

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
Universität zu Lübeck
Ehem. Direktor: Prof. Dr. med. M. Oehmichen

**Heterogenität der reaktiven
Makrophagen/Mikroglia nach traumatischen
Rindenblutungen am Gehirn - Ein Beitrag zur
Einschätzung der Überlebenszeit eines Schädel-
Hirn-Traumas**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
Universität zu Lübeck
-Aus der Medizinischen Fakultät-

Vorgelegt von
Sabine Jakob
aus Papenburg
Lübeck 2006

1. Berichterstatter/Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Manfred Oehmichen

2. Berichterstatter/Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Erich Reusche

Tag der mündlichen Prüfung: 25.01.2007

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 25.01.2007

gez. Prof. Dr. med. Werner Sollbach

- Dekan der Medizinischen Fakultät -

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Schädel-Hirn-Trauma.....	1
1.1.1. Epidemiologie.....	1
1.1.2. Definition.....	1
1.1.3. Contusio cerebri.....	2
1.2. Erste reaktive Veränderungen.....	4
1.3. Phasen der zellulären Reparatur.....	4
1.4. Makrophagen.....	5
1.5. Antigen-Präsentation.....	9
1.6. Fragestellung.....	10
2. Material und Methoden	11
2.1. Patienten.....	11
2.2. Methodik.....	12
2.2.1. Neuropathologische Untersuchung (Routine).....	12
2.2.2. Herstellung der speziellen histologischen Präparate.....	13
2.2.3. Verwendete „spezifische“ Antikörper.....	14
2.2.4. Routinefärbungen.....	16
2.2.5. Semiquantitative Auswertung.....	16
2.2.6. Darstellung.....	17
2.2.7. Terminologie.....	18
3. Ergebnisse	19
3.1. Routinefärbungen.....	19
3.1.1. Erythrozyten.....	19
3.1.2. Polymorphkernige Granulozyten.....	19
3.1.3. Makrophagen.....	19
3.1.4. Siderophagen.....	20
3.2. Semiquantitative Auswertung.....	21
3.2.1. Kortikale Blutung.....	21
3.2.1.1. CD68-Reaktivität.....	21
3.2.1.2. HLA-D-Reaktivität.....	24
3.2.1.3. HAM-56-Reaktivität.....	26
3.2.1.4. LN-5-Reaktivität.....	28
3.2.1.5. 25F9-Reaktivität.....	30

3.2.2. Angrenzende Rindenstrukturen.....	32
3.2.2.1. CD68-Reaktivität.....	32
3.2.2.2. HLA-D-Reaktivität.....	33
3.2.2.3. HAM-56-Reaktivität.....	35
3.2.2.4. LN-5-Reaktivität.....	36
3.2.2.5. 25F9-Reaktivität.....	38
3.3.3. Angrenzende Markstrukturen.....	40
3.3.3.1. CD68-Reaktivität.....	40
3.3.3.2. HLA-D-Reaktivität.....	41
3.3.3.3. HAM-56-Reaktivität.....	43
3.3.3.4. LN-5-Reaktivität.....	44
3.3.3.5. 25F9-Reaktivität.....	46
3.4.4. Subarachnoidalraum.....	48
3.4.4.1. CD68-Reaktivität.....	48
3.4.4.2. HLA-D-Reaktivität.....	49
3.4.4.3. HAM-56-Reaktivität.....	51
3.4.4.4. LN-5-Reaktivität.....	52
3.4.4.5. 25F9-Reaktivität.....	54
3.5. Zusammenfassung des zeitlichen Verlaufs der zytologischen Phänomene.....	56
3.5.1. Routinefärbungen.....	56
3.5.2. Antigen-Antikörper-Reaktion.....	57
4. Diskussion.....	60
4.1. Allgemeines.....	60
4.2. Immunreaktivität von Makrophagen und Altersbestimmung.....	60
4.2.1. CD68.....	60
4.2.2. HLA-D (DP, DQ, DR).....	61
4.2.3. HAM-56.....	62
4.2.4. LN-5.....	62
4.2.5. 25F9.....	63
4.3. Routinefärbungen und Wundalterbestimmung von Kontusionsblutungen.....	64
4.3.1. Erythrozyten.....	64
4.3.2. Granulozyten.....	64
4.3.3. Makrophagen.....	65
4.3.4. Eisenspeichernde Makrophagen (Siderophagen).....	65

4.4. Fakultative Störmechanismen.....	66
4.5. Praktische Relevanz der Untersuchung.....	67
4.6. Ausblick.....	67
5. Zusammenfassung.....	68
6. Abkürzungen.....	70
7. Literatur.....	71
8. Anhang.....	77
Tabelle 8.1 Fallübersicht.....	77
Tabelle 8.2 CD68 Reaktivität, Aufstellung der einzelnen Fälle.....	79
Tabelle 8.3 HLA-D Reaktivität, Aufstellung der einzelnen Fälle.....	80
Tabelle 8.4 HAM-56 Reaktivität, Aufstellung der einzelnen Fälle.....	81
Tabelle 8.5 LN-5 Reaktivität, Aufstellung der einzelnen Fälle.....	82
Tabelle 8.6 25F9 Reaktivität, Aufstellung der einzelnen Fälle.....	83
9. Danksagungen.....	84
10. Lebenslauf.....	85

1. Einleitung

1.1 Schädel-Hirn-Trauma

1.1.1. Epidemiologie

Das Schädel-Hirn-Trauma (SHT) ist bis zu einem Alter von 45 Jahren die häufigste Todesursache in Deutschland. Jährlich erleiden in Deutschland insgesamt etwa 280 000 Menschen ein SHT; bei etwa einem Drittel dieser Patienten kommt es zu schweren Verletzungen, woraus etwa 10000 Todes- und 4500 Pflegefällen resultieren, mit Bevorzugung des männlichen Geschlechtes (Gleixner et al. 2000). Weitere 25-30% der Patienten erleiden andere zum SHT schwerwiegende zusätzliche Verletzungen (Polytraumen) wie z.B. Pneumothorax, intraabdominelle Blutungen und Frakturen. 50-70% der SHT entstehen im Rahmen von Verkehrsunfällen, gefolgt von Unfällen im Haushalt und Arbeits- und Sportunfällen (Gleixner et al. 2001).

Entsprechend einer Analyse des deutschen Sterberegisters betrug der Anteil des SHT an allen traumatischen Verletzungen im Jahr 2000 21,9%. Insgesamt waren SHT für 0,9% aller Todesfälle in Deutschland - über alle Altersgruppen - verantwortlich. Im Jahr 1998 betrug die Inzidenzrate 337/100.000 für die SHT bei einer Inzidenz von 33,5/100.000 Einwohner für schwere SHT (Steudel et al. 2000).

Insbesondere in Hinblick auf die Prognose und Mortalität ist zwischen „leichten“ und „schweren“ Traumata zu unterscheiden. Allerdings unterscheiden sich die Überlebensraten nach einer längeren Überlebenszeit von 6 Monaten nicht mehr wesentlich (Brown et al. 2004).

Neben den individuellen und sozioökonomischen Folgen von Hirnverletzungen stellt sich aus versicherungs-, berufs- und strafrechtlichen Gründen regelmäßig die Frage nach einem möglichen Fremdverschulden. Dabei muss der Zeitpunkt der Verletzungen z.T. festgestellt werden, d.h. das Alter der Verletzungen bzw. die Überlebenszeit (Dzudza 1982; Lutz und Voigt 1986).

1.1.2. Definition

SHT bezeichnet offene wie auch gedeckte Schädelverletzungen mit Beteiligung des Gehirnes. Die *Commotio cerebri* (Gehirnerschütterung) ist die mildeste Form des SHT. Definitionsgemäß geht sie mit Bewusstlosigkeit von bis zu 60 Minuten einher. Kennzeichen dieser reversiblen Hirnschädigung ist das Fehlen eines morphologisch fassbaren Substrates. Eine *Contusio cerebri* (Hirnprellung) führt in Kombination von

offenen und gedeckten Hirnverletzungen zu einer substantiellen Schädigung des Hirngewebes, einhergehend mit einer länger andauernden Bewusstlosigkeit, morphologisch nachweisbaren Schädigung des Hirnparenchyms und teils irreversiblen cerebralen Funktionsstörungen. Die *Compressio cerebri* (Hirnuquetschung) ist häufig Folge einer *Contusio cerebri* und stellt die schwerste Form des SHT dar. Intrakranielle Volumenzunahme durch ein massives Hirnödem oder Blutungen können sowohl bei der *Contusio* als auch bei der *Compressio* zur lebensbedrohlichen Einklemmung des Hirnstammes führen - sowohl des Mittelhirnes im Tentoriumschlitz als auch der *Medulla oblongata* im Foramen occipitale magnum.

Der Hirntod stellt die maximale Folge einer *Compressio cerebri* dar, wobei die längerdauernde intrakranielle Drucksteigerung mit Drucken oberhalb des arteriellen Blutdruckes zum vollständigen Sistieren der Hirnperfusion und damit zum totalen irreversiblen, intrakraniellen Gewebsuntergang und Organausfall („intravitale Autolyse des Gehirns“) führt.

Hiervon abzugrenzen sind Traumen des Kopfes, die ausschließlich den Schädelknochen und/oder den Weichteilmantel betreffen und die als Schädelprellung bzw. auch isolierte Schädelfraktur bezeichnet werden.

1.1.3. Contusio cerebri

Contusio cerebri bezeichnet die Folgen einer äußeren mechanischen Gewalteinwirkung auf den Kopf, mit Verletzungen von Weichteilgewebe, Knochen und Hirngewebe. Der Begriff wird sowohl für gedeckte und als auch für offene Schädelverletzungen mit Gehirnbeteiligung verwendet:

Das *geschlossene* bzw. *gedeckte SHT* ist Folge einer stumpfen Gewalteinwirkung auf den Kopf, wobei die *Dura* unverletzt bleibt. Ursächlich sind Stürze, Schläge mit stumpfen Gegenständen und Anprallverletzungen bei Verkehrsunfällen. Morphologisches Kriterium des gedeckten SHT ist die Intaktheit der *Dura mater*, während subdurale, arachnoidale und parenchymatöse Blutungen die Regel sind.

Das *offene SHT* entsteht z.T. unter der Einwirkung von scharfer Gewalt, z.B. durch Hieb- und Stichwerkzeuge, oder durch Geschosse (Schussverletzungen), mit der Folge einer *Duraeröffnung*. Verletzungen dieser Art führen regelmäßig zu Frakturen des Knochens mit Zerreißung der harten und weichen Hirnhaut. Die Verbindung zwischen Liquorraum und Außenwelt birgt naturgemäß die Gefahr von Infektionen des ZNS.

Schäden, die bei geschlossenem SHT verursacht werden, lassen sich u.a. in fokale und diffuse Hirnschädigungen einteilen. Zu den *fokalen Hirnschädigungen* zählen u.a. Kontusionsblutungen. Typisch sind Einblutungen im Bereich der Hirnrinde an der frontalen Basis. Am Stoßpol (Coup) können Blutungen ebenso auftreten wie am Gegenpol (Contrecoup). Bei fehlender Schädelfraktur ist häufig lediglich eine Blutung am Gegenpol zu finden. Contrecoup-Blutungen entstehen aufgrund von Unterdruck und damit verbundener Cavitation im Hirnparenchym (cortikale Blutung); durch eine Gasfreisetzung im Blut kommt es zu Gefäßzerreißen mit herdförmigen Blutungen (Sellier und Unterharnscheidt 1963, Unterharnscheidt und Sellier 1966 – zur Übersicht: Oehmichen et al. 2006).

Makroskopisch erscheinen Kontusionsblutungen auf Höhe der Windungskuppen, die besonders in den frühen Stadien in Form von gruppierten punktförmigen, perivaskulären Hämorrhagien auftreten, und sich langsam ausbreiten, konfluieren und die unmittelbar benachbarte weiße Substanz mit einbeziehen. Das nekrotische Gewebe wird über lange Zeit unter der reaktiven Vermehrung von Mikroglia/Makrophagen und Kapillaren phagozytiert. Den Endzustand dieses Prozesses stellt eine durch Hämosiderophagen bräunlich verfärbte keilförmige Rindeneinziehung dar, eine sogenannte Schizogyrie. Schizogyrien haben in der Verifizierung von alten SHT eine pyramidale Form: die Basis - als breiter Substanzdefekt - bildet die Oberfläche des Gyri, während die Spitze in der subcorticalen weißen Substanz gelegen ist. Adams et al. (1985) quantifizieren unter Einbeziehung der hämorrhagischen Nekrose die Verletzung mit Hilfe des sog. Kontusions-Index, der die Ausbreitung und Tiefe von Blutungen mit einbezieht.

Bezüglich der *Lokalisation von Kontusionsblutungen* lässt sich ein charakteristisches Verteilungsmuster innerhalb des Gehirns nachweisen. Häufige Lokalisationen sind der frontorbitale Gyrus rectus (unter Einbeziehung des Bulbus olfactorius), die Konvexität des Frontalpol, sowie der Cortex der Temporalregion, ober- und unterhalb der Sylvischen Fissur. Parietale, okzipitale oder cerebelläre Kontusionen treten wesentlich seltener auf und korrespondieren meist mit dort lokalisierter Fraktur. Ryan et al. (1994) beschrieb die Verteilung der Kontusionsblutungen makro- und mikroskopisch mit einer Methode, bei der das Gehirn in 116 Sektoren aufgeteilt wird. Das Ergebnis schlägt sich in einem Punktesystem von 0 - 116 Punkte nieder. Anhand dieser „sector-scores“ konnte er die anatomische Verteilung von Kontusionen detailliert darstellen.

1.2. Erste reaktive Veränderungen

Infolge des Blutaustritts entwickeln sich Abräumvorgänge, die aufgrund eines komplexen physiologischen Geschehens eingeleitet werden (vergl. Oehmichen 1990, 2004). Die Veränderungen auf zellulärer Ebene sind abhängig von der Intensität der einwirkenden Energie. Bei einer *Commotio cerebri* mit geringer mechanischer Gewalteinwirkung wird allenfalls eine vorübergehende Störung der Blut-Hirn-Schranke beobachtet, während ein Verlust von Hirngewebe bzw. ein sichtbarer Untergang von Nervenzellen nicht erfolgt. Auf elektronenmikroskopischer Ebene lässt sich mitunter eine Schwellung von Mitochondrien nachweisen (Lit. bei Oehmichen und König 2002).

Bei der *Contusio cerebri* hingegen erfolgen neben einer funktionellen Schädigung auch eine Zerstörung von Gewebestrukturen, meist in Form der bereits erwähnten Einblutungen in die Hirnrinde. Es entstehen somit Läsionen, die unter vitalen Bedingungen stereotype Reparaturmechanismen in Gang setzen.

Im Rahmen der „Wundheilung“ erfolgt auf molekularer Ebene auch am Gehirn eine Freisetzung von Zytokinen, Chemokinen und Adhäsionsmolekülen. Erhöhte Calciumspiegel (durch direkte Schädigung der Zellmembran sowie durch mechanisch induzierte Öffnung der Ionenkanäle) können durch Calciumüberladung zur Blockierung des axonalen Transports und Anreicherung von Axonproteinen und nachfolgend zum neuronalen Zelltod führen. Immunhistochemisch lassen sich diese Phänomene u.a. auf Grund einer Schädigung des zellmembrangebundenen Amyloid-Precursor-Proteins (APP) ab der 90. Minute, spätestens ab 180 Minute nach dem Trauma nachweisen (Oehmichen 2004).

Länger andauernde Noxen induzieren die Expression der Gene *c-fos*, *c-jun* und *jun-B*. Diese regulieren als Transkriptionsfaktoren die Synthese von Wachstumsfaktoren, Proteinen des Zytoskeletts und von Enzymen. Sie sind an der Bildung sogenannter neuroprotektiver „Hitze-Schock-Proteine“ wie auch an der Strukturierung von Synapsen und an Apoptosevorgängen beteiligt. Experimentell ließ sich eine neurotoxische Wirkung durch die vermehrte Freisetzung der Aminosäuren Glutamat und Aspartat belegen. Das Zusammenspiel all dieser kaskadenartig ablaufenden Reaktionen ist nur zum Teil geklärt, z.T. jedoch noch unbekannt (Graham und Gennarelli 1997).

1.3. Phasen der zellulären Reparation

Auf Gewebsdestruktionen und eine damit verbundene Blutung folgt die Adhäsion von *Thrombozyten* an die Gefäßwand sowie deren Aggregation – auch extravasal - nach

Freisetzung von Mediatoren zur Aktivierung der Blutgerinnungskaskade. Die Blutung kommt zum Stillstand (Oehmichen 2004). In der darauf folgenden Blutzellreaktion wandern *Leukozyten* frühestens nach wenigen Minuten bzw. wenige Stunden nach dem Trauma in die Nekrose und Blutung ein; nach einem Zeitraum von ca. 12 Stunden beginnt durch Einwanderung von *Blutmonozyten und ihrer Transformation zu Makrophagen* die Resorption des untergegangenen Parenchyms und der freigesetzten Blutzellen. Die Makrophagenpopulation stammt überwiegend aus eingewanderten Monozyten und möglicherweise auch aus aktivierter, ortständig hirneigener Mikroglia.

Neben vergleichsweise stereotyp ablaufenden Blutzellreaktionen laufen spezifische Reaktionen hirneigener Zellen ab, deren morphologische Veränderungen, wie auch ihr Auftreten oder Untergang, eine grobe zeitliche Zuordnung der initialen Schädigung ermöglichen. *Nervenzellen* zeigen bereits wenige Minuten nach dem Trauma das Fehlen bestimmter neuronenspezifischer Antigene (Oehmichen et al. 2003, Oehmichen 2004, Kühn et al. 2005). Durch Nachweis des β -Amyloid-Precursor-Protein (β -APP) lässt sich eine Schädigung des Axons nach 90 Minuten erkennen (Oehmichen 2004).

Astrozyten reagieren auf eine traumatische Schädigung und nachfolgende Einblutung in die Hirnrinde mit einer lokalen Aktivierung, die sich immunhistochemisch mit der Bildung von saurem Gliafaserprotein (GFAP = glial fibrillary acid protein) und Vimentin nach wenigen Stunden darstellen lässt, sowie mit einer Proliferation. Nach den zweiten, spätestens nach dem sechsten posttraumatischen Tag konnte (Oehmichen und Raff 1978, 1980, Oehmichen et al. 2002, Oehmichen 2004) eine Proliferation der Astrozyten nachweisen. *Endzustand* des reparativen Prozesses im Bereich der Hirnrinde sind die bereits erwähnten Schizogyrien, deren Wand ein dichtes Netz von Astrozytenfortsätzen, stationärem Gewebsabbau durch Makrophagen und kollagenen Fasern bildet.

1.4. Makrophagen

Etwa die Hälfte des Gesamtvolumens des ungeschädigten adulten ZNS wird von nicht-neuronalen Zellen eingenommen, überwiegend von den makroglialen Astrozyten und Oligodendrozyten. Das Verhältnis der Anzahl der Neuronen zur Zahl der Gliazellen beträgt ca. 1: 10. Gemeinsames Kennzeichen aller Gliazellen - im Unterschied zu einer nur sehr begrenzten Potenz bestimmter Neuronenpopulationen – ist eine lebenslange Teilungsfähigkeit. Neben den Astro- und Oligodendrozyten (sowie den die Ventrikel auskleidenden Ependymzellen) spielt die sog. Mikroglia eine besondere Rolle (Junquiera et al. 2002).

Mikrogliazellen (im folgendem MG abgekürzt) lassen sich im Gehirn ubiquitär nachweisen. MG stellen die ortsansässigen (residenten) Makrophagen des ZNS dar und werden nach ihrem Erstbeschreiber Del Rio-Hortega auch als Hortega-Glia bezeichnet. Hortega stellte die Zellen mit einer speziellen Silberfärbung dar und wies Unterschiede zwischen der MG in intaktem und geschädigtem Hirngewebe nach (Del Rio-Hortega 1932). Ruhende MG besitzt sehr feine, lange, verzweigte Zellfortsätze mit relativ kleinem Zellkörper, während die aktivierte MG einen größeren Zellkörper mit verdickten und weniger verzweigte Zellfortsätzen aufweisen (Oehmichen 1978; Raivich et al. 1999; Oehmichen et al. 2006). Elektronenmikroskopisch unterscheiden sich Aktivierungsgrade der MG durch eine Vermehrung von Zellorganellen, z.B. von rauhem endoplasmatischem Retikulum, Golgi-Apparat, Ribosomen und Lysosomen (Oehmichen 1982). Im weiteren Sinne sind die cerebralen Mikrogliazellen dem Mononukleären Phagozytensystem (MPS) zuzurechnen. Unter dieser Bezeichnung werden die Monozyten des Blutes wie auch ortsständige Makrophagen anderer Organe (Kupffer'sche Sternzellen im Epithel der sinusoiden Leberkapillaren oder Alveolarmakrophagen der Lunge) subsummiert. Offenbar gehören diese Zellen trotz ihrer morphologischen und funktionellen Unterschiede zu einem spezifischem Zelltyp. In vitro Versuche zeigten, dass die Makrophagen/MG des ZNS dieselben Fähigkeiten wie die Makrophagen anderer Gewebe besitzen: Phagozytose, Antigenpräsentation, Interleukin-1-Produktion und Zytotoxizität.

Bezüglich der Herkunft der ortsständigen/ruhenden MG dominieren in der Literatur vier verschiedene Theorien (Ling EA, Wong WC 1993). Nach der ersten leiten sich die MG von eingewanderten mesodermalen, pialen Elementen ab. Eine zweite Theorie vertritt die Ansicht, dass MG neuroektodermaler Herkunft sei. Eine dritte Meinung besagt, dass MG von Perizyten abstammen. Die vierte Theorie postuliert eine Abstammung der MG von eingewanderten Monozyten während der frühen Embryonalentwicklung. Nach der derzeitig vorherrschenden Meinung stammt die MG von hämatopoetischen Vorläuferzellen, den Monozyten ab. Zusätzlich zu der sog. residenten, ruhenden Mikroglia (Hickey 2001) migrieren Blutmonozyten bei allen Arten von Verletzungen ins Gehirn und „unterstützen“ die hirneigene MG (Oehmichen 1978; Oehmichen et al. 2006).

Der aktivierte Phänotyp der MG ist – im Gegensatz zur residenten MG - neben der Morphologie zusätzlich durch ein differentes Expressionsmuster von Molekülen/Antigenen charakterisiert, welches sich ebenfalls in anderen Gewebemakrophagen nachweisen lässt.

Die molekularen Mechanismen einer sog. „Down-Regulation“ oder auch „Hochregulation“ von Proteinen, z.B. von MHC I und II-Antigenen, sind bisher nicht vollständig verstanden. Eine bedeutsame Rolle spielt sicherlich die Bluthirnschranke (BHS). In intakten periventriculären Gewebearealen mit einer größeren Durchlässigkeit der BHS als im übrigen Gehirn erfolgt, wie auch nach Verletzungen des Gehirns, eine regelmäßige Hochregulation der makrophagentypischen Antigene MHC I und MHC II (Graham und Gennarelli 1997).

Eine Funktion insbesondere der ruhenden MG besteht in der Aufrechterhaltung der Homöostase im ZNS. Da sich im Gehirn älterer Menschen vermehrt MG mit inkulierten Zelltrümmern untergegangener Nervenzellen nachweisen lassen, scheint Phagozytose eine der wichtigsten physiologischen Aufgaben der MG zu sein (Berry et al. 2002). Auch während der embryonalen Hirnentwicklung mit einer Überschussbildung von Neuronen und einem physiologischen Untergang von Neuronen und Glia durch Vorgänge der Apoptose kommt es zur vermehrten Einwanderung von Blutmonozyten bzw. Mikroglia. Die mononukleären Phagozyten spielen somit eine tragende Rolle bei der Resorption untergehenden Hirngewebes. Das entscheidende Signal für die Einwanderung der Blutmonozyten in das Gehirn scheint dabei der Zelluntergang und eine damit verbundene Ausschüttung von Chemokinen zu sein (Berry et al. 2002).

Neben ihrer phagozytischen Fähigkeit besitzt MG ebenfalls zytotoxische Eigenschaften. Aktivierte MG kann während einer Antikörper-vermittelten Demyelinisation Antikörpermarkierte Zellen mit Hilfe von Komplementen lysieren. Außerdem wirkt die durch MG induzierte Freisetzung freier Sauerstoffradikale, Nitritoxide, Proteinase und Cytokine zytotoxisch. Cytokine wie Interferon- γ bewirken eine Aktivierung der MG; TGF- β 1 oder IL4 hingegen supprimieren die MG (Berry et al. 2002).

MG zeichnen sich durch zusätzliche Eigenschaften aus. In vitro wurde von unreifer MG verschiedene Moleküle wie IL-1, NGF, IL-3, IL-6, Elastase und Plasminogenaktivator sezerniert. Diese Stoffe besitzen Funktionen bei der Wundheilung, beim Abtöten von Mikroorganismen und bei der Umgestaltung des Hirngewebes (z.B. nach Hirnblutungen im Sinne von „tissue-remodeling“).

Makrophagen finden sich unter physiologischen Bedingungen in den Meningen, perivascular und im Hirnparenchym- in weißer wie auch in grauer Substanz- und offenbar mit einem heterogenen Verteilungsmuster (Oehmichen 1978). Sowohl zwischen grauer und weißer Substanz, als auch zwischen verschiedenen zytoarchitektonischen Regionen bestehen

quantitative Unterschiede; MG ist z.B. im Cerebellum in einer geringeren Dichte als im ventralen Striatum nachweisbar (Lawson et al. 1990).

MG reagiert bereits auf geringe Störungen der Homöostase des ZNS. Die Aktivierung zeigt sich – wie gesagt - in einer veränderten Morphologie sowie der Expression von Antigenen und ist häufig der erste Hinweis auf ein pathologisches Geschehen wie Ischämie oder Blutungen des ZNS (Berry et al. 2002; Raivich et al. 1999; Oehmichen et al. 2006).

Der Übergang von ruhender zu aktivierter Mikroglia als Antwort auf Verletzungen geschieht rasch, wobei zwischen einer angeborenen und erworbenen Reaktion sowie zwischen akutem und chronischem Geschehen zu unterscheiden ist. Die Aktivierung der MG verläuft nicht in einer „Alles-oder-nichts-Reaktion“, sondern abgestuft: je größer das Ausmaß der Schädigung umso kräftiger ist die Aktivierung.

Einzelne Aktivierungsstadien ließen sich am Modell der Fazialis-Nerv-Axotomie untersuchen. Eine Durchtrennung des Nerven führt rasch zur MG-Proliferation, sowie zur Expressierung MG/Makrophagen-verwandter Antigene wie CR3, MHC 1, MHC 2, CD4. Weiterhin ließen sich Zelladhäsionsmoleküle nachweisen, die nur auf der Oberfläche von Zellen des Immunsystems zu finden sind. Unter den cytoskeletalen Proteinen der aktivierten, beweglichen MG scheint Vimentin eine zentrale Rolle zu spielen, wobei allerdings Vimentin bei ischämischen Veränderungen von aktivierter Astroglia, nicht aber von ruhender MG exprimiert wird. Im Gegensatz zur traumatischen Axotomie mit alleiniger Aktivierung der MG lassen sich beim Untergang einer Nervenzelle (z.B durch Injektion toxischer Substanzen in das ZNS) Phagozytoseeigenschaften der MG beobachten (Graeber et al. 1998). Weiterhin beschreiben Graeber und Mitautoren (1998) sowie Moran mit Graeber (2004) das sog. „synaptic stripping“ aktivierter MG, welches in unmittelbarer Nähe untergehender Neurone zum Abbau von Synapsen beiträgt.

Nach Graeber et al. (2002) lassen sich in Morphologie und Funktion zumindest vier Phänotypen der MG unterscheiden.

1. Perinatale, amöboide MG
2. Verzweigte, ruhende MG im reifen ZNS
3. Aktivierte, nicht phagozytische MG
4. Phagozytierende MG (= Gehirnmakrophagen) nach Trauma, Entzündung und neuronalen Nekrosen (Beteiligung der MG an der sog. Neuronophagien)

Es gibt nur wenige Erkrankungen des ZNS ohne eine Aktivierung von MG, d.h. dass sich MG somit als sensitiver und früher Marker für eine Gewebsschädigung eignet. Hierbei lassen sich fast stereotype Muster an Aktivierungs-Markern wie CR3, Complement Rezeptoren, Leukozyten Common Antigen (LCA, CD45), CD4, MHC 1 und 2, sowie sekretorische Cytokine wie TGF- β 1 nachweisen. Intrathekale Cytokin-Injektionen induzieren auch ohne substantielle Hirngewebsschädigung eine Aktivierung der MG. Gleiches gilt für M-CSF (Macrophage-Colony Stimulating Factor) und GM-CSF (Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor).

Aktivierte MG des humanen ZNS lässt sich spezifisch mit einigen ausgewählten Antikörpern darstellen und nachweisen. Für die Routine im Paraffin-eingebettetem Material sind Antikörper gegen CD68, CD45, HAM-56 sowie gegen das RCA-1 Lecithin gebräuchlich. Allerdings zeigen nicht immer alle Makrophagen gleichzeitig eine Reaktion mit demselben Antikörper zur gleichen Zeit, da die Antikörper unterschiedliche spezifische Funktionszustände von MG und Makrophagen markieren.

1.5. Antigen-Präsentation

Wie oben bereits erwähnt erfüllen Makrophagen ein breites Spektrum an Aufgaben. Während einer immunologischen Abwehrreaktion werden Makrophagen durch chemotaktische Stoffe ins geschädigte Hirnareal angezogen und verlassen das Gefäßsystem. Im Gewebe erkennen sie eingedrungene Fremdkörper, u.a. extravasale Erythrozyten im Falle einer Blutung oder nekrotische Neurone im Falle einer akuten Ischämie. Das phagozytierte Material prozessieren die Makrophagen im Zellinneren und binden seine antigenen Bestandteile z.T. an spezielle Rezeptoren, z.B. MHC-Moleküle, und präsentieren sie anderen Immunzellen, v.a. Lymphozyten, auf der Zelloberfläche. In diesem Zusammenhang sei auch noch auf eine andere Zellpopulation im Gehirn verwiesen, welche eine Unterklasse der antigenpräsentierenden Zellen darstellt. Hierbei handelt es sich um die dendritischen Zellen des Gehirns. Diese Zellen findet man in den Meningen, im Plexus choroideus, aber nicht im „normalen“ Hirnparenchym. Auch sie spielen eine große Rolle beispielsweise bei der Immunantwort im Rahmen von Entzündungen (Oehmichen et al. 2006).

1.6. Fragestellung

In der rechtsmedizinischen Praxis stellt sich bei Verdacht auf einen nicht natürlichen Tod regelmäßig die Frage nach der Todesursache und Todesart. Nach Feststellung eines nichtnatürlichen Todes und der Todesursache ist eine der Aufgaben, den tödlichen Geschehensablauf zu rekonstruieren. Nicht nur die Biomechanik, sondern auch die Reihenfolge der Verletzungen, d.h. ihre zeitliche Beziehung zum Eintritt des Todes, muss berücksichtigt werden. Neben der exakten Dokumentation von Topik, Art, Anzahl und Größe der Verletzungen, ist die zeitliche Einordnung der Verletzungen von entscheidender Bedeutung.

Dabei stellt sich bei vitalen - also vor dem Tod entstanden - Verletzungen nahezu regelmäßig die Frage nach dem Zeitintervall zwischen der Verletzung und dem tödlichen Kreislaufstillstand, um Folgerungen bezüglich der Kausalität der zum Tode führenden Gewalteinwirkung – Tod zu ermöglichen.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Einschätzung der Überlebenszeit von Kontusionsblutungen nach einem SHT. Aktivierte MG reagieren nach Traumen - z.B. im Rahmen einer Kontusionsblutung (typische Folge für eine stumpfe Gewalteinwirkung bei Trauma) - mit der Expression von spezifischen zytosolischen und membranständigen Antigenen (Berry et al. 2002).

Ziel dieser Arbeit ist es, anhand der Expression von unterschiedlichen Makrophagen-spezifischen Antigenen die Überlebenszeit von Kontusionsblutungen nach Hirntraumen abzuschätzen. Entscheidend für die Untersuchung ist einerseits der erste und letzte Nachweis verschiedener Antigene. Andererseits soll versucht werden, den Prozess der Zu- und Abnahme der immunreaktiven Makrophagen, d.h. das Ausmaß der Hochregulation des Antigens, zu erfassen. Hierzu werden semiquantitative Methoden verwendet.

Mit dieser Untersuchung soll erreicht werden, die Möglichkeiten der Altersbestimmung von Hirnkontusionen zu erweitern und zu verbessern, und die Überlebenszeitspanne nach Hirntrauma genauer einzugrenzen.

2. Material und Methoden

2.1. Patienten

Von 120 gesichteten Fällen wurden 50 Patienten (17 weiblich, 33 männlich; Lebensalter von 14 Jahren bis 89 Jahren; mittleres Alter 50,54 Jahre) ausgewählt, die ein SHT im Sinne eines gedeckten SHT mit traumatischen kortikalen Blutungen unterschiedlich lange überlebt haben. Die Gewebeproben aus den Jahren 1991-2000 stammt aus dem Institut für Rechtsmedizin in Lübeck. Alle Fälle wurden einer gerichtlichen Sektion unterzogen. Polizeiberichte und Zeugenaussagen standen somit zur Verfügung.

Die Auswahl der Patienten erfolgte entsprechend folgenden *Einschlusskriterien*:

1. Gedecktes SHT Grad I-III mit Rindenblutungen (Kontusionsblutungen)
2. bekanntes Zeitintervall zwischen Trauma und Todeszeitpunkt,
3. makroskopisch nachweisbare kortikale Blutung,
4. keine Einschränkungen durch die Todesursache (Verbluten, Schock, Lungenarterienembolie, Pneumonie usw.).

Als *Ausschlusskriterien* dienten Fälle mit folgenden Merkmalen:

1. Intrakranieller Kreislaufstillstand im Sinne eines dissoziierten Hirntodes,
2. zusätzliche akute oder chronische Erkrankungen des ZNS (soweit feststellbar),
3. rezidivierende Blutungen im Rahmen von Blutgerinnungsstörungen unterschiedlicher Genese, z.B. Leberzirrhose,
4. Medikamentenwirkungen, insbesondere Antikoagulantien,
5. bakterielle oder virale Infektionen des Gehirns,
6. zusätzliche mechanische Schädigung des Gehirns unterschiedlichen Alters unabhängig vom aktuellen Trauma, - aufgrund der Anamnese oder aufgrund der Befundkonstellation,
7. Gefäßprozesse unterschiedlicher Genese,
8. Hirnorganisches Anfallsleiden,
9. postmortale Liegezeit >48 Stunden bzw. sichtbare beginnende Fäulnis.

Bei der kürzesten *Überlebenszeit*, anzugeben praktisch mit Null Minuten, erfolgte der Kreislaufstillstand offenbar innerhalb weniger Sekunden bzw. Minuten nach der mechanischen Einwirkung, ohne dass eine Zeitangaben möglich wäre. In den folgenden Blockdiagrammen mit Angaben der Altersverteilung (siehe Ergebnisse) werden alle diese Fälle einer Überlebenszeit von 0,000694 Tagen zugewiesen, circa einer Minute entsprechend. In zwei Fällen beträgt die Überlebenszeit mehr als ein Jahr, diese werden dem Intervall >365 Tage zugeordnet. Die mittlere Überlebenszeit aller Fälle beträgt 24,36 Tage.

Klassifiziert man das Patientenkollektiv unter dem Gesichtspunkt der Ätiologie des Traumas ergeben sich folgende Verhältnisse (Abb.1): Zu 52% erfolgten die Hirnverletzungen im Rahmen eines Sturzes, gefolgt von Verkehrsunfällen mit einem Anteil von 38%; in ca. 6% der Fälle waren Schläge auf den Kopf Ursache der stumpfen Gewalteinwirkung, während in weiteren ca. 6% die Art der Gewalteinwirkung nicht sicher festgestellt werden konnte.

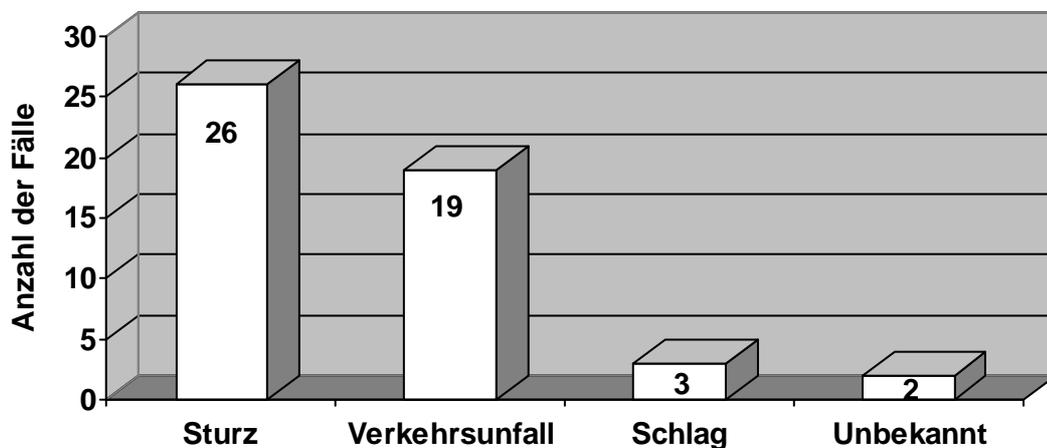


Abb.1 Klassifizierung der untersuchten Fälle nach Ätiologie des Traumas

2.2. Methodik

2.2.1. Neuropathologische Untersuchung (Routine)

Alle Fälle wurden einer detaillierten neuropathologischen Untersuchung durch einen Fach-Neuropathologen zugeführt, wobei die makroskopischen und mikroskopischen Befunde protokolliert und fotodokumentiert wurden. In der Regel wurde unter Einbeziehung einer zusätzlichen histologischen Untersuchung des Gehirns sowie der übrigen Organe und unter Einbeziehung des Blutalkoholwertes und einer toxikologischen Untersuchung ein

abschließendes Zusammenhangsgutachten erstellt. Darin wurde jeweils zur Todesursache, zum Kausalzusammenhang zwischen mechanischer Einwirkung und Tod sowie zur Frage der Rekonstruktion des Geschehenablaufes, d.h. des Traumas und der posttraumatischen Periode, Stellung genommen.

2.2.2. Herstellung der speziellen histologischen Präparate

50 ausgewählte traumatisierte menschliche Gehirne wurden den Verstorbenen innerhalb von 12-48 Stunden nach Todeseintritt im Rahmen einer gerichtlichen Leichenöffnung entnommen und in toto in Formalin (4% gepuffertem Paraformaldehyd) fixiert. Nach einer Fixierungszeit des Gehirns von 14-28 Tagen wurden selektiv aus den makroskopisch sichtbaren Blutungen der Großhirnrinde Gewebestücke herausgeschnitten, entsprechend Routinemethoden in Paraffin eingebettet, in 5 µm dicke Schnitte zerlegt, die auf Objektträger aufgezogen wurden. Die Entparaffinierung erfolgte mit Xylol (15, 10, 5 Minuten) und in einer absteigenden Alkohol-Reihe. Anschließend verblieben die Objektträger drei Minuten in einer mit Tris-Puffer-gefüllten Glasküvette (pH 7,4- 7,6). Die Gewebsschnitte wurden für das zu untersuchende Areal mit dem sogenannten PAP-Pen umrundet, um bei den folgenden Prozeduren ein (kostenintensives) Heruntertropfen oder die Ausbreitung von Antikörpern auf den gesamten Objektträger zu verhindern. Die Verwendung „feuchter“ Kammern vermied zusätzlich ein Verdunsten der Reagenzien während der teilweise bis zu sechzig Minuten langen Inkubationszeit. Zur Demaskierung von Antigenen wurden die Gewebsschnitte mit verschiedenen Enzymen angedaut. Zur Blockierung der endogenen Peroxidasen wurden die Schnitte mit 3 %igem H₂O₂ (Wasserstoffperoxid, 10 Minuten) behandelt.

Bei den mit den Antikörpern CD68, HAM-56, HLA 2 und LN-5 markierten Präparaten wurde zusätzlich eine Zitronensäure/Natriumzitat-Lösung verwendet. Die Objektträger wurden mit dieser Lösung in Standküvetten und in der Mikrowelle zur Demarkierung der Antigene insgesamt 8 Minuten lang zum Kochen gebracht. Bei dem Antikörper 25F9 wurde das Gewebe mit tiefgefrorener 0,1 %iger Pronase (Molecular Sigma Biology LOT 63H097415) für 5 Minuten bei 37 Grad Celsius im Brutschrank angedaut. Es folgte durchgehend eine dreiminütige Inkubation in Tris-Puffer.

Nach erneuter 3 minütiger Inkubation im Tris-Puffer wurden in „feuchter Kammer“, circa 200 Mikroliter spezifische monoklonale Antikörper aufgebracht, und diese anschließend für 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubiert.

2.2.3. Verwendete „spezifische“ Antikörper

1. *CD68/ Clone KP-M1 (Dako-Code Nr. M 0876)*

Monoklonaler Maus-Antikörper, spezifisch für ein 110 KD (Kilo-Dalton) schweres Glykoprotein, welches in Lysosomen und Phagosomen im Zytoplasma von Makrophagen (= aktivierter Mikroglia im ZNS) vorkommt (Abb.4).

2. *HLA-D (Genorte: DP, DQ, DR)/ Clone CR3/43 (Dako Code Nr. M 0775)*

Monoklonaler Maus-Antikörper vom IgG1-Typ, Isotyp kappa. Dieser Antikörper markiert Produkte der Genregion des Major Histocompatibility Complex (MHC) der Klasse II, die in der HLA-Region lokalisiert sind. Bei diesen Produkten handelt es sich um α - und β -Polypeptidketten mit einem Gewicht von 34 bzw. 28 KD, welche eine Affinität zu Ig-Antikörpern besitzen und als Heterodimere auf der Zelloberfläche exprimiert werden (Abb.7).

3. *HAM-56 (DAKO Code Nr. M 0632)*

Monoklonaler Maus-Antikörper vom IgM-Typ, Isotyp kappa, der bisher nicht weiter charakterisiert wurde. In vorhergehenden Studien reagierte der Antikörper mit menschlichen Gewebsmakrophagen, z.B. in Lymphknoten, in der Lunge und in der Leber. Zudem sind positive Reaktionen mit mikroglialen Zellen in sogenannten Plaques bei Multiplen Sklerose beschrieben (Adams und Poston 1990) (Abb.10).

4. *LN-5 (Zymed 18-0165)*

Monoklonaler Maus-Antikörper vom IgM-Typ, Isotyp kappa. LN-5 markiert ein Antigen, das von Makrophagen und Histiozyten exprimiert wird und nicht zur CD-Antigengruppe gezählt wird (Abb.13).

5. *25F9 (Dianova D-1016)*

Monoklonaler IgG1 Antikörper der Maus. Mit 25F9 sollen insbesondere Makrophagen in späteren Phasen der Entzündung markiert werden. Das Antigen hat ein Molekulargewicht von 86 KD: es handelt sich wahrscheinlich um ein Glykoprotein auf der Zelloberfläche und im Zytoplasma von so genannten reifen Makrophagen. Nachgewiesen wurde es auf Kupffer'schen Sternzellen der Leber, Histiozyten der Haut, im Thymus, in Keimzentren von Lymphknoten und in der Milz (Abb.16).

Die Antikörper wurden wie unten beschrieben mit dem Polymica Antibody Diluent verdünnt. Die für die verschiedenen Antikörper jeweilige optimale Verdünnung wurde nach einer vorgeschalteten Verdünnungsreihe mit Kontrollpräparaten von Tonsillen festgelegt.

- CD68 1:750
- HAM-56 1:500
- HLA 2 1:2000
- LN-5 1:500
- 25F9 1:750

Für die immunhistochemische Markierung der Antigene wurde das polyMICA[®]-Kit (polyclonal Mirror Image Complementary Antibodies) der Firma Binding Sites (Produkt-Code HK004.A) verwendet. Dieses Entwicklungssystem weist Antigene in menschlichen Geweben nach, wobei die Primärantikörper von Mäusen oder Schafen stammen. In unseren Versuchen wurden initial Schaf Anti-Esel-, und anschließend Esel Anti-Schaf-Antikörper gegeben. Das mehrfache Applizieren der verschiedenen, gegeneinander gerichteten Antikörper führte zu amplifizierten immunhistochemischen Reaktionen, so dass auch nur gering exprimierte Antigene deutlich markiert wurden. Im Anschluß an die Primär-Antikörper-Inkubation erfolgte die Entwicklung mit dem Sekundärantikörper (nach den Vorschriften des polyMICA[®]-Kit-Systems) durch ein jeweils 20-minütiges Bedecken der Gewebsschnitte.

Zur farblichen Markierung der Antikörper-Komplexe diente eine Meerrettich-Peroxidase, die, an den Schaf Anti-Esel Antikörper konjugiert, die zuletzt zugegebene AEC-Chromogenlösung oxidierte.

Vor Eindecken der Gewebeschnitte mit einem wässrigen Eindeckmitten (Aquatex[®]) erfolgte eine Gegenfärbung mit Hämalaun. Als Positivkontrolle diente bei jedem Färbepgang eine Gaumentonsille.

2.2.4. Routinefärbungen

Zusätzlich zu dieser immunhistochemischen Antikörper-Reaktion wurde nach standardisierten Färbemethoden von jedem Fall zur Übersicht eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE), sowie zum Nachweis von eisenspeichernden Makrophagen eine Berlinerblau-Färbung angefertigt (Abb.3).

2.2.5. Semiquantitative Auswertung

Die Auswertung der markierten Zellen erfolgte mithilfe eines Lichtmikroskops und eines in das Okular eingelassenen Zählfeldes mit einer Seitenlänge von 0,3125 mm (Fläche des Zählfeldes 0,0976 mm²) bei 400-facher Vergrößerung. In jedem Präparat wurden jeweils fünf Gesichtsfelder unter semiquantitativen Gesichtspunkten von zwei unabhängigen Beobachtern ausgewertet und in folgende Klassen eingeteilt:

- keine markierten Makrophagen pro Gesichtsfeld
- (+) vereinzelt markierte Makrophagen pro Gesichtsfeld (1-10% der MG+)
- + zahlreiche, locker verteilt markierte Makrophagen pro Gesichtsfeld (10-30% der MG+)
- ++ mehrere, zusammengelagerte markierte Makrophagen pro Gesichtsfeld (30-50% der MG+)
- +++ ubiquitär vermehrt markierte Makrophagen pro Gesichtsfeld (80-100% der MG+)

Weiterhin wurden jeweils vier topographisch unterschiedliche Hirnabschnitte untersucht:

1. die eigentliche Blutung und die unmittelbare Umgebung,
2. blutungsfreie, angrenzende Rindenareale,
3. an die Blutung angrenzende Markanteile,
4. Subarachnoidalraum mit Leptomeninx.

Jedes Präparat eines Falles mit Kontusionsblutungen wurde in allen 4 Kompartimenten klassifiziert und die Zählergebnisse mit der Überlebenszeit korreliert. Das untersuchte Kollektiv von 50 Hirnproben wurde in 7 etwa gleich große Klassen nach folgenden Überlebenszeitintervallen eingeteilt (Abb.8):

- Gruppe 1: < 1h
- Gruppe 2: > 1h bis 10h
- Gruppe 3: > 10h bis 24h
- Gruppe 4: > 24h bis 5d
- Gruppe 5: > 5d bis 30d
- Gruppe 6: > 30d bis 100d
- Gruppe 7: > 1a

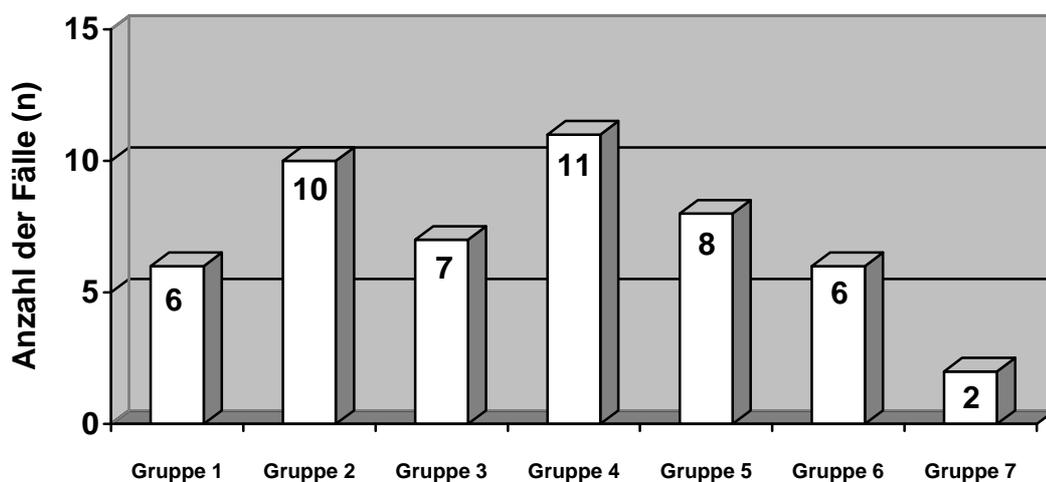


Abb.2 Darstellung der Fallzahlen (n) in verschiedenen Überlebenszeitklassen

2.2.6. Darstellung

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte auf zweierlei Weise. Zum einen wurden die semiquantitativ ausgewerteten Gruppen in einem Koordinatensystem gegen eine Zeitachse gesetzt, auf der die verschiedenen Überlebenszeitklassen aufgetragen wurden.

Zum anderen ließen sich die Ergebnisse der einzelnen Klassen in Abhängigkeit von der Überlebenszeit in „Boxplots“ darstellen. Die Boxplots geben dabei den Medianwert, die

75ger und die 25ger Perzentile, sowie die Gesamtspanne mit dem höchsten und niedrigsten Wert an. Statistische Ausreißer sind gesondert aufgetragen.

Bei der vergleichsweise geringen Fallzahl wurde auf eine statistisch Auswertung verzichtet.

Die logarithmischen Zeitangaben entsprechen den Realzeit-Angaben folgender Tabelle (Tabelle 1):

log/d	Tage	Realzeit
3	1000d	2 Jahre, 270 Tage
2	100d	100 Tage
1	10d	10 Tage
0	1d	24 Stunden
-1	0,1d	2 Stunden, 24 Minuten
-2	0,01d	14 Minuten, 24 Sekunden
-3	0,001d	1 Minute, 26 Sekunden
-4	0,0001d	8,64 Sekunden

Tabelle 1 Logarithmische Zeitangaben und entsprechende Realzeit

2.2.7. Terminologie

Um im weiteren Verlauf der Diskussion um die Herkunft der aktivierten Mikroglia (Proliferation lokaler ruhender Mikroglia bzw. Einwanderung von blutstämmigen Monozyten im Sinne von (extravasalen) Makrophagen) auszuweichen, soll im folgenden nur noch von „Makrophagen“ gesprochen werden. Sie sind in der Routinefärbung in Form von abgerundeten – abgrenzbaren – mononukleäre Zellen erkennbar.

3. Ergebnisse

3.1. Routinefärbungen

Schon mit Hilfe üblicher Routinefärbungen (HE) können Zellen wie Erythrozyten, polymorphkernige Granulozyten, Makrophagen und Siderophagen (hämosiderinspeichernde Makrophagen) als „Reaktion“ in der Folge einer mechanischen Gewalteinwirkung erfasst werden. Diese Zellarten konnten in HE-gefärbten Paraffingewebsschnitten teilweise dargestellt und differenziert werden. Die Zelltypen lassen sich durch zellspezifische (immunreaktive bzw. histochemische Färbungen) selektiv darstellen.

3.1.1. Erythrozyten

Infolge einer mechanischen Einwirkung kommt es zur Extravasation von roten Blutzellen. Je nach Schweregrad des Traumas ist die Ausdehnung der Blutung unterschiedlich stark ausgeprägt. So kommt es naturgemäß bei z.B. nach Sturz aus großer Höhe zu einer ausgedehnteren Blutung und Gewebeschädigung als bei z.B. Sturz aus dem Stand. Infolge dieser Gefäßverletzungen treten auch weiße Blutzellen aus den Blutgefäßen in das extravasale Kompartiment ein. In unserem Untersuchungsgut fanden sich bei allen Fällen mit einer Überlebenszeit bis zu 100 Tagen extravasale Erythrozyten und spätestens nach etwa einem Jahr sind in keinem Fall Erythrozyten nachweisbar.

3.1.2. Polymorphkernige Granulozyten

Granulozyten werden nicht nur passiv mit ausgeschwemmt, sondern wandern auch aktiv infolge Chemotaxis in das Blutungsareal sowie in das zerrissene Hirngewebe ein. Es handelt sich um eine aktive Emigration der Granulozyten aus den Gefäßen in das Wundgebiet. Bei einer Überlebenszeit von 0 Minuten bis zu einem Tag waren in allen Fällen Leukozyten nachweisbar. Bei längerer Überlebenszeit nahm die Zahl der Granulozyten ab; nach circa 49 Tagen ließen sich keine Granulozyten mehr nachweisen.

3.1.3. Makrophagen

Makrophagen beseitigen Zelltrümmer, abgestorbenes Gewebe wie auch Erythrozyten, welche im Rahmen von Blutungen extravasal gelegen sind. Dieser Zelltyp lässt sich auf Grund ihrer Struktur, durch das eher abgerundete Zytoplasma und durch den mononukleären Kern, unschwer erkennen. Die ersten Makrophagen konnten mithilfe der HE-Färbung erstmals ca. 12 Stunden nach dem Trauma beobachtet werden. Bis zum Tag

7-10 nahm die Anzahl dieser Zellen kontinuierlich zu, danach wieder ab. Bei einem Wundalter von mehr als einem Jahr konnten noch einzelne Makrophagen im Blutungsbereich identifiziert werden. Zum Teil enthalten die Makrophagen erkennbares Material im Zytoplasma, wobei es sich um Vakuolen (Fett?) handelt, um Erythrozyten – nach 20 Stunden - z.T. jedoch auch um Pigment im Sinne des Abbauproduktes „Siderin“(vgl. 3.1.4).

3.1.4. Siderophagen

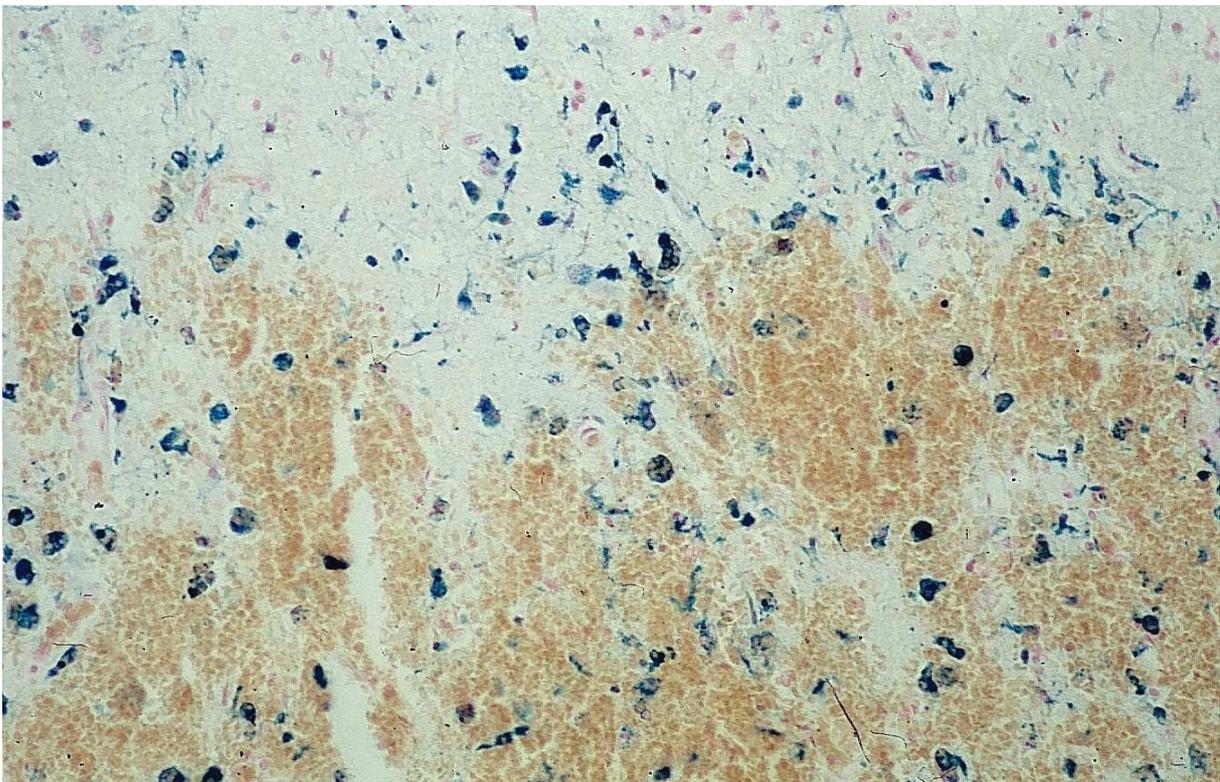


Abb. 3 Berliner Blau Reaktion: Siderin-enhaltende Makrophagen (Vergrößerung 500-fach); Überlebenszeit: 31d

Siderophagen sind eisenspeichernde Makrophagen, die Hämosiderin, ein Hämoglobinabbauprodukt nach Ingestion und Abbau von Erythrozyten bilden und im Zytoplasma speichern. Das Siderin lässt sich spezifisch mit der sogenannten Berliner-Blau-Reaktion blau darstellen. In den ersten 3 Tagen nach dem traumatischen Ereignis fanden sich noch keine Siderophagen. In dem Zeitraum 3-10 Tage waren vereinzelte und in manchen Fällen auch disseminierte Siderophagen aufgetreten, während 10 Tage nach dem Trauma praktisch alle Fälle deutlich vermehrt Siderophagen enthielten (Abb.3). Betrachtet

man die zeitliche Verteilung, stellt man einen Anstieg des Medians des Wundalters mit zunehmender Ausprägung der Reaktion fest.

3.2. Semiquantitative Auswertung

Wie oben beschrieben werden bei der Auswertung der Antigen-Antikörper-Reaktion vier verschiedene Areale unabhängig voneinander ausgewertet und im folgendem aufgeführt. Die Auswertung erfasst das erste Auftreten von Makrophagen in disseminierter und/oder aggregierter Form und berücksichtigt insbesondere den Zeitpunkt, bei dem in den meisten Fällen immunreaktive Makrophagen diffus vermehrt auftreten.

Im Folgendem wird jeweils der Anteil immunreagierender Makrophagen bei Applikation unterschiedlicher Antikörper dargestellt – jeweils in den verschiedenen Kompartimenten (Kortikale Blutung, Blutungsgrenze in der Rinde, im Marklager sowie Blutung im Subarachnoidalraum).

3.2.1. Kortikale Blutung

3.2.1.1. CD68-Reaktivität

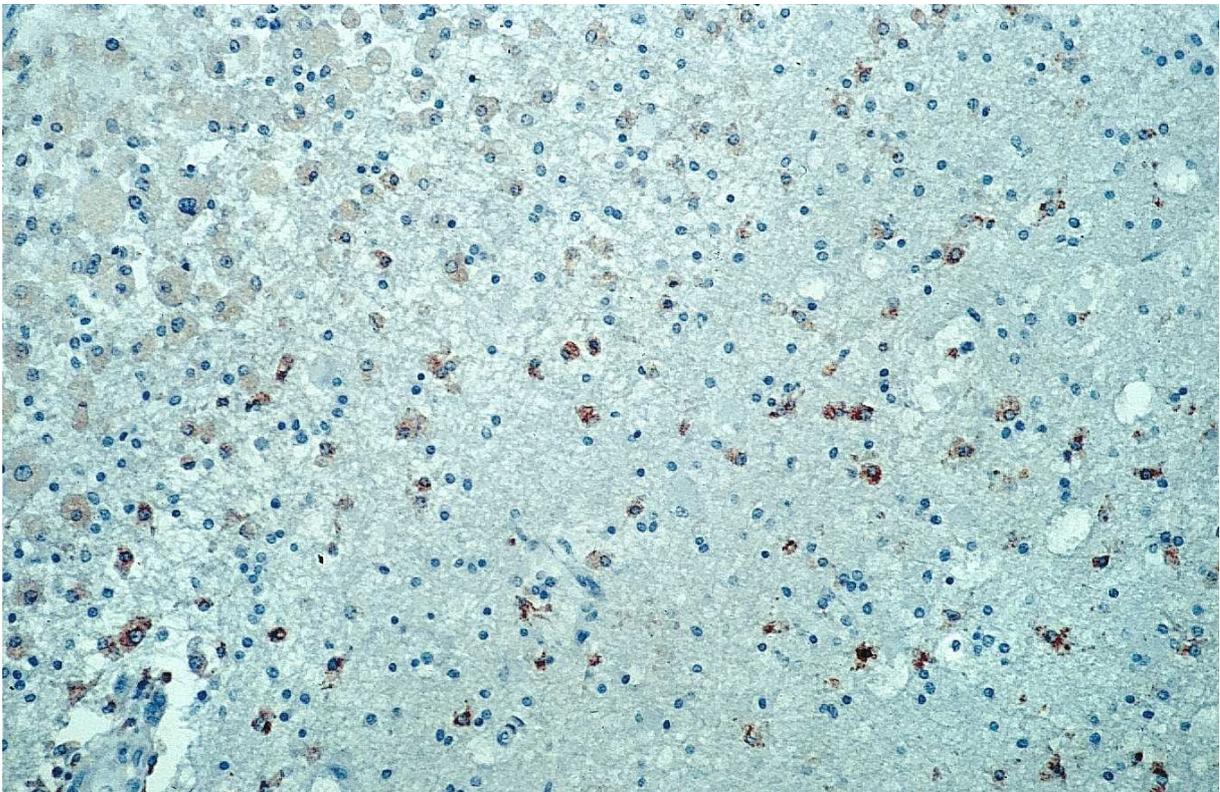


Abb. 4 CD68-reaktive Makrophagen (Vergrößerung 300-fach); Überlebenszeit: 12d

Bereits 10 Stunden bis zu 24 Stunden nach dem traumatisierenden Ereignis (Gruppe 4) lassen sich im Blutungsbereich einzelne (+) immunreaktive Makrophagen nachweisen. In Gruppe 5, also frühestens nach 5 Tagen lassen sich in allen Fällen CD68-markierte Makrophagen in unterschiedlicher Ausprägung und Zahl nachweisen (Beispiel siehe Abb. 4). Aggregierte (++) und diffus vermehrte (+++) CD68-markierte Makrophagen sind (bis auf je eine Ausnahme in Gruppe 6 und 7) ab dem 5. Tag und nach längerer Überlebenszeit als ein Jahr nachweisbar (Abb.5). In Korrelation mit der Überlebenszeit wird somit eine gleichmäßige Zunahme des Prozentsatzes CD68-markierter Zellen deutlich (Abb.6).

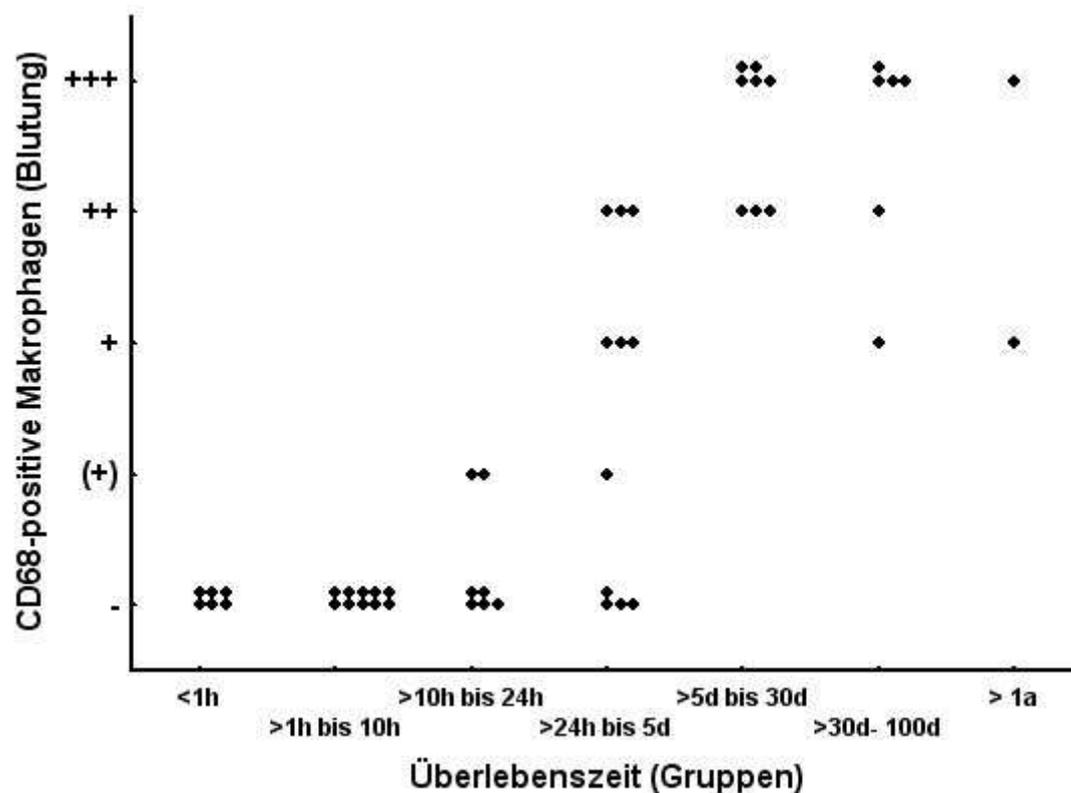


Abb. 5 Anzahl (n) der Fälle mit CD68-positiver Immunreaktion von Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit mit kortikaler Blutung

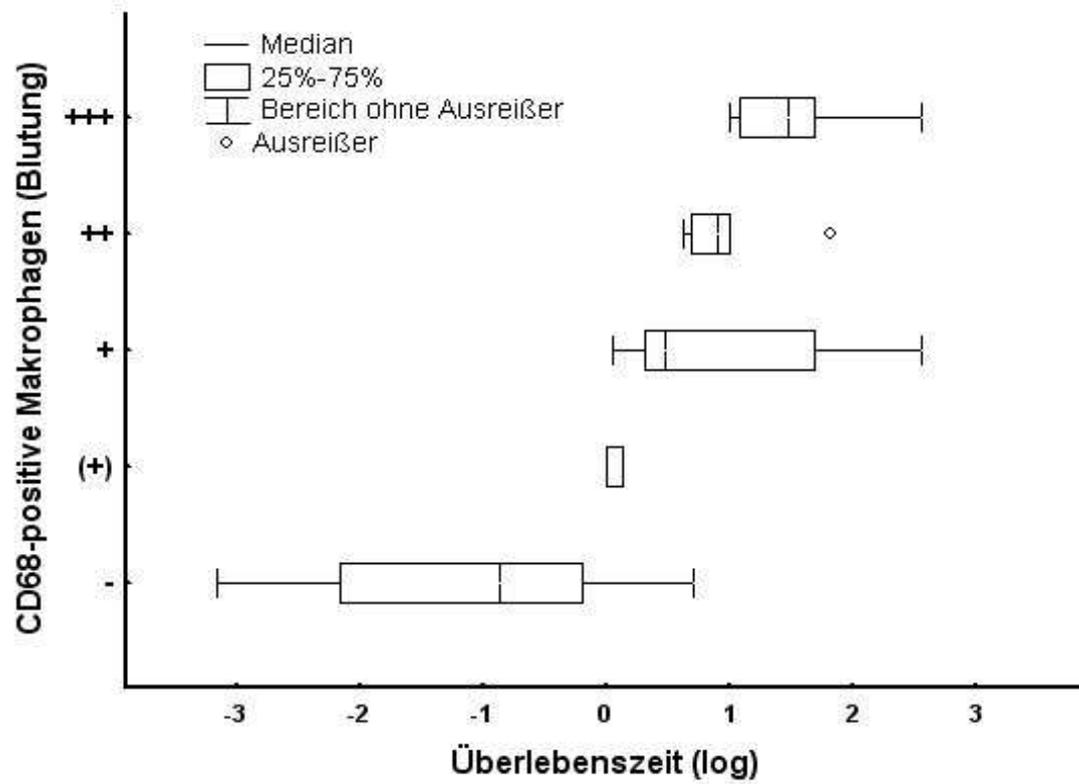


Abb. 6 Häufigkeit unterschiedlicher CD68-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit (logarithmisch aufgetragen)

3.2.1.2. HLA-D-Reaktivität

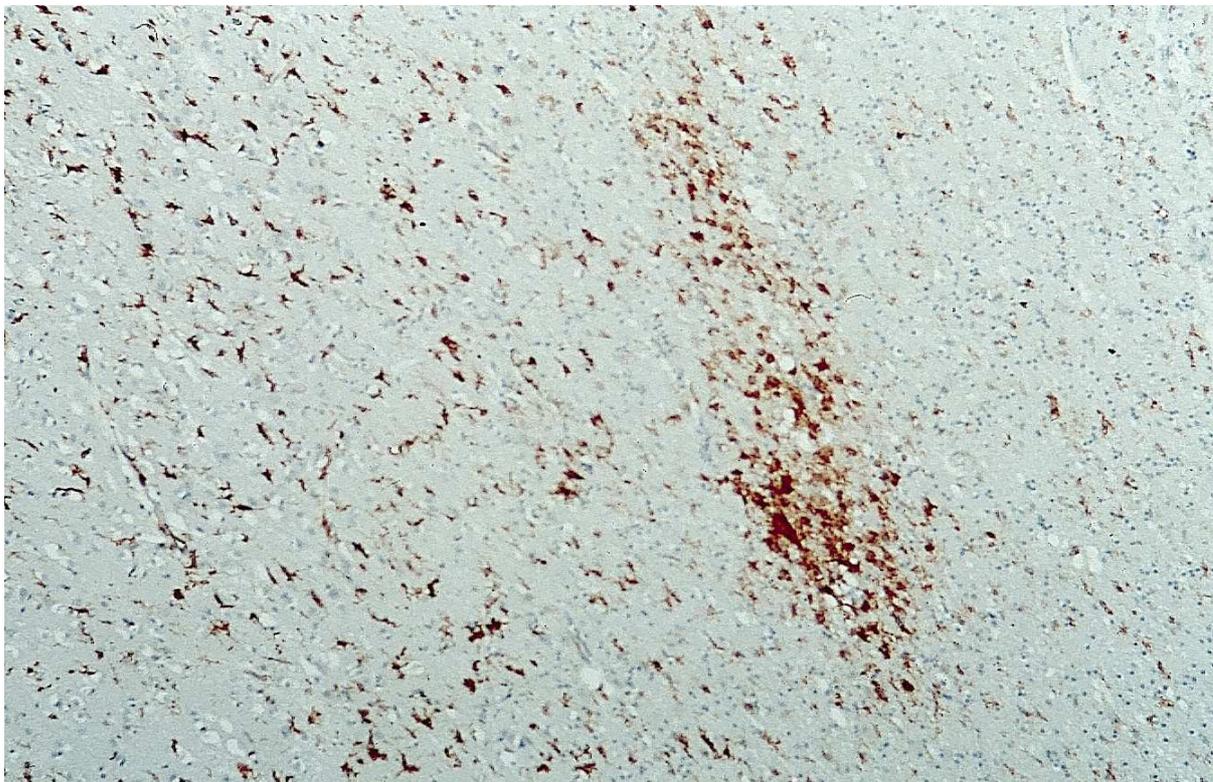


Abb. 7 HLA-D-reaktive Makrophagen (Vergrößerung 300-fach); Überlebenszeit: 49d

Bereits nach wenigen Minuten lassen sich auch ohne längere Überlebenszeit in einigen Fällen vereinzelt ((+)) HLA- D-markierte Makrophagen erkennen. Die ersten aggregierten Makrophagen treten frühestens 10 Stunden nach Traumatisierung auf. 5 Tage nach dem Trauma ist eine deutliche Zunahme des Prozentsatzes Antigen-exprimierender Makrophagen mit diffus vermehrten (+++)Makrophagen nachweisbar (Abb.8). Insgesamt kann festgestellt werden, dass in den Klassen mit längerer Überlebenszeit der Prozentsatz der Epitop exprimierenden Zellen zunimmt (Abb.9, Beispiel siehe Abb.7).

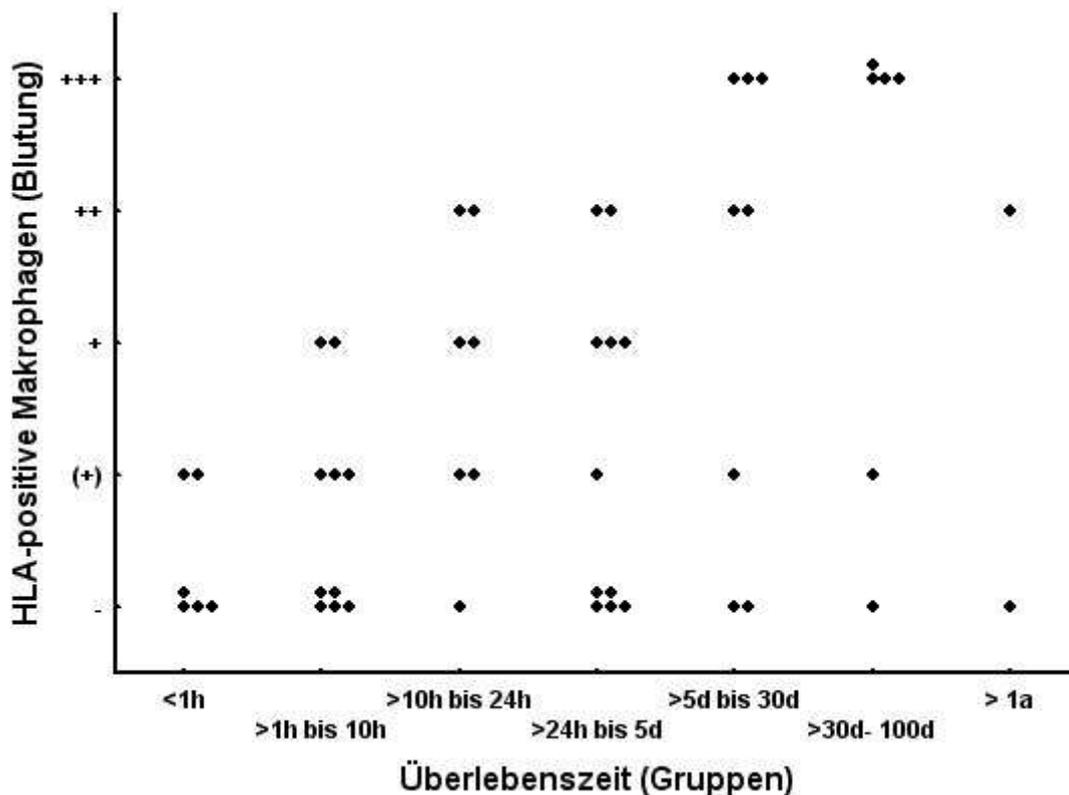


Abb. 8 Anzahl (n) der Fälle mit HLA-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung

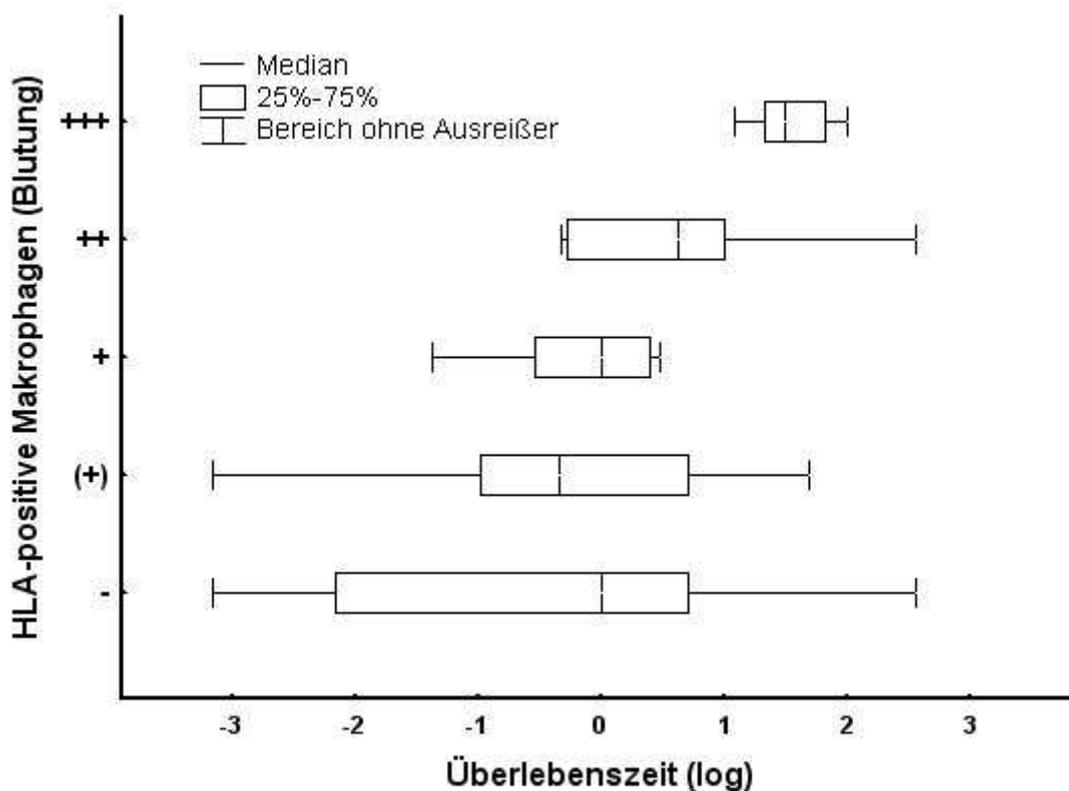


Abb. 9 Häufigkeit unterschiedlicher HLA-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.2.1.3. HAM-56-Reaktivität

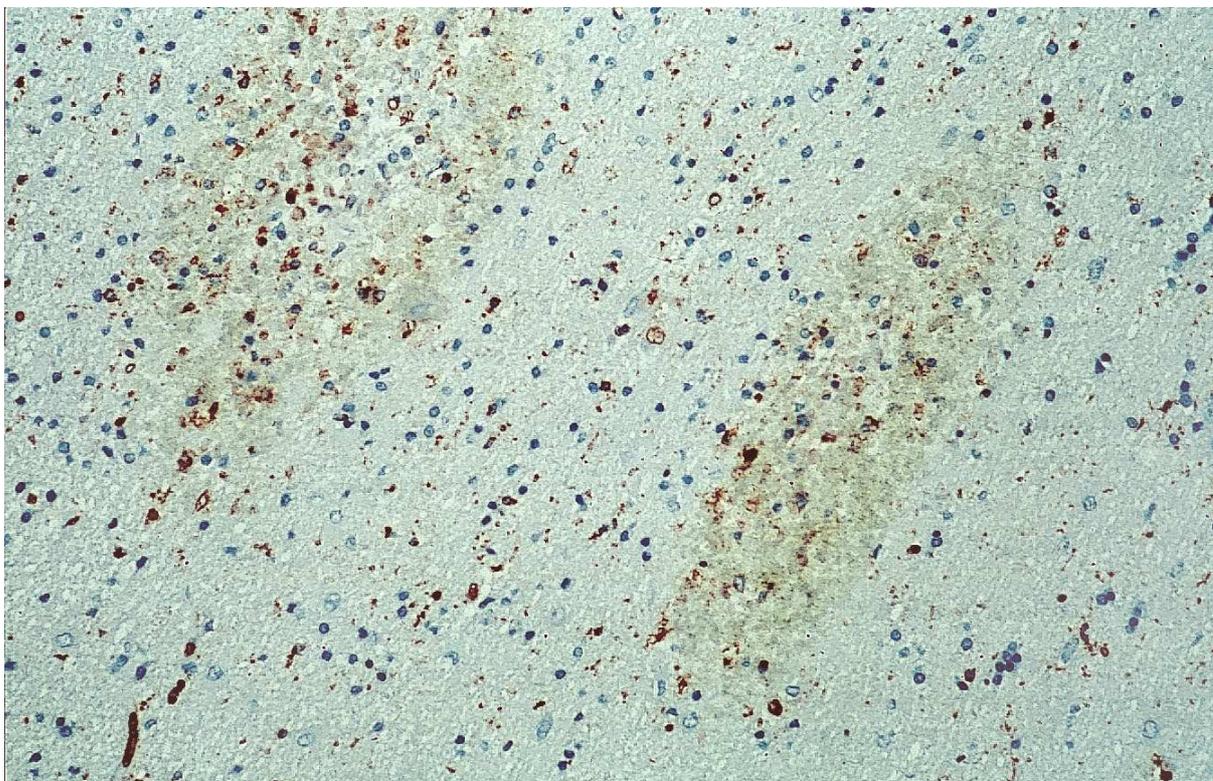


Abb. 10 HAM-56-reaktive Makrophagen (Vergrößerung 300-fach); Überlebenszeit: 10d

Frühestens 10 Stunden nach dem Trauma treten erstmals im Blutungsbereich vereinzelt ((+)) HAM-56-positive Makrophagen auf. Nach 24 Stunden findet sie sich disseminiert (+) oder auch aggregiert (++). Erst nach 5 Tagen lassen sich diffus vermehrt Makrophagen nachweisen (siehe Abb.10). Bei Überlebenszeiten von mehr als einem Jahr nach dem schädigenden Ereignis lassen sich immunhistochemisch allenfalls noch disseminierte HAM-56-markierten Makrophagen nachweisen (Abb.11).

Abb.12 zeigt, dass mit ansteigender Überlebenszeit gleichzeitig eine Zunahme der Anzahl reagierender Zellen stattfindet.

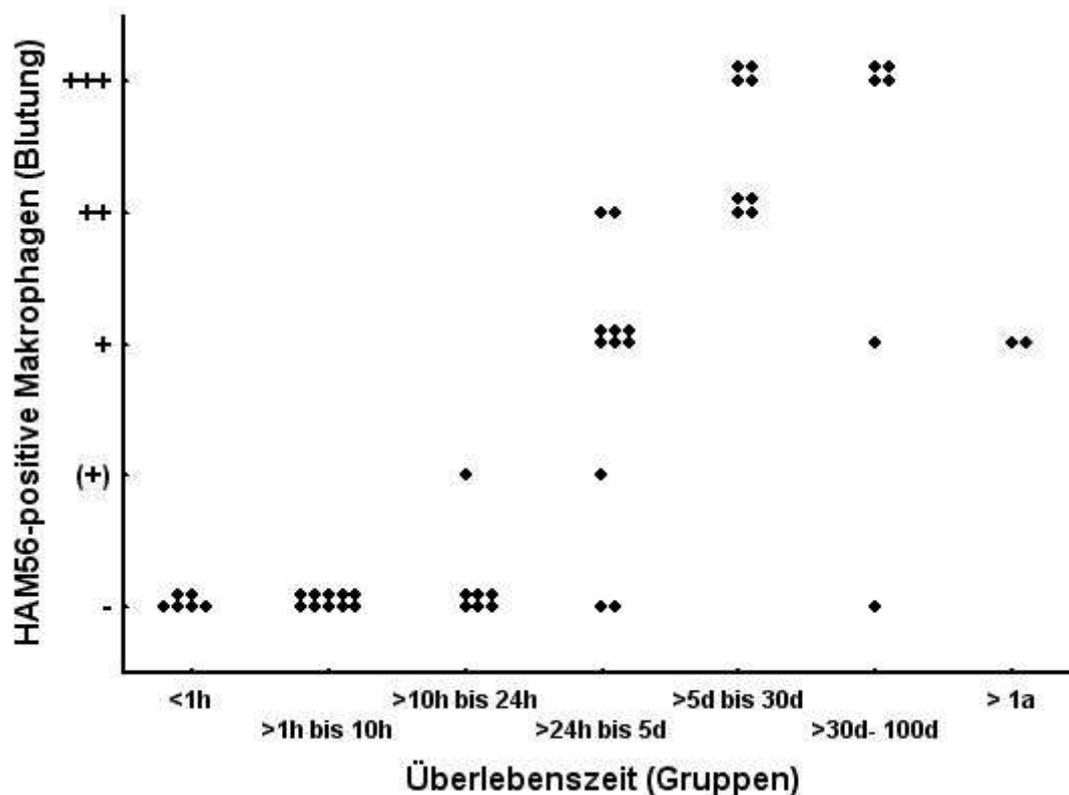


Abb. 11 Anzahl (n) der Fälle mit HAM-56-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung

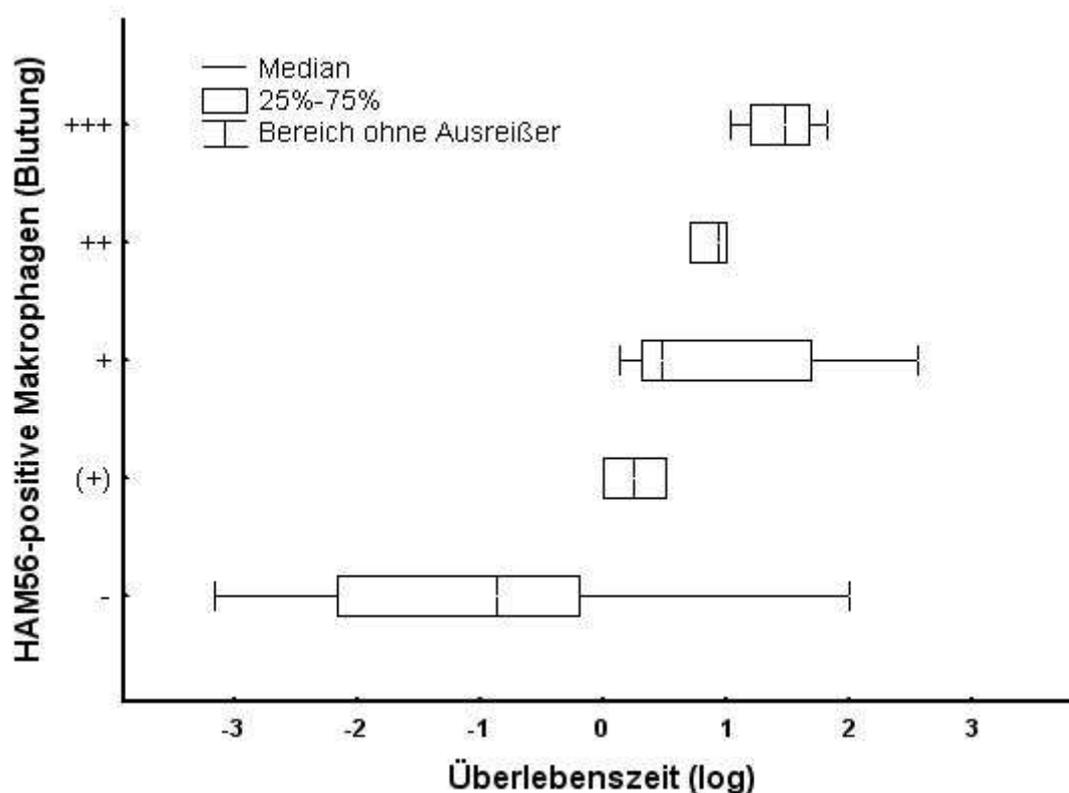


Abb. 12 Häufigkeit unterschiedlicher HAM-56-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.2.1.4. LN-5-Reaktivität

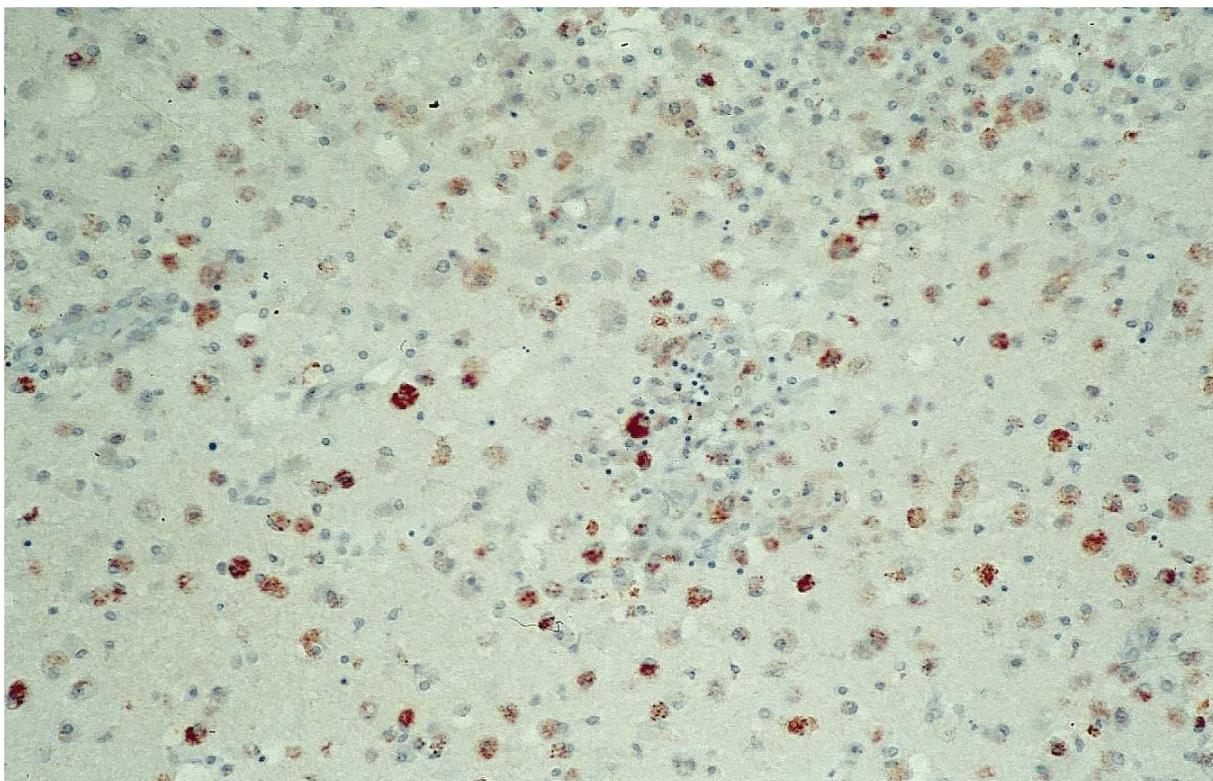


Abb. 13 LN-5-reaktive Makrophagen (Vergrößerung 500-fach); Überlebenszeit 12d

Nach ca. 10 Stunden Überlebenszeit treten disseminiert (+) LN-5-reaktive Makrophagen auf. Nach 24 Stunden ließen sich LN-5-positive Makrophagen in allen Ausprägungsgraden nachweisen; nach 5 Tagen traten die markierten Zellen größtenteils diffus vermehrt (+++) auf (siehe Abb.13). Auch nach einem Jahr konnte in einem Fall noch vereinzelt LN-5-reaktive Zellen beobachtet werden (Abb.14).

Abb.15 verdeutlicht eine relativ breite Streuung innerhalb der Gruppen ohne LN-5-markierte Makrophagen (-). In den Klassen mit längeren Überlebenszeiten ist die unterschiedliche Markierung weniger breit gestreut.

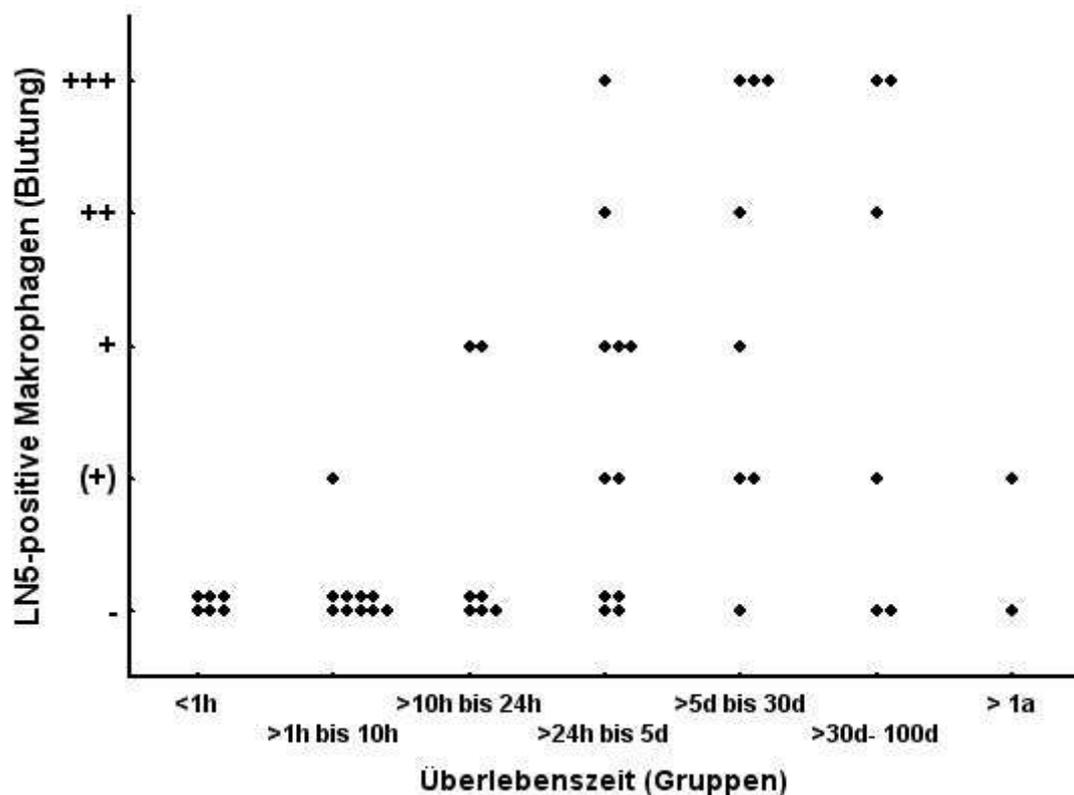


Abb. 14 Anzahl (n) der Fälle mit LN-5-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung

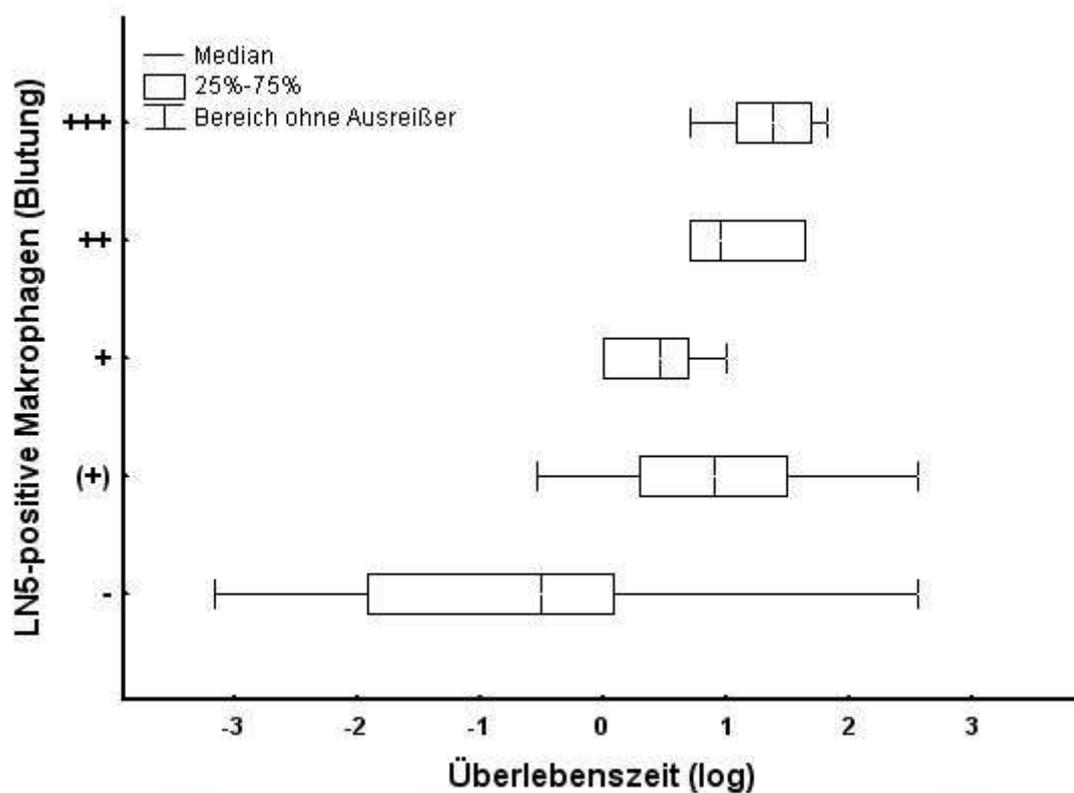


Abb.15 Häufigkeit unterschiedlicher LN-5-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.2.1.5. 25F9-Reaktivität

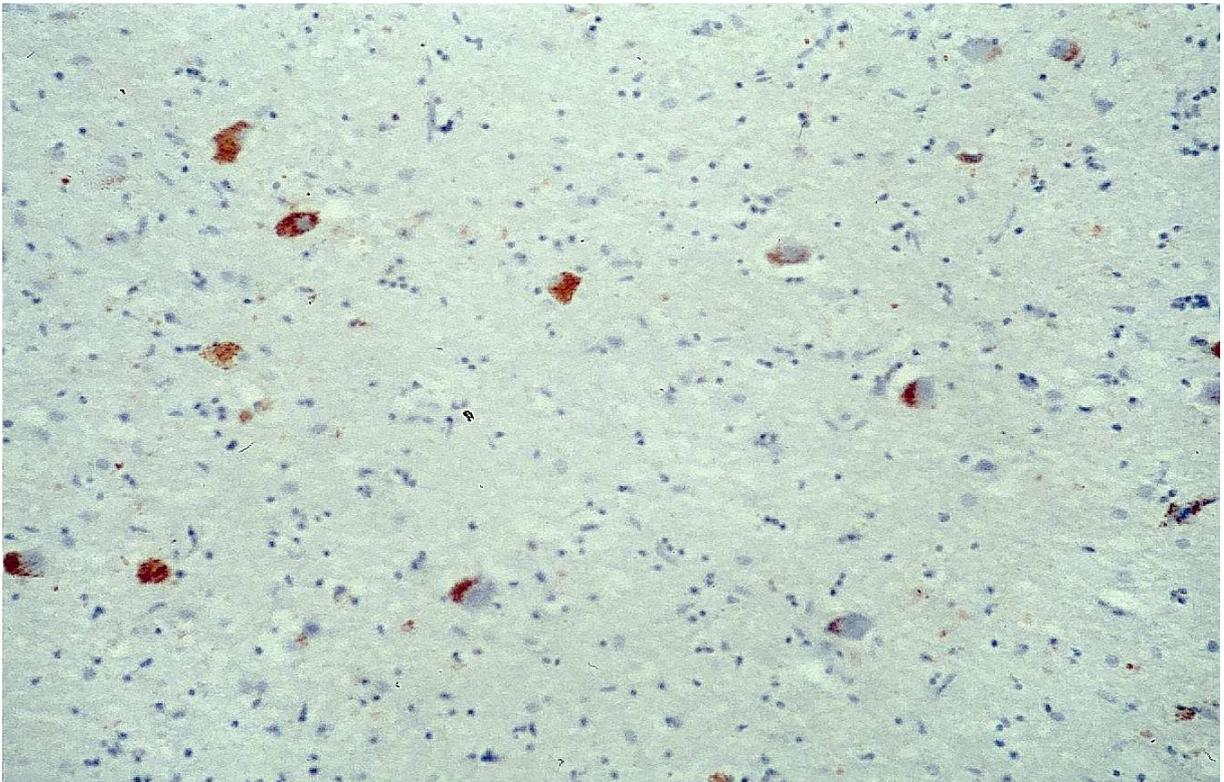


Abb. 16 25F9-reaktive Makrophagen (Vergrößerung 500-fach); Überlebenszeit >24 Stunden

Lediglich in zwei Fällen lassen sich vereinzelt ((+)) 25F9-positive Makrophagen nach 10 Stunden bzw. nach 30 Tagen im Bereich der Blutung feststellen. Disseminierte reaktive Makrophagen (+) fanden sich lediglich in einem Fall mit einer Überlebenszeit von mehr als 24 Stunden (siehe Abb.16). In den übrigen Fällen ließen sich LN-5-markierte Makrophagen nicht nachweisen (Abb.17).

Aufgrund der geringen Fallzahlen in den verschiedenen Klassen erwies sich eine Zuordnung der Klassen zu einzelnen Überlebenszeiten nicht sinnvoll.

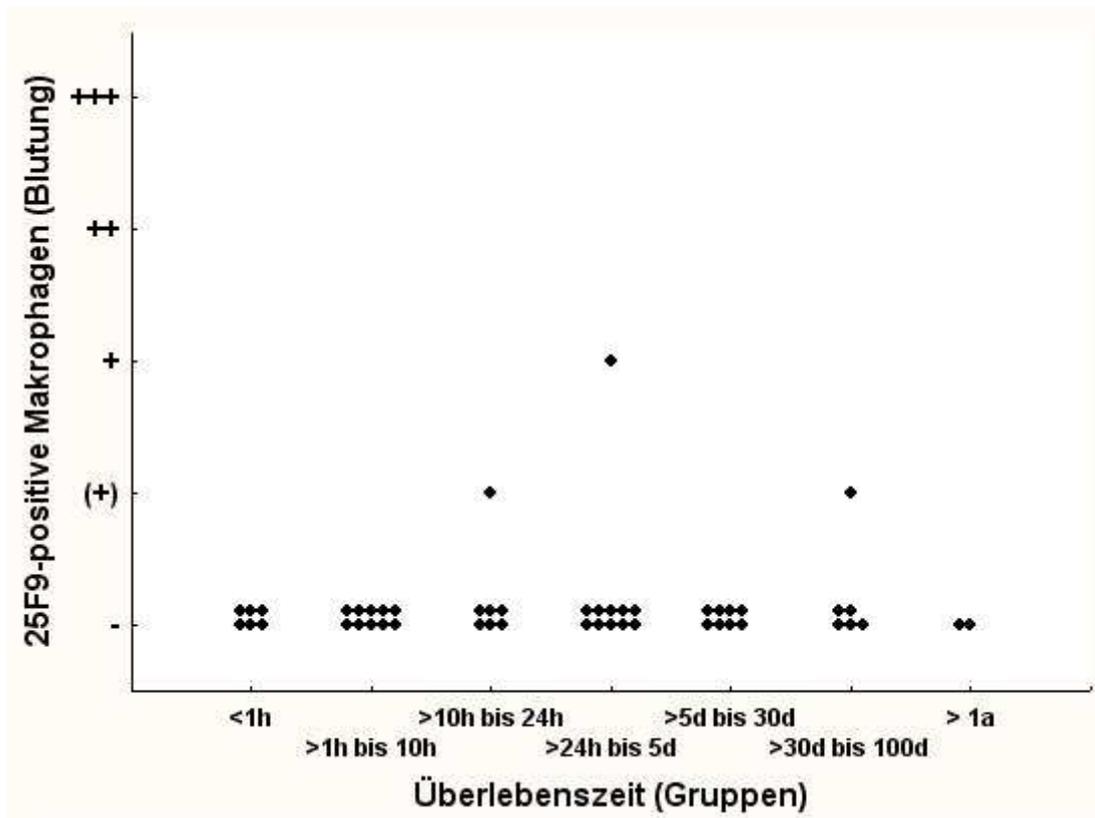


Abb. 17 Anzahl (n) der Fälle mit 25F9-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung

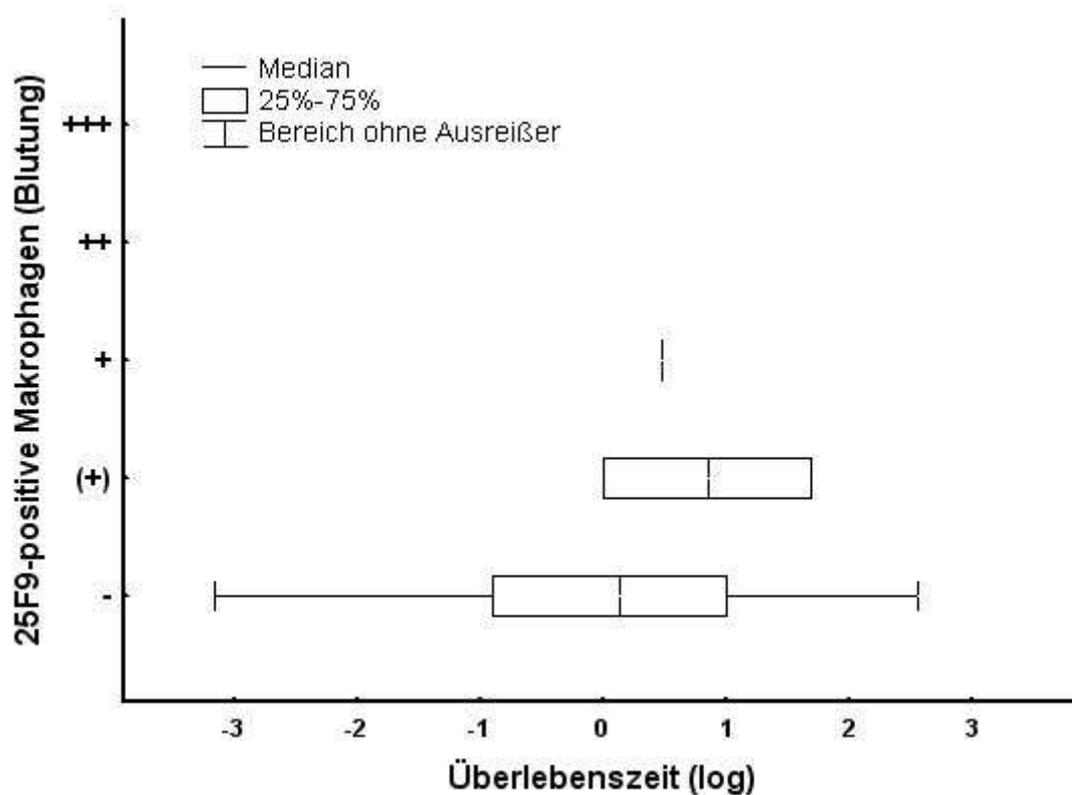


Abb. 18 Häufigkeit unterschiedlicher 25F9-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.2.2. Angrenzende Rindenstrukturen

3.2.2.1. CD68-Reaktivität

Nach ca. 24 Stunden und bis zum 5. Tag lassen sich die ersten disseminiert (+) oder auch aggregiert (++) CD68-reagiblen Zellen nachweisen. Vom Tag 5 an sind sie überwiegend diffus vermehrt (+++) feststellbar. Auch ein Jahr nach Trauma sind noch einzelne positiv reagierende Zellen vorhanden (Abb.19).

Bei längeren Überlebenszeiten lässt sich eine deutlich Zunahme der markierten Zellen nachweisen (Abb.20).

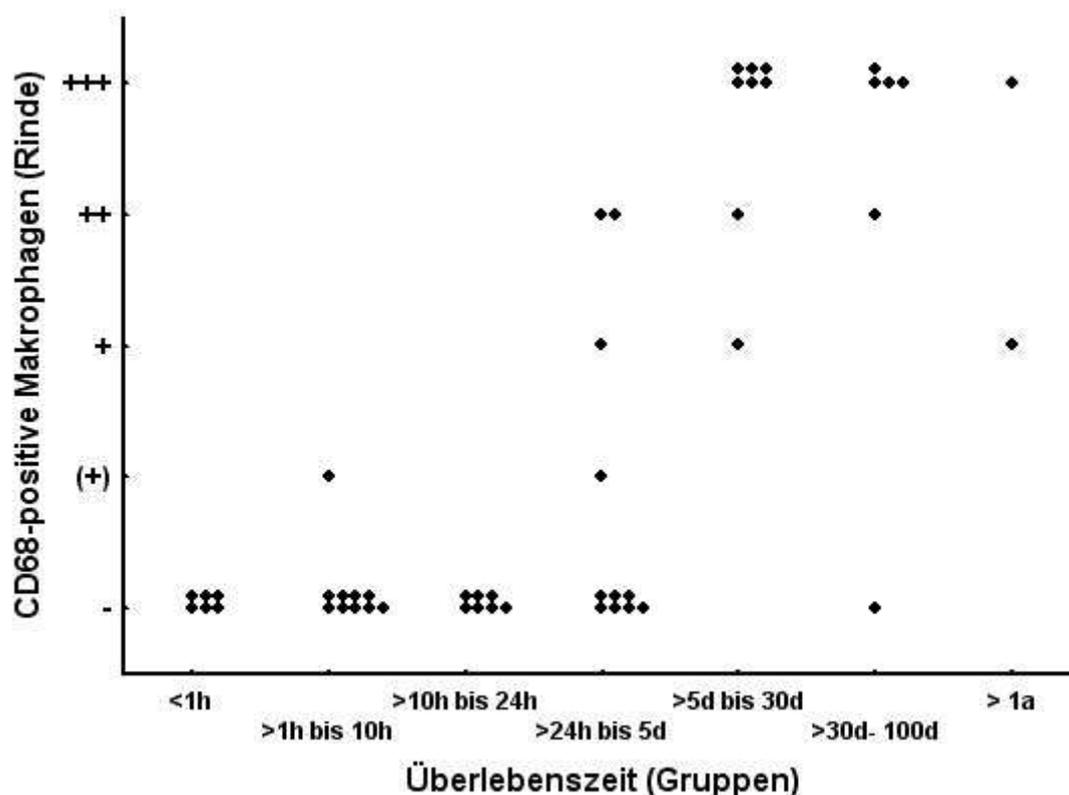


Abb. 19 Anzahl (n) der Fälle mit CD68-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung in angrenzenden Rindenstrukturen

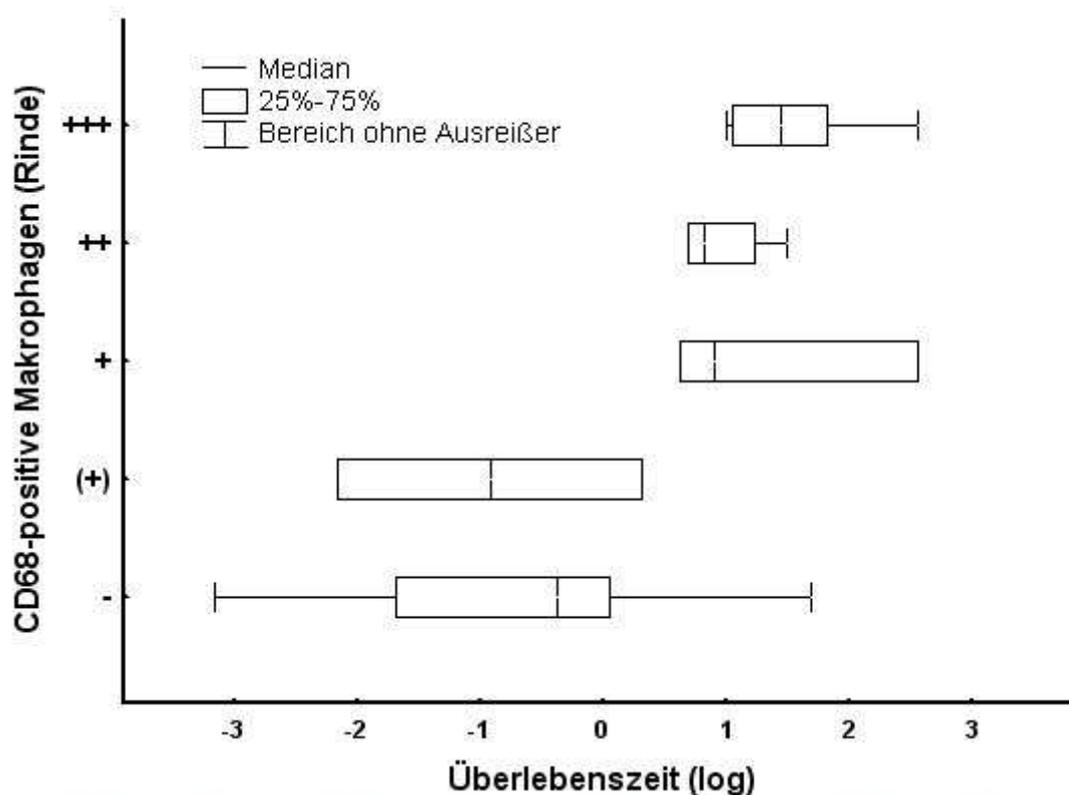


Abb. 20 Häufigkeit unterschiedlicher CD68-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.2.2.2. HLA-D-Reaktivität

Nach 10 Stunden lassen sich im Kortex noch keine oder lediglich ganz vereinzelt ((+)) HLA-D reagibile Zellen finden. In einem Fall ließ sich in Gruppe 2 diffus vermehrte (+++) Makrophagen nachweisen.

Ähnlich wie in der eigentlichen Blutung findet sich nach frühestens 5 Tagen auch im Kortex eine deutliche Zunahme der HLA-D-Expression durch Makrophagen; diese treten in aggregierter (++) Form oder auch diffus vermehrt (+++) auf. Auch nach einem Jahr finden sich noch einzelne HLA-D markierte Zellen (Abb.21).

In den Klassen ohne (-) oder nur mit geringer ((+)) Ausprägung des Merkmals zeigt sich eine relativ breite Streuung der Überlebenszeiten; die Klassen mit deutlicher Immunreaktion der Makrophagen finden sich bei längeren Überlebenszeiten (Abb.22).

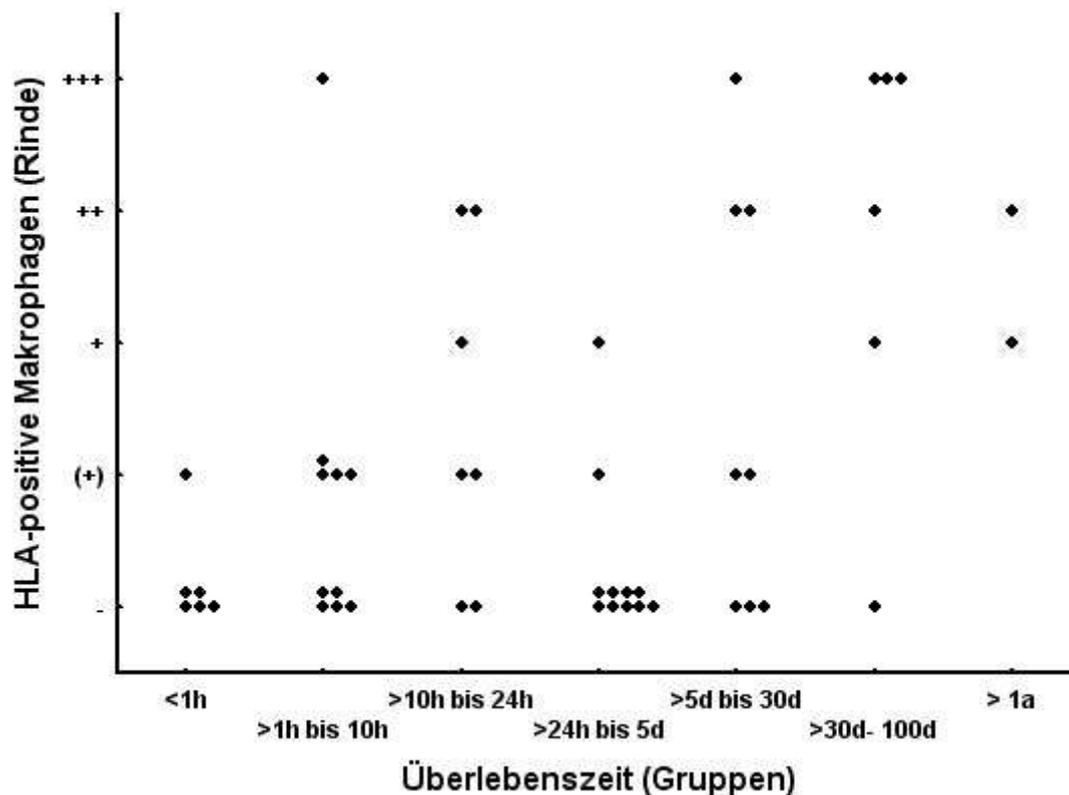


Abb. 21 Anzahl (n) der Fälle mit HLA-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung in angrenzenden Rindenstrukturen

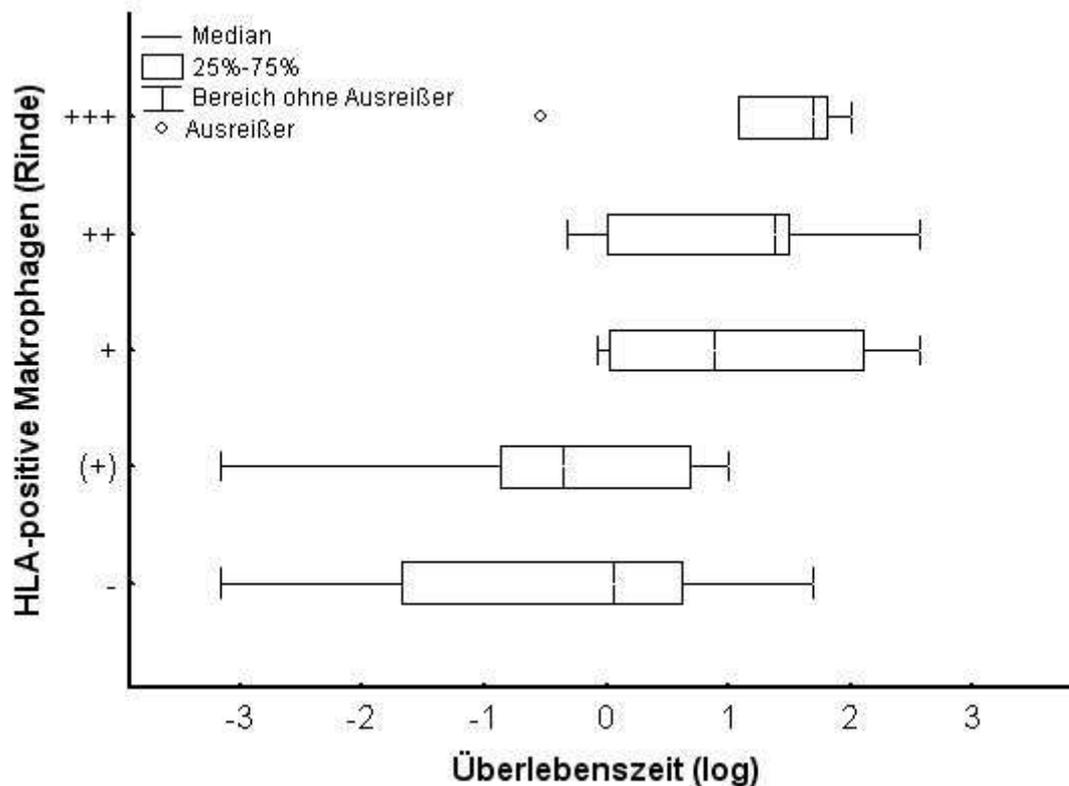


Abb. 22 Häufigkeit unterschiedlicher HLA-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.2.2.3. HAM-56-Reaktivität

Nach 24 Stunden exprimieren die ersten Makrophagen in allen Ausprägungsgraden das mit dem Antikörper HAM-56 reagierende Antigen. Die Intensität der Expression nimmt nach ca. 5 Tagen mit aggregiert (++) und auch diffus vermehrt (+++) auftretender positiv reagierender Zellpopulation zu. Nach dem Intervall größer als ein Jahr nach Trauma treten die HAM-56-positiven Mikrogliazellen weiterhin überwiegend disseminiert (++) auf (Abb.23).

Die Klassen mit intensiverer Expression des Antigens HAM-56 finden sich in den Gruppen mit längeren Überlebenszeiten (Abb.24).

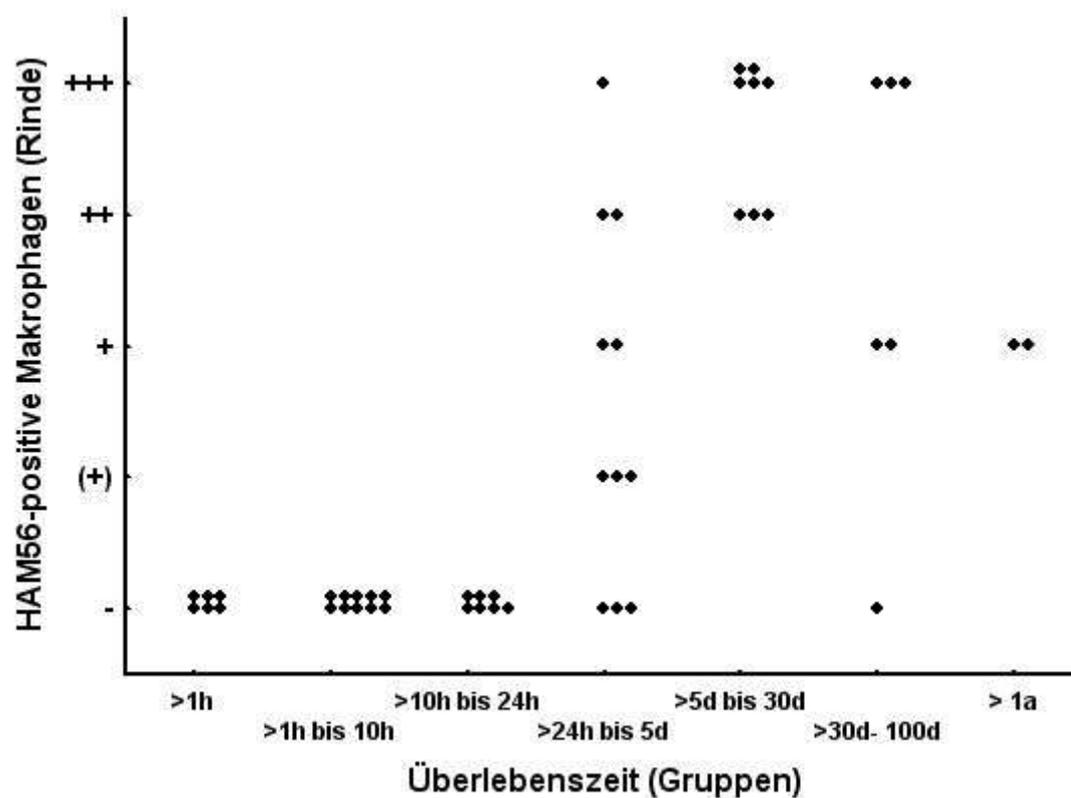


Abb. 23 Anzahl (n) der Fälle mit Klassifizierung der HAM-56-Immunreaktion in Makrophagen nach unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung in angrenzenden Rindenstrukturen

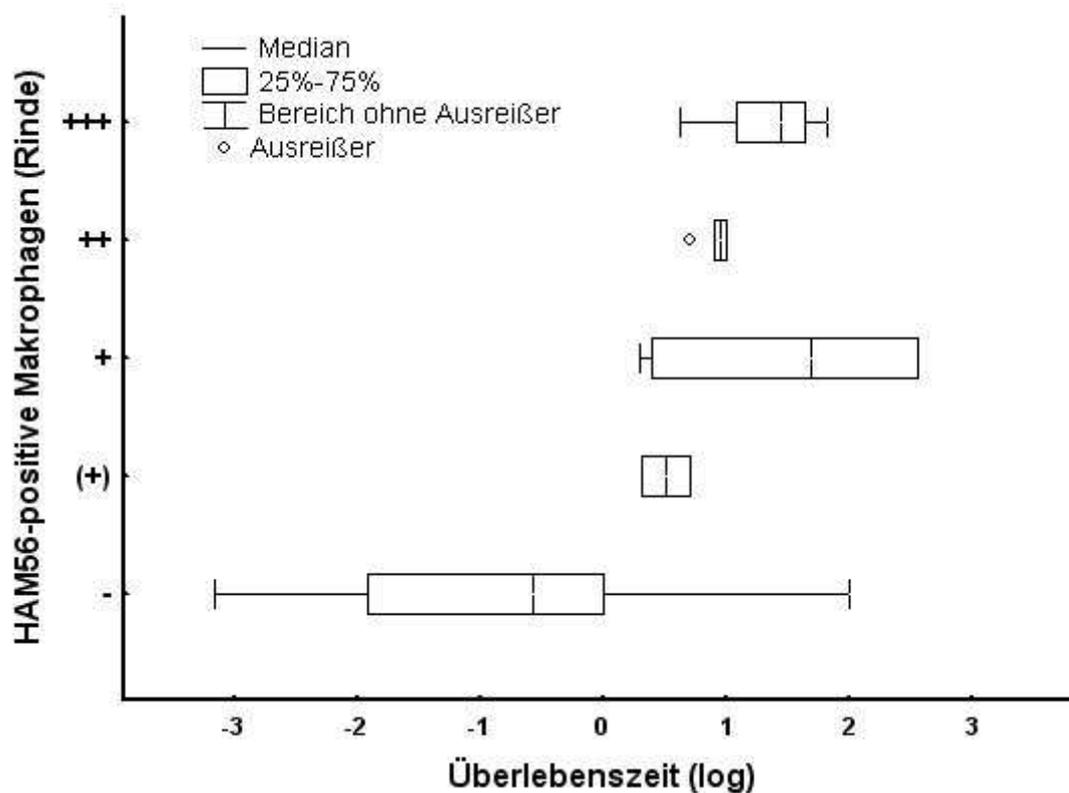


Abb. 24 Häufigkeit unterschiedlicher HAM-56-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.2.2.4. LN-5-Reaktivität

In den ersten 24 Stunden nach dem Trauma lassen sich in keinem der Fälle LN-5-reagible Makrophagen nachweisen. Makrophagen in allen Ausprägungsgraden sind nach 24 Stunden und bis zu 5 Tagen zu finden. Nach einem Jahr findet man in 50% der Fälle noch aggregierte positiv reagierende Makrophagen (Abb.25).

Abbildung 26 zeigt die weite zeitliche Spanne der Klasse ohne LN-5-markierte Makrophagen (-). Nur wenige Fälle weisen eine schwach positiven ((+)) oder einfach positiven (+) Ausprägung der Antigenexpression auf. Gruppen mit starker Ausprägung des Antigens LN-5 (++, +++) sind eher längeren Überlebenszeiten zuzuordnen.

3.2.2.5. 25F9-Reaktivität

In der überwiegenden Zahl der Fälle ließen sich keine 25F9-positiven Makrophagen nachweisen. In zwei Fällen lassen sich ab 24 Stunden vereinzelt ((+)) oder auch disseminiert (+) Makrophagen beobachten. Eine deutliche Ausprägung des 25F9 assoziierten Antigens lässt sich erst nach eine Überlebenszeit von ca. 5 Tagen und mehr feststellen, alle Ausprägungsgrade sind dabei gleichermaßen verteilt. In einem Fall treten die positiv reagierende Makrophagen nach 30 Tagen diffus-vermehrt (+++) in Erscheinung. (Abb.27).

Abb. 28 verdeutlicht die hohe zeitliche Streubreite im Bereich der nicht vorhandenen Immunreaktion der Makrophagen mit dem Antikörper 25F9.

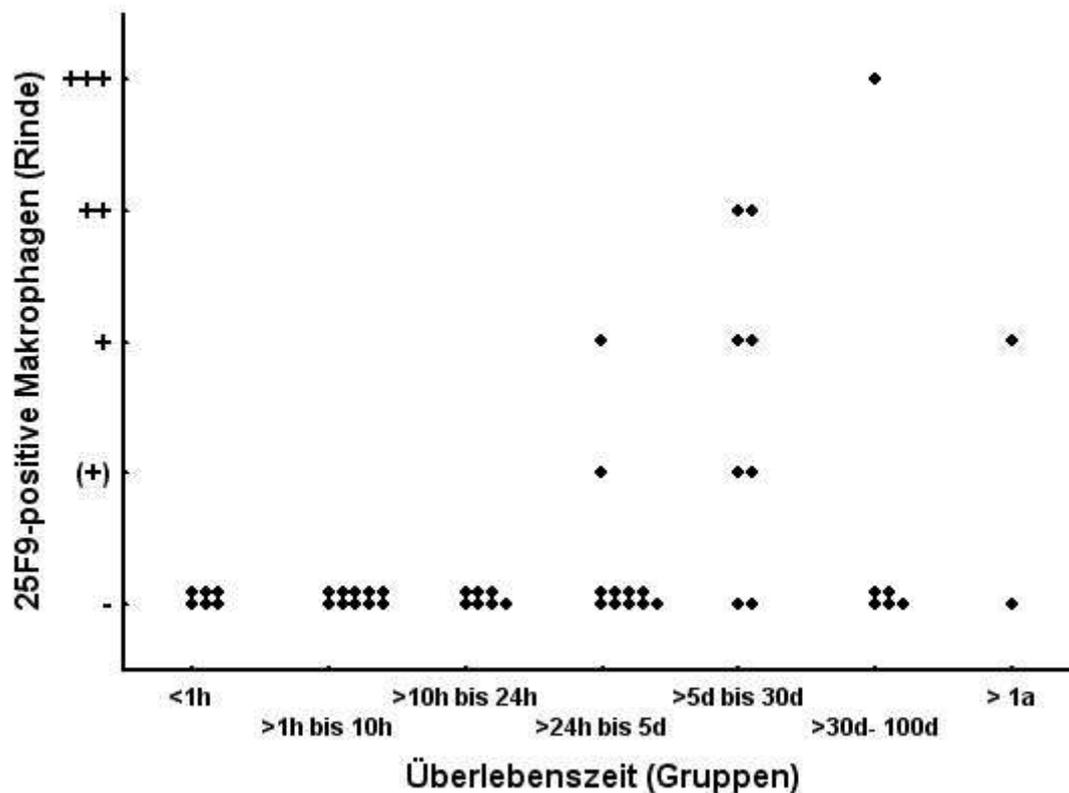


Abb. 27 Anzahl (n) der Fälle mit 25F9-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung in angrenzenden Rindenstrukturen

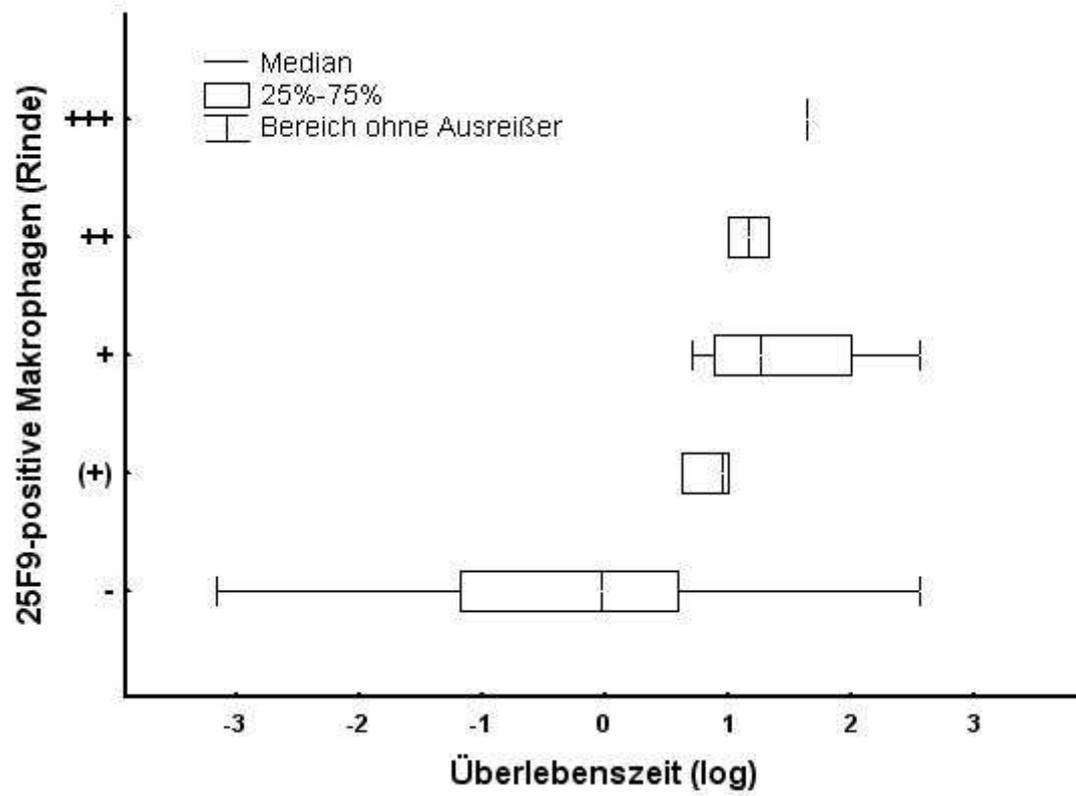


Abb. 28 Häufigkeit unterschiedlicher 25F9-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.3.3. Angrenzende Markstrukturen

3.3.3.1. CD68-Reaktivität

In einem Fall kann eine diffuse Vermehrung (+++) von aktivierten Makrophagen ohne wesentliche Überlebenszeit beobachtet werden (Abb.29). In diesem Fall könnte eine makroskopisch nicht erkennbare Vorschädigung des Gehirn vorliegen, über die keine klinischen Angaben bestehen. Im übrigen werden zwar zahlreiche ruhende Makrophagen aufgrund ihrer diskreten Immunreaktivität erkennbar, aber aktivierte Mikroglia/Makrophagen mit Expression des Antigens eindeutig erst nach 10 Stunden bzw. nach 24 Stunden. Nach ca. 5 Tagen sind in nahezu allen Fällen aggregierte (++) und diffus vermehrte (+++) CD68-markierte Zellen zu beobachten (Abb.29). Die deutlichste Ausprägung der Antigenexpression findet sich erwartungsgemäß bei längeren Überlebenszeiten (Abb.30).

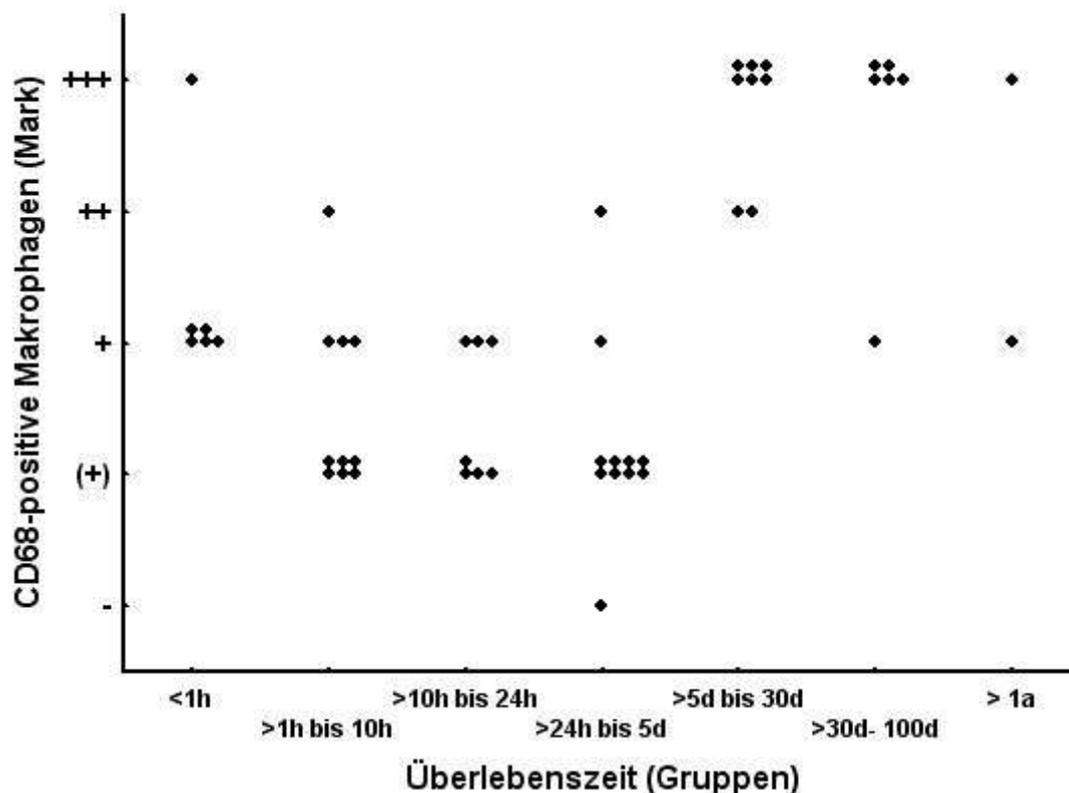


Abb. 29 Anzahl (n) der Fälle mit CD68-positiver Immunreaktion in Mikroglia bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung in angrenzenden Markstrukturen

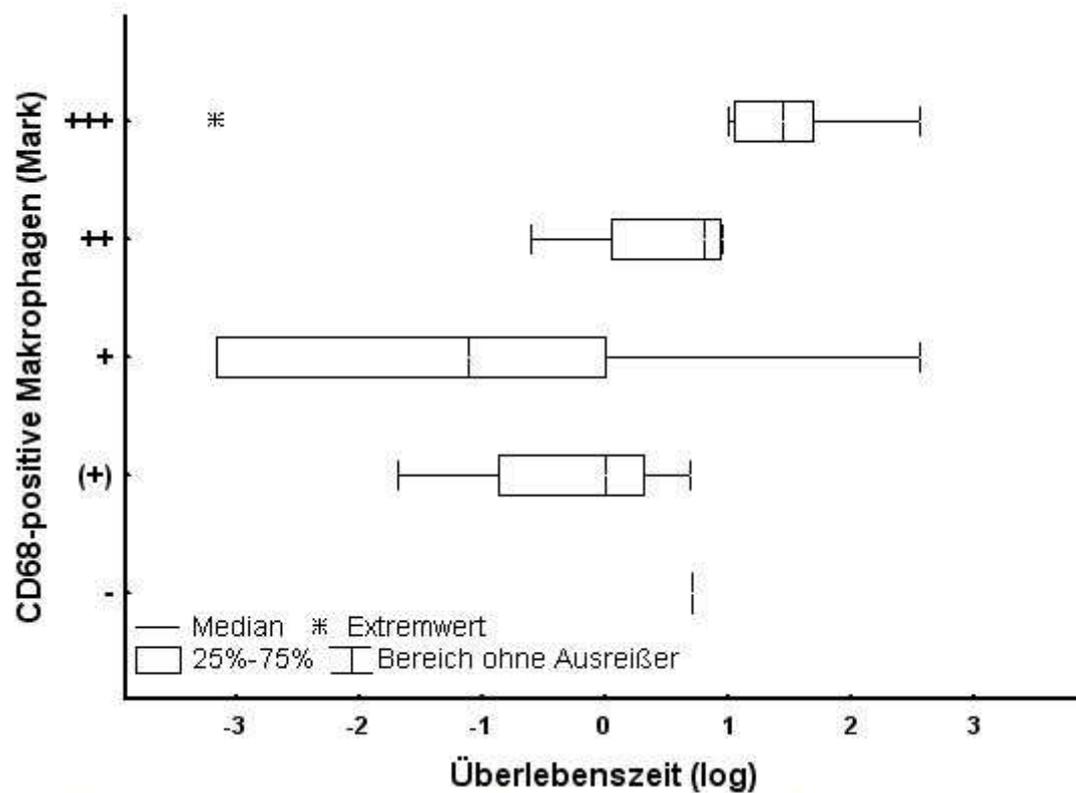


Abb. 30 Häufigkeit unterschiedlicher CD68-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.3.3.2. HLA-D-Reaktivität

Die HLA-D-reaktiven Makrophagen lassen sich relativ unregelmäßig (unsystematisch) in ihren unterschiedlichen Ausprägungsgraden ((+)) bis (+++) nachweisen. In dem gleichen Fall mit vereinzelt HLA-positiven Makrophagen finden sich auch deutlich vermehrt (+++) HLA-D-reaktive Makrophagen. Nach Überlebenszeiten bis zu 10 Stunden finden sich alle Ausprägungsgrade der HLA-D Antigenexpression. Innerhalb der darauf folgenden Gruppe „10 Stunden bis 24 Stunden“ treten die Makrophagen am häufigsten disseminiert (+) auf.

Nach 5 Tagen eine deutliche Erhöhung der Anzahl der reaktiven Makrophagen nachweisbar (+++) (Abb.31).

Anhand der HLA-Reaktion lässt sich eine tendenzielle zeitliche Zuordnung zum Traumaalter nicht vornehmen, wobei jedoch auch hier die Klasse mit der höchsten Dichte an HLA-D-markierten Makrophagenzellen eher einem längerem Überleben zuzuordnen ist (Abb.32).

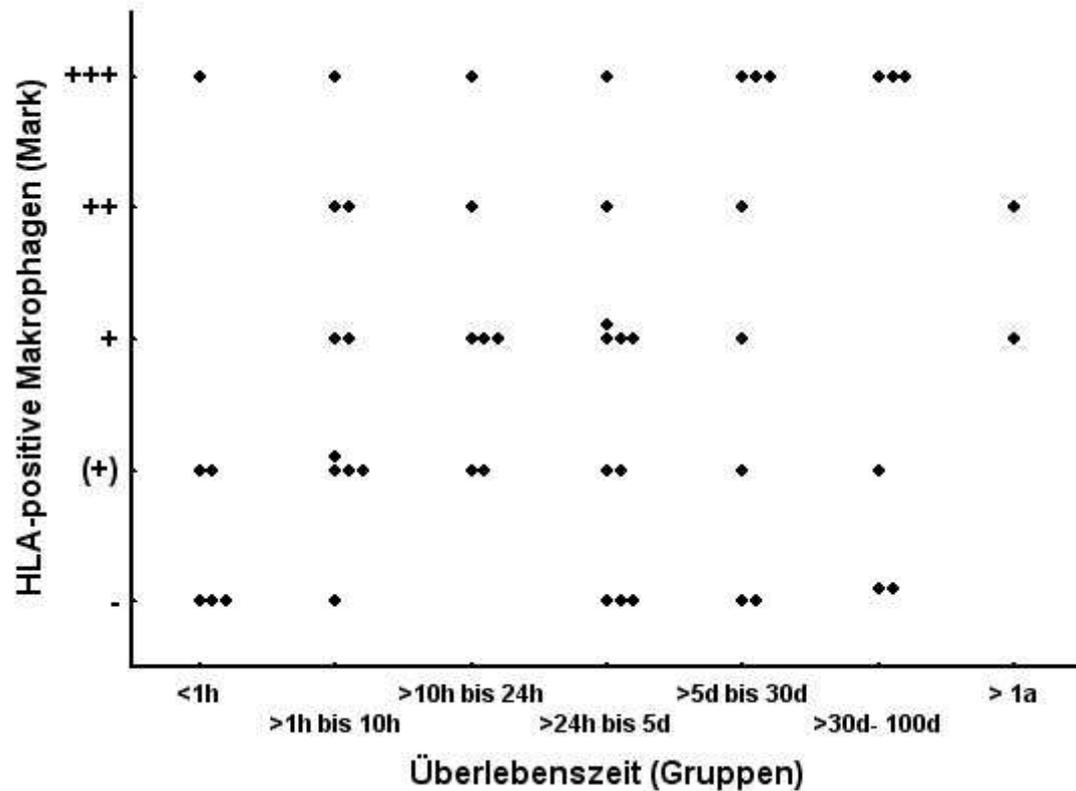


Abb. 31 Anzahl (n) der Fälle mit HLA-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung in angrenzenden Markstrukturen

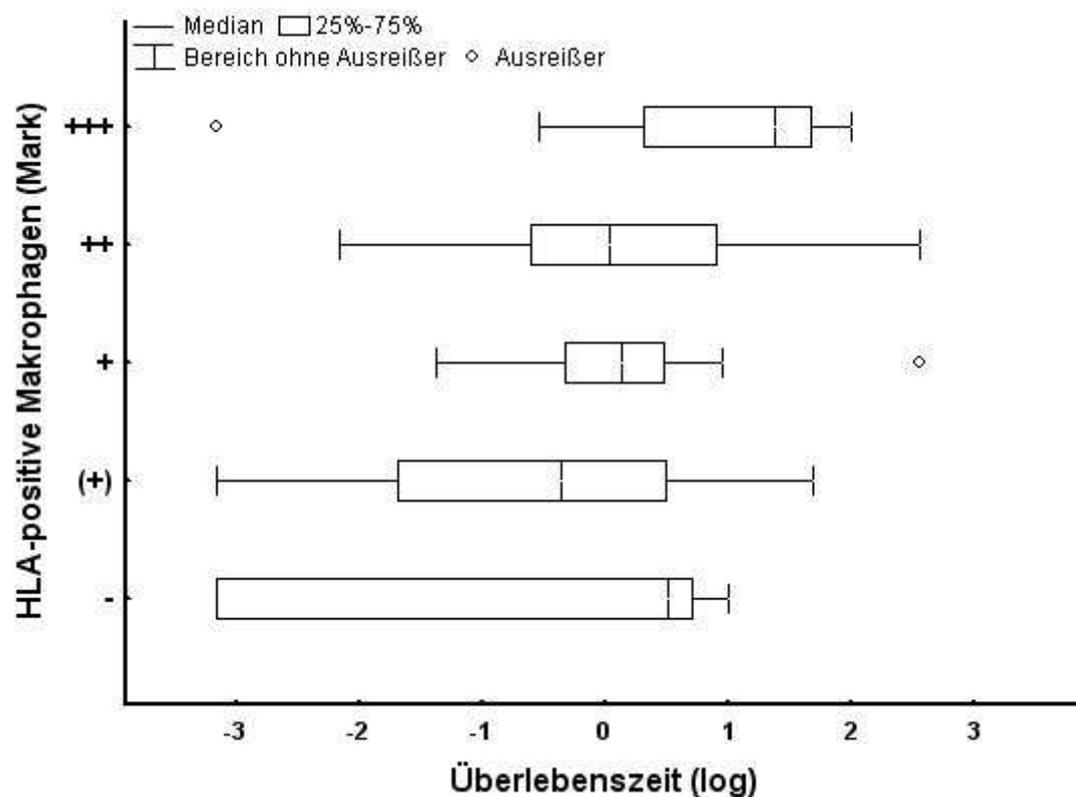


Abb. 32 Häufigkeit unterschiedlicher HLA-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.3.3.3. HAM-56-Reaktivität

Nach 24 Stunden lassen sich erste vereinzelte ((+)) und disseminiert (+) HAM-56-positive Makrophagen beobachten; in drei Fällen treten die immunreaktiven Makrophagen auch schon diffus vermehrt auf. Nach 5 Tagen bis 100 Tage finden sich vor allem aggregierte (++) oder diffus vermehrte (+++) HAM-56 exprimierende Zellen. Nach einer Überlebenszeit > 1 Jahr lassen sich lediglich wenige disseminiert (+) auftretende Zellen nachweisen (Abb.33).

Auch hier korreliert die zunehmende Immunreaktivität mit eher längere Überlebenszeit (Abb.34).

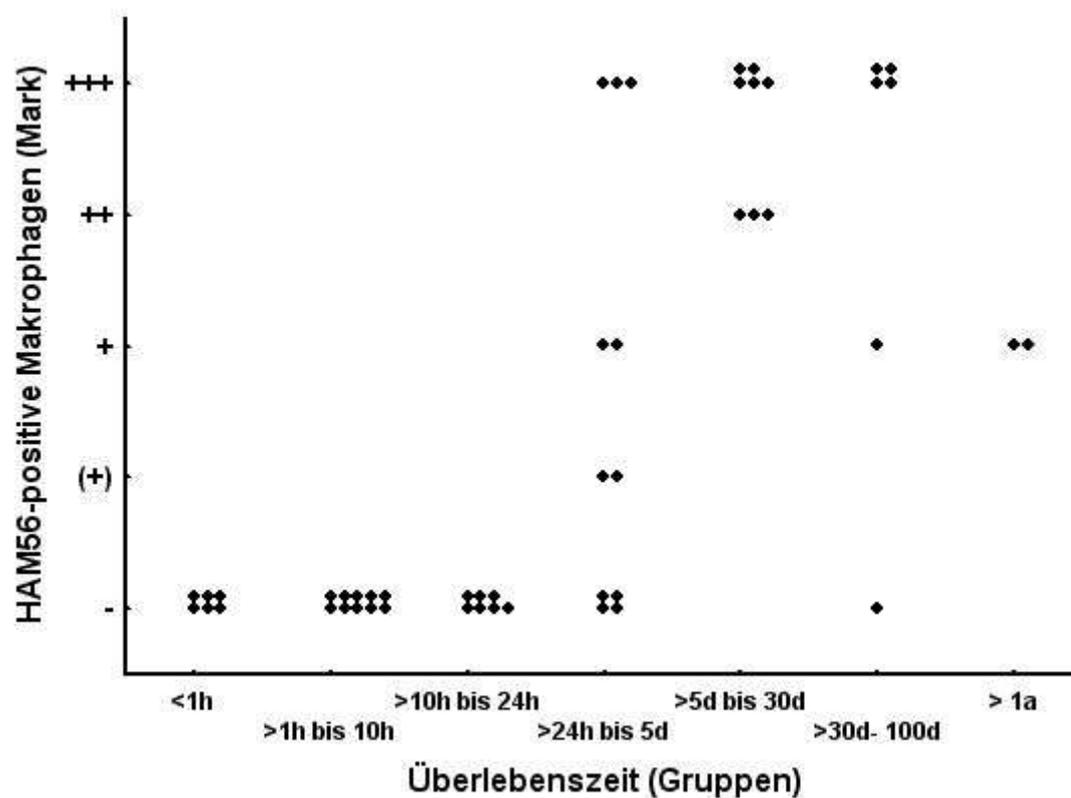


Abb. 33 Anzahl (n) der Fälle mit HAM-56-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung in angrenzenden Markstrukturen

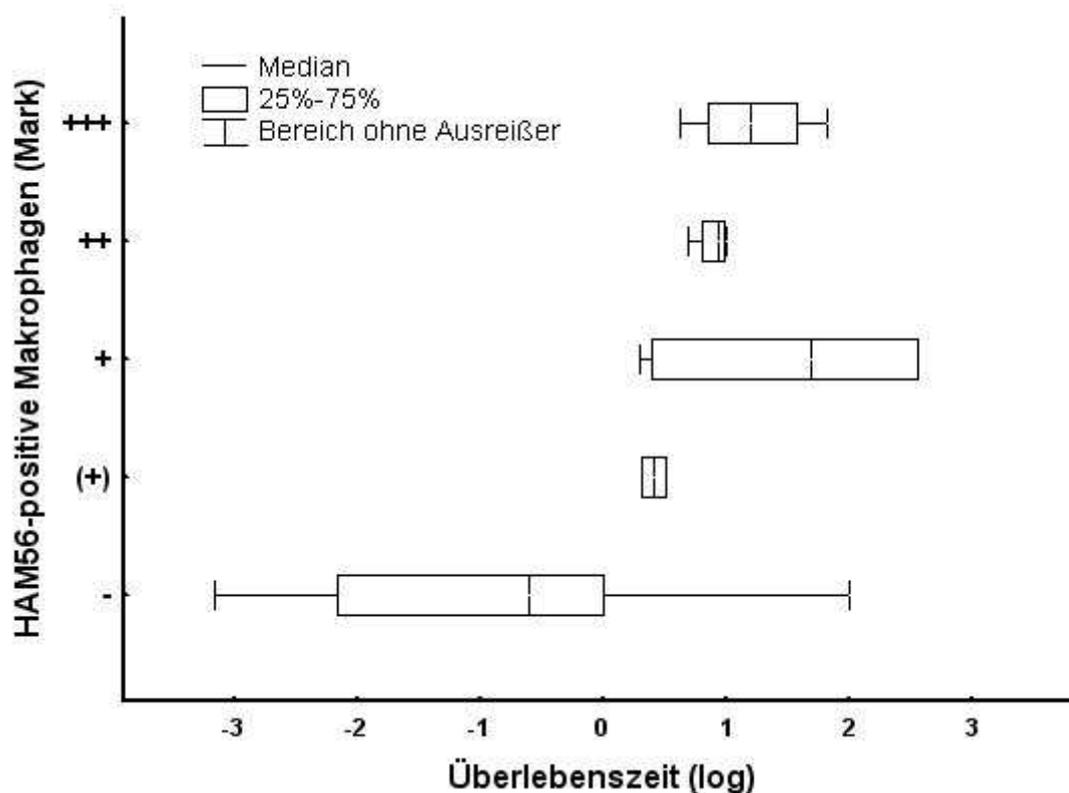


Abb. 34 Häufigkeit unterschiedlicher HAM-56-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.3.3.4. LN-5-Reaktivität

Bis zu einer Überlebenszeit von 24 Stunden lassen sich im Marklager nur in einem Fall LN-5-reaktive Makrophagen nachweisen, während in der Zeit zwischen 24 Stunden und 5 Tagen vereinzelt ((+)) oder vermehrt disseminierte (+), in einem Fall aggregierte (++) und diffus vermehrte positiv reagierende Makrophagen nachweisbar werden. 5 Tage bis 30 Tage nach dem Trauma stellen sich positiv reagierende Makrophagen mit uneinheitlichem Ausprägungsgrad dar. Nach 30 bis 100 Tagen finden sich diffus vermehrte (+++) LN-5-positive Zellen, wobei jedoch doppelt so viele negative Fälle (Abb.35) auffallen.

Die Zuordnung zu verschiedenen Klassen Überlebenszeitklassen erweist sich aufgrund einer breiten zeitlichen Streuung innerhalb der Gruppe ohne jegliche LN-5-reagierenden Makrophagen problematisch. Ein Anstieg der mittleren Überlebenszeit bei zunehmender Intensität der LN-5-Expression ist nichts-desto-trotz zu beobachten (Abb.36).

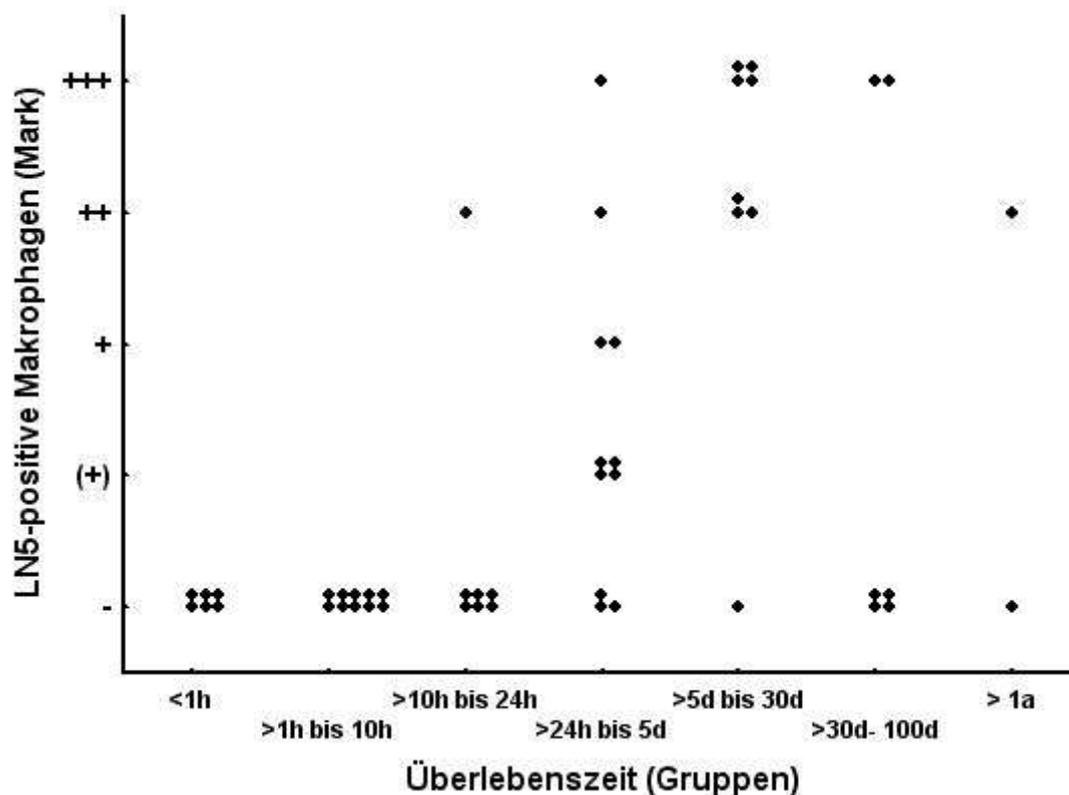


Abb. 35 Anzahl (n) der Fälle mit LN-5-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung in angrenzenden Markstrukturen

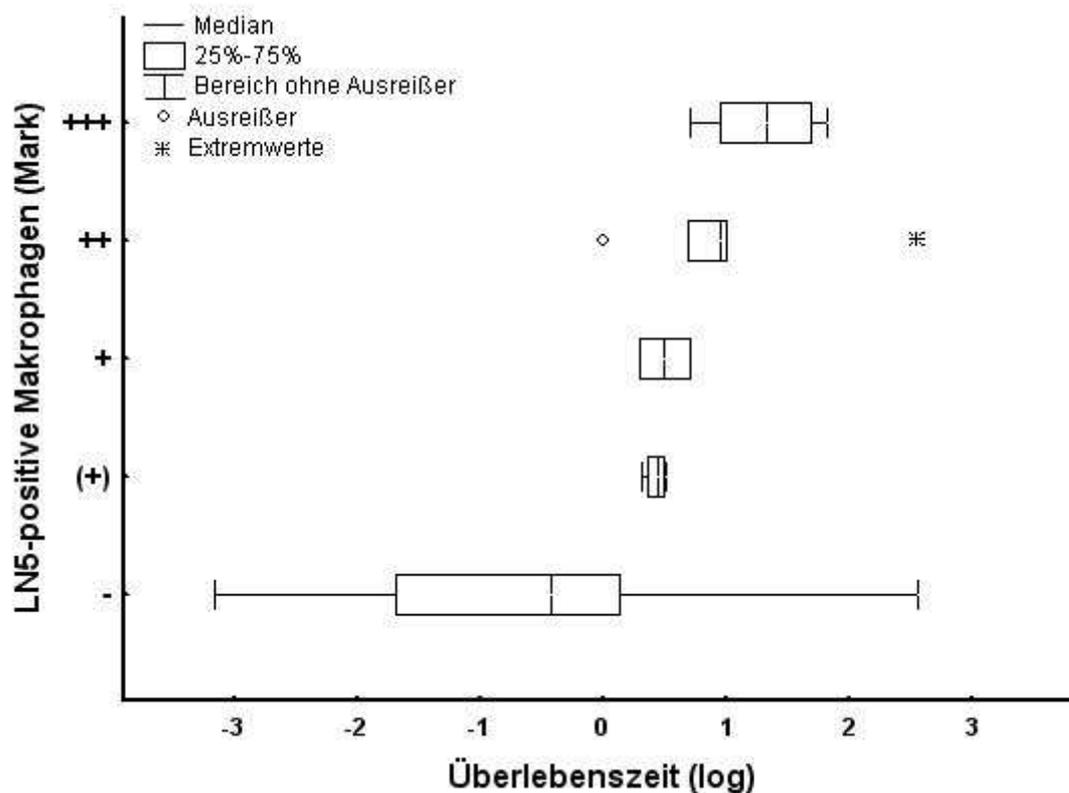


Abb. 36 Häufigkeit unterschiedlicher LN-5-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.3.3.5. 25F9-Reaktivität

Ähnlich wie in den anderen untersuchten Hirnarealen lassen sich auch im Marklager nach 24 Stunden hier vereinzelte ((+)) sowie allenfalls auch disseminierte (+) reaktive Makrophagen finden. Nach 5 Tagen überwiegen die Fälle mit aggregierten (++), teils diffus vermehrte (+++) reaktiven Makrophagen (Abb.37).

In der überwiegenden Zahl der Fälle ist eine 25F9-Expression nicht nachzuweisen. In der Zeit von 5 bis 30 Tage finden sich 3 Fälle mit disseminiert (+) auftretenden Makrophagen. Alle übrigen Zeitklassen zeigen nur in einzelnen Fällen positiv reagierende Makrophagen (Abb.37). Abb.38 zeigt die breite zeitliche Streuung.

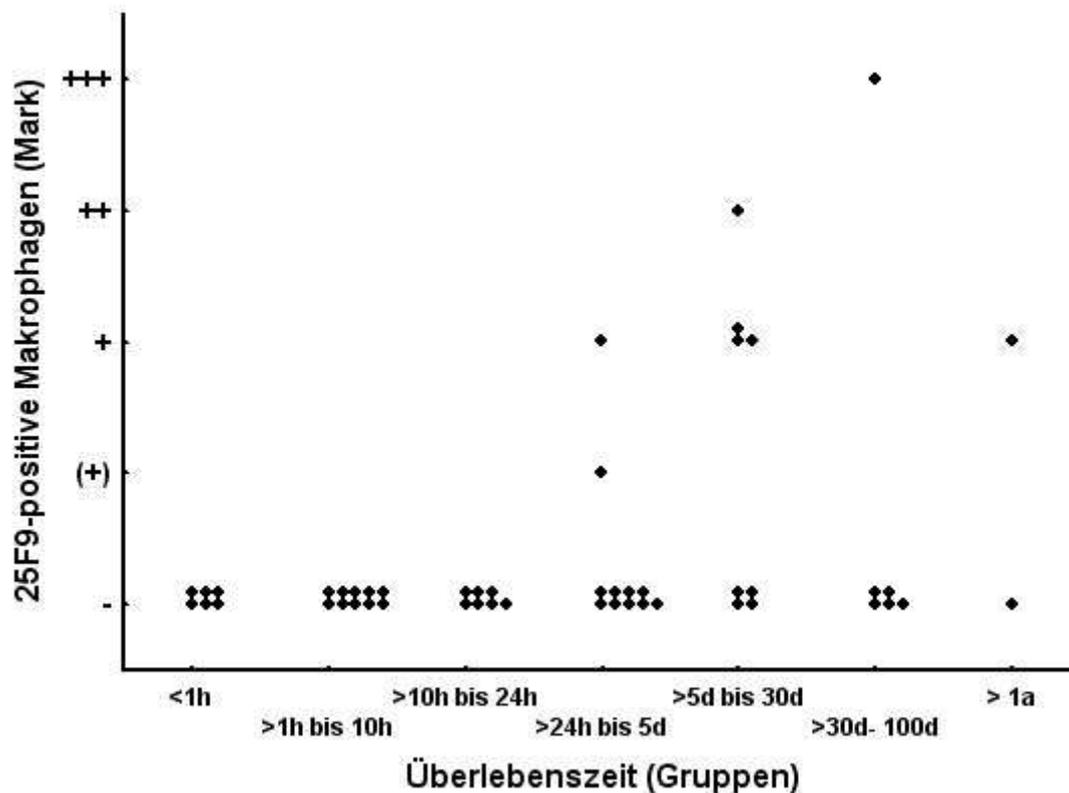


Abb. 37 Anzahl (n) der Fälle mit 25F9-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung in angrenzenden Markstrukturen

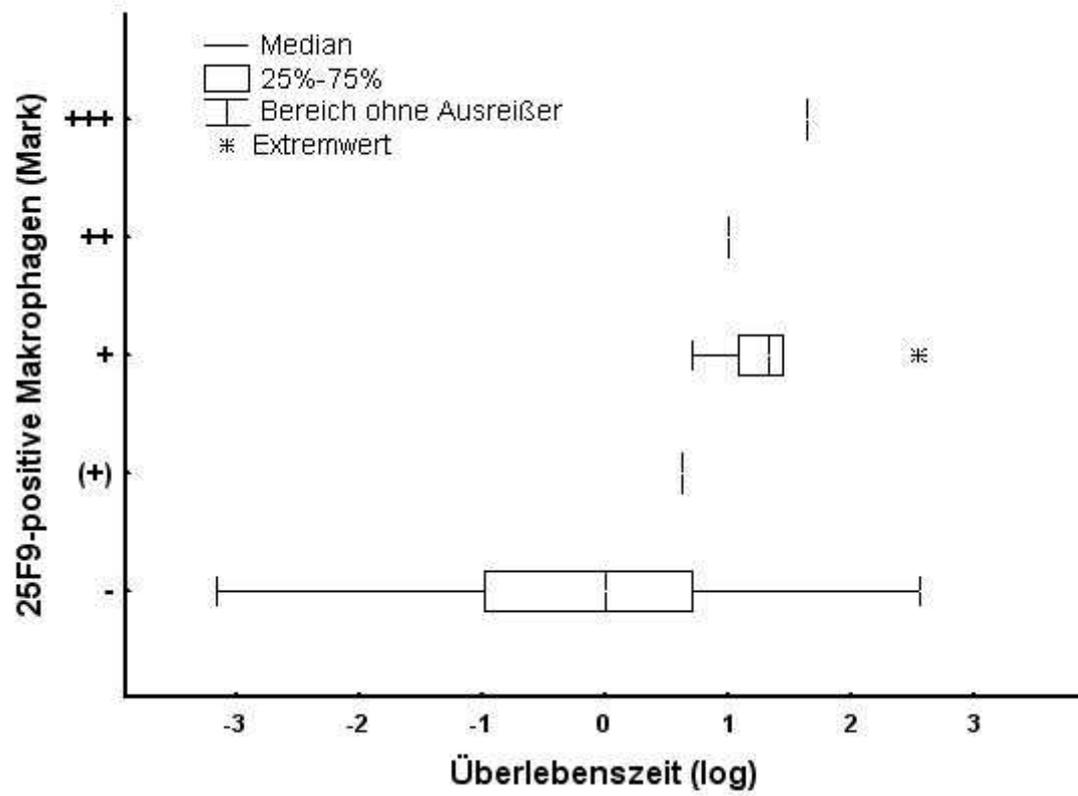


Abb. 38 Häufigkeit unterschiedlicher 25F9-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.4.4. Subarachnoidalraum

3.4.4.1. CD68-Reaktivität

Nach circa 10 Stunden sind in der Blutung innerhalb des Subarachnoidalraumes die ersten CD68-positiven Makrophagen nachweisbar; in einem Fall ließen sich dissemiert (+) CD68-positiv Makrophagen zeigen. Ab Tag 5 und bis zum 100 Tag nach dem Trauma stellt sich eine diffuse Vermehrung (+++) von CD68-positiven Makrophagen dar und somit eine deutliche Zunahme der Antigenexpression. Lediglich in einem Fall konnte in der Gruppe „30 Tage bis 100 Tage“ keine CD68-Markierung beobachtet werden. In anderen Fällen konnten nach einem Jahr noch CD68-positiv Makrophagen gefunden werden (Abb.39).

Je länger das Trauma überlebt wurde, desto geringer war die zeitliche Streubreite in den verschiedenen quantitativen Klassen (Abb.40).

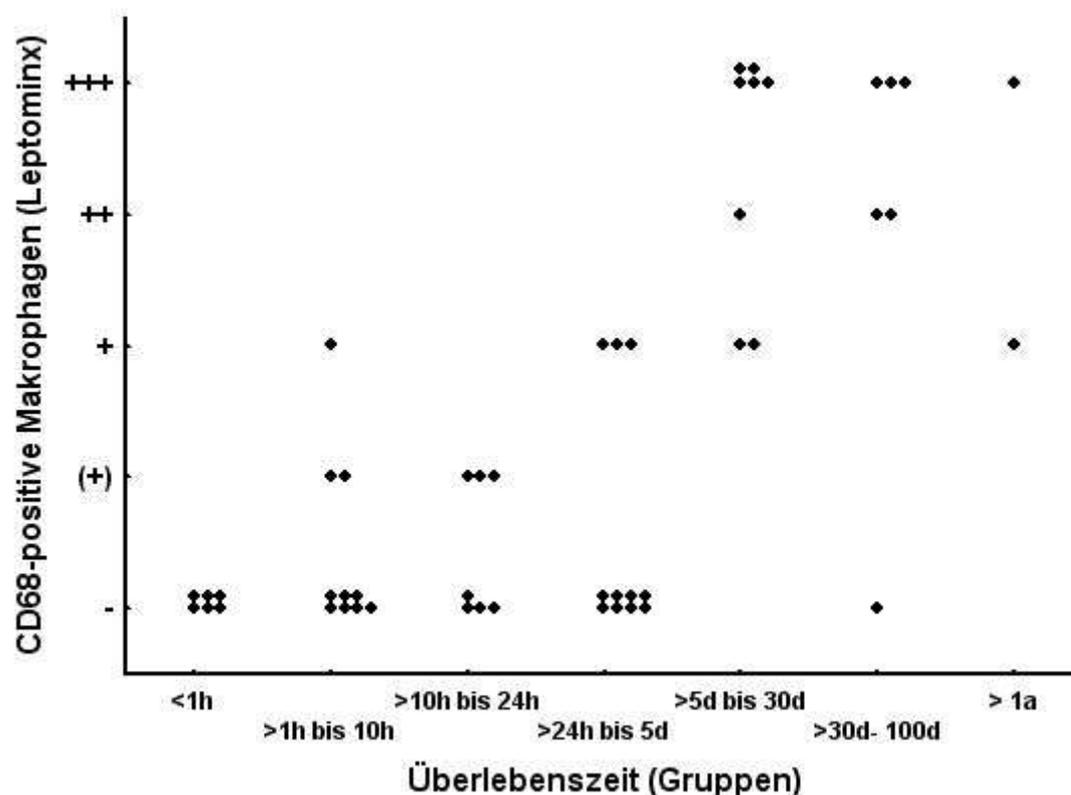


Abb. 39 Anzahl (n) der Fälle mit CD68-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung im Subarachnoidalraum

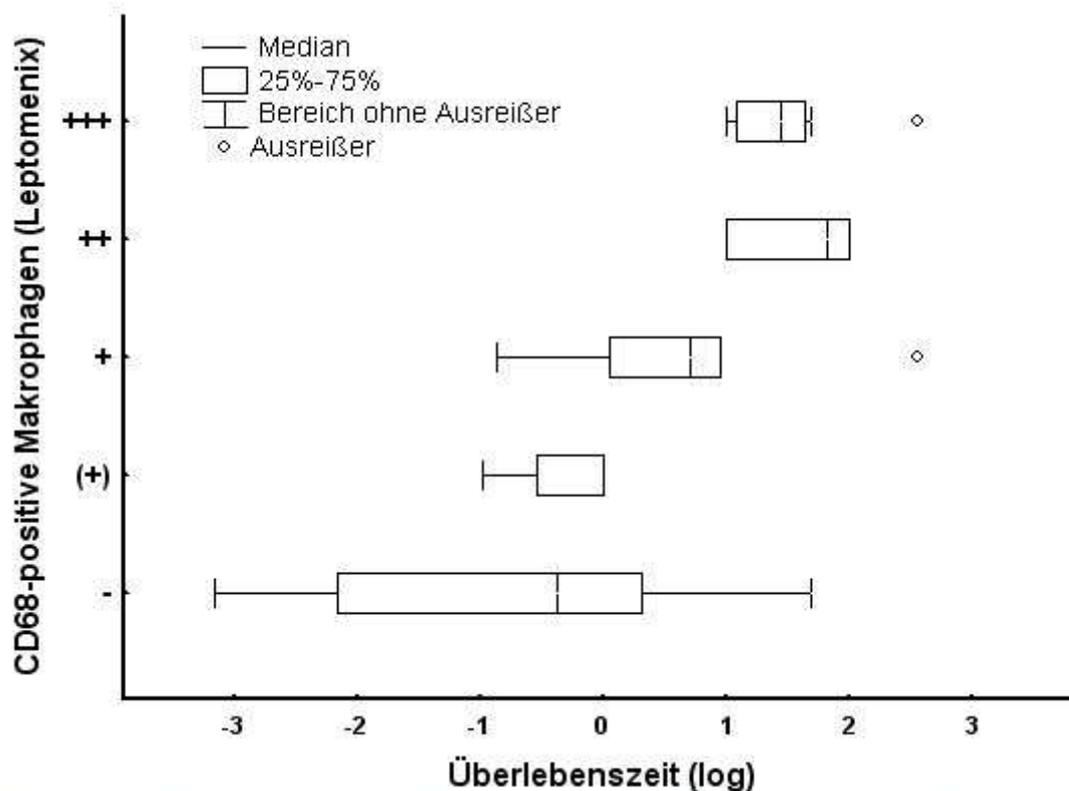


Abb. 40 Häufigkeit unterschiedlicher CD68-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.4.4.2. HLA-D-Reaktivität

Schon nach kurzer Überlebenszeit (0-10 Stunden) lassen sich in nahezu allen Fällen HLA-D-positive Makrophagen darstellen. Die quantitativen Verhältnisse ändern sich jedoch mit zunehmender Überlebenszeit eher rückläufig: Die Anzahl an positiv reagierenden Makrophagen nimmt eher ab (Abb. 42).

Bei kurzen Überlebenszeiten finden sich mithin mehr reagible Makrophagen als bei längeren Überlebenszeiten. Dieses Phänomen wird an einer rückläufigen Darstellung des Medians bei Korrelation von Überlebenszeit und Markierungsindex deutlich (Abb.42).

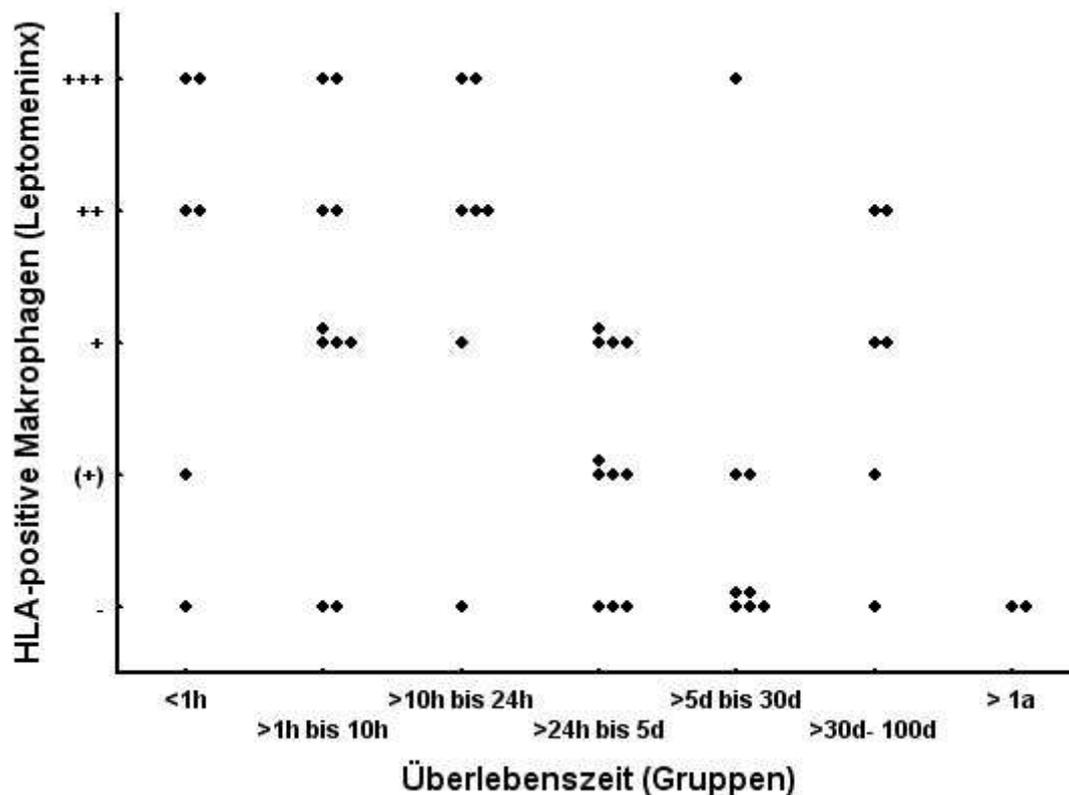


Abb. 41 Anzahl (n) der Fälle mit HLA-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung im Subarachnoidalraum

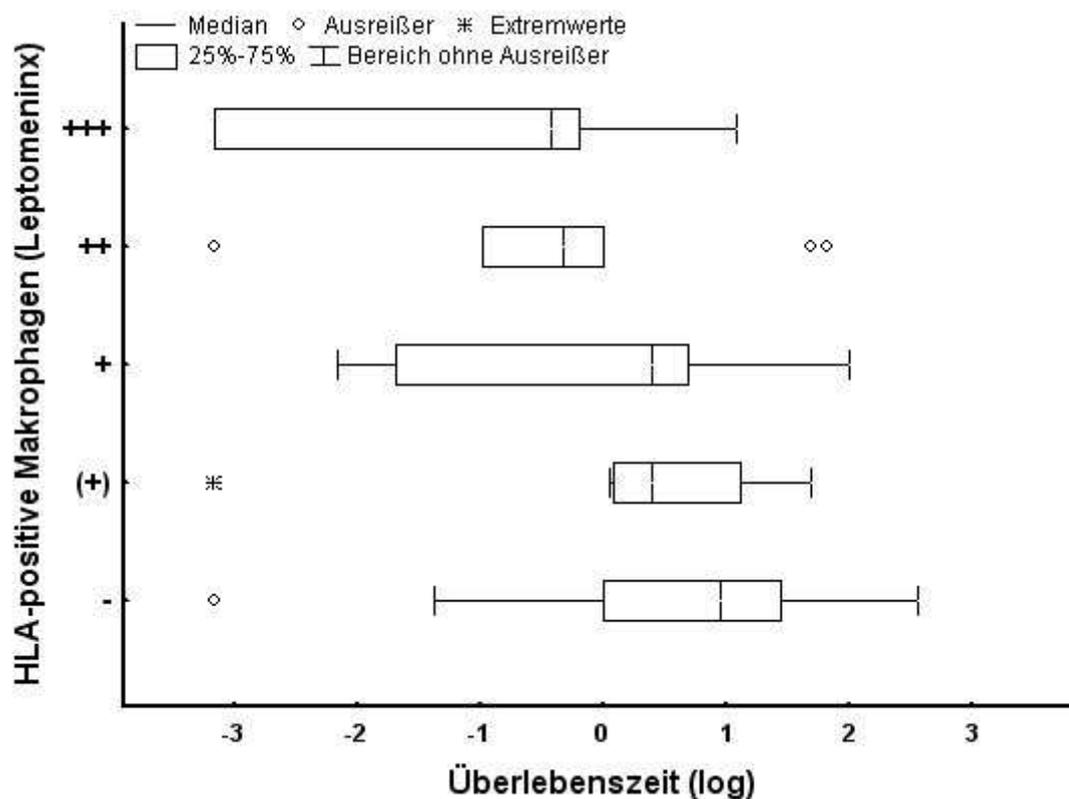


Abb. 42 Häufigkeit unterschiedlicher HLA-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.4.4.3. HAM-56-Reaktivität

Im Zeitraum von ca. 10 bis 24 Stunden lassen sich im Subarachnoidalraum in einigen Fällen vereinzelte ((+)) HAM-56-markierte Makrophagenzellen nachweisen. In den Fällen der Überlebenszeitgruppe „24 Stunden bis 5 Tage“ treten HAM-56-positive Zellen in allen Ausprägungsgraden auf. Ausschließlich aggregiert (++) oder diffus vermehrt (+++) auftretende HAM-56-reagible Zellen lassen sich ab Tag 5 nach dem Trauma beobachten. Auch nach einem Jahr finden sich noch disseminiert (+) positiv reagierende Makrophagen (Abb.43).

Die Zahl der Fälle mit zunehmenden HAM-56-positive Makrophagen nimmt mit zunehmender Überlebenszeit zu (Abb.44).

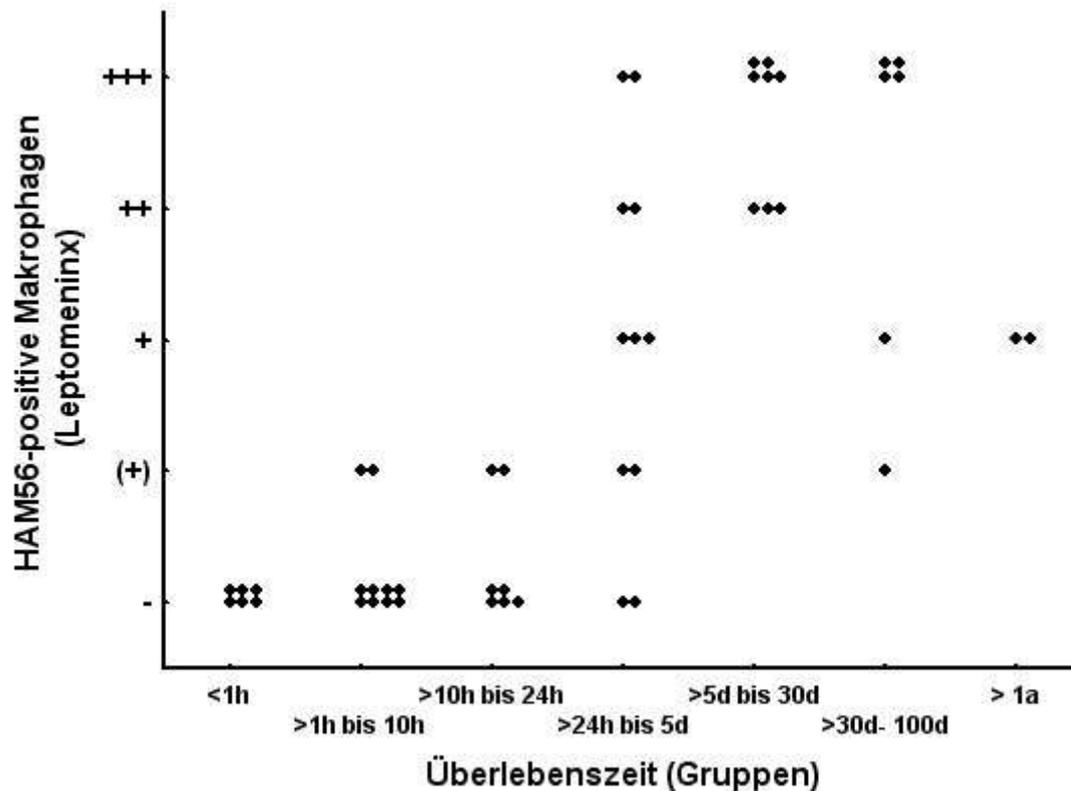


Abb. 43 Anzahl (n) der Fälle mit HAM-56-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung im Subarachnoidalraum

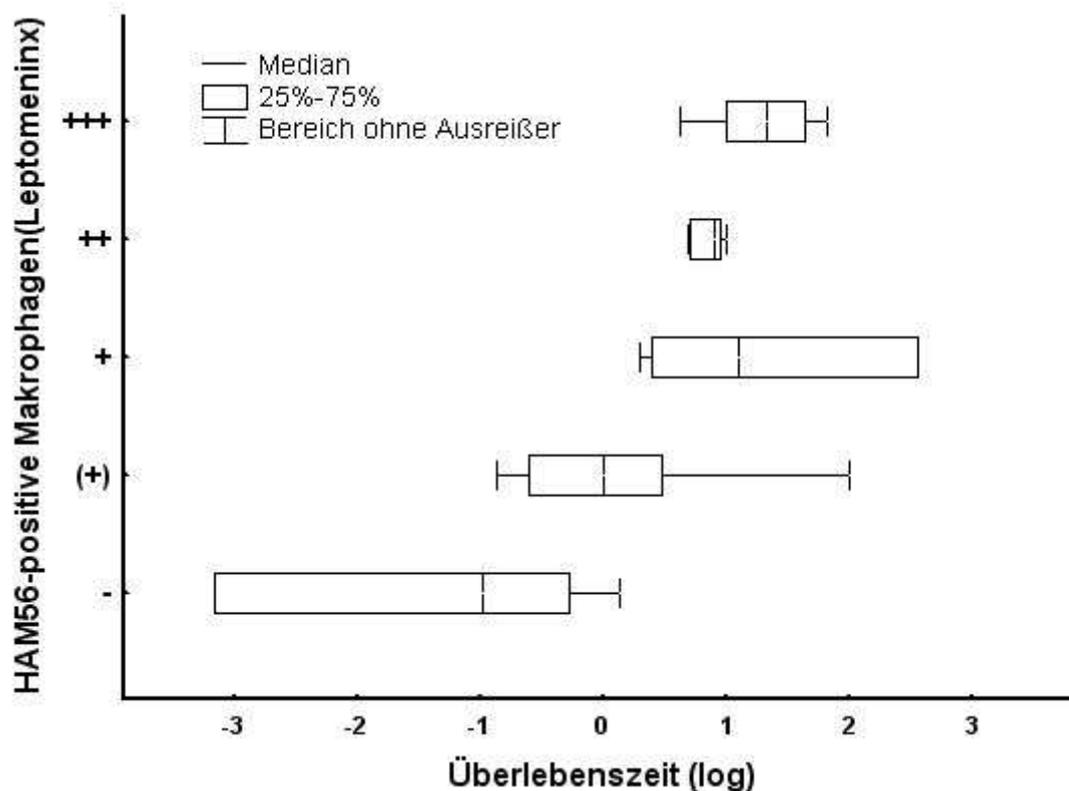


Abb. 44 Häufigkeit unterschiedlicher HAM-56-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.4.4.4. LN-5-Reaktivität

Schon vor Ablauf von 24 Stunden lassen sich in einem Fall aggregierte (++) LN-5-reagible Makrophagen beobachten. In dem Zeitraum von 24 Stunden bis 5 Tage sind nur vereinzelte ((+)) oder mehrer disseminierte (+) LN-5-positive Zellen erkennbar. Bei einer Überlebenszeit von > 5 Tage ist eine Zunahme der Anzahl positiv reagierender Zellen zu beobachten. In den 13 Fällen finden sich aggregierte (++) oder diffus vermehrte (+++) LN-5-positive Makrophagen. Nach einer Überlebenszeit von > 30 Tagen wird eine Abnahme positiv reagierender Zellen deutlich (Abb.45).

Abb.46 verdeutlicht die Korrelation der beiden Klassen mit deutlicherer Markierung (++, +++) mit einer längeren Überlebenszeit. Allerdings weist die Klasse ohne LN-5-reagiblen Zellen eine breite zeitliche Streuung auf.

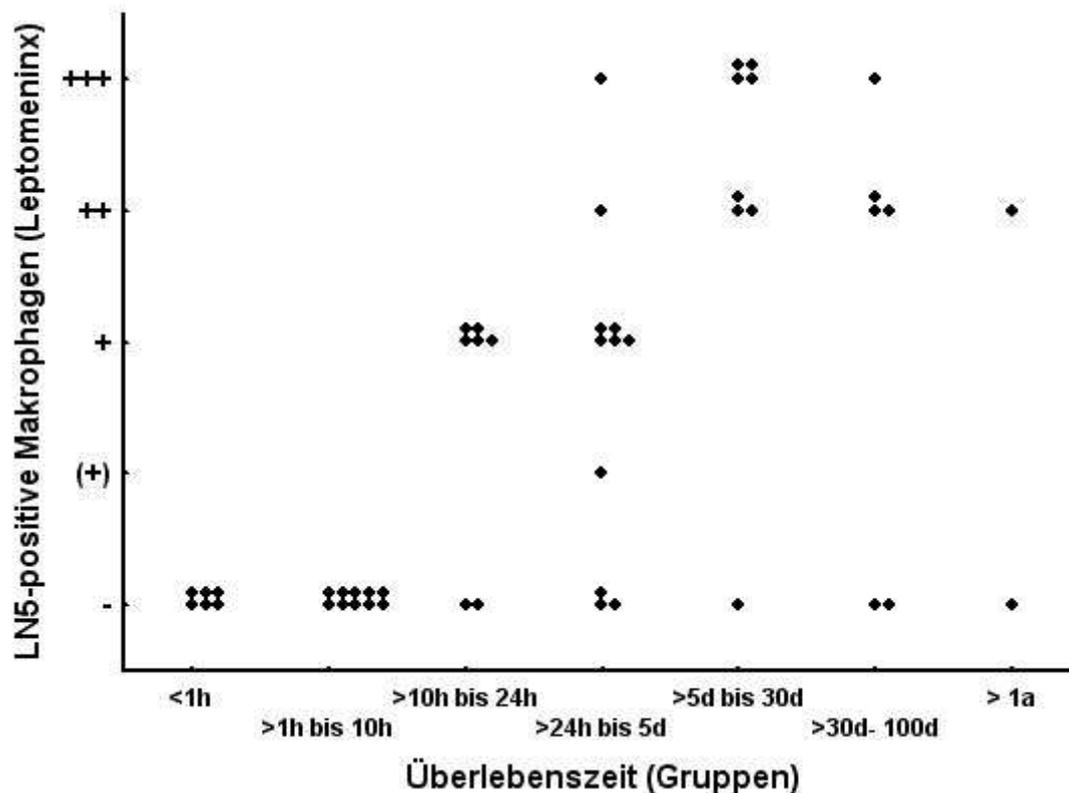


Abb. 45 Anzahl (n) der Fälle mit LN-5-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung im Subarachnoidalraum

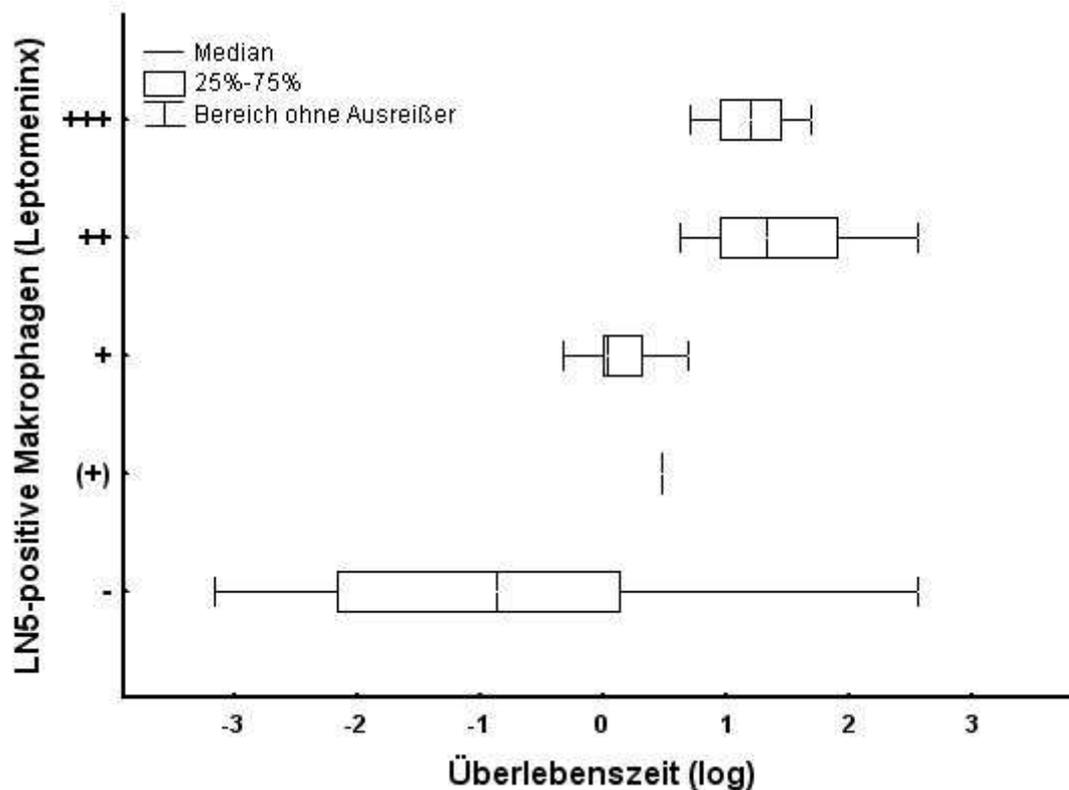


Abb. 46 Häufigkeit unterschiedlicher LN-5-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.4.4.5. 25F9-Reaktivität

Nach 10 Stunden, nach 24 Stunden und nach 5 Tagen ließen sich disseminierte (+) 25F9-positive Zellen jeweils in lediglich einem Fall nachweisen. In einem weiteren Fall ließen sich diffus-vermehrte (+++) 25F9-positive Zellen nach einer Überlebenszeit von 30 Tagen bis 100 Tagen nachweisen (Abb.47).

Eine relativ große Anzahl an Fällen ist ohne positiv reagierende Makrophagen in allen Überlebenszeiten zu finden. Eine kleine Anzahl an Fällen mit vereinzelt ((+)) und disseminiert (+) auftretenden positiven Makrophagen lässt sich über ein breites zeitliches Intervall nachweisen (Abb.48).

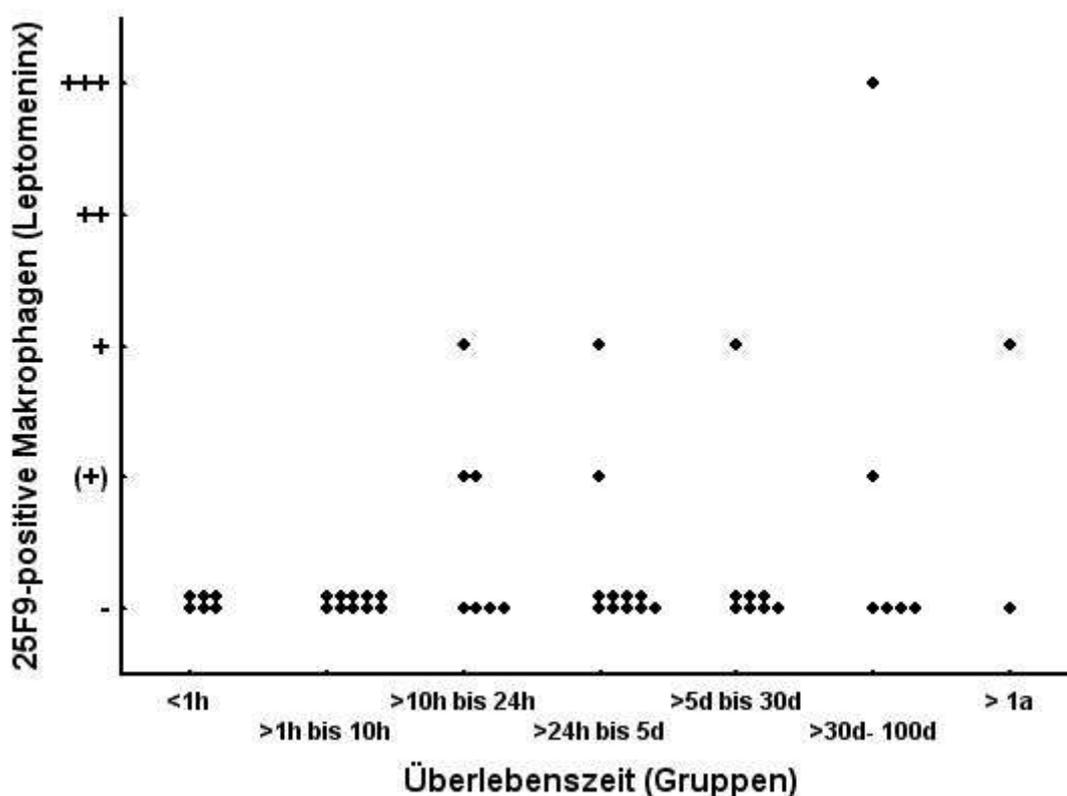


Abb. 47 Anzahl (n) der Fälle mit 25F9-positiver Immunreaktion in Makrophagen bei unterschiedlicher Überlebenszeit nach traumatischer kortikaler Blutung im Subarachnoidalraum

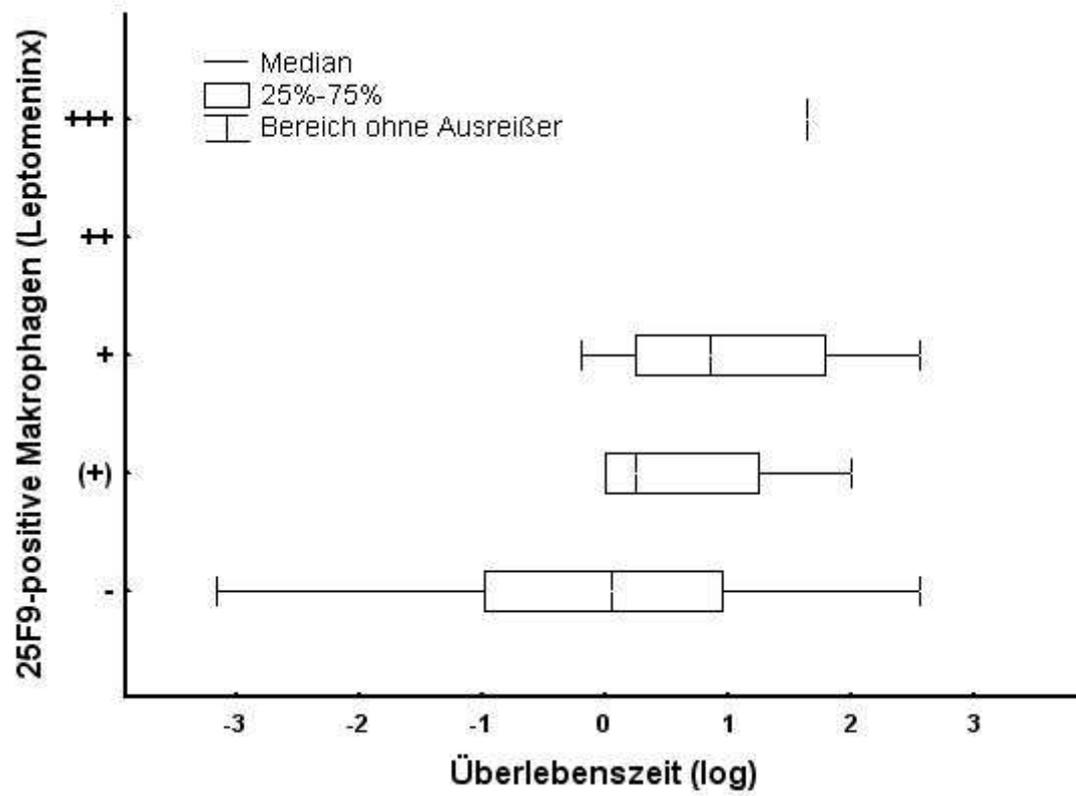


Abb. 48 Häufigkeit unterschiedlicher 25F9-Expression von Makrophagen korreliert mit der Überlebenszeit

3.5. Zusammenfassung des zeitlichen Verlaufs der zytologischen Phänomene

3.5.1. Routinefärbungen

Erythrozyten sind in allen Fällen bis zu einer Überlebenszeit von 100 Tagen zu beobachten. Ab einer Überlebenszeit > 1 Jahr sind in keinem Fall Erythrozyten mehr nachweisbar. Nachdem die aktive Emigration der Granulozyten in die geschädigte Hirnregion nach einem Tag ihren Höhepunkt erreicht hat, nahm die Zahl der Granulozyten ab und nach 49 Tagen waren keine Zellen mehr nachweisbar.

Sowohl Makrophagen als auch Siderophagen konnten erst nach einer etwas längeren Überlebenszeit nachgewiesen werden. Nach einem kontinuierlichen Anstieg bis zum 10. Tag fiel die Zahl dieser Zellen wieder ab, jedoch waren beide Zellarten auch noch nach einer Überlebenszeit > 1 Jahr nachweisbar.

Zelluläres Phänomen	Erster Nachweis	Höhepunkt	Letzter Nachweis
Erythrozyten	0 Minuten	Wenige Minuten	100 Tage
Granulozyten	30 Minuten	1 Tag	49 Tage
Makrophagen	12 Stunden	10 Tage	> 1 Jahr
Siderophagen	72 Stunden	10 Tage	> 1 Jahr

Tabelle 2 Zusammenfassung des zeitlichen Verlaufs der zytologischen Phänomene

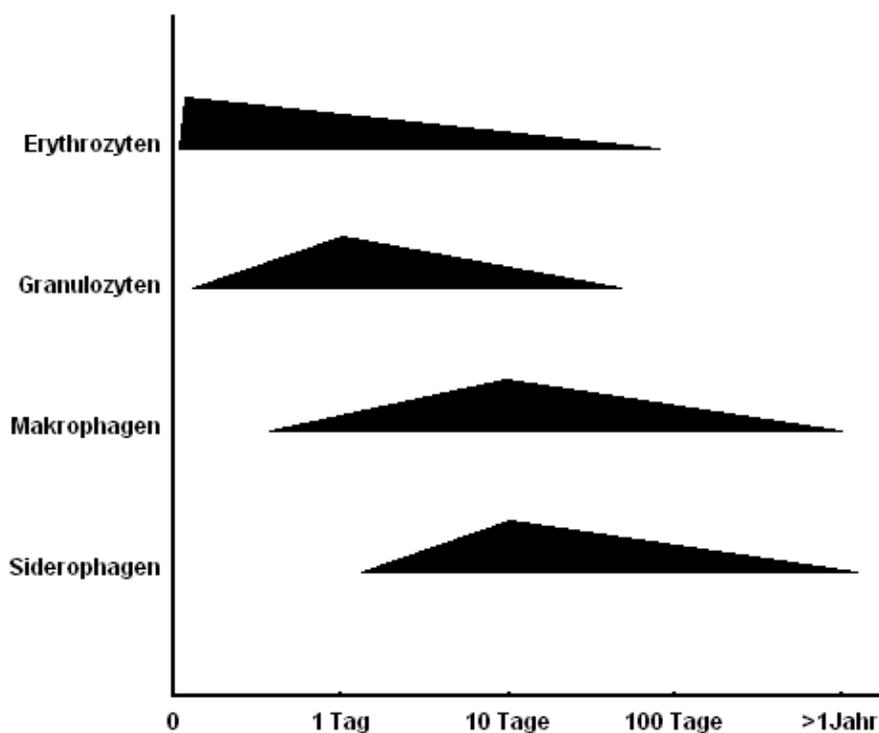


Abb. 49 Schematischer Zeitverlauf der zytologischen Phänomene

3.5.2. Antigen-Antikörper-Reaktion

LN-5 positive Zellen konnten 7 Stunden nach dem Trauma festgestellt werden, während die Antigen-Expression bis zum 20. Tag abnimmt. Aufgrund der geringen Fallzahl bei Fehlen von Fällen mit längeren Überlebenszeiten kann keine sichere Aussage gemacht werden.

Innerhalb der Blutung konnten nach 24 Stunden erste HAM-56-positive Zellen gefunden werden.

Während CD68 im Marklager permanent exprimiert wird, ließ sich nach 24 Stunden ein kontinuierlicher Anstieg der Expression innerhalb der Blutung nachweisen.

Makrophagen mit HLA-Reaktion konnten nahezu immer dargestellt werden. Im Marklager fanden sich permanent sowohl CD68- als auch HLA-reaktive Makrophagen.

25F9-positive Zellen fanden sich lediglich in 20 % der untersuchten Fälle. Erst nach 4 Tagen konnten vermehrt 25F9-positive Zellen in der angrenzenden Hirnrinde festgestellt werden.

Immunreaktion/Hirnareal	Blutungsbereich	Hirnrinde	Marklager	Subarachnoidalraum
LN-5	7h/20d/<1a	48h/20d/>1a	24h/20d/>1a	11h/2d/>1a
HAM-56	24h/25d/>1a	48h/25d/>1a	48h/25d/>1a	3h/25d/>1a
CD68	24h/25d/>1a	0,5h/25d/>1a	0h/25d/>1a	2,5h/25d/>1a
HLA-D	0h/40d/>1a	3h/60d/>1a	0h/40d/>1a	0h/0h-24h/100d
25F9	24h/72h/50d	4d/30d/>1a	4d/30d/>1a	15h/50d/>1a

Tabelle 3 Zeitpunkt des ersten Nachweises, Höhepunktes und letzten Nachweises unterschiedlicher Immunreaktionen in Abhängigkeit von der Überlebenszeit nach traumatischer Einwirkung

Die Entwicklung der unterschiedlichen Antigenreaktionen in den verschiedenen Kompartimenten lassen sich graphisch darstellen und führen zusammenfassend zu den Ergebnissen entsprechend Abb.50 bis Abb.53.

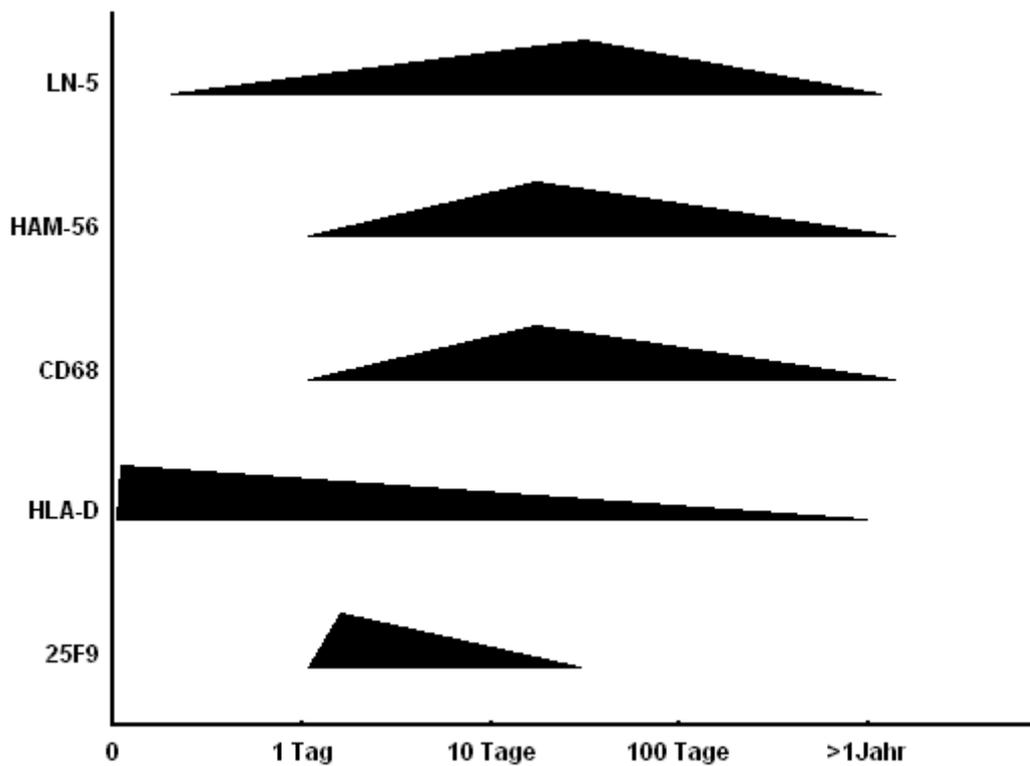


Abb. 50 Graphische Darstellung der Entwicklung der unterschiedlichen Phänomene in Abhängigkeit von der Überlebenszeit nach traumatischer Einwirkung im Blutungsbereich

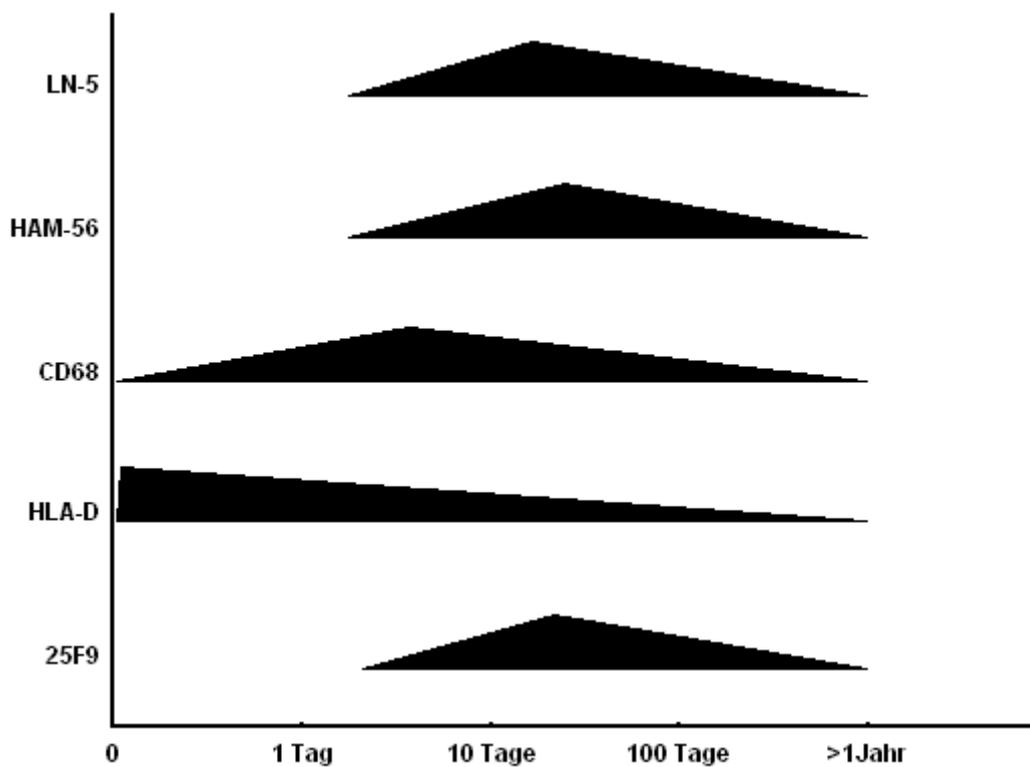


Abb. 51 Graphische Darstellung der Entwicklung der unterschiedlichen Phänomene in Abhängigkeit von der Überlebenszeit nach traumatischer Einwirkung in der Hirnrinde

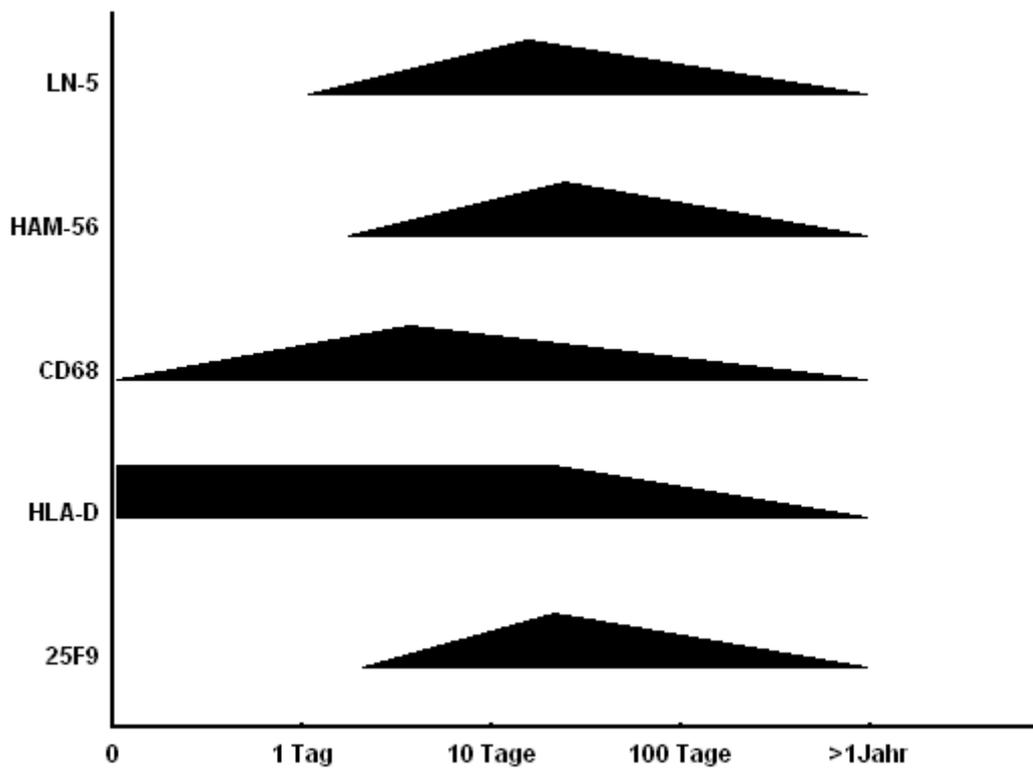


Abb. 52 Graphische Darstellung der Entwicklung der unterschiedlichen Phänomene in Abhängigkeit von der Überlebenszeit nach traumatischer Einwirkung im Mark

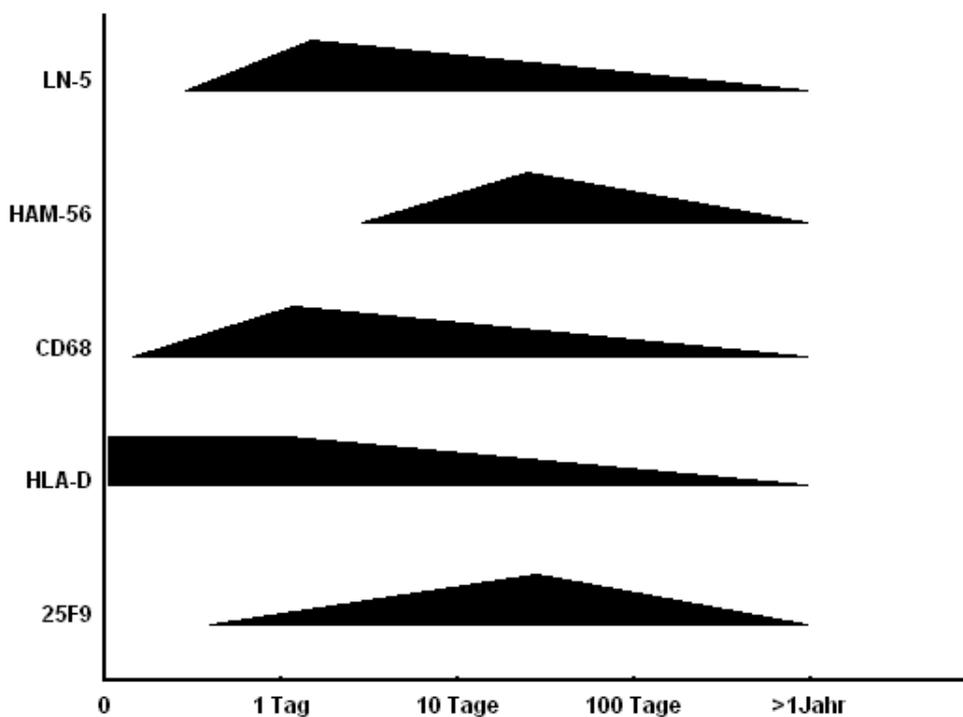


Abb. 53 Graphische Darstellung der Entwicklung der unterschiedlichen Phänomene in Abhängigkeit von der Überlebenszeit nach traumatischer Einwirkung im Subarachnoidalraum

4. Diskussion

4.1. Allgemeines

Das Gehirn unterscheidet sich hinsichtlich vieler Faktoren gravierend von anderen Organen des Körpers. Beispiele sind u.a. das Fehlen eines lymphatischen Systems, eine organspezifische Blutkreislaufregulation, die spezifische Substratbeschränkung auf Glukose und Sauerstoff, das Vorhandensein des Liquor cerebri, die Blut-Hirn-Schranke (BHS), das Fehlen einer immunologischen Kontrolle und die Reaktion auf Verletzung und Wundheilung. Besteht eine Hirnverletzung können Schwierigkeiten bei der Unterscheidung zwischen zu Lebzeiten beigebrachten oder postmortalen Verletzungen entstehen (Oehmichen 1995).

Wegen des Fehlens eines lymphatischen Systems und der bestehenden BHS wurde das ZNS des menschlichen Körpers lange Zeit als immunologisch besondere Region des Körpers angesehen. Allerdings wurde zwischenzeitlich in zahlreichen Studien gezeigt, dass das Gehirn sehr wohl zu einer immunologischen Antwort fähig ist (Streit et al. 1988, Frei und Fontana 1989), z.B. durch die Expression von MHC II durch ruhende MG in einem pathologisch veränderten Gehirn (Hayes et al. 1987, Gehrman et al. 1993).

4.2. Immunreaktivität von Makrophagen und Altersbestimmung

4.2.1. CD68

CD68-Antikörper finden seit längerem Anwendung zur selektiven Darstellung von menschlichen Makrophagen in verschiedenen Geweben. Außerdem werden mithilfe dieses Antikörpers Untergruppen der akuten myeloischen Leukämie klassifiziert (Cordell et al. 1995). Auch bei neuropathologischen Fragestellungen wird dieser Antikörper regelmäßig genutzt, da er aktivierte bzw. zu Makrophagen differenzierte Mikrogliazellen markiert. In Untersuchungen von Hulette et al. (1992) und Meyermann et al. (1997) fanden diese eine permanente Expression von CD68 in ruhender Makrophagen. Auch Holmin et al. (1998) fanden CD68 in ruhender Makrophagen exprimiert.

Bei einem geschlossenen SHT wurden nach einem posttraumatischen Intervall von weniger als 24 Stunden wenige CD68-positive Makrophagen beobachtet. Hingegen fand sich nach 3-5 Tagen eine größere Dichte an CD68-positiven Zellen. Oehmichen et al. (2003a) fanden in 20 % der untersuchten Fälle 2,4 Stunden nach Trauma vereinzelt CD68-markierte Zellen innerhalb der Blutung. Nach einem posttraumatischem Intervall von

einem Tag konnte in allen Fällen einzelne CD68-markierte Makrophagen nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse unserer Untersuchung entsprechen der Literatur. Wie auch Hulette et al. (1992) und Engel et al. (1996) konnte eine permanente Expression von CD68 hauptsächlich im Marklager nach bzw. bei kortikaler Blutung nachgewiesen werden. Nach 48 Stunden ließ sich ein nahezu kontinuierlicher Anstieg der CD68 Expression mit zunehmender Überlebenszeit beobachten.

Bezüglich der *Funktion* von CD68 wird vermutet, dass dieses Antigen eine Rolle bei der Endozytose und/oder dem lysosomalen Transport innerhalb des Makrophagen spielt. Somit könnte die Expression dieses Antigens ein Hinweis auf die Phagozytosefähigkeit bzw. Phagozyten-Aktivität der Zelle sein.

4.2.2. HLA-D (DP, DQ, DR)

Das Antigen ist Teil des Haupthistokompatibilitätskomplexes II (MHC II). Dieser Komplex gehört zu einer Gruppe membrangebundener Glykoproteine, die die Immunantwort steuern.

Während die MHC I Moleküle hauptsächlich eine Rolle bei der Bekämpfung von Viruserkrankungen spielen, dienen die MHC II Moleküle dazu, bakterielle Infektionen zu bekämpfen. Mithilfe der Moleküle werden Bestandteile der vorher phagozytierten Fremdkörper (Teile der Bakterien) an der Zelloberfläche von Makrophagen oder B-Lymphozyten präsentiert und so den T-Helfer-Lymphozyten zugänglich gemacht. Werden diese Antigene als fremd erkannt, werden die Makrophagen und/oder die B-Lymphozyten von den T-Helfer-Lymphozyten aktiviert. Die phagozytierten Bestandteile im Makrophagen-Zytoplasma werden abgebaut und der B-Lymphozyt wird zu einer antikörperproduzierenden Plasmazelle transformiert (Janeway CA et al. 1997).

Zur Beobachtung der Makrophagen-Reaktionen bei gedeckten SHT wurden HLA-Antikörper bisher nur in wenigen Studien eingesetzt. Die Untersuchung der Makrophagen-Reaktion nach mechanischer Verletzung des Gehirns durch Meyermann et al. (1997) beschreibt eine andauernde Expression von HLA-D. In allen von dieser Arbeitsgruppe untersuchten 17 Fälle fanden sich HLA-D positive Zellen, sowohl am Ort der Verletzung/Blutung, als auch in der direkten Umgebung und in größerer Entfernung vom geschädigten Gewebe, so z.B. auch in der nicht verletzten Hemisphäre.

Holmin et al. (1998) haben mit zwei Antikörper gegen die zwei Subtypen des MHC II (HLA-D und HLA-DQ) Makrophagen markiert. HLA-D wurde von ruhender MG

exprimiert. In der Gruppe mit der kürzeren untersuchten Überlebenszeit (0-24 Stunden) fanden sich nur wenige Makrophagen mit Expression von HLA-DQ, während in der Gruppe mit einer längeren Überlebenszeit (3-5 Tage) eine deutliche Zunahme der HLA-DQ Expression beobachtet wurde.

Die zuletzt zitierten Untersuchungsergebnisse decken sich mit den Ergebnissen der eigenen Untersuchung, wobei der verwendete Antikörper mit allen HLA-Subtypen reagiert. In der eigenen Untersuchung konnte ferner nachgewiesen werden, dass die Expression in den unterschiedlichen Kompartimenten unterschiedlich abläuft. Im Großhirn, Mark und im Subarachnoidalraum lässt sich kein zeitlicher Ablauf nachweisen. Im Blutungsbereich und im Kortex am Rande der Blutung ist in einzelnen Fällen schon innerhalb der ersten Stunden eine Expression in einzelnen Makrophagen zu beobachten, regelmäßig jedoch erst nach 12 Stunden. Nach einem längeren posttraumatischen Intervall von 12 Tagen findet sich eine weitere deutliche Zunahme der Expression.

4.2.3. HAM-56

Der Antikörper HAM-56 wird in der Diagnostik der Pathologie vielfältig eingesetzt, da er in mit Makrophagen unterschiedlicher Funktionszuständen in unterschiedlichen Geweben reagiert. Er wurde u.a. bei Nachweis von Makrophagen in atherosklerotischen Veränderungen von Gefäßen eingesetzt (Gown et al. 1986), ebenso wie zur Unterscheidung zwischen akuten, chronisch aktiven und inaktiven ZNS-Läsionen bei Multipler Sklerose (Adams und Poston 1990). Ferner wurde mit Hilfe der HAM-56 Expression Makrophagen von neoplastischen Gliomzellen unterschieden (Hulette et al. 1992, Cummings et al. 2001). Über die Funktion des Antigens ist bislang jedoch wenig bekannt.

Den zeitlichen Ablauf der HAM-56 Expression haben bisher nur Meyermann et al. (1997) berücksichtigt. Sie haben in 17 Fällen mit schweren geschlossenem SHT und Kontusionsblutungen die Makrophagenreaktion untersucht. Nach 72 Stunden gelang der erste Nachweis von HAM-positiven Zellen. In der eigenen Untersuchung gelang ein Nachweis von HAM-56 markierten Zellen je nach untersuchtem Kompartiment bereits 30-48 Stunden nach traumatischer Einwirkung.

4.2.4. LN-5

Untersuchungen mit diesem Antikörper zur Korrelation mit der Überlebenszeit liegen bisher nicht vor. Wie schon im Falle von HAM-56 so ist auch bei dem Antikörper LN-5

wenig über die Funktion des Antigens bekannt. Bekannt ist, dass sowohl LN-5 als auch der mit ihm verwandte Antikörper LN-4 mit menschlichen Makrophagen und Histozyten reagieren. Beide Antikörper können u.a. zur Diagnostik von histiozytischen Lymphomen (Paulli et al. 1992) sowie anderen hämatopoetischen Erkrankungen, die von Makrophagen ausgehen, verwendet werden. LN-5 reagiert mit einer Vielzahl von Zellen in lymphatischen Geweben und einigen Zellen im nicht blutbildendem Gewebe. Er reagiert jedoch nicht mit Neuronen, Astrozyten, Oligodendrozyten oder ruhender Makrophagen (Bhooapat et al. 1988). Eine Untersuchung von Sasaki et al. (1996) zeigte eine Reaktivität von LN-5-Antikörpern mit perivaskulären Zellen, mit reaktiven, nicht phagozytierenden Hirnmakrophagen. Außerdem markiert LN-5 offensichtlich Zellen der Neurohypophyse, die Pituitäryten (Sasaki et al. 1993).

Die eigenen Untersuchungen bestätigen die obengenannten Beobachtungen weitgehend. Bei einer kurzen Überlebenszeit nach traumatischer Einwirkung waren keine LN-5 positive Zellen nachweisbar. Erst 24 Stunden später reagierten Makrophagen mit Hochregulierung des Antigens. Wegen der geringen Fallzahl mit längeren Überlebenszeiten ist jedoch eine sichere Aussage über die Expression des Antigens nach längerem Überleben des Traumas nicht möglich. Es ergeben sich allerdings Hinweise, dass die Expression dieses Antigens nach einem posttraumatischen Intervall von 65 Tagen rückläufig ist.

4.2.5. 25F9

Der Antikörper 25F9 markiert Gewebemakrophagen und Makrophagen in chronisch entzündlich oder kanzerös verändertem Gewebe, nicht aber Granulozyten oder Monozyten im Blut oder Makrophagen in akut entzündlichen Reaktionen (Zwaldlo et al. 1985). Auch in anderen Untersuchungen wurde 25F9 zum Nachweis reifer Makrophagen genutzt. Zum Beispiel konnten hämatom-abbauende Makrophagen bei Fremdkörperreaktionen, welche Hämosiderin und Hämatoidin enthalten, mit 25F9 markiert werden. Die Stärke der Antigenexpression war abhängig von der Aktivität der Makrophagen. In inaktiven Granulomen reagierten Makrophagen nicht mehr mit dem Antikörper 25F9 (Püschel et al. 1995). Ähnlich wie der Antikörper HAM-56 wurde auch 25F9 in neuropathologischen Untersuchungen zur Unterscheidung von Monozyten und Makrophagen in frischen Läsionen bei Multipler Sklerose angewandt (Brück et al. 1995). 25F9-markierte Makrophagen wurden in eher älteren Läsionen beobachtet: eine erste positive Reaktion konnte nach 2 Tagen beobachtet werden, während eine deutliche Zunahme der Antigenexpression frühestens nach 10 Tagen festgestellt wurde.

Dieser Antikörper wurde u.a. auch in einer Untersuchung benutzt, die sich mit der Unterscheidung zwischen protrahierter Asphyxie und akuter Asphyxie anhand der Reaktivität von Makrophagen in der Lunge befasste (Du Chesne et al. 1996).

Bisher wurde dieser Antikörper nicht für Untersuchungen zum Zwecke der Wundalterbestimmung bei Hirnkontusionen benutzt, so dass sich keine Vergleiche ziehen lassen.

Über die Funktion des exprimierten Antigens ist nichts bekannt. Es ist bemerkenswert, dass in ca. 80 % der eigenen Fälle keine 25F9-positiven Makrophagen zu beobachten waren. Legt man die restlichen 20 % zugrunde, lässt sich mit aller Vorsicht postulieren, dass Makrophagen nicht früher als 5 Tage nach Trauma mit dem Antikörper 25F9 reagieren.

4.3. Routinefärbungen und Wundalterbestimmung von Kontusionsblutungen

4.3.1. Erythrozyten

Außerhalb von Gefäßen findet man nach mechanischer Gewalteinwirkung auf das Gehirn Erythrozyten infolge mechanisch bedingten Gefäßruptur.

Oehmichen und Raff (1980) fanden Erythrozyten in allen untersuchten Fällen sofort und bis zu 5 Monate nach Trauma. Loberg und Torvik (1989) fanden in allen untersuchten Fällen unmittelbar nach dem Trauma Erythrozyten. Da jedoch bei diesen Autoren die längste Überlebenszeit lediglich 15 Tage betrug, war diese Merkmal in 100% der Fälle nachweisbar. Oehmichen et al. (2003a) konnten Erythrozyten in allen Fällen innerhalb der ersten 24 Stunden, in 76% der Fälle bis zum 10. Tag, und noch in 9% der Fälle bis zum 100. Tag nach dem Trauma beobachten.

Diese Ergebnisse decken sich mit den Ergebnissen der eigenen Untersuchung. Auch hier konnte extravasale Erythrozyten sofort und bis zu 100 Tage nach Traume beobachtet werden.

4.3.2. Granulozyten

Bezüglich des zeitlichen Auftretens von Granulozyten existieren zum Teil recht unterschiedliche Angaben in der Literatur. Oehmichen und Raff (1980) beobachteten diese Zellen 130 Minuten nach dem Trauma und bis zu 28 Tage danach. Loberg und Torvik (1989) fanden erste Granulozyten bereits innerhalb der ersten Stunde und bis zu 15 Tage nach dem Trauma. Auch Anderson und Opeskin (1998) konnte Granulozyten bereits in der ersten Stunde nach dem Trauma beobachten. Da das von ihnen untersuchte Zeitintervall

nur 48 Stunden beträgt, ist über die Dauer des Auftretens keine Angabe zu machen. In der Untersuchung von Oehmichen et al. (2003a) wurden in 18 % der untersuchten Fälle bereits nach wenigen Minuten Granulozyten nachgewiesen, in 86 % nach 2,4 Stunden. Dann nahm die Zahl der Fälle wieder ab. In 72 % der Fälle konnten Granulozyten nach einem Tag beobachtet werden. Letztmalig kamen Granulozyten nach 100 Tagen in 4% der Fälle vor.

In unserer Untersuchung konnten nach ca. 30 Minuten Überlebenszeit erste Granulozyten beobachtet werden. Der letzte Nachweis gelang nach 44 Tagen. Diese Beobachtungen decken sich grundsätzlich mit den übrigen Studien. Jedoch muss bedacht werden, dass die Aussage bezüglich des letztmaligen Auftretens nur eingeschränkt zu verwenden ist, da in dieses Zeitintervall nur wenige Zellen einbezogen werden.

4.3.3. Makrophagen

Makrophagen wurden von Oehmichen und Raff (1980) ohne spezifische Markierung erstmals 14 Stunden nach Trauma beobachtet. Anderson und Opeskin (1998) fanden Makrophagen nach einer Zeit von 48 Stunden, wie auch Loberg und Torvik (1989), wobei sich diese Untersuchungen auf lipidspeichernde Makrophagen beschränkten. Oehmichen et al. (2003a) berichten über ein erstes Auftreten dieser Zellen nach 11,5 Stunden. In allen Untersuchungen blieben Makrophagen im Wundgebiet über Jahre nachweisbar (Oehmichen und Eisenmemger 1986).

Dies deckt sich mit den in dieser Arbeit gemachten Beobachtungen. Die ersten Makrophagen fanden sich nach 12 Stunden und bis zu einer Überlebenszeit von über einem Jahr.

4.3.4. Eisenspeichernde Makrophagen (Siderophagen)

Oehmichen und Raff (1980) fanden eisenspeichernde Makrophagen, sog. Siderophagen erstmals 71 Stunden, Loberg und Torvik (1989) 48 Stunden nach Traumatisierung. In der Untersuchung aus dem Jahre 2003 von Oehmichen et al. konnte Siderophagen nach 4 Tagen und 5 Stunden erstmals nachgewiesen werden. In beiden Untersuchungen von Oehmichen et al. 1980, 2003 fanden sich Siderophagen vereinzelt noch nach Jahrzehnten im Gebiet der traumatischen Schädigung.

Die hier untersuchten Fälle zeigten Siderophagen erstmals nach 3 Tagen, wobei auch in den Fällen mit einer Überlebenszeit >1 Jahr noch der Nachweis dieses Zelltyps gelang.

4.4. Fakultative Störmechanismen

Anders als bei experimentellen Untersuchungen finden sich in dieser Untersuchung keine definierten Rahmenbedingungen bezüglich Faktoren wie z.B. *Stärke des Traumas (abgegebene Energie)*, *Verletzungsmechanismus*, *Ausmaß der Verletzung (Blutung)*, *Intervall zwischen Erstbehandlung und Traumas*, *Art der Behandlung*, *Lebensalter*, *Geschlecht*, *zusätzliche Verletzungen usw.* Es wurden 50 Fälle mit unterschiedlichen Schädigungsmechanismen und Verletzungsausmaß untersucht. Sicherlich ist die einwirkenden Gewalt auf das Gehirn bei einem Sturz aus großer Höhe anders einzuordnen als bei einem Sturz aus geringerer Höhe z.B. bei einem Fahrradunfall.

In experimentellen Untersuchungen an Tieren konnte nachgewiesen werden, dass das Ausmaß der Gewebsdestruktion die Reparationsvorgänge im ZNS beeinflusst (Schreiber et al. 1999). In Abhängigkeit von der Schwere des Traumas und des sich daraus entwickelnden *Hirnödem*s, kann in Extremfällen mit deutlicher intrakranieller Druckerhöhung auch die arterielle Blutzufuhr zum Gehirn beeinträchtigt werden.

Hierdurch wäre eine u.a. verminderte Anzahl an Makrophagen -und auch der übrigen Blutzellen-, welche mit dem peripheren Blut ins Gehirn gelangen, zu erwarten. Während zwar in den Fällen dieser Untersuchung die Überlebenszeit relativ genau bestimmbar war, konnte die Dauer des *individuellen Sterbeprozesses (Agoniephase)* nicht berücksichtigt. Da in diesem präfinalen Zustand des Körpers u.a. ein verminderter Blutdruck herrscht, hat dies eher hemmenden Einfluss auf etwaige Reparationsprozesse im ZNS.

Wie bereits erwähnt können auch diverse *Vorerkrankungen des ZNS* wie z.B. Multiple Sklerose Einfluss auf die Aktivierung von Makrophagen haben. Bei der Auswahl der Fälle für diese Untersuchung wurden solche Fälle mit einer klinisch bekannten bzw. makroskopisch nachweisbaren vorbestehenden Vorschädigung bzw. chronischen Krankheit weitgehend ausgeschlossen. Dennoch lassen sich nicht alle möglichen Aktivierungsfaktoren von Makrophagen ausschließen. Weiterhin blieben Erkrankungen anderer Organe in dieser Studie unbeachtet. So ist z.B. im Falle einer Fettleber auch an eine erhöhte *Blutungsneigung* zu denken. Eine Veränderung der Blutzellzusammensetzung ist auch bei Kortisontherapie zur Ödemtherapie möglich.

Insofern mag sich einerseits auch die Variationsbreite erklären, aber auch, dass vereinzelt Fälle in der eigenen Studie auftraten, die nicht in das zeitliche Raster fielen - entweder weil bereits vorher eine Immunreaktion eintrat, obwohl bei Vergleichsfällen noch keine Reaktion beobachtbar war, und auch umgekehrt: es blieb eine Reaktion aus, während in vergleichbaren Fällen eine Reaktion regelmäßig auftrat.

Somit lässt sich abschließend feststellen, dass die Bedingungen und die damit verbundenen Ergebnisse dieser Arbeit, insbesondere die große Bandbreite der Befunde, eher der Situation im rechtsmedizinischen Alltag entsprechen als einer exakten Reaktions-Kinetik. Hier stellen exakt definierte Bedingungen bei Verletzungsabläufen die Ausnahme dar.

4.5. Praktische Relevanz der Untersuchung

Auch wenn diese Einschränkungen berücksichtigt werden, lässt sich mit Hilfe der aufgeführten Zeitintervalle durchaus eine zeitliche Altersschätzung vornehmen – allerdings mit entsprechender Vorsicht und Zurückhaltung.

So ergeben sich rechtsmedizinische Fragestellungen bei Mehrfachtraumatisierung (z.B. Schlägerei zwei Tage vor dem Tod und Sturz am Tage des Todes) oder bei der Frage der unterlassenen Hilfeleistung (unterlassene Benachrichtigung des Notarztes nach Sturz). In solchen Fällen sollte zur genauen Differenzierung und Bestimmung der Überlebenszeit, ob beispielsweise das Trauma länger als 24 Stunden überlebt wurde, ein Antikörper Anwendung finden, der frühestens nach einer Überlebenszeit von >24h nachweisbar wird. Mittels einer gezielten Untersuchung könnte bei Mehrfachtraumatisierung zwischen unterschiedlich lange zurückliegenden Verletzungen (z.B. Schlägerei zwei Tage vor dem Tod und Sturz am Tage des Todes) differenziert werden.

4.6. Ausblick

Bisher hat sich zur Altersbestimmung zentraler, traumatischer Läsionen lediglich der auch in dieser Untersuchung dargestellte Antikörper CD68 in der Routine durchgesetzt – allerdings ausschließlich zum Nachweis einer Makrophagen-Reaktion. In anderen Arbeiten, welche sich mit der Einschätzung des Wundalters beschäftigt haben, spielten immunhistochemische Reaktionen von Makrophagen-spezifischen Antikörpern kaum eine Rolle. In diesen Studien wurden die Läsionen anhand anderer histomorphologischer Kriterien ihrem Alter zugeordnet. Beispielsweise wurde das Auftreten astrozytärer Reaktionen (mit GFAP) oder diffuser Axonschädigungen (β -APP) zur Beurteilung des Alters zentraler Läsionen herangezogen. Die sogenannte neuronale Apoptose ist beispielsweise eher in frühen posttraumatischen Stadien zu beobachten (Hausmann et al. 2004).

Wie oben schon erwähnt haben sich in manchen klinischen Bereichen der Neuropathologie, z.B. in der Diagnostik von Hirntumoren oder bei der Erforschung der Multiplen Sklerose, Antikörper gegen Makrophagenantigene als nützlich erwiesen.

Ein therapeutischer Ansatz könnte durch Verringerung der sekundären Schäden - wie z.B. das Hirnödem - entstehen. Dieses entsteht nicht nur durch das Trauma selbst, sondern auch als Folge körpereigener Reparaturprozesse, bei denen die Makrophagen eine erhebliche Rolle spielen. Sicherlich sind die funktionellen Zusammenhängen im einzelnen, und die Funktion der exprimierten Antigene weitgehend noch ungeklärt. Hier könnte sich jedoch ein medikamentös-therapeutischer Ansatz abzeichnen, der in die komplexen Vorgänge zwischen den beteiligten Zellen und Hirnstrukturen eingreift und somit die Entstehung der oftmals tödlichen, sekundären Schäden zu verhindern in der Lage ist.

5. Zusammenfassung

Besonders bei strafrechtlichen Verfahren wird in einem rechtsmedizinischen Sektionsgutachten nahezu regelmäßig auch die Frage nach dem Alter einer Verletzung gestellt. So können sich forensische Fragestellungen bei Mehrfachtraumatisierung (z.B. Schlägerei zwei Tage vor dem Tod und Sturz am Tage des Todes) oder bei der Frage der unterlassenen Hilfeleistung (unterlassene Benachrichtigung des Notarztes nach Sturz) ergeben. Die vorliegende Untersuchung soll die Abhängigkeit der Expression verschiedener Antigene in Makrophagen des Gehirns in Abhängigkeit von der Überlebenszeit eines Schädel-Hirn-Traumas aufzeigen und somit einen Beitrag zur Altersschätzung von Kontusionsblutungen am Gehirn leisten.

Von 50 Patienten mit Kontusionsblutungen nach Schädel-Hirn-Trauma bei unterschiedlichen Überlebenszeiten (< 1 h bis > 1 Jahr Überlebenszeit) wurden histologische Schnittpräparate von Paraffinblöcken angefertigt. Es folgte eine immunhistochemische Reaktion mit unterschiedlichen, makrophagenspezifischen Antikörpern (CD68, HLA-D, HAM-56, LN-5, 25F9). Der Anteil der mit den Antikörper-reagierenden Makrophagen wurde semiquantitativ erfasst und in 5 Klassen (-, (+), +, ++, +++) eingeteilt. Das Patientenkollektiv wurde ferner in 7 Überlebenszeitgruppen aufgeteilt. Die Auswertung bezog sich auf vier unterschiedliche Hirnstrukturen (kortikale Blutung, angrenzende Rinde und angrenzendes Marklager sowie der Subarachnoidalraum). Zusätzlich wurde in Routinefärbungen (Hämatoxylin-Eosin) der Ablauf der Zellreaktion wie Nachweis extravasaler Erythrozyten, Leukozyten, Makrophagen – und mit Hilfe der Berliner-Blau-Reaktion - der Siderophagen - berücksichtigt.

Im einzelnen konnten die in Tabelle 4 dargestellten, wesentlichen zeitlichen Zuordnungen dargestellt werden.

Markierung bzw. Färbung/ Hirnareal	Blutungsbereich	Hirnrinde	Marklager	Subarachnoidalraum
Erythrozyten	0 Minuten	0 Minuten	0 Minuten	0 Minuten
Granulozyten	30 Minuten	30 Minuten	60 Minuten	30 Minuten
Makrophagen HE	12 Stunden	12 Stunden	12 Stunden	12 Stunden
Siderophagen	72 Stunden	80 Stunden	100 Stunden	72 Stunden
LN-5	24 Stunden	48 Stunden	24 Stunden	11,5 Stunden
HAM-56	30 Stunden	48 Stunden	48 Stunden	48 Stunden
CD68	48 Stunden	100 Stunden	0 Minuten	72 Stunden
HLA-D	12 Stunden	12 Stunden	0 Minuten	12 Stunden
25F9	24 Stunden	120 Stunden	120 Stunden	120 Stunden

Tabelle 4 Zeitpunkt des ersten Nachweises, Höhepunktes und letzten Nachweises unterschiedlicher zytologischer Phänomene und Immunreaktionen in Abhängigkeit von der Überlebenszeit nach traumatischer Einwirkung

Die Untersuchung beweist den Zusammenhang zwischen der Expression von Makrophagen-spezifischen Antigenen an reaktiven Makrophagen und der Überlebenszeit bei Kontusionsblutungen nach Schädel-Hirn-Trauma. In der Praxis der Schätzung der Überlebenszeit kann somit die Expression bzw. die ausbleibende Expression von Antigenen als ein zusätzliches Kriterium bei zytologischer Analyse einer Kontusionsblutung herangezogen werden. Mittels der gezielten Applikation eines Antikörpers, der erst nach 24 Stunden reagiert, könnte so bei Mehrfachtraumatisierung zwischen unterschiedlich lange zurückliegenden Verletzungen differenziert werden.

6. Abkürzungen

β-APP	β-Amyloid Precursor Protein
BHS	Bluthirnschranke
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein
GM-CSF	Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
IL4	Interleukin 4
LCA	Leukozyten Common Antigen
M-CSF	Macrophage-Colony Stimulating Factor
MG	Mikroglia
MHC1	Major Histocompatibility Complex 1
MHC2	Major Histocompatibility Complex 2
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
TGF	Transforming Growth Factor
ÜZ	Überlebenszeit
ZNS	Zentralnervensystem

7. Literaturverzeichnis

- 1) Adams CWM, Poston RN (1990) Macrophage histology in paraffin-embedded multiple sclerosis plaques is demonstrated by the monoclonal pan-macrophage marker HAM-56: correlation with chronicity of the lesion. *Acta Neuropathol Berlin* 80: 208-211
- 2) Adams JH, Doyle D, Graham DI, Lawrence AE, McLellan DR, Gennarelli TA, Pastuszko M, Sakamoto T (1985) The contusion index: reappraisal in human and experimental non-missile head injury. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 11:299-308
- 3) Anderson RMD, Opeskin K (1998) Timing of early changes in brain trauma. *Am J Forensic Med Pathol* 19: 1-9
- 4) Berry M, Butt AM, Wilkin g, Perry VH (2002) Structure and function of glia in the central nervous system. In: Graham DI, Lantos PL (eds.) *Greenfields Neuropathology*. Vol. 1, 7. Aufl., Arnold, London, New York, New Dehli:75-121
- 5) Bhoopat L, Turner RR, Stathopoulos E, Meyer PR, Taylor CR, Marder RJ, Epstein AL (1988) Immunohistochemical characterization of two new antibodies (LN-4, LN-5) reactive with human macrophages subsets and derived malignancies in B5-fixed, paraffine-embedded tissues. *Blood* 71:1079-1085
- 6) Brown AW, Leibson CL, Malec JF, Perkins PK, Diehl NN, Larson DR (2004) Long-term survival after traumatic brain injury: a population-based analysis. *Neuro Rehabilitation* 19:37-43
- 7) Brück W, Porada P, Poser S, Rieckmann P, Hanefeld F, Kretschmar HA, Lassmann H (1995) Monocyte/Macrophage differentiation in early multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 38: 788-796
- 8) Chen S, Pickard JD, Harris NG (2003) Time course of cellular pathology after controlled cortical impact injury. *Exp Neurol* 182: 87-102
- 9) Cordell JL, Falini B, Flenghi L, Jones DB, Pileri S, Radzun HJ, Wilkins BS (1995) M15 CD68 cluster workshop report. In: Schlossmann SF, Boumsell L, Gilks W et al. (eds.) *Leucocyte typing V: white cell differentiation antigens; proceedings of the fifth international workshop and conference, held in Boston, USA, 3-7 November, 1993*. Vol. 1, Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo: 925-935
- 10) Cummings TJ, Hulette CM, Bigner SH, Riggins GJ, McLendon RE (2001) HAM-56-immunoreactive macrophages in untreated infiltrating gliomas. *Arch Pathol Lab Med.*125:637-41

- 11) Del Rio-Hortega P. (1932) Microglia. In: Penfield W (editor). Cytology and cellular pathology of the nervous system. Vol.2, New York: Hoeber PB:482-534
- 12) Dzudza D (1982) Medico-legal expertise in physical injury in commotio cerebri. *Med Arch* 36:263-267
- 13) Engel S, Wehner HD, Meyermann R (1996) Expression of microglia markers in the human CNS after closed head injury. *Acta Neurochir Suppl* 66 :87-95
- 14) Frei K, Fontana A (1989) Immune regulatory functions of astrocytes and microglia cells within the central nervous system. Goetzel E, Spector NH (Hrsg.) *Neuroimmune networks: physiology and diseases*. Liss, New York:127-136
- 15) Gehrman J, Banati RB, Kreutzberg GW (1993) Microglia in the immune surveillance of the brain: human microglia constitutively express HLA-DR molecules. *J Neuroimmunol* 48:189-198
- 16) Gown AM, Tsukada T, Ross R (1986) Human atherosclerosis. II. Immunocytochemical analysis of the cellular composition of human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 125:191-207
- 17) Graeber MB, Lopez-Redondo F, Ikoma E, Ishikawa M, Imai Y, Nakajima K, Kreutzberg GW, Kohsada S (1998) The microglia/macrophage response in the neonatal rat facial nucleus following axotomy. *Brain Res.* 7;813:241-53
- 18) Graeber MB, Blakemore WF, Kreutzberg GW (2002) Cellular pathology of the central nervous system. In: Graham DI, Lantos PL (Hrsg.) *Greenfields Neuropathology*. Vol. 1, 7. Auflage, Arnold, London, New York, New Dehli: 123-191
- 19) Graham DJ, Gennarelli TA (1997) Trauma. In: Graham DI, Lantos PL (Hrsg.) *Greenfields Neuropathology*. Vol. 1, 6. Auflage, Arnold, London, Sydney, Auckland:197-262
- 20) Graeber MB, Streit WJ (1990) Microglia: immune network in the CNS. *Brain Pathol* 1: 2-5
- 21) Grenier Y, Ruijs TC, Robitaille Y, Olivier A, Antel JP (1989) Immunohistochemical studies of adult human glial cells. *J of Neuroimmunol* 21:103-105
- 22) Hausmann R, Biermann T, Wiest I, Tübel J, Betz P (2004) Neuronal apoptosis following human brain injury. *Int J Leg Med* 118: 32-6
- 23) Hayes GM, Woodroffe MN, Cuzner ML (1987) Microglia are the major cell type expressing MHC class II in human white matter. *J Neurol Sci* 80:25-37

- 24) Hickey WF, Kimura H. (1988) Perivascular microglial cells of the CNS are bone marrow-derived and present antigen in vivo. *Science* 239:290-2
- 25) Hickey WF (2001) Basic principles of immunological surveillance of the normal central nervous system. *Glia* 36:118-24
- 26) Holmin S, Söderl J, Biberfeld P, Mathiesen T (1998) Intracerebral inflammation after human brain contusion. *Neurosurgery* 42:291-298
- 27) Hulette CM, Downey BT, Burger PC (1992) Macrophage markers in diagnostic neuropathology. *Am J Surg Pathol* 16:493-499
- 28) Janeway AC, Travers P, Walport W, Shlomchik M (2001) Immunology: the immune system in health and disease. Garland Publishing, New York
- 29) Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, Gratzl M (Hrsg.) (2002) Histologie; 5. Auflage, Springer; Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hongkong, London, Mailand, Paris, Tokio
- 30) Kaur C, Hao AJ, Wu CH, Ling EA (2001) Origin of microglia. *Microsc Res Tech.* 1;54:2-9
- 31) Kreutzberg GW (1996) Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neuroscience* 19:312-18
- 32) Kühn J, Meissner C, Oehmichen M (2005) Microtubule-associated protein 2 (MAP2) – a promising approach to diagnosis of forensic types of hypoxia-ischemia. *Acta Neuropathol (Berl)* 110: 579-586
- 33) Lawson LJ, Perry VH, Dri P, Gordon S (1990) Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neurosci* 39:151-70
- 34) Ling EA, Wong WC (1993) The origin and nature of ramified and amoeboid microglia: a historical review and current concepts. *Glia* 7:9-18
- 35) Loberg EM, Torvik A (1989) Brain contusions: the time sequence of the histological changes. *Med Sci Law* 29:109-115
- 36) Lutz FU, Voigt C (1986) Amnesie und Handlungsfähigkeit nach Commotio cerebri. Eine Erhebung an siebzig Patienten. *Z Rechtsmed* 97:69-74
- 37) Meyermann R, Engel S, Wehner H-D, Schlüsener HJ (1997) Microglial reactions in severe closed head injury. In: Oehmichen M, König HG (Hrsg.) *Neurotraumatology: biomechanic aspects, cytological and molecular mechanisms.* Schmidt-Römhildt, Lübeck: 261-278

- 38) Moran LB, Graeber MB (2004) The facial nerve axotomy model. *Brain Res Rev* 44:154-78
- 39) Nishi K, Rand S, Fechner G, Brinkmann B (1988) Immunohistochemical localization of A, B, H, Le a and Le b antigens in human thymus using avidin-biotin complex technique. *Acta Crim Jpn* 54:217-23
- 40) Gleixner C, Müller M, Wirth S (2000/01) *Neurologie und Psychiatrie für Studium und Praxis*. Medizinische Verlags- und Informationsdienste, Breisach; Kapitel Neurotraumatologie/SHT
- 41) Mumenthaler M, Mattle H (2002) *Neurologie*. 11. Auflage; Thieme, Kapitel Schädel-Hirn-Trauma
- 42) Nakajima K, Kohsaka S (2004) Microglia: neuroprotective and neurotrophic cells in the central nervous system. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord*. 4(1), 65-84
- 43) Oehmichen M, Raff G (1978) Time-dependent histomorphological changes of cortical contusion areas following brain concussion. *Beitr Gerichtl Med*. 36:291-4
- 44) Oehmichen M, Raff G (1980) Timing of cortical contusion. Correlation between histomorphological alterations and post-traumatic interval. *Zrechtsmed* 84:79-94
- 45) Oehmichen M (1982) Are resting and/or reactive microglia macrophages? *Immunobiology* 161(3-4):246-54
- 46) Oehmichen M, Eisenmenger W (1986) Brain macrophages in human cortical contusions as an indicator of survival period. *Forensic Sci Int* 30:281-301
- 47) Oehmichen M (1990) *Die Wundheilung*. Berlin Heidelberg New York, Springer
- 48) Oehmichen M (1995) Estimating wound age and distinguishing intravital from post-mortem processes in forensic medicine-introductory remarks. In: Oehmichen M, Kirchner H. (Hrsg.) *The wound healing process: Forensic pathological aspects*. Lübeck, Schmidt-Römhild:15-19
- 49) Oehmichen M (1999) Histochemical characterization of brain edema. Potassium concentration after ischemia. *Exp. Toxic Pathol*. 52: 348-352
- 50) Oehmichen M, König HG (2002) Mechanische Traumen. In: Pfeiffer J, Schröder JM, Paulus W (Hrsg) *Neuropathologie: morphologische Diagnostik der Krankheiten des Nervensystems und der Skelettmuskulatur*. 3. Aufl., Springer, Berlin, Heidelberg, New York:301-325

- 51) Oehmichen M, Walter T, Meissner C, Friedrich HJ (2003a) Time course of cortical hemorrhages after closed traumatic brain injury: statistical analysis of posttraumatic histomorphological alterations. *J Neurotrauma* 20:87-103
- 52) Oehmichen M, Meissner C, von Wurmb-Schwark N, Schwark T (2003b) Methodical approach to brain hypoxia/ischemia as a fundamental problem in forensic neuropathology. *Legal Medicine* 5:190-201
- 53) Oehmichen M (2004) Vitality and time course of wound. *Forensic Sci Int* 144:221-31
- 54) Oehmichen M, Auer RN, König HG (2006) *Forensic Neuropathology and Associated Neurology*, 1. Auflage, Springer; Berlin, Heidelberg, New York
- 55) Paulli M, Rosso R, Kindl S, Boveri E, Marocolo D, Chioda C, Agostini C, Magrini U, Fachetti F (1992) Immunophenotypic characterization of the cell infiltrate in five cases of sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy (Rosai-dorfman disease). *Hum Pathol* 23:647-654
- 56) Püschel K, Schulz-Schaeffer WJ, Brück W (1995) Time-dependent morphological alterations of injection marks. In: Oehmichen M, Kirchner H (Hrsg.) *The wound healing process: forensic pathological aspects*. Schmidt-Römhild, Lübeck:293-307
- 57) Raivich G, Bohatschek M, Kloss CUA, Werner A, Jones LL, Kreutzberg GW (1999) Neuroglial activation repertoire in the injured brain: graded response, molecular mechanisms and cues to physiological function. *Brain Res Rev* 30:77-105
- 58) Ryan GA, McLean AJ, Vilenius ATS (1994) Brain injury patterns in fatally injured Pedestrians. *J Trauma* 36: 469-76
- 59) Sasaki A, Ogawa A, Hirato J, Nakazato Y (1993) An immunohistochemical study of human pituicytes demonstrating frequent expression of MHC class II antigens and macrophage markers. *Virchow Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 64: 379-386
- 60) Sasaki A, Nakazato Y, Ogawa A, Sugihara S (1996) The immunophenotype of perivascular cells in the human brain. *Pathol Int* 46: 15-23
- 61) Schreiber DI, Bain AC, Ross DT, Smith DH, Genneralli TA, McIntosh TK, Meaney DF (1999) Experimental investigation of cerebral contusion: histopathological and immunohistochemical evaluation of dynamic cortical deformation. *J Neuropathol Exp Neurol* 58 :153-164
- 62) Sellier K, Unterharnscheidt (1963) Mechanism and pathomorphology of brain damage after blunt cranial trauma. *Hefte Unfallheilkd.* 76:1-140

- 63) Streit WJ, Graeber MB, Kreutzberg GW (1988) Functional Plasticity of Microglia: A Review. *Glia* 1:301-307
- 64) Simvard AR, Rivest S (2004) Bone marrow stem cells have the ability to populate the entire central nervous system into fully differentiated parenchymal microglia. *Faeb J* 18:998-1000
- 65) Steudel WI, Cortbus F, Schwerdtfeger K (2005) Epidemiology and prevention of fatal head injury in Germany - trends and the impact of reunification. *Acta Neurochir (Wien)* 147:231-42
- 66) Unterharnscheidt F, Sellier K (1962) Mechanism and pathological anatomy of closed traumatic lesions of the brain produced by the single, repeated and continuous action of contusing agents on the cranium. *Med Clin (Barc)* 39:200-215
- 67) Zwadlo G, Bröcker E-B, v Bassewitz D-B, Feige U, Sorg C (1985) A monoclonal antibody to a differentiation antigen present on mature macrophages and absent from monocytes. *J Immunol* 134:1487-92

8. Anhang

Tabelle 8.1 Fallübersicht

Lfd.-Nr.	Fall-Nr.	Geschlecht	Alter	Schädigungshergang, Verletzungsmuster / Todesursache	Lokalisierung der Blutung, weitere Befunde
1.	128-98	m	55	Verkehrsunfall: Motorradsturz, Polytrauma	KB frontal, rechts temporal, Ödem
2.	116-97	m	31	Sturz aus großer Höhe, Aufschlag Hinterkopf rechts, inneres Verbluten	KB occipital, diskretes Ödem
3.	084-97	m	36	Sturz aus großer Höhe/ Arbeitsunfall auf Baustelle, Polytrauma, Verbluten, zentrales Regulationsversagen	KB fronto-temporo-basal, Ödem
4.	064-97	m	53	Hausbrand, tot aufgefunden; Verkohlung, SHT	Traumatische fronto-basale Einblutung, massives Hirnödeme
5.	014-96	w	27	Sturz, bei Brand aus dem Fenster gesprungen, Schädelbruch, Bruchzentrum Lambdanaht/ Sagittalnaht, Polytrauma	KB fronto- und temporo-basal bds., occipital Ödem
6.	118-97	m	35	Verkehrsunfall: Motorrad vs. PKW, Polytrauma, Verbluten, Blutaspiration	KB fronto-basal, Ödem
7.	169-97	w	41	Verkehrsunfall, PKW gegen Baum, Polytrauma, Verbluten	Multiple kleine Rindenblutungen
8.	166-98	m	43	Schlag einer LKW-Anhängerdeichsel gegen Kopf; Verbluten, zentrales Regulationsversagen bei Schädelbasisfraktur	Diskrete Einblutungen in die Leptomeninx über dem Cerebellum und am rechten Hinterhauptspol
9.	51-98	m	54	Sturz aus LKW, leblos aufgefunden, Kopfplatzwunde, SHT	KB rechts frontobasal, links temporo-basal
10.	125-98	m	29	Sturz, zentrales Regulationsversagen,	Rindenzerrümmung der Stirnlappenwindungen rechts oben und der Mantelkante, avitale Rindenareale, Ödem, Stauung
11.	050-00	m	89	Verkehrsunfall: Fußgänger vs. PKW, Polytrauma, Verbluten, zentrales Regulationsversagen	Diskrete Kontusionsblutung rechts frontal und links temporal
12.	109-00	m	37	Sturz auf Treppe, vermutlich unter Alkoholeinfluss, zentrales Regulationsversagen	KB fronto-basal bds. rechts>links, links traumatische Einblutung in das Marklager, Ödem
13.	390-93	w	30	Sturz vom Fahrrad ohne ersichtlichen Grund, Epiduralblutung, Trepanation, zentrales Regulationsversagen	Kleine Einblutungen im Bereich des oberen Schläfenlappens, Ödem
14.	273-96	m	45	Verkehrsunfall: Fußgänger vs. Moped, verlässt zunächst Unfallort, trotz Kalottenfraktur, dann hilflos aufgefunden, operative Entfernung eines intrazerebralen Hämatoms	Diskrete KB rechts fronto-basal, links im Bereich der Mantelkante; massives Ödem
15.	070-97	w	84	Verkehrsunfall: PKW vs. Fußgängerin; Polytrauma, Verbluten, zentrales Regulationsversagen	KB rechts parieto-occipital
16.	161-94	m	14	Verkehrsunfall: Fahrrad vs. PKW, Polytrauma	KB fronto-basal, massives Hirnödeme
17.	040-97	m	46	Sturz aus 6 m Höhe (Suizid), Polytrauma	Verschiedenen, massiv traumatisch geschädigte Hirnareale, „Gliding Contusio“
18.	102-97	m	58	Sturz im Treppenhaus, vermutlich alkoholisiert Polytrauma, Verbluten, zentrales Regulationsversagen	KB frontal, Schläfenlappen bds., Massenblutung, Ödem
19.	019-98	w	34	Verkehrsunfall: Fußgänger vs. PKW, Polytrauma	KB rechts lateral, links temporal, „Gliding-Contusio“, Ödem
20.	035-99	m	50	Sturz aus 10 m Höhe, Polytrauma	KB links-parieto-temporo-occipital
21.	195-97	w	88	Sturz im Pflegeheim, zentrales Regulationsversagen	KB Gyrus rectus links, Rindenblutung zweite Scheitellappenwindung links, Massenblutung
22.	738-95	m	36	2 Stürze, zentrales Regulationsversagen	KB links temporo-lateral, massives Hirnödeme
23.	381-99	w	39	Verkehrsunfall: PKW vs. Fußgänger	KB links temporal
24.	352-99	w	35	Sturz, zentrales Regulationsversagen	KB rechts fronto-basal, Ödem

25.	117-97	w	32	Verkehrsunfall: Motorrad vs. PKW (Sozia), Polytrauma, zentrales Regulationsversagen	Einblutungen der gesamten rechten Hemisphäre, Ödem
26.	054-96	m	36	Verkehrsunfall PKW, Polytrauma	KB bds. frontal, rechts temporo-lateral
27.	011-94	m	88	Sturz Treppe, zentrales Regulationsversagen	KB links temporal, Marklagerblutung rechts temporal
28.	575-94	w	55	Sturz Treppe, zentrales Regulationsversagen	KB rechts fronto-basal und temporo-parietal (Contrecoup), Bruchzentrum links fronto-parietal, massives Ödem
29.	183-91	m	37	Stumpfe Gewalt, Hinterkopf gegen Wand, zentrales Regulationsversagen	KB rechts, Ödem
30.	572-94	w	45	Verkehrsunfall, zentrales Regulationsversagen	KB rechts fronto-parieto-temporal, Rindenzetrümmerung, massives Hirnödem
31.	138-98	m	26	Verkehrsunfall, PKW vs. Baum, Beifahrer, Polytrauma, protrahiertes Schockgeschehen	KB rechts fronto-basal, massives Hirnödem
32.	53-00	m	18	Verkehrsunfall, PKW vs. Baum, Polytrauma, protrahiertes Schockgeschehen	Rindenblutungen rechts
33.	113-92	m	86	Sturz (spontan)	KB n.n.b., massives Ödem
34.	83-96	m	57	Sturz, zentrales, infektiös-toxisches Regulationsversagen	KB links-temporal
35.	558-97	m	60	Sturz auf Hinterkopf aus 1 m Höhe, Prellmarke rechts occipital	KB fronto-basal mit Ventrikeleinbruch
36.	063-00	m	60	Sturz, zentrales/ infektiös-toxisches Regulationsversagen	Einblutung linker Stirnpol und rechte Stirnhirnbasis, rechts fronto-basal kleinere Einblutung
37.	061-00	w	57	Verkehrsunfall: PKW vs. Radfahrer, zentrales/ infektiös-toxisches Regulationsversagen	Massive fronto-basale Rindenzetrümmerung, links>rechts
38.	205-92	m	54	Bewusstlos aufgefunden, Verbluten aus Ulcus ventriculi, SHT	KB links temporal
39.	097-97	w	65	Verkehrsunfall: PKW (Beifahrerin), Polytrauma, zentrales Regulationsversagen	KB rechts Schläfenlappen, Hirnmassenblutung
40.	428-93	m	32	Sturz / Schlag auf Hinterkopf, zentrales Regulationsversagen	KB Coup: linkes Cerebellum, Contre-Coup: rechts fronto-temporo parietal
41.	325-97	w	76	Sturz: Treppe, zentrales Regulationsversagen	Im linken Schläfenlappen begrenzte Einblutung
42.	223-92	m	57	Verkehrsunfall: Fußgänger vs. PKW, Polytrauma, zentrales Regulationsversagen	KB n.n.b.
43.	075-97	m	55	Sturz bei Krampfanfall unter Alkohol, protrahierter Schock, Multi-Organ-Versagen	KB fronto-basal
44.	314-96	m	72	Sturz, zentrales Regulationsversagen	Rindenzetrümmerung im Bereich des rechten Stirnlappenpols
45.	147- 97	m	72	Schlägerei / Sturz, hilflos aufgefunden, infektiös-toxisches Regulationsversagen	Zerstörung des linken Schläfenlappens, Markblutung, Ödem
46.	698-94	w	43	Verkehrsunfall: Fußgängerin vs. Krad, zentrales Regulationsversagen	KB rechts fronto-basal, SDB bds. rechts>links
47.	367-97	w	88	Schlag / Sturz, zentrales Regulationsversagen	Blutungen in Stirn- und Scheitellappen rechts, Ödem
48.	195-93	m	63	Sturz – am Telefon zusammengebrochen, infektiös-toxisches Regulationsversagen bei Pneumonie	Alte, abgebaute Rindenprellungsherde, frische frontale Marklagerblutung
49.	061-92	m	33	Verkehrsunfall vor 3 Jahren, Tod im Bett aufgefunden	Alte, abgebaute Kontusion n.n.b., Alkoholiker
50.	184-92	w	61	Tot aufgefunden, Lungenembolie	Alte KB links temporal

Abkürzungen: EDB: Epiduralblutung, KB: Kontusionsblutung, m: männlich, n.n.b.: nicht näher bezeichnet, SAB: Subarachnoidalblutung, SDB: Subduralblutung, SHT: Schädelhirntrauma, w: weiblich

Tabelle 8.2 CD68 Reaktivität, Aufstellung der einzelnen Fälle

Fall-Nr.	Überlebenszeit (Stunden)	Überlebenszeit (Tage)	CD68 immunreaktive Makrophagen			
			Blutungs- bereich	Angrenzende Rindenstrukturen	Angrenzende Markstrukturen	Subarach- noidalraum
128-98	0,016	0,000694	0	0	2	0
116-97	0,016	0,000694	0	0	2	0
084-97	0,016	0,000694	0	0	4	0
064-97	0,016	0,000694	0	0	2	0
014-96	0,016	0,000694	0	0	2	0
118-97	0,016	0,000694	0	0	2	0
169-97	0,500	0,020833	0	1	2	0
166-98	0,500	0,020833	0	0	1	0
051-98	1,000	0,041666	0	0	2	0
125-98	0,167	0,006944	0	0	1	0
050-00	2,500	0,104166	0	0	1	1
109-00	3,000	0,125000	0	0	1	0
390-93	3,300	0,137500	0	0	1	2
273-96	6,000	0,250000	0	0	3	0
070-97	7,000	0,291666	0	0	2	1
161-94	9,000	0,375000	0	0	1	0
040-97	11,500	0,479167	0	0	2	0
102-97	12,500	0,520833	0	0	1	0
019-98	15,000	0,625000	0	0	2	0
035-99	20,000	0,833333	0	0	1	0
195-97	24,000	1,000000	0	0	1	1
738-95	24,000	1,000000	1	0	2	1
381-99	24,000	1,000000	1	0	1	1
352-99	72,000	3,000000	2	0	1	2
117-97	27,000	1,125000	1	0	1	0
054-96	32,000	1,333333	0	0	1	0
011-94	48,000	2,000000	2	1	1	0
575-94	49,000	2,041666	0	0	1	0
183-91	60,000	2,500000	2	0	1	0
572-94	76,000	3,166666	0	0	1	0
138-98	100,000	4,166666	3	2	2	0
053-00	117,000	4,875000	3	3	1	2
113-92	120,000	5,000000	3	3	3	2
083-96	120,000	5,000000	0	0	0	0
558-97	192,000	8,000000	3	2	3	2
063-00	216,000	9,000000	3	3	3	2
061-00	240,000	10,000000	4	4	4	3
205-92	240,000	10,000000	3	4	4	4
097-97	264,000	11,000000	4	4	4	4
428-93	288,000	12,000000	4	4	4	4
325-97	504,000	21,000000	4	4	4	4
223-92	672,000	28,000000	4	4	4	4
075-97	744,000	31,000000	4	3	4	4
314-96	1.056,000	44,000000	4	4	4	4
147-97	1.176,000	49,000000	2	0	2	0
698-94	1.176,000	49,000000	4	4	4	4
367-97	1.560,000	65,000000	3	4	4	3
195-93	2.400,000	100,000000	4	4	4	3
061-92	8.760,000	365,000000	2	2	2	2
184-92	8.760,000	365,000000	4	4	4	4

Gradeinteilung der Immunreaktion: **0** = keine markierten Makrophagen; **1** = vereinzelt markierte Makrophagen; **2** = zahlreiche, locker verteilt markierte Makrophagen; **3** = mehrere, zusammengelagerte markierte Makrophagen; **4** = ubiquitär vermehrt markierte Makrophagen, jeweils pro Gesichtsfeld

Tabelle 8.3 HLA-D Reaktivität, Aufstellung der einzelnen Fälle

Fall-Nr.	Überlebenszeit (Stunden)	Überlebenszeit (Tage)	HLA-D immunreaktive Makrophagen			
			Blutungs- bereich	Angrenzende Rindenstrukturen	Angrenzende Markstrukturen	Subarach- noidalraum
128-98	0,017	0,000694	0	0	0	0
116-97	0,017	0,000694	0	0	0	4
084-97	0,017	0,000694	0	0	0	4
064-97	0,017	0,000694	0	0	1	3
014-96	0,017	0,000694	1	1	4	3
118-97	0,017	0,000694	1	0	1	1
169-97	0,500	0,020833	0	0	1	2
166-98	0,500	0,020833	0	0	1	2
051-98	1,000	0,041666	0	0	2	0
125-98	0,167	0,006944	2	0	3	2
050-00	2,500	0,104166	1	1	1	3
109-00	3,000	0,125000	0	0	0	0
390-93	3,300	0,137500	1	1	2	4
273-96	6,000	0,250000	1	1	3	2
070-97	7,000	0,291666	2	4	4	3
161-94	9,000	0,375000	0	1	1	4
040-97	11,500	0,479167	3	3	2	3
102-97	12,500	0,520833	3	1	1	4
019-98	15,000	0,625000	2	1	1	4
035-99	20,000	0,833333	1	2	2	2
195-97	24,000	1,000000	2	3	4	3
738-95	24,000	1,000000	0	0	3	0
381-99	24,000	1,000000	1	0	2	3
352-99	72,000	3,000000	0	0	2	2
117-97	27,000	1,125000	0	0	3	1
054-96	32,000	1,333333	2	2	2	1
011-94	48,000	2,000000	3	0	1	1
575-94	49,000	2,041666	2	0	2	0
183-91	60,000	2,500000	2	0	2	2
572-94	76,000	3,166666	0	0	0	1
138-98	100,000	4,166666	3	0	4	2
053-00	117,000	4,875000	0	1	1	2
113-92	120,000	5,000000	0	0	0	0
083-96	120,000	5,000000	1	0	0	0
558-97	192,000	8,000000	3	1	3	1
063-00	216,000	9,000000	1	0	2	0
061-00	240,000	10,000000	3	0	0	0
205-92	240,000	10,000000	0	1	0	0
097-97	264,000	11,000000	0	0	1	0
428-93	288,000	12,000000	4	4	4	4
325-97	504,000	21,000000	4	3	4	1
223-92	672,000	28,000000	4	3	4	0
075-97	744,000	31,000000	4	3	4	0
314-96	1.056,000	44,000000	4	2	4	2
147-97	1.176,000	49,000000	0	0	1	1
698-94	1.176,000	49,000000	1	4	4	3
367-97	1.560,000	65,000000	4	4	4	3
195-93	2.400,000	100,000000	4	4	4	2
061-92	26.280,000	365,000000	0	2	3	0
184-92	26.280,000	365,000000	3	3	2	0

Gradeinteilung der Immunreaktion: **0** = keine markierten Makrophagen; **1** = vereinzelt markierte Makrophagen; **2** = zahlreiche, locker verteilt markierte Makrophagen; **3** = mehrere, zusammengelagerte markierte Makrophagen; **4** = ubiquitär vermehrt markierte Makrophagen, jeweils pro Gesichtsfeld

Tabelle 8.4 HAM-56 Reaktivität, Aufstellung der einzelnen Fälle

Fall-Nr.	Überlebenszeit (Stunden)	Überlebenszeit (Tage)	HAM-56 immunreaktive Makrophagen			
			Blutungs- bereich	Angrenzende Rindenstrukturen	Angrenzende Markstrukturen	Subarach- noidalraum
128-98	0,017	0,000694	0	0	0	0
116-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
084-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
064-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
014-96	0,017	0,000694	0	0	0	0
118-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
169-97	0,500	0,020833	0	0	0	0
166-98	0,500	0,020833	0	0	0	0
051-98	1,000	0,041666	0	0	0	0
125-98	0,167	0,006944	0	0	0	0
050-00	2,500	0,104166	0	0	0	0
109-00	3,000	0,125000	0	0	0	0
390-93	3,300	0,137500	0	0	0	1
273-96	6,000	0,250000	0	0	0	1
070-97	7,000	0,291666	0	0	0	0
161-94	9,000	0,375000	0	0	0	0
040-97	11,500	0,479167	0	0	0	0
102-97	12,500	0,520833	0	0	0	0
019-98	15,000	0,625000	0	0	0	0
035-99	20,000	0,833333	0	0	0	0
195-97	24,000	1,000000	1	0	0	1
738-95	24,000	1,000000	0	0	0	1
381-99	24,000	1,000000	0	0	0	0
352-99	72,000	3,000000	2	0	0	1
117-97	27,000	1,125000	0	0	0	0
054-96	32,000	1,333333	2	0	0	0
011-94	48,000	2,000000	2	2	2	2
575-94	49,000	2,041666	2	1	1	1
183-91	60,000	2,500000	2	2	2	2
572-94	76,000	3,166666	1	1	1	2
138-98	100,000	4,166666	2	4	4	4
053-00	117,000	4,875000	0	0	3	3
113-92	120,000	5,000000	3	3	4	3
083-96	120,000	5,000000	3	1	4	4
558-97	192,000	8,000000	3	3	3	3
063-00	216,000	9,000000	3	3	3	3
061-00	240,000	10,000000	3	3	3	3
205-92	240,000	10,000000	3	3	4	4
097-97	264,000	11,000000	4	4	4	4
428-93	288,000	12,000000	4	4	4	4
325-97	504,000	21,000000	4	4	4	4
223-92	672,000	28,000000	4	4	4	4
075-97	744,000	31,000000	4	4	4	4
314-96	1.056,000	44,000000	4	4	4	4
147-97	1.176,000	49,000000	2	2	2	2
698-94	1.176,000	49,000000	4	4	4	4
367-97	1.560,000	65,000000	4	4	4	4
195-93	2.400,000	100,000000	0	0	0	1
061-92	8.760,000	365,000000	2	2	2	2
184-92	8.760,000	365,000000	2	2	2	2

Gradeinteilung der Immunreaktion: **0** = keine markierten Makrophagen; **1** = vereinzelt markierte Makrophagen; **2** = zahlreiche, locker verteilt markierte Makrophagen; **3** = mehrere, zusammengelagerte markierte Makrophagen; **4** = ubiquitär vermehrt markierte Makrophagen, jeweils pro Gesichtsfeld

Tabelle 8.5 LN-5 Reaktivität, Aufstellung der einzelnen Fälle

Fall-Nr.	Überlebenszeit (Stunden)	Überlebenszeit (Tage)	LN-5 immunreaktive Makrophagen			
			Blutungs- bereich	Angrenzende Rindenstrukturen	Angrenzende Markstrukturen	Subarach- noidalraum
128-98	0,017	0,000694	0	0	0	0
116-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
084-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
064-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
014-96	0,017	0,000694	0	0	0	0
118-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
169-97	0,500	0,020833	0	0	0	0
166-98	0,500	0,020833	0	0	0	0
051-98	1,000	0,041666	0	0	0	0
125-98	0,167	0,006944	0	0	0	0
050-00	2,500	0,104166	0	0	0	0
109-00	3,000	0,125000	0	0	0	0
390-93	3,300	0,137500	0	0	0	0
273-96	6,000	0,250000	0	0	0	0
070-97	7,000	0,291666	1	0	0	0
161-94	9,000	0,375000	0	0	0	0
040-97	11,500	0,479167	0	0	0	2
102-97	12,500	0,520833	0	0	0	2
019-98	15,000	0,625000	0	0	0	0
035-99	20,000	0,833333	0	0	0	0
195-97	24,000	1,000000	0	0	0	2
738-95	24,000	1,000000	2	0	3	2
381-99	24,000	1,000000	2	0	0	2
352-99	72,000	3,000000	1	1	1	1
117-97	27,000	1,125000	0	0	0	2
054-96	32,000	1,333333	0	0	0	0
011-94	48,000	2,000000	1	2	2	2
575-94	49,000	2,041666	2	1	1	2
183-91	60,000	2,500000	0	1	1	2
572-94	76,000	3,166666	0	0	1	0
138-98	100,000	4,166666	2	3	0	3
053-00	117,000	4,875000	2	3	3	2
113-92	120,000	5,000000	4	4	2	0
083-96	120,000	5,000000	3	0	4	4
558-97	192,000	8,000000	1	0	3	3
063-00	216,000	9,000000	3	3	4	4
061-00	240,000	10,000000	2	3	3	3
205-92	240,000	10,000000	1	0	3	3
097-97	264,000	11,000000	0	0	0	0
428-93	288,000	12,000000	4	4	4	4
325-97	504,000	21,000000	4	4	4	4
223-92	672,000	28,000000	4	4	4	4
075-97	744,000	31,000000	1	0	0	0
314-96	1.056,000	44,000000	3	0	0	3
147-97	1.176,000	49,000000	0	0	0	0
698-94	1.176,000	49,000000	4	4	4	4
367-97	1.560,000	65,000000	4	3	4	3
195-93	2.400,000	100,000000	0	0	0	3
061-92	8.760,000	365,000000	0	0	0	0
184-92	8.760,000	365,000000	1	3	3	3

Gradeinteilung der Immunreaktion: **0** = keine markierten Makrophagen; **1** = vereinzelt markierte Makrophagen; **2** = zahlreiche, locker verteilt markierte Makrophagen; **3** = mehrere, zusammengelagerte markierte Makrophagen; **4** = ubiquitär vermehrt markierte Makrophagen, jeweils pro Gesichtsfeld

Tabelle 8.6 25F9 Reaktivität, Aufstellung der einzelnen Fälle

Fall-Nr.	Überlebenszeit (Stunden)	Überlebenszeit (Tage)	25F9 immunreaktive Makrophagen			
			Blutungs- bereich	Angrenzende Rindenstrukturen	Angrenzende Markstrukturen	Subarach- noidalraum
128-98	0,017	0,000694	0	0	0	0
116-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
084-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
064-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
014-96	0,017	0,000694	0	0	0	0
118-97	0,017	0,000694	0	0	0	0
125-98	0,167	0,006944	0	0	0	0
169-97	0,500	0,020833	0	0	0	0
166-98	0,500	0,020833	0	0	0	0
051-98	1,000	0,041666	0	0	0	0
050-00	2,500	0,104166	0	0	0	0
109-00	3,000	0,125000	0	0	0	0
390-93	3,300	0,137500	0	0	0	0
273-96	6,000	0,250000	0	0	0	0
070-97	7,000	0,291666	0	0	0	0
161-94	9,000	0,375000	0	0	0	0
040-97	11,500	0,479167	0	0	0	0
102-97	12,500	0,520833	0	0	0	0
019-98	15,000	0,625000	0	0	0	2
035-99	20,000	0,833333	0	0	0	0
195-97	24,000	1,000000	1	0	0	1
738-95	24,000	1,000000	0	0	0	1
381-99	24,000	1,000000	0	0	0	0
117-97	27,000	1,125000	0	0	0	0
054-96	32,000	1,333333	0	0	0	0
011-94	48,000	2,000000	0	0	0	0
575-94	49,000	2,041666	0	0	0	0
183-91	60,000	2,500000	0	0	0	0
352-99	72,000	3,000000	2	0	0	1
572-94	76,000	3,166666	0	0	0	0
138-98	100,000	4,166666	0	1	1	0
053-00	117,000	4,875000	0	0	0	0
113-92	120,000	5,000000	0	0	0	0
083-96	120,000	5,000000	0	2	2	2
558-97	192,000	8,000000	0	0	0	0
063-00	216,000	9,000000	0	1	0	0
061-00	240,000	10,000000	0	3	3	2
205-92	240,000	10,000000	0	1	0	0
097-97	264,000	11,000000	0	0	0	0
428-93	288,000	12,000000	0	2	2	0
325-97	504,000	21,000000	0	3	2	0
223-92	672,000	28,000000	0	2	2	0
075-97	744,000	31,000000	0	0	0	0
314-96	1.056,000	44,000000	0	4	4	4
147-97	1.176,000	49,000000	1	0	0	0
698-94	1.176,000	49,000000	0	0	0	0
367-97	1.560,000	65,000000	0	0	0	0
195-93	2.400,000	100,000000	0	0	0	1
061-92	8.760,000	365,000000	0	0	0	0
184-92	8.760,000	365,000000	0	2	2	2

Gradeinteilung der Immunreaktion: **0** = keine markierten Makrophagen; **1** = vereinzelt markierte Makrophagen; **2** = zahlreiche, locker verteilt markierte Makrophagen; **3** = mehrere, zusammengelagerte markierte Makrophagen; **4** = ubiquitär vermehrt markierte Makrophagen, jeweils pro Gesichtsfeld

9. Danksagungen

Ich bedanke mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. M. Oehmichen für die Überlassung des wissenschaftlichen Themas und für die geduldige Anleitung bei der Auswertung der Ergebnisse und bei der Fertigstellung der Arbeit.

Frau Preiß danke ich für die Hilfe bei der Bewältigung jeglicher Probleme bei der Herstellung der histologischen Präparate.

Ganz besonderer Dank für die ständige Unterstützung gilt Sönke Arlt. Außerdem möchte ich meinen Eltern und meiner Familie dafür danken, dass sie mir das Medizinstudium ermöglicht haben.

10. Lebenslauf

- Sabine Jakob
- Geboren am 20.05.1972 in Aschendorf

- Schulausbildung: 1978 bis 1992 in Papenburg
- Schulabschluss: Abitur am Staatlichen Gymnasium Papenburg

- 02/1993 bis 03/1995: Ausbildung zur Medizinisch - Technischen Laboratoriumsassistentin (MTA-L) an der Medizinischen Hochschule Hannover

- 10/1995 bis 11/2003: Studium der Humanmedizin an der Christian Albrechts Universität zu Kiel und an der Universität Hamburg
Gesamtnote der Ärztlichen Prüfung: 2,83
- Experimenteller Teil der Dissertation von Januar 2001 bis Dezember 2001

Berufliche Tätigkeit als Ärztin

- 04/2004 bis 03/2005: Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck

- seit 04/2005: Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Eppendorf-Hamburg