistry of the sarcoplasmic reticulum]." Morphol Igazsagugyi Orv Sz **29**(2): 106-18.
- Krous HF, Beckwith JB, Byard RW, et al. (2004). "Sudden infant death syndrome and unclassified sudden infant deaths: a definitional and diagnostic approach." Pediatrics **114**(1): 234-8.
- Kumagai T, Hakamada S, Hara K, et al. (1984). "Development of human fetal muscles: a comparative histochemical analysis of the psoas and the quadriceps muscles." Neuropediatrics **15**(4): 198-202.
- LaFramboise WA, Daood MJ, Guthrie RD, et al. (1991). "Emergence of the mature myosin phenotype in the rat diaphragm muscle." Dev Biol **144**(1): 1-15.
- Laing NG, Sewry CA, Lamont P (2007). "Congenital myopathies." Handb Clin Neurol **86**: 1-33.
- Lamont P, Chow C, Hilton J, Pamphlett R (1995). "Differences in diaphragm fiber types in SIDS infants." J Neuropathol Exp Neurol **54**(1): 32-7.
- Le Souef PN, England SJ, Stogryn HA, Bryan AC (1988). "Comparison of diaphragmatic fatigue in newborn and older rabbits." J Appl Physiol **65**(3): 1040-4.
- Leach CE, Blair PS, Fleming PJ, et al. (1999). "Epidemiology of SIDS and explained sudden infant deaths. CESDI SUDI Research Group." Pediatrics **104**(4): e43.

- Leipälä JA, Bhat RY, Rafferty GF, S. Hannam S, Greenough A (2003). "Effect of posture on respiratory function and drive in preterm infants prior to discharge." Pediatr Pulmonol **36**(4): 295-300.
- Lewak N, van den Berg BJ, Beckwith JB (1979). "Sudden infant death syndrome risk factors. Prospective data review." Clin Pediatr (Philadelphia) **18**(7): 404-11.
- Limerick SR (1992). "Sudden infant death in historical perspective." J Clin Pathol **45**(11 Suppl): 3-6.
- Lohmann R (1996). „Risikofaktoren beim plötzlichen Kindstod (SIDS).“ Berichte aus der Rechtswissenschaft. Aachen, Shaker Verlag.
- Lutz H, Weber H, Billeter R, Jenny E (1979). "Fast and slow myosin within single skeletal muscle fibres of adult rabbits." Nature **281**(5727): 142-4.
- Makielski JC (2006). "SIDS: genetic and environmental influences may cause arrhythmia in this silent killer." J Clin Invest **116**(2): 297-9.
- Malloy MH, Hoffman HJ (1995). "Prematurity, sudden infant death syndrome, and age of death." Pediatrics **96**(3 Pt 1): 464-71.
- Mathews TJ, MacDorman MF (2007). "Infant mortality statistics from the 2004 period linked birth/infant death data set." Natl Vital Stat Rep **55**(14): 1-32.
- Matsumoto N, Nakamura T, Yasui Y, Torii J (1997). "Immunohistochemical differentiation of fiber types in human skeletal muscle using monoclonal antibodies to slow and fast isoforms of troponin I subunit." Biotech Histochem **72**(4): 191-7.
- Maxwell LC, McCarter RJ, Kuehl TJ, Robotham JL (1983). "Development of histochemical and functional properties of baboon respiratory muscles." J Appl Physiol **54**(2): 551-61.
- Mayock DE, Hall J, Watchko JF, Standaert TA, Woodrum DE (1987). "Diaphragmatic muscle fiber type development in swine." Pediatr Res **22**(4): 449-54.
- Meny RG, Carroll JL, Carbone MT, Kelly DH (1994). "Cardiorespiratory recordings from infants dying suddenly and unexpectedly at home." Pediatrics **93**(1): 44-9.
- Miller J B, Crow MT, Stockdale FE (1985). "Slow and fast myosin heavy chain content defines three types of myotubes in early muscle cell cultures." J Cell Biol **101**(5 Pt 1): 1643-50.
- Miller JB, Stockdale FE (1986). "Developmental origins of skeletal muscle fibers: clonal analysis of myogenic cell lineages based on expression of fast and slow myosin heavy chains." Proc Natl Acad Sci U S A **83**(11): 3860-4.
- Mitchell EA (1997). "The changing epidemiology of SIDS following the national risk reduction campaigns." Pediatr Pulmonol Suppl **16**: 117-9.
- Morris JA (1999). "The common bacterial toxins hypothesis of sudden infant death syndrome." FEMS Immunol Med Microbiol **25**(1-2): 11-7.
- Naeye RL, Whalen P, Ryser M, Fisher R (1976). "Cardiac and other abnormalities in the sudden infant death syndrome." Am J Pathol **82**(1): 1-8.
- Nagler J (2002). "Sudden infant death syndrome." Curr Opin Pediatr **14**(2): 247-50.
- Nelson EA, Taylor BJ, Weatherall IL (1989). "Sleeping position and infant bedding may predispose to hyperthermia and the sudden infant death syndrome." Lancet **1**(8631): 199-201.
- Nguyen T, Shrager J, Kaiser L, et al. (2000). "Developmental myosin heavy chains in the adult human diaphragm: coexpression patterns and effect of COPD." J Appl Physiol **88**(4): 1446-56.

- Norvenius G (1995). "Is SIDS a new phenomenon?" In Rognum TO (ed.): Sudden infant death syndrome. New trends in the nineties. University of Scandinavia Press Oslo 11-14.
- Oertel G (1988). "Morphometric analysis of normal skeletal muscles in infancy, childhood and adolescence. An autopsy study." J Neurol Sci **88**(1-3): 303-13.
- Ogbuihi S, Zink P (1987). "[Changes in the lung connective tissue framework in sudden infant death (SIDS)]." Z Rechtsmed **98**(3): 191-205.
- Oldfors A, Seidal T (1989). "Immunohistochemical demonstration of different muscle fibre types in paraffin sections." Histopathology **15**(4): 420-3.
- Opdal SH, Rognum TO (2004). "The sudden infant death syndrome gene: does it exist?" Pediatrics **114**(4): e506-12.
- Orliaguet G, Riou B, Leguen M (2004). "[Postnatal maturation of the diaphragm muscle: ultrastructural and functional aspects]." Ann Fr Anesth Reanim **23**(5): 482-94.
- Oyen N, Markestad T, Skaerven R, et al. (1997). "Combined effects of sleeping position and prenatal risk factors in sudden infant death syndrome: the Nordic Epidemiological SIDS Study." Pediatrics **100**(4): 613-21.
- Padykula HA, Herman E (1955). "The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase." J Histochem Cytochem **3**(3): 170-95.
- Patel AL, Harris K, Thatch BT (2001). "Inspired CO₂ and O₂ in sleeping infants rebreathing from bedding: relevance for sudden infant death syndrome." J Appl Physiol **91**(6): 2537-45.
- Paterson DS, Trachtenberg FL, Thompson EG, et al. (2006). "Multiple serotonergic brainstem abnormalities in sudden infant death syndrome." JAMA **296**(17): 2124-32.
- Paton JF, Abdala AP, Koizumi H, Smith JC, St-John WM (2006). "Respiratory rhythm generation during gasping depends on persistent sodium current." Nat Neurosci **9**(3): 311-3.
- Penning, R (1996). "Rechtsmedizin systematisch". Bremen, Lorch, Uni-Med Verlag: 55-57. In: Argirov, M. (2004). „Lektin histochemische Untersuchungen der Mikroglia an Gehirnen von SIDS-Fällen.“ Dissertation. München, Ludwig-Maximilians-Universität.
- Pette D, Staron RS (2001). "Transitions of muscle fiber phenotypic profiles." Histochem Cell Biol **115**(5): 359-72.
- Pette D, Staudte HW, Vrbova, G (1972). "Physiological and biochemical changes induced by long-term stimulation of fast muscle." Naturwissenschaften **59**(10): 469-70.
- Poets CF (1996). "Status thymico-lymphaticus, apnoea, and sudden infant death--lessons learned from the past?" Eur J Pediatr **155**(3): 165-7.
- Polgar J, Johnson MA, Weightman D, Appleton D (1973). "Data on fibre size in thirty-six human muscles. An autopsy study." J Neurol Sci **19**(3): 307-18.
- Polla B, D'Antona G, Bottinelli R, Reggiani C (2004). "Respiratory muscle fibres: specialisation and plasticity." Thorax **59**(9): 808-17.
- Pons F, Leger JO, Chevally M, Tome FM, Fardeau M, Leger JJ (1986). "Immunocytochemical analysis of myosin heavy chains in human fetal skeletal muscles." J Neurol Sci **76**(2-3): 151-63.
- Prakash YS, Mantilla CB, Zhan WZ, Smithson KG, Sieck GC (2000). "Phrenic motoneuron morphology during rapid diaphragm muscle growth." J Appl Physiol **89**(2): 563-72.

- Prandota J (2004). "Possible pathomechanisms of sudden infant death syndrome: key role of chronic hypoxia, infection/inflammation states, cytokine irregularities, and metabolic trauma in genetically predisposed infants." Am J Ther **11**(6): 517-46.
- Ranvier L (1873). "Proprieties et structures differentes des muscles rouges et des muscles blancs, chez les lapins et chez les raies." CR Acad Sci (Paris) **77**: 1030-1034. In: Schröder, JM (1982). „Pathologie der Muskulatur“. In: Doerr W, Uehlinger E, Seifert G. Spezielle pathologische Anatomie, Band 15. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag.
- Ranvier L (1874). "De quelques faits relatifs a l'histologie et a la physiologie des muscles stries." Arch Physiol Norm Pathol **1**(5). In: Schröder, JM (1982). „Pathologie der Muskulatur“. In: Doerr W, Uehlinger E, Seifert G. Spezielle pathologische Anatomie, Band 15. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag,
- Rao H, Saiki T, Landolfo F, et al. (2009). "Position and ventilatory response to added dead space in prematurely born infants." Pediatr Pulmonol **44**(4): 387-91.
- Rehan VK, Nakashima JM, Gutman A, Rubin LP, McCool FD (2000). "Effects of the supine and prone position on diaphragm thickness in healthy term infants." Arch Dis Child **83**(3): 234-8.
- Rivero JL, Talmadge RJ, Edgerton VR (1996). "Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in equine skeletal muscle and the influence of training." Anat Rec **246**(2): 195-207.
- Rojiani AM, Cho ES (1998). "Neuropathologic applications of immunohistochemical fiber typing in the non-neoplastic muscle biopsy." Mod Pathol **11**(4): 334-8.
- Romeis B (1989). Mikroskopische Technik. 16. Auflage. München, Wien, Baltimore, Urban und Schwarzenberg.
- Roussos CS, Macklem PT (1977). "Diaphragmatic fatigue in man." J Appl Physiol **43**(2): 189-97.
- Rubinstein NA, Kelly AM (2004). „The Diversity of Muscle Fiber Types and Its Origin during Development.“ In: Engel AG (2004). Myology. 3rd Edition. New York, McGraw-Hill Professional. **1**: 119-131.
- Sauleda J, Gea J, Orozco-Levi M, et al. (1998). "Structure and function relationships of the respiratory muscles." Eur Respir J **11**(4): 906-11.
- San Diego SIDS Research Projects 1990 bis 1999. In: Byard RW, Krous HF (2003). "Sudden infant death syndrome: overview and update." Pediatr Dev Pathol **6**(2): 112-27.
- Sawaguchi T, Nelson EA, Fujita T, Sawaguchi A, Knight B (1998). "Is the incidence of SIDS increasing in Asia?" Int J Legal Med **111**(5): 278-80.
- Schechtman VL, Harper RM, Wilson AJ, Southall DP (1992a). "Sleep state organization in normal infants and victims of the sudden infant death syndrome." Pediatrics **89**(5 Pt 1): 865-70.
- Schechtman VL, Raetz SL, Harper RK, et al. (1992b). "Dynamic analysis of cardiac R-R intervals in normal infants and in infants who subsequently succumbed to the sudden infant death syndrome." Pediatr Res **31**(6): 606-12.
- Schechtman VL, Harper RK, Harper RM (1995). "Aberrant temporal patterning of slow-wave sleep in siblings of SIDS victims." Electroencephalogr Clin Neurophysiol **94**(2): 95-102.
- Schechtman VL, Lee MY, Wilson AJ, Harper RM (1996). "Dynamics of respiratory patterning in normal infants and infants who subsequently died of the sudden infant death syndrome." Pediatr Res **40**(4):571-7.
- Schellscheidt J, Ott A, Jorch G (1997a). "Epidemiological features of sudden infant death after a German intervention campaign in 1992." Eur J Pediatr **156**(8): 655-60.

- Schellscheidt J, Oyen N, Jorch G (1997b). "Interactions between maternal smoking and other prenatal risk factors for sudden infant death syndrome (SIDS)." Acta Paediatr **86**(8): 857-63.
- Schiaffino S, Hanzlikova V, Pierobon S (1970). "Relations between structure and function in rat skeletal muscle fibers." J Cell Biol **47**(1): 107-19.
- Schlaud M, Kleemann WJ, Poets CF, Sens B (1996). "Smoking during pregnancy and poor antenatal care: two major preventable risk factors for sudden infant death syndrome." Int J Epidemiol **25**(5): 959-65.
- Schloon H, Schlottmann J, Lenard HG, Goebel HH (1979). "The development of skeletal muscles in premature infants. I. Fibre size and histochemical differentiation." Eur J Pediatr **131**(1): 49-60.
- Schmitt HP (1976). "Measurement of voluntary muscle fiber cross sections: a comparative study of different possible methods." Microsc Acta **77**(5): 427-40.
- Schmitz W (1935). "Das Gesetz des Wachstums in konstanten Proportionen (Heidenhain) in Beziehung zum Krebsproblem." J Cancer Res Clin Oncol **41**(1): 372-381.
- Schoendorf KC, Kiely JL (1992). "Relationship of sudden infant death syndrome to maternal smoking during and after pregnancy." Pediatrics **90**(6): 905-8.
- Schröder JM (1982). „Pathologie der Muskulatur“. In: Doerr W, Uehlinger E, Seifert G. Spezielle pathologische Anatomie, Band 15. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag.
- Schumacher GH, Aumüller G (1994). "Topographische Anatomie des Menschen." 6. Auflage, München, Urban und Fischer. In: Amann, V. (2007). "Perioperative Zwerchfellparese im Kindesalter – eine klinisch relevante Komplikation." Dissertation. Berlin, Medizinische Fakultät Charité.
- Sieck GC, Fournier M, Blanco CE (1991). "Diaphragm muscle fatigue resistance during postnatal development." J Appl Physiol **71**(2): 458-64.
- Sieck GC, Roy RR, Powell P, Blanco C, Edgerton VR, Harper RM (1983). "Muscle fiber type distribution and architecture of the cat diaphragm." J Appl Physiol **55**(5): 1386-92.
- Silver MM, Denic N, Smith CR (1996). "Development of the respiratory diaphragm in childhood: diaphragmatic contraction band necrosis in sudden death." Hum Pathol **27**(1): 57-62.
- Simpson JM (2001). "Infant stress and sleep deprivation as an aetiological basis for the sudden infant death syndrome." Early Hum Dev **61**(1): 1-43.
- Sinton CM, McCarley RW (2004). "Neurophysiological mechanisms of sleep and wakefulness: a question of balance." Semin Neurol **24**(3): 211-23.
- Sisson HA (1974) "Anatomy of the motor unit." In: Walton JN (ed.) Disorders of the voluntary muscle. 3rd edn. London, Churchill-Livingston, p.1-19.
- Song SK, Shimada N, Anderson PJ (1963). "Orthogonal Diameters in the Analysis of Muscle Fibre Size and Form." Nature **200**: 1220-1.
- Soussi-Yanicostas N, Barbet JP, Laurent-Winter C, Barton P, Butler-Browne GS (1990). "Transition of myosin isozymes during development of human masseter muscle. Persistence of developmental isoforms during postnatal stage." Development **108**(2): 239-49.
- Southall DP, Stevens V, Franks CI, Newcombe RG, Shinebourne EA, Wilson AJ (1988). "Sinus tachycardia in term infants preceding sudden infant death." Eur J Pediatr **147**(1): 74-8.
- Spalteholz W (1904). „Handatlas der Anatomie des Menschen“. Leipzig, Verlag S. Hirzel.

Sparks DL, Hunsaker JC 3rd (2002). "Neuropathology of sudden infant death (syndrome): literature review and evidence of a probable apoptotic degenerative cause." Childs Nerv Syst **18**(11): 568-92.

Spiers PS, Wang L (1976). "Short pregnancy interval, low birthweight, and the sudden infant death syndrome." Am J Epidemiol **104**(1): 15-21.

Sridhar R, Thach BT, Kelly DH, Henslee JA (2003). "Characterization of successful and failed autoresuscitation in human infants, including those dying of SIDS." Pediatr Pulmonol **36**(2): 113-22.

Staron RS (1997). "Human skeletal muscle fiber types: delineation, development, and distribution." Can J Appl Physiol **22**(4): 307-27.

Staron RS, Pette D (1986). "Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in rabbit muscle fibers." Histochemistry **86**(1): 19-23.

Staron RS, Pette D (1993). "The continuum of pure and hybrid myosin heavy chain-based fibre types in rat skeletal muscle." Histochemistry **100**(2): 149-53.

Stewart AJ, Williams SM, Mitchell EA, Taylor BJ, Ford RP, Allen EM (1995). "Antenatal and intrapartum factors associated with sudden infant death syndrome in the New Zealand Cot Death Study." J Paediatr Child Health **31**(5): 473-8.

St-John WM, Leiter JC (2008). "Maintenance of gasping and restoration of eupnea after hypoxia is impaired following blockers of alpha1-adrenergic receptors and serotonin 5-HT2 receptors." J Appl Physiol **104**(3): 665-73.

Talbert DG (1990). "SIDS, surfactant, and temperature." Lancet **336**(8716): 690.

Tennyson SA, Pereyra PM, Becker LE (1994). "The development of the diaphragm in infants with sudden infant death syndrome." Early Hum Dev **37**(1): 1-8.

Thornell LE, Billeter R, Butler-Browne GS, Eriksson PO, Ringqvist M, Whalen RG (1984). "Development of fiber types in human fetal muscle. An immunocytochemical study." J Neurol Sci **66**(1): 107-15.

Tomanek RJ, Colling-Saltin AS (1977). "Cytological differentiation of human fetal skeletal muscle." Am J Anat **149**(2): 227-45.

Tönnis D (1984). Die angeborene Hüftdysplasie und Hüftluxation im Kindes- und Erwachsenenalter. Berlin, Springer-Verlag.

Trepel M (2008). „Neuroanatomie“. München, Jena, Urban & Fischer.

Tryba AK, Pena F, Ramirez JM (2006). "Gasping activity in vitro: a rhythm dependent on 5-HT2A receptors." J Neurosci **26**(10): 2623-34.

Valdes-Dapena M (1992). "The sudden infant death syndrome: pathologic findings." Clin Perinatol **19**(4): 701-16.

Valdes-Dapena MA (1967). "Sudden and unexpected death in infancy: a review of the world literature 1954-1966." Pediatrics **39**(1): 123-38.

Veelken N (1986). "[Sudden infant death syndrome in Hamburg. An epidemiologic analysis of 62 cases]." Monatsschr Kinderheilkd **134**(1): 10-3.

Vege A, Rognum TO (1999). "Inflammatory responses in sudden infant death syndrome -- past and present views." FEMS Immunol Med Microbiol **25**(1-2): 67-78.

Vennemann MM, Findeisen M, Butterfass-Bahloul T, et al (2005). "Modifiable risk factors for SIDS in Germany: results of GeSID." Acta Paediatr **94**(6): 655-60.

- Vogler C, Bove KE (1985). "Morphology of skeletal muscle in children. An assessment of normal growth and differentiation." Arch Pathol Lab Med **109**(3): 238-42.
- Volk A (2009). „Vergleichende molekularbiologische Untersuchung des IGHMBP2-Gens bei Patienten mit plötzlichem Säuglingstod (SIDS) und Säuglingen mit erklärter Todesursache (non-SIDS).“ Dissertation. Berlin, Medizinische Fakultät Charité.
- Watchko JF, Sieck GC (1993). "Respiratory muscle fatigue resistance relates to myosin phenotype and SDH activity during development." J Appl Physiol **75**(3): 1341-7.
- Wedekind H, Bajanowski T, Friederich P, et al (2006). "Sudden infant death syndrome and long QT syndrome: an epidemiological and genetic study." Int J Legal Med **120**(3): 129-37.
- Weis J, Weber U, Schröder JM, Lemke R, Althoff H (1998). "Phrenic nerves and diaphragms in sudden infant death syndrome." Forensic Sci Int **91**(2): 133-46.
- Weiß C (2005). Basiswissen Medizinische Statistik 3. Auflage. Heidelberg, Springer-Verlag.
- Wheater PR, Burkitt HG, Daniels VG (1987). Funktionelle Histologie 2. Auflage. München, Wien, Baltimore, Urban & Schwarzenberg.
- World Health Organization (WHO, 2006). "Neonatal and perinatal mortality: country, regional and global estimates": p. 1-75.
- Wigmore PM, Evans DJ (2002). "Molecular and cellular mechanisms involved in the generation of fiber diversity during myogenesis." Int Rev Cytol **216**: 175-232.
- Willinger M, Hoffman HJ, Hartford RB (1994). "Infant sleep position and risk for sudden infant death syndrome: report of meeting held January 13 and 14, 1994, National Institutes of Health, Bethesda, MD." Pediatrics **93**(5): 814-9.
- Willinger M, Hoffman HJ, Wu KT, et al. (1998). "Factors associated with the transition to nonprone sleep positions of infants in the United States: the National Infant Sleep Position Study." Jama **280**(4): 329-35.
- Willinger M, James LS, Catz, C (1991). "Defining the sudden infant death syndrome (SIDS): deliberations of an expert panel convened by the National Institute of Child Health and Human Development." Pediatr Pathol **11**(5): 677-84.
- Wilske J (1984). Der Plötzliche Säuglingstod - Morphologische Abgrenzung, Pathomechanismus und Folgerungen für die Praxis. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, Springer Verlag.
- Wohlfahrt G (1937). "Über das Vorkommen verschiedener Arten von Muskelfasern in der Skelettmuskulatur des Menschen und einiger Säugetiere." Histologische Abteilung des Königl. Karolinischen Instituts zu Stockholm. Helsingfors, Mercators Tryckeri.
- Wulf KH (1997). "Frühgeburt und Grenzen." Der Gynäkologe **30**: 539-43.

9. Danksagung

Prof. Christoph Hübner und Prof. Andreas von Deimling danke ich für die Überlassung des Themas der Doktorarbeit.

Ganz besonders danke ich meiner Doktormutter Frau Prof. Gisela Stoltenburg dafür, dass sie mir über Jahre zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat und stets sowohl an mich als auch an den Erfolg geglaubt hat.

Frau PD Dr. Mechthild Vennemann und Herrn Prof. Thomas Bajanowski danke ich für die Überlassung des Materials und Informationen zur GeSID-Studie.

Herrn Prof. Harald Stein und allen Mitarbeitern des Instituts für Pathologie der Charité danke ich für die Unterstützung bei der Vollendung der Dissertation.

Auch den Medizinisch-technischen Assistentinnen des Instituts für Neuropathologie, insbesondere Frau Dorothea Krupke, Frau Zuther, Frau Petra Matylewski und Frau Kathrein Permien danke ich für ihre Hilfe und Anleitung bei der Anfertigung und morphometrischen Auswertung der histologischen und immunhistologischen Färbungen und Schnitte. In diesen Dank möchte ich auch Dr. Lydia Bernhardt und Dr. Alexander Volk einbeziehen, die mich mit hilfreichen Informationen unterstützten.

Besonderer Dank gilt Frau Andrea Stroux, die mir jederzeit bezüglich der statistischen Auswertung helfend zur Seite stand.

Erklärung

„Ich, Friederike Rosseck, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

Histologische Untersuchungen der Skelettmuskulatur beim Plötzlichen Säuglingstod -
Vergleich zwischen Zwerchfell und Iliopsoas

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift