

**Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universitätsklinik Freiburg im
Breisgau**

Expression von Fibronektin (FN)
in den Atemwegen und Lungen
bei Brandtodesfällen.

INAUGURAL – DISSERTATION

zur

**Erlangung des Medizinischen Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Albert–Ludwigs–Universität
Freiburg im Breisgau**



vorgelegt 2007

von Jürina Karen Anderson

geboren in Leer

Dekan

1. Gutachter

2. Gutachter

Jahr der Promotion

Prof. Dr. Christian Peters

Prof. Dr. Michael Bohnert

Prof. Dr. Dr. Ralf Gutwald

2007

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	7
1.1	BEFUNDE AN DEN ATEMWEGEN UND DER LUNGE BEI VITALER VERBRENNUNG.....	7
1.2	PATHOPHYSIOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN NACH RAUCHGASINHALATION.....	9
1.3	DIE ROLLE VON FIBRONEKTIN BEI VERBRENNUNGEN	12
1.3.1	<i>Aufbau und Bedeutung des Fibronektins</i>	<i>12</i>
1.3.1.1	Die Rolle des Fibronektins in der Wundheilung.....	13
1.3.1.2	Die Bedeutung des Fibronektins bei entzündlichen Lungenerkrankungen.....	14
1.3.2	<i>Verhalten des Fibronektins bei Hitze einwirkung.....</i>	<i>15</i>
1.4	FRAGESTELLUNG DER EIGENEN ARBEIT	17
2	MATERIAL UND METHODE	18
2.1	UNTERSUCHUNGSGUT	18
2.2	KONTROLLGRUPPE	18
2.3	DATENERHEBUNG	19
2.3.1	<i>Herstellung der immunhistochemisch gefärbten Schnittpräparate.....</i>	<i>19</i>
2.3.2	<i>Beurteilung der Atemwegspräparate</i>	<i>19</i>
2.4	STATISTISCHE AUSWERTUNG	22
3	ERGEBNISSE	23
3.1	ALLGEMEINE DATENERHEBUNG.....	23
3.1.1	<i>Brandleichen</i>	<i>23</i>
3.1.1.1	Geschlecht und Alter	23
3.1.1.2	Brand einwirkung.....	24
3.1.1.3	Todesarten	24
3.1.1.4	Todesursachen.....	25
3.1.1.5	Brandorte	25
3.1.1.6	Überlebenszeit nach vitaler Verbrennung	26
3.1.1.7	Einsatz von Brandbeschleunigern	26
3.1.1.8	Lungengewichte zum Zeitpunkt des Todes.....	26
3.1.2	<i>Kontrollgruppe.....</i>	<i>27</i>
3.1.2.1	Alter und Geschlecht.....	27
3.1.2.2	Todesarten	27
3.1.2.3	Todesursachen.....	27

3.2	HISTOMORPHOLOGIE DES RESPIRATIONSTRAKTES	28
3.2.1	<i>Brandleichen</i>	28
3.2.1.1	Beurteilung von Epiglottis, Trachea, Hauptbronchien und peripheren Bronchien	29
3.2.1.1.1	Zustand des respiratorischen Epithels	29
3.2.1.1.2	Vorhandensein von Pseudobecherzellen in respiratorischen Epithelien....	30
3.2.1.1.3	Kernelongation und Palisadenstellung in respiratorischen Epithelien.....	31
3.2.1.1.4	Rußablagerungen auf den respiratorischen Epithelien.....	32
3.2.1.1.5	Vorhandensein von Schleim auf der Epiglottis, in der Trachea, in den Hauptbronchien und peripheren Bronchien	33
3.2.1.1.6	Erhalt des mehrschichtig unverhornten Plattenepithels der Epiglottis.....	34
3.2.1.2	Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter im Lungengewebe bei Brandleichen.....	34
3.2.1.2.1	Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter (Teil I) im Lungen- gewebe (semiquantitative Auswertung)	35
3.2.1.2.2	Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter (Teil II) im Lungen- gewebe (qualitative Auswertung).....	36
3.2.2	<i>Kontrollgruppe</i>	37
3.2.2.1	Beurteilung von peripheren Bronchien	37
3.2.2.1.1	Zustand des respiratorischen Epithels	37
3.2.2.1.2	Histologische Veränderungen in den peripheren Bronchien bei Kontrollen.....	38
3.2.2.2	Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter im Lungengewebe der Kontrollgruppe	39
3.2.2.2.1	Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter (Teil I) im Lungen- gewebe (semiquantitative Auswertung)	39
3.2.2.2.2	Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter (Teil II) im Lungen- gewebe (qualitative Auswertung).....	40
3.2.3	<i>Statistischer Vergleich zwischen Brandfällen und Kontrollgruppe</i>	41
3.3	FÄRBUNG MIT FIBRONEKTIN (FN).....	42
3.3.1	<i>Brandfälle</i>	42
3.3.1.1	Expression von Fibronectin in der Epiglottis.....	42
3.3.1.2	Expression von Fibronectin in der Trachea	44
3.3.1.3	Expression von Fibronectin in den Hauptbronchien.....	45

3.3.1.4	Expression von Fibronectin in den peripheren Bronchien.....	46
3.3.1.5	Expression von Fibronectin im Lungengewebe.....	47
3.3.1.6	Expression von Fibronectin in großen Gefäßen des Lungengewebes	48
3.3.2	<i>Kontrollgruppe</i>	49
3.3.2.1	Expression von Fibronectin in peripheren Bronchien.....	49
3.3.2.2	Expression von Fibronectin im Lungengewebe.....	50
3.3.2.3	Expression von Fibronectin in großen Gefäßen des Lungengewebes	51
3.3.3	<i>Statistischer Vergleich zwischen Brandfällen und Kontrollgruppe</i>	52
4	DISKUSSION	54
4.1	ALLGEMEINE DATENERHEBUNG.....	54
4.1.1	<i>Brandleichen</i>	54
4.1.1.1	Geschlecht und Alter	54
4.1.1.2	Brandeinwirkung, Todesart, Brandort.....	54
4.1.1.3	Brandbeschleuniger und Überlebenszeit.....	55
4.1.1.4	Lungengewichte	55
4.2	HISTOMORPHOLOGIE DES GESAMTEN RESPIRATIONSTRAKTES (EPIGLOTTIS, TRACHEA, HAUPTBRONCHUS, PERIPHERE BRONCHIEN).....	56
4.3	DIE ROLLE VON FIBRONEKTIN IN DER LUNGE BEI BRANDOPFERN.....	60
5	ZUSAMMENFASSUNG	69
6	BILDANHANG	70
7	ANHANG	76
7.1	TABELLENANHANG	76
7.2	FÄRBEPROTOKOLL: IMMUNHISTOCHEMISCHER NACHWEIS VON FIBRONEKTIN	89
7.3	VARIABLENLISTE	92
8	LITERATURVERZEICHNIS	97
9	DANKSAGUNG	105
10	LEBENS LAUF	106

1 EINLEITUNG

1.1 Befunde an den Atemwegen und der Lunge bei vitaler Verbrennung

Ein besonderes Interesse bei der rechtsmedizinischen Begutachtung von Todesfällen durch Brandeinwirkung gilt neben der Klärung der Identität, der Todesart und der Todesursache auch die Feststellung der Vitalität zu Brandbeginn. Es gestaltet sich aber auch heute noch problematisch, eine vitale Verbrennung in allen Fällen sicher nachzuweisen, da die Differenzierung vitaler Befunde von postmortalen Brandschädigungen durch die Tatsache erschwert wird, dass die Hitzeeinwirkung meist über den Todeszeitpunkt andauert.

Die Haut ist das erste „Organ“, das mit der Hitze bei Verbrennung in Berührung kommt. Im Weiteren breitet sich die Hitze auf die inneren Organe aus. Man unterscheidet zwischen äußeren - direkt-sichtbaren - Veränderungen an der Haut und denen, die sich im Körperinneren, zum Beispiel im Bereich des Respirationstraktes, abspielen. Von den inneren Organen ist die Lunge dasjenige, das über die Atemwege in direktem Kontakt mit der Umwelt steht.

Nach Bschor [12] können folgende Veränderungen als Zeichen einer vitalen Brand-Exposition gewertet werden:

- Nachweis von CO-Hb-Gehalt im Blut
- Einatmung von Ruß
- streifenförmige Rötung an der Grenze zur intakten Haut
- Aussparung von Krähenfuß- und Stirnfalten bei rußgeschwärztem Gesicht
- Fettembolie

Hingegen zeigten Berg und Schuhmann [3], dass diese Zeichen nicht immer als Nachweis für ein vitales Geschehen herangezogen werden können, weil sie auch postmortal entstanden sein können: So war bei Bränden in geschlossenen Räumen trotz Lebendverbrennung eine CO-Hb-Beladung ausgeblieben. In anderen Fällen konnte gezeigt werden, dass durch langzeitige, immer wiederholte Erhitzung der Leiche eine Reduktion des CO-Hämoglobinsspiegels auf 3 % erzielt werden konnte. Problematisch zeigte sich die Bewertung von Hautreaktionen wie die Randhyperämie verbrannter Bezirke, die auch bei der frühpostmortalen Weiterverbrennung beobachtet werden konnte. Ebenfalls war festzustellen, dass eine Rußeinatmung bei hohen CO-Werten fehlen, hingegen bei CO-negativen Fällen vorliegen kann [12].

In der rechtsmedizinischen Betrachtung spielt das Lungenparenchym in seiner Gesamtheit eine wichtige Rolle, da es zum einen neben den endogenen auch den exogenen Einflüssen in Form inhalativer Aufnahme von schädigenden Substanzen in hohem Maße ausgesetzt ist. Zum anderen bieten sich Lungengewebe und insbesondere Lungengefäße für Untersuchungen an, da sie postmortalen Autolyse- und Fäulnisprozessen gegenüber weniger anfällig sind als andere Gewebe.

Systematische Untersuchungen über die histologischen Veränderungen an Lungen von Brandopfern gibt es unter anderem von Foerster [20, 21], Goldbach [23], Brinkmann et al. [11], Janssen et al. [34], Gerling et al. [22], Madea et al. [46] und Bschor [12], die folgende wichtige histologischen Lungenveränderungen an Brandopfern feststellten: Sie beobachteten makroskopisch neben den Rußablagerungen [11, 20, 23, 35, 46] auch pralle Lungengefäße mit hochgradiger Lungenstauung. Histologisch zeigte sich ein intraalveoläres [19] sowie interstitielles Ödem [11], von Brinkmann [11] und Janssen [34] näher beschrieben als herdförmig mit hämorrhagischen Anteilen und sehr eiweißreich [11]. Darüber hinaus fielen verbreiterte Alveolarsepten [19] durch Flüssigkeitseinlagerung [34] und vermehrt serös-entzündliche Veränderungen mit ausgeprägtem Zerfall elastischer Fasern auf [23]. Es war eine Phagozytose der Rußpartikel von geplatzten oder mit Ruß gefüllten Alveolen [19] zu beobachten, weiterhin eine Hämorrhagie [19, 34], abgeschilferte Alveolarepithelzellen [20, 46], palisadenartige Ausziehungen der Epithelzellen [20, 46] sowie büschelartige Anordnungen der Epithelzellen mit Elongation der Zellkerne [20, 46]. Brinkmann [11] und Madea [46] beobachteten eine Epithelzellquellung mit thermischer Koagulationsnekrose der oberen Schleimhautschicht und eine reaktive Schleimhauthyperämie [11].

Die erwähnten histologischen Befunde im Bereich des Respirationstraktes sind Folgen der Hitzeeinwirkung und Rauchgasinhalation. Die pathophysiologischen Abläufe, die dabei auftreten, werden im nächsten Abschnitt erläutert.

1.2 Pathophysiologische Veränderungen nach Rauchgasinhalation

Herndon et al. [30] konnten in einer Studie zeigen, dass bei Schafen die gleichen pathophysiologischen Veränderungen durch ein Rauchgasinhalationstrauma ausgelöst werden wie auch bei Patienten nach Verbrennung. Nach Rauchgasinhalationen zeigten die Schafe folgende Veränderungen:

- ödematöser, entzündlicher Tracheobronchialbaum
- im fortgeschrittenen Stadium: Ablösung der Mukosa und Bildung eines Lungenödems mit Abfall der pO₂-Werte 8 Stunden nach Rauchgasinhalation,
- Zunahme des Lymphflusses im Respirationstrakt innerhalb von 12 Stunden.

Die Entstehung von Ödemen ist auf 3 verschiedene Abläufe zurückzuführen [58]: Hierbei spielen ein erhöhter hydrostatischer Druck im Lungenkapillarbett, hervorgerufen durch erhöhte linksventrikuläre Drücke z. B. bei Linksherzversagen oder durch einen erhöhten arteriellen Gefäßdruck in der Lungenstrombahn, und eine erhöhte Durchlässigkeit der Lungenkapillaren (= capillary leak) durch Entzündungsparameter, Reizgase oder Toxine eine Rolle. Auch ein erniedrigter onkotischer Gefäßdruck kann die Entstehung eines Ödems nach sich ziehen.

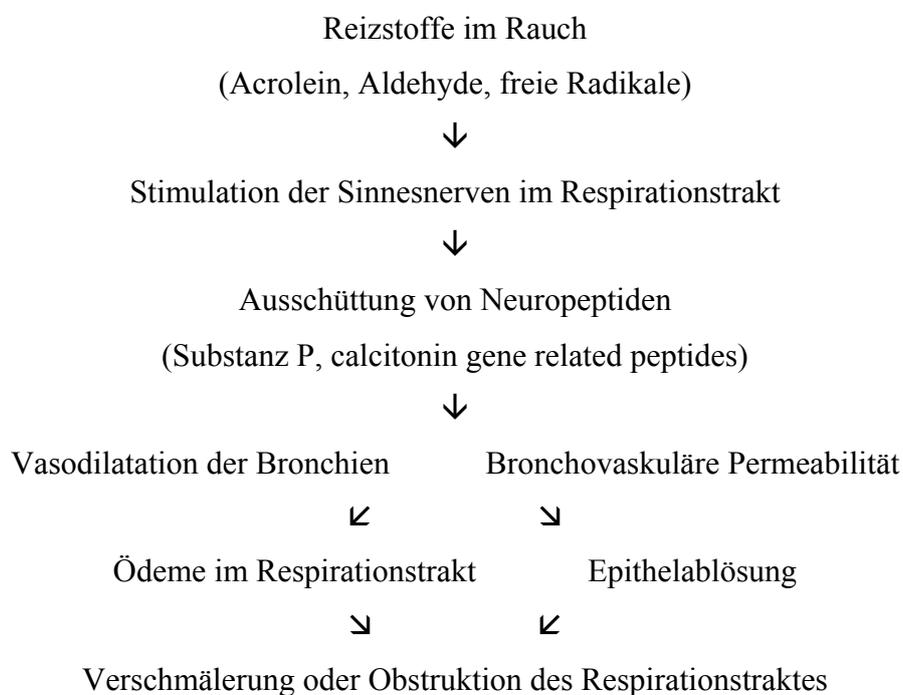


Abbildung 1: Abfolge pathologischer Veränderungen im Respirationstrakt nach Rauchgasinhalation [29]

Zusammenfassend können bei einer schweren Schädigung der Lunge folgende 4 Phasen beobachtet werden:

1. exsudative Phase: der auslösende Schädigungsprozess führt zu gesteigerter Kapillarpermeabilität mit interstitiellem Lungenödem.
2. Einstrom neutrophiler Granulozyten: hierdurch kommt es zur Freisetzung von Sauerstoffradikalen, Proteasen und Entzündungsmediatoren.
3. Entzündungsreaktion mit kapillärem Leck: hieraus resultiert ein alveoläres Lungenödem (= alveolar flooding) mit Einstrom eines proteinreichen Exsudates in die Mikroatelektasen, und es kommt damit zum funktionellen intrapulmonalen Rechts-Links-Shunt mit Hypoxie.
4. Defektstadium mit Fibrose durch Proliferation von Fibroblasten und Endothelzellen mit erhöhter Diffusionsstrecke und einer zunehmenden Perfusionsverschlechterung mit respiratorischer Insuffizienz [57].

Die schwerwiegende Form der akuten Schädigung einer vormals gesunden Lunge ist das Adult Respiratory Distress Syndrome, kurz ARDS. Ursachen liegen zum einen in einer direkten Schädigung der Lunge, z. B. durch ein Inhalationstrauma (Rauchgase) oder durch indirekte Schädigung infolge primär extrapulmonaler Prozesse (systemische Reaktionen). Es entsteht durch eine diffuse Entzündungsreaktion und manifestiert sich vor allem durch Hypoxämie, Lungeninfiltrate und ein nicht-kardiogenes Lungenödem [57]. Die Zunahme von Proteasen in Kombination mit einer Zunahme der neutrophilen Granulozyten im Lungengewebe begründet die Annahme, dass nach Rauchgasinhalation toxische Mediatoren freigesetzt werden, welche mikrovaskuläre Schädigungen in der Lunge auslösen. Dieser strukturelle Defekt bewirkt eine Verschiebung von Flüssigkeit und Proteinen in das Interstitium, so dass das entstehende Ödem eine weitere Funktionseinschränkung im Gasaustausch zur Folge hat [15, 30, 31].

Das ARDS kann isoliert auftreten, ist jedoch oft Teil einer den ganzen Körper betreffenden unspezifischen Entzündungsantwort mit sepsisähnlichen Allgemeinreaktionen des Körpers, auch „Systemic Inflammatory Response Syndrom“ kurz SIRS genannt, die schließlich in einem Multiorganversagen endet [57]. Die Pathogenese des ARDS wird in der folgenden Abbildung verdeutlicht.

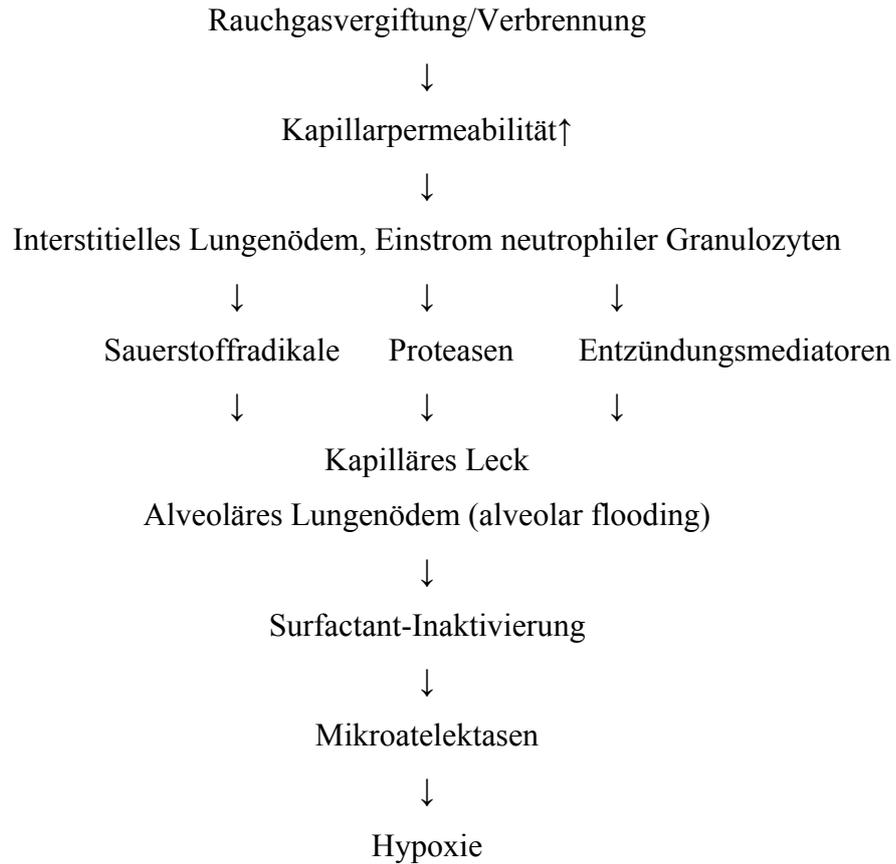


Abbildung 2: Pathogenese des ARDS (Schocklunge) [57]

Basierend auf diesen Erkenntnissen ist die Lunge das Organ, dem bei vitaler Brandexposition eine zentrale Rolle zukommt. Sie kann in doppelter Hinsicht geschädigt werden: einerseits durch die vaskulär vermittelte, systemische Entzündungsreaktion (SIRS), andererseits aber auch aerogen durch die Inhalation von Rauch und Heißgasen mit nachfolgender Immunantwort. Bei der infolge eines Inhalationstraumas stattfindenden Entzündungsreaktion im Bereich der Lunge spielen immunhistochemische Marker wie P-Selektin und der Von-Willebrand-Faktor (vWF) eine große Rolle, die für die am Beginn einer jeden Entzündungsreaktion stehende Zunahme von Entzündungsmediatoren im Gebiet der Gewebeschädigung verantwortlich sind [71]. Auch dem Hitzeschockprotein HSP 70 kommt bei thermischen Veränderungen in der Lunge eine zentrale Bedeutung zu [47]. Fibronektin zählt ebenfalls zu den frühen Entzündungsmarkern. Seine Bedeutung wird in den nächsten Kapiteln erläutert.

1.3 Die Rolle von Fibronektin bei Verbrennungen

1.3.1 **Aufbau und Bedeutung des Fibronektins**

Fibronektin gehört zu der Gruppe der adhäsiven Glykoproteine, auch Nektine genannt, die den Kontakt zu den im Bindegewebe eingelagerten Zellen vermitteln [43]. Fibronektin ist ein proteaseempfindliches Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von etwa 45000 Dalton, das aus durch 2 Disulfidbrücken miteinander verbundenen Polypeptidketten besteht [52, 63].

Zu den Zellen, die zur Expression von Fibronektin befähigt sind, gehören neben den Fibroblasten [62], Endothelzellen [33] auch Makrophagen und Monocyten [1]. Hepatozyten [75] und Astrogliazellen [68] sind ebenfalls in der Lage, Fibronektin zu bilden. In der Lunge findet man Fibronektin in Gefäßendothelien, Alveolarmakrophagen, Fibroblasten, glatten Muskelzellen der Gefäßwand, Chondrocyten und im umgebenden Lungengewebe [66]. Weiterhin erscheint Fibronektin in den Pneumozyten Typ I, nicht in den Pneumozyten Typ II, und an deren basaler und luminaler Oberfläche [61].

Zum einen liegt Fibronektin als unlösliche Form an der Oberfläche normaler Bindegewebszellen und in der extrazellulären Matrix vor, zum anderen zeigt sich Fibronektin als lösliche, im Plasma vorhandene Form, auch bezeichnet als „cold insoluble globulin“ [51]. Diese Variante entspricht einem in der Leber gebildeten kälteunlöslichen Plasmaprotein mit einer Plasmakonzentration von 300 µg/ml [32]. Das lösliche Plasmafibronektin, das von Fibroblasten, Hepatozyten, Gefäßendothelzellen und Peritonealmakrophagen gebildet wird [55], zeigt große Ähnlichkeit zum unlöslichen Fibronektin, das an der Oberfläche verschiedener Zellen zu finden ist. Obwohl diese beiden Proteine sehr ähnlich sind, sind sie hinsichtlich ihrer biochemischen Eigenschaften und Funktionen unterschiedlich: Als Strukturprotein ist Fibronektin in den Fasern des interstitiellen Bindegewebes lokalisiert. Es besitzt in dieser Form die Fähigkeit, sich an zahlreiche andere Makromoleküle wie z. B. Kollagen, Glykosaminoglykane, Fibrinogen bzw. Fibrin zu binden. In dieser unlöslichen Form, in der das Fibronektin an der Oberfläche von Zellmembranen lokalisiert ist, dient es der Zelladhäsion, d. h. es bewirkt die Anheftung und Fixierung von Zellen an Nachbarzellen oder an extrazelluläre Strukturen [43]. Fibronektin zeichnet sich aus durch eine hohe Affinität zu Kollagen, vor allem zu Kollagen Typ III und Fibrin [36]. Dadurch wird einerseits die Anheftung der verschiedenen, zur Expression von Fibronektin befähigten Zellen an Kollagen und Fibrin begünstigt, andererseits wird die Zelladhäsion von Fibroblasten [25] und Endothelzellen [14] in der Zellkultur ver-

stärkt. Das Fibronectin, das an der Zelloberfläche verschiedener Zellen zu finden ist, ist für die Zell-Zell-Interaktion verantwortlich. Seine Aufgabe wird in dieser zelloberflächengebundenen Form im Aufrechterhalten der Gefäßpermeabilität und der Wundheilung gesehen [64].

Die löslichere Form des Fibronectins - das Plasmafibronectin - hat die Aufgabe, das Reticuloendotheliale System (RES) und die Makrophagen zu stimulieren, Fibrinbestandteile oder andere kollagenartige Gewebetrümmer zu entfernen und damit Mikroembolisationen in Lungen- und peripheren Gefäßen zu verhindern [64].

In den nächsten Kapiteln wird aufgezeigt, wie Fibronectin die verschiedenen Aufgaben wahrnimmt.

1.3.1.1 Die Rolle des Fibronectins in der Wundheilung

Aufgrund der Fähigkeit des Fibronectins, zur Verstärkung der Zellhaftung beizutragen, und aufgrund seiner chemotaktischen Eigenschaften, spielt dieses Glykoprotein bei der Zellmigration im Rahmen der Wundheilung [26, 38, 60] und in der Gefäßneubildung [13] eine große Rolle. Sowohl in tierexperimentellen als auch in menschlichen Studien konnte gezeigt werden, dass Fibronectin bereits in den frühen Phasen der Wundheilung auftritt. Die Arbeitsgruppe um Kurkinen hatte an Hautwunden von Mäusen beobachtet, dass Fibronectin zusammen mit einwandernden Fibroblasten bereits vor dem Auftreten von Kollagen I und III im Wundgebiet zu finden war [38]. Betz et al. [4] hatten gezeigt, dass Hautwunden mit Überlebenszeiten von bis zu wenigen Minuten eine eindeutige Fibronectin-Reaktion zeigten, die sich von postmortalen Wunden in ihrem Anfärbungsmuster deutlich unterschied. Während vitale Hautwunden eine Anfärbung von Fibronectin in Form scharf konturierter, kräftig anfärbbarer Fibronectinstränge zeigten, waren es bei postmortal gesetzten Wunden band- bis fleckförmige, eher verwaschene oder körnige Ausprägungsmuster. In Wunden, die nicht oder nur sehr kurz überlebt wurden, und in postmortalen Wunden waren meistens keinerlei Fibronectin-Reaktionen nachweisbar. Es konnte gezeigt werden, dass die Fibronectin-Expression zunächst mit zunehmender Überlebenszeit zunahm und sich dann mit Ausbildung des Granulationsgewebes nach Abschluss der Zellmigration ca. 3 Wochen nach Wundentstehung reduzierte. Hier verschwanden sowohl die fleckförmigen Fibronectinmuster als auch die typischen Fibronectin-Netze. Das Fibronectin fand sich dann lediglich auf der Oberfläche von Fibroblasten oder vereinzelt zwischen den Strängen des Granulations- und Narbengewebes [13]. Die immunhistochemische Darstellung von Fibronectin kann deshalb zur Vitalitätsbeurteilung von Haut-

verletzungen mit einer Überlebenszeit von wenigen Minuten herangezogen werden, wenn die Hautveränderungen nicht nur im Bereich des Wundrandes und/oder in Blutungsbezirken auftreten, sondern auch in tiefer gelegenen Abschnitten nachgewiesen werden können [4-6].

Auch bei der zellulären Blutstillung spielt Fibronectin eine wichtige Rolle, weil es Wechselwirkungen mit den vorbeiziehenden Thrombozyten eingeht. Die Thrombozyten haben spezifische Membranrezeptoren für die verschiedenen Matrixproteine, wie z. B. Fibronectin, Kollagen und Laminin. Kommen die Blutplättchen mit geschädigten Stellen in venösen Gefäßen in Kontakt, kommt es zu einer Interaktion zwischen den Blutplättchen und den darunter liegenden Matrixproteinen. Durch die Anheftung an die Proteine werden Membranrezeptoren aktiviert, die über intrazelluläre Botenstoffe zu einer Reihe von Folgereaktionen der Thrombozyten führen und die ihren Abschluss in einer über mehrere Stufen verlaufenden Aggregation finden [44]. Ein Wundverschluss ist das Ergebnis dieser Wechselwirkung von Fibronectin und Thrombozyten.

1.3.1.2 Die Bedeutung des Fibronectins bei entzündlichen Lungenerkrankungen

Durch das Vorkommen eines Fibronectin-Rezeptors auf der Oberfläche von Alveolarmakrophagen, den Phagozyten und Makrophagen der Lunge [37, 42], spielt Fibronectin eine Rolle bei entzündlichen Prozessen in tiefer gelegenen Abschnitten des Atemtraktes [56]. Fibronectin stellt einen der Mediatorstoffe der Alveolarmakrophagen dar, die eine wichtige Rolle dabei spielen, einerseits die Lunge zu schützen, andererseits den entstandenen Schaden, der bei entzündlichen Prozessen in den unteren Atemwegen auftritt, zu beseitigen und zu reparieren [76]. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Alveolarmakrophagen die Fähigkeit besitzen, Fibronectin zu bilden und zu sezernieren [56]. Die Alveolarmakrophagen, die in Zusammenhang mit chronisch-entzündlichen Erkrankungen der Lunge (z. B. idiopathische interstitielle Pneumonie [49], Alveolitis [70], bronchopulmonale Dysplasie [66]) auftreten, sezernieren sogar noch größere Mengen dieses Proteins [49, 54]. Bei den chronisch-entzündlichen Lungenerkrankungen hat man auch festgestellt, dass die Alveolarmakrophagen in der Lage sind, spontan zwei Wachstumsfaktoren zu exprimieren. Einerseits bilden sie - wie bereits erwähnt - Fibronectin, andererseits sezernieren sie den Alveolar-Macrophage-Derived Growth Factor (AMDGF). Diese beiden Proteine sind dazu befähigt, ihrerseits Fibroblasten zur Proliferation zu bringen. Hierbei spielen noch Faktoren wie Transferrin, Interferon, Prostaglandin E2 und Interleukin 1 eine Rolle [7].

So kann das Phänomen erklärt werden, dass es bei chronisch-entzündlichen Lungenerkrankungen zu einem Anstieg der Zahl an Alveolarmakrophagen und Fibroblasten und damit zu einem Ansteigen der Fibronektinkonzentration kommt. Als Folge der Ansammlung von Fibroblasten in den Alveolarstrukturen kommt es zu einem Zusammenbruch der alveolar-kapillären Einheit [7] und letztlich zu einer Fibrose mit vermindertem Sauerstoffaustausch.

1.3.2 Verhalten des Fibronektins bei Hitze einwirkung

Deno, McCafferty, Saba und Blumenstock [15] stellten bei Ratten, die sie der Hitze des Brandes aussetzten, fest, dass es bis zu 1,5 h nach dem Brand zunächst zu einem Abfallen der Plasmafibronektinkonzentration von 700 µg/ml auf 100 µg/ml und anschließend zu einem Wiederansteigen über die Normwerte hinaus kam. Nach 24 h wurde ein Wert von etwa 1000 µg/ml erreicht, während bei der Kontrollgruppe die Plasmafibronektinkonzentration konstant bei 600 µg/ml lag. Blumenstock et al. [8] konnten zeigen, dass es bei starker Hitze zu einer vermehrten Ansammlung von Fibronektin in der Leber kommt und sich das Plasmafibronektin zum anderen an Bestandteile des umgebenden verletzten Gewebes bindet. Es wird vermutet, dass sich nach der Hitze einwirkung kollagenartige Gewebetrümmer - sogenannte blood-borne-opsonized tissue debris - aus der verbrannten Haut ablösen und ins Plasma gelangen, um sich dort direkt mit dem löslichen Fibronektin zu verbinden. Dies hat eine Abnahme der Plasmafibronektinkonzentration zur Folge [39, 40]. Die entstehenden Gewebetrümmer sorgen ihrerseits für eine Aktivierung von Leukozyten. Es kommt zu einem Einstrom neutrophiler Granulozyten ins Lungengewebe. In Kombination mit einer Zunahme von Proteasen werden nach Rauchgasinhalationen toxische Mediatoren freigesetzt, welche mikrovasculäre Schädigungen in der Lunge auslösen. Über eine Mikroembolisation kommt es zu einer Änderung der Kapillarpermeabilität. Es kommt zu einer Verschiebung von Flüssigkeit und Proteinen in das Interstitium, so dass das entstehende Ödem eine weitere Funktionseinschränkung im Gasaustausch der Lunge nach sich zieht [15, 30, 31].

La Celle, Blumenstock und Saba [8, 40] stellten auch fest, dass es nach Hitze einwirkung zu einer proteolytischen Spaltung des Plasmafibronektins kommt. Diese Fibronektinbruchstücke konkurrieren mit dem Fibronektin des umgebenden Gewebes und schwächen die Zellverbände zwischen den Endothelzellen. Die Folge ist eine Abnahme der Plasmafibronektinkonzentration sowie durch den Zusammenbruch der alveolar-kapillären Einheit eine Änderung der Kapillarpermeabilität. In einer weiteren Studie [55] konnte ein Unterschied gezeigt wer-

den zwischen Patienten mit Verbrennungen lediglich im Bereich der Haut (Gruppe 1) und solchen, in denen die Rauchgasinhalation bronchoskopisch zu Veränderungen der Lungenstrukturen (Gruppe 2: verbrannte Lunge; Gruppe 3: infizierte Lunge) geführt hatte. Während es in allen Fällen zu einem Absinken der Plasmafibronektinkonzentration kam, war die Konzentration in Gruppe 2 besonders 2 Tage nach dem Inhalationstrauma niedriger als in den beiden anderen Gruppen. Als Ursache hierfür wurde vermutet, dass sich das Plasmafibronektin an die geschädigten Kapillaren bindet und somit nicht mehr nachgewiesen werden kann oder dass es nach der Zerstörung der alveolären Kapillaren zu einer verminderten Bildung von Fibronektin in den Endothelzellen kommt. Da die Endothelzellen neben den Fibroblasten maßgeblich für die Bildung des Plasmafibronektins verantwortlich sind, ist verständlich, dass es bei Zerstörung der Kapillaren infolge eines Inhalationstrauma zu einem Absinken der Plasmafibronektinkonzentration kommt.

Saba et al. [41, 64] hatten in Studien bei Brandopfern neben einem Mangel an Plasmafibronektin auch eine Fehlfunktion des Reticuloendothelialen Systems beobachtet. Diese Fehlfunktion war auf einen Mangel an „Opsonic Alpha 2 Surface Binding Glycoprotein“ zurückzuführen, das identisch ist mit dem kalte-unlöslichen Plasmafibronektin.

Infolge des Absinkens der Plasmafibronektinkonzentration kommt es nach Grossmann [27] zu einer Unterdrückung des Reticuloendothelialen Systems (RES). Da der Reiz des Fibronektins, die Phagozytose anzukurbeln ausbleibt, können die Zellen des RES ihrer Aufgabe, gemeinsam mit den Makrophagen Gewebetrümmern zu entfernen, nicht mehr nachkommen. Die Folgen sind Gefäßembolisationen und somit ein Zusammenbruch der alveolar-kapillären Einheit.

Ausgehend von solchen Beobachtungen werden in der vorliegenden Arbeit die Reaktionen an den Atemwegen und dem Lungengewebe bei Brandtodesfällen hinsichtlich der Expression von Fibronektin überprüft.

1.4 Fragestellung der eigenen Arbeit

Da es bei starker Hitzeinwirkung zur weitgehenden Zerstörung der Körperoberfläche und somit zu Verbrennungen der Haut kommt, wurden die Atemwege als das wichtigste mit der Umwelt kommunizierende Organsystem im Weiteren näher untersucht. In den Abschnitten der Atemwege findet meist keine direkte Brandeinwirkung statt. Sie sind jedoch sowohl exogenen (Inhalation heißer Gase) als auch endogenen (Ausschüttung von Entzündungsmediatoren im Kreislaufsystem) Einflüssen ausgesetzt.

In der vorliegenden Arbeit wird nun nach Veränderungen bei Brandleichen gesucht, welche neben den äußeren (z. B. Veränderungen an der Haut) und inneren Zeichen (makroskopische und mikroskopische Beobachtungen am Respirationstrakt) hinsichtlich der Vitalität der Verbrennung eine sichere Differenzierung zulassen. Das Ziel dieser Arbeit ist es zu überprüfen, ob bei Todesfällen, die im Zusammenhang mit einem Brandgeschehen aufgetreten sind, im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv (mit unterschiedlichen Todesursachen außer Brandgeschehen) vermehrt Fibronektin im Lungengewebe exprimiert wird, um so Rückschlüsse auf vitale Hitzeexposition und Überlebenszeiten ziehen können. Fibronektin wurde als immunhistochemischer Marker gewählt, weil es als früher Entzündungsmarker unter anderem im Rahmen der Wundheilung und bei entzündlichen Erkrankungen vermehrt exprimiert wird.

2 MATERIAL UND METHODE

2.1 Untersuchungsgut

Die Studie umfasst 73 Todesfälle, die im Zeitraum von 1996 bis 2001 im Zusammenhang mit einem Brandgeschehen aufgetreten sind. Diese setzen sich zusammen aus 52 Todesfällen aus dem Einzugsbereich des Instituts für Rechtsmedizin der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, dem Regierungsbezirk Südbaden. Weitere 21 Todesfälle konnten aus dem Institut für Rechtsmedizin in Berlin in das Untersuchungsgut aufgenommen werden. Die unterschiedlichen Todesursachen (Rauchgasvergiftung, Inhalationstrauma, Verbrennungskrankheit, Inhalationshitzeschock) sowie Angaben zu Geschlecht, Alter in Jahren zum Zeitpunkt des Todes, Todesart (Unfall, Tötungsdelikt, Suizid, natürlicher Tod), Brandort, Überlebenszeit nach vitaler Verbrennung, Einsatz von Brandbeschleunigern und auch Angaben über das Lungengewicht konnten den Sektionsprotokollen entnommen werden.

Besonderes Interesse galt bei diesen Fällen der Analyse im Hinblick auf den Zeitpunkt der Brandeinwirkung (vital, perimortal, postmortal).

2.2 Kontrollgruppe

Zum Vergleich wurde aus dem übrigen rechtsmedizinischen Sektionsgut eine Kontrollgruppe zusammengestellt. Es wurden 55 Todesfälle aus den Jahren 2000 und 2001 nicht-selektiv ausgewählt, bei denen keinerlei Zusammenhang mit einem Brandgeschehen vorlag. Weitere Ausschlusskriterien waren späte Leichenveränderungen sowie eine intensivmedizinische Behandlung. Auch bei der Kontrollgruppe konnten Angaben zu Geschlecht, Alter, Todesart und Todesursache dem Sektionsprotokoll entnommen werden. Die verschiedenen Todesursachen können der Tabelle 5 im Ergebnisteil entnommen werden.

2.3 Datenerhebung

2.3.1 Herstellung der immunhistochemisch gefärbten Schnittpräparate

Die verschiedenen Präparate der respiratorischen Organe (Epiglottis, Trachea, Hauptbronchus, periphere Bronchien, Lungengewebe) wurden zunächst formalinfixiert, entwässert, entfettet, in Paraffin eingebettet, in 3 µm dicke Schnitte geschnitten und auf Objektträger aufgezogen. Das anschließende Entparaffinieren der Präparate erfolgte im Xylol- sowie im Alkoholbad mit absteigender Alkoholreihe. Die histologischen Präparate wurden danach mit einem Antikörper gegen Fibronectin (Dako®, Rabbit Anti-Human, Fibronectin, Code No. A 0245, Lot No. 097) immunhistochemisch gefärbt. Die Anfärbung mit dem Antikörper erfolgte mittels Avidin-Biotin-Methode unter Verwendung des Vectastain Universal Elite ABC Kits der Firma Vector Laboratories (Burlingame, USA). In weiteren Schritten wurden durch Färbung mit Hämalaun und späteres Bläuen in Leitungswasser die Präparate zum Mikroskopieren fertiggestellt.

(Genaue Färbeschritte siehe Kapitel 7.2 Färbeprotokoll: Immunhistochemischer Fibronectin-Nachweis).

2.3.2 Beurteilung der Atemwegspräparate

Jeder Schnitt wurde in 40-, 100- und 200-facher Vergrößerung im Lichtmikroskop mäanderförmig durchgesehen und anhand eines Auswertungsbogen (siehe Kapitel 7.3 Variablenliste) ausgewertet. Der Auswertungsbogen erfasste sowohl allgemeine Merkmale der Toten (Geschlecht, Alter in Jahren zum Zeitpunkt des Todes, Brandeinwirkung, Todesart, Todesursache, Brandort, Überlebenszeit nach vitaler Verbrennung, Einsatz von Brandbeschleuniger, Lungengewichte) als auch histologische Parameter.

Bei dem Variablenbogen wurde eine Aufteilung in die einzelnen respiratorischen Abschnitte Epiglottis – Trachea – Hauptbronchien – periphere Bronchien – Lungengewebe vorgenommen.

Die histologischen und immunhistochemischen Befunde wurden nach ihrer Häufigkeit des Auftretens semiquantitativ nach folgendem Schlüssel (Schlüssel 3) ausgewertet:

- sehr geringe,
- geringe,
- mittelgradige und
- starke Ausprägung.
- Merkmal nicht auswertbar.

Einige Eigenschaften konnten nur qualitativ ausgewertet werden, so dass dort ein Ja/Nein-Schlüssel (Schlüssel 2) verwendet wurde.

Die Atemabschnitte Epiglottis, Trachea, Hauptbronchus und periphere Bronchien wurden allgemein histologisch untersucht auf

- den Zustand des respiratorischen Epithels (normal, blasig abgehoben, fetzig abgehoben oder nicht beurteilbar),
- das Vorhandensein von Pseudobecherzellen im respiratorischen Epithel,
- Kernelongation und Palisadenstellung im respiratorischen Epithel,
- Rußablagerungen,
- Schleimsekretion ins Lumen und
- den Erhalt des mehrschichtig unverhornten Plattenepithels speziell bei der Epiglottis.

Das Lungengewebe wurde bezüglich

- intraalveolärem Ödem,
- interstitiellem Ödem,
- Hämorrhagie,
- Lungenemphysem,
- Abschilferung von Alveozyten,
- Hyperämie in den Kapillaren der Alveolarwand und
- Rußablagerungen an den Alveolarwänden beurteilt.

Eine **Expression von Fibronectin** konnte in folgenden Strukturen beobachtet werden:

I. Epiglottis

Im respiratorischen Epithel, im Plattenepithel, im Endothel von Blutgefäßen, in der Tunica media von Blutgefäßen, nicht-Zellen-assoziiert (frei) im Gefäßlumen, in Monozyten (in Blutgefäßen), in nicht-monozytären Leukozyten (in Blutgefäßen), nicht-Zellen-assoziiert (frei) im Gewebe der Epiglottis, in Makrophagen, in Fibroblasten und in Drüsenzellen.

II. Trachea

Im respiratorischen Epithel, im Endothel von Blutgefäßen, in der Tunica media von Blutgefäßen, nicht-Zellen-assoziiert (frei) im Gefäßlumen, in Monozyten (in Blutgefäßen), in nicht-monozytären Leukozyten (in Blutgefäßen), nicht-Zellen-assoziiert (frei) im Gewebe der Trachea, in Makrophagen, in Fibroblasten und in Drüsenzellen.

III. Hauptbronchien

Im respiratorischen Epithel, nicht-Zellen-assoziiert (frei) im umgebenden Gewebe der Hauptbronchien, in Fibroblasten, in Makrophagen und in Drüsenzellen.

IV. Lungengewebe

- periphere Bronchien

im respiratorischen Epithel, nicht-Zellen-assoziiert (frei) im umgebenden Gewebe der peripheren Bronchien, in Fibroblasten und in Makrophagen.

- Alveolen

in abgeschilfert Zellen, in Alveolarepithelzellen, in Alveolarmakrophagen, nicht-Zellen-assoziiert (frei) in Alveolarepten, nicht-Zellen-assoziiert im Alveolarlumen und nicht-Zellen-assoziiert (frei) im Kapillarlumen.

- Lungengefäße

im Endothel der Gefäße, in der Tunica media der Gefäße, nicht-Zellen-assoziiert (frei) im Gefäßlumen, in Monozyten und in nicht-monozytären Leukozyten.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte am Institut für Medizinische Biometrie und Medizinische Informatik (IMBI) in der Abteilung für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität Freiburg.

Statistisch ausgewertet wurden die beurteilbaren Fälle vitaler/perimortaler Verbrennung sowie die der Kontrollgruppe. Fälle postmortaler Verbrennung mussten aufgrund niedriger Fallzahlen aus der statistischen Beurteilung genommen werden. Sie wurden aber zur deskriptiven Erfassung der Häufigkeit und Ausprägung der Parameter im Hinblick auf einen Vergleich zwischen vitaler und postmortaler Verbrennung hinzugezogen.

Für den Vergleich der Gruppe der Brandleichen mit der Kontrollgruppe wurde zunächst der Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben verwendet. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

Der Vergleich von Untergruppen der Brandleichen mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests verlief aufgrund der zu kleinen Fallzahl ergebnislos.

Um dennoch Unterschiede hervorheben zu können, kam die logistische Regression, korrigiert nach Holm, mit Forward und Backward Elimination zur Anwendung.

3 ERGEBNISSE

3.1 Allgemeine Datenerhebung

3.1.1 Brandleichen

3.1.1.1 Geschlecht und Alter

Bei den untersuchten Brandleichen handelte es sich um 30 (41,1 %) weibliche und 43 (58,9 %) männliche Tote. Das Durchschnittsalter betrug 46,1 Jahre. Der Mittelwert des Alters lag bei den männlichen Brandleichen bei 47,7 Jahren, bei den weiblichen Brandleichen bei 43,9 Jahren.

Das jüngste Opfer war ein zum Todeszeitpunkt 6 Jahre altes Mädchen, das älteste eine 92-jährige Frau.

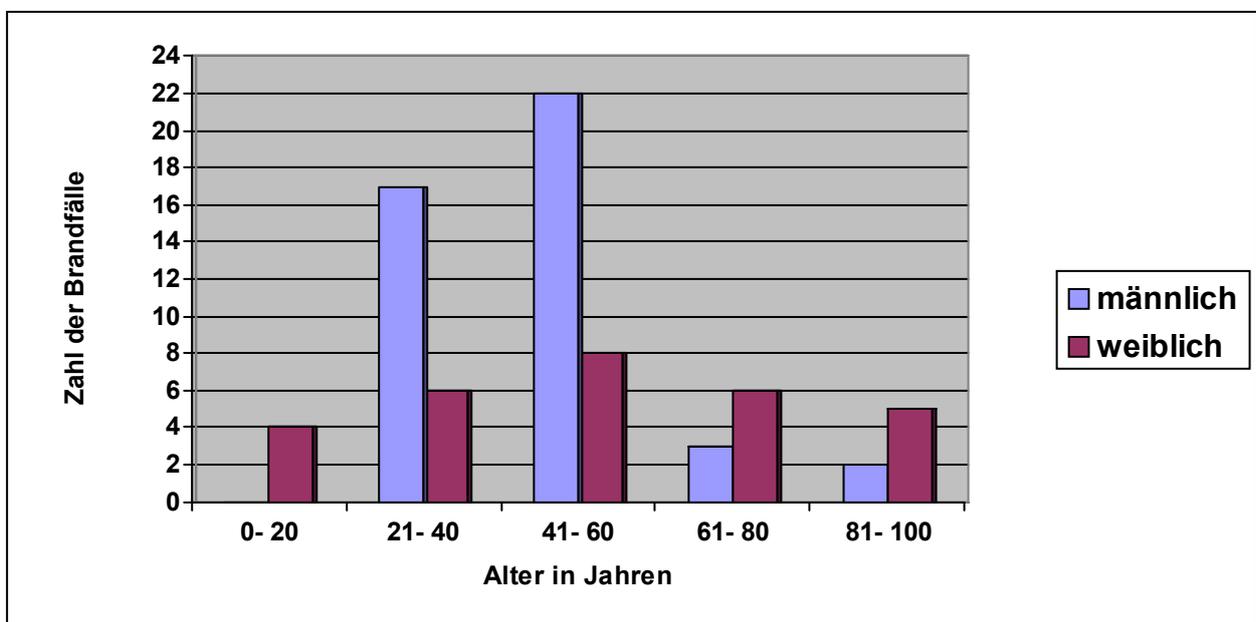


Abbildung 3: Altersverteilung der Brandfälle nach Geschlecht

3.1.1.2 Brandeinwirkung

Die Mehrzahl der Brandopfer, 80,8 %, war bei Ausbruch des Brandes am Leben gewesen, und bei 13,7 % der Untersuchten war aufgrund der Umstände und der makroskopischen Obduktionsbefunde von einer postmortalen Verbrennung auszugehen. Bei 5,5 % des Untersuchungsgutes lag perimortales Verbrennen vor.

Brandeinwirkung	Absolute Fallzahlen	Prozent
Vital verbrannt	59	80,8 %
Perimortal verbrannt	4	5,5 %
Postmortal verbrannt	10	13,7 %
Gesamt	73	100 %

Tabelle 1: Brandeinwirkung in absoluten Zahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der untersuchten Brandleichen

3.1.1.3 Todesarten

Die Mehrzahl der Brandleichen waren mit 54,8 % Opfer eines Unfalls. Den zweithöchsten Anteil machten die Suizidenten mit 21,9 % aus. Bei einem ähnlich hohen Anteil war die Todesart unklar. 1,4 % der Untersuchten fielen einem Tötungsdelikt zum Opfer. Bei ebenfalls 1,4 % lag natürlicher Tod vor. Bei 20,5 % der Fälle konnte die Todesart nicht geklärt werden.

Todesarten	Anzahl der Fälle	Prozent
Unfall	40	54,8 %
Suizid	16	21,9 %
Unklare Todesursache	15	20,5 %
Tötungsdelikt	1	1,4 %
Natürlicher Tod	1	1,4 %
Gesamt	73	100 %

Tabelle 2: Todesarten in absoluten Zahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der Brandleichen

3.1.1.4 Todesursachen

Die häufigste Todesursache bei den vital/perimortal Verbrannten war mit 57,1 % die Verbrennungskrankheit. Den zweithöchsten Anteil machte die Rauchgasvergiftung mit 19 % aus. Es folgten Inhalationsschmerz mit 12,7 % und Inhalationstrauma mit 11,1 %.

Todesursachen	Anzahl der vital/perimortal Verbrannten	Prozent
Verbrennungskrankheit	36	57,1 %
Rauchgasvergiftung	12	19 %
Inhalationsschmerz	8	12,7 %
Inhalationstrauma	7	11,1 %
Gesamt	63	100 %

Tabelle 3: Todesursachen in absoluten Zahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der vitalen/perimortalen Verbrennungsoptionen

In 10 Obduktionsfällen, bei denen ein postmortales Verbrennen festgestellt wurde, ging dem Brandgeschehen am häufigsten ein Polytrauma mit 50 % voraus. Daneben wurden bei den am Brandort aufgefundenen Leichen Erstickungen, Verbluten, Schädelhirntrauma und Rauchgasvergiftung mit jeweils 10 % als eigentliche Todesursache mit erst anschließendem, d. h. postmortalem Verbrennen festgestellt.

3.1.1.5 Brandorte

Am häufigsten, in 27 Fällen (36,9 %), befand sich der Brandort in einem Gebäude und am zweithäufigsten, in 24 Fällen (32,9 %), in einem Fahrzeug. Bei 18 untersuchten Fällen (24,7 %) konnte der Brandort nicht ermittelt werden. In 4 Fällen (5,5 %) wurden die Brandopfer im Freien aufgefunden.

3.1.1.6 Überlebenszeit nach vitaler Verbrennung

Überlebenszeit	Zahl der vital/perimortal Verbrannten	Prozent
Minuten	4	6,3 %
Stunden	4	6,3 %
Tage	4	6,3 %
Keine bzw. extrem kurze	46	73 %
Nicht bekannt	5	7,9 %
Gesamt	63	100 %

Tabelle 4: Überlebenszeit nach der Brandeinwirkung in absoluten Zahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der vitalen/perimortalen Verbrennungsoffer

Bei der Mehrzahl der Verbrennungsoffer, in 73 %, konnte nach den Umständen des Falles und nach den makroskopischen Obduktionsbefunden ein Tod noch am Ereignisort festgestellt werden. Das Eintreten des Todes im Krankenhaus innerhalb der ersten 24 Stunden nach vitaler Verbrennung wurde bei 12,6 % der Fälle beobachtet. Ein späterer Todeseintritt wurde bei 6,3 % festgestellt. Nicht geklärt werden konnte die Überlebenszeit bei 7,9 % der Fälle.

3.1.1.7 Einsatz von Brandbeschleunigern

In 52,1 % der Fälle waren Substanzen, die brandbeschleunigend wirkten, z. B. Treibstoff in das Brandgeschehen einbezogen. Bei 19,2 % wurden keine solchen Substanzen verwendet. Bei 28,7 % lagen keine Angaben über die Beteiligung von Brandbeschleunigern vor.

3.1.1.8 Lungengewichte zum Zeitpunkt des Todes

Das Lungengewicht der 42 Freiburger Fälle konnte den Sektionsprotokollen entnommen werden. Für die männlichen Lungengewichte (rechts und links) war das arithmetische Mittel 1250,81 g. Das Minimum lag bei 700 g, das Maximum bei 1950 g. Der erhobene Mittelwert bei den weiblichen Brandleichen war 888,86 g. Der Minimalwert betrug 420 g, der Maximalwert 1315 g.

3.1.2 Kontrollgruppe

3.1.2.1 Alter und Geschlecht

Die Kontrollgruppe bestand aus 41 (74,5 %) männlichen und 14 (25,5 %) weiblichen Toten. Das Durchschnittsalter betrug 47,3 Jahre. Der Mittelwert des Alters lag bei den männlichen Toten bei 43,9 Jahren, bei den weiblichen Toten bei 57,3 Jahren. Das jüngste Opfer war ein 4 Monate alter männlicher Säugling, das älteste ein 88-jähriger Mann.

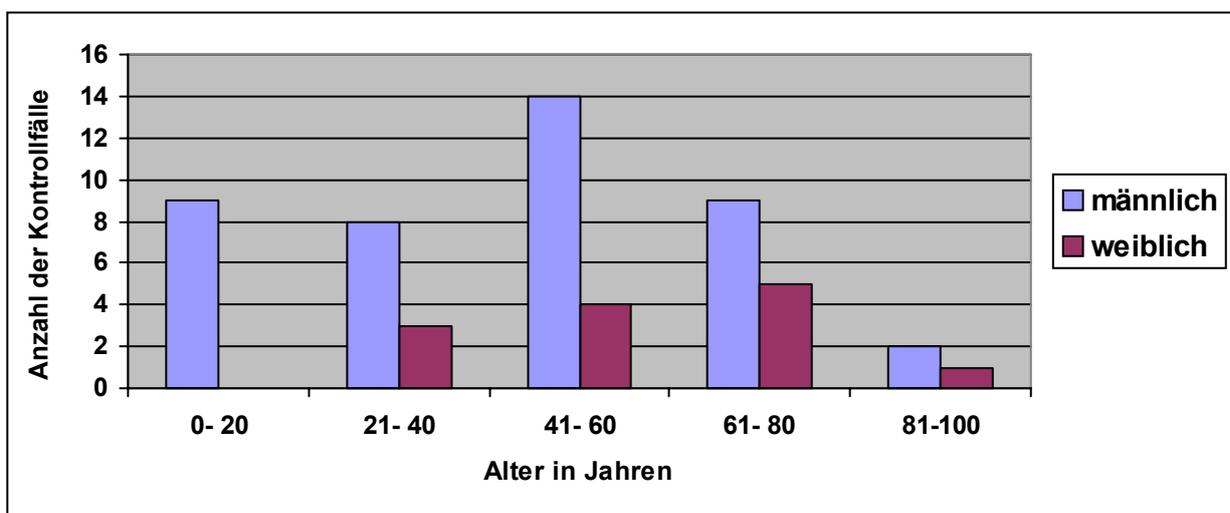


Abbildung 4: Altersverteilung der Kontrollgruppe nach Geschlecht

3.1.2.2 Todesarten

Die Mehrzahl der Toten waren mit 43,9 % Opfer eines Unfalls, die zweitgrößte Gruppe mit 41,8 % starb eines natürlichen Todes. 5 % begingen Suizid und 3 % der Obduzierten waren Opfer eines Tötungsdeliktes.

3.1.2.3 Todesursachen

Die häufigste Todesursache bei der Kontrollgruppe war Herzversagen (27,3 %). Es folgten Schädelhirntrauma und Polytrauma mit jeweils 14,5 %. Die übrigen Todesursachen (Tabelle 5) lagen jeweils in weniger als 10 % der Fälle vor.

Todesursachen	Anzahl der Fälle	Prozent
Herztod	15	27,3 %
Schädelhirntrauma	8	14,5 %
Polytrauma	8	14,5 %
Pneumonie	3	5,5 %
Intoxikation	3	5,5 %
Ersticken	3	5,5 %
Erhängen	2	3,6 %
Erdrosseln	2	3,6 %
Kopfschuss	2	3,6 %
SIDS	2	3,6 %
Ertrinken	1	1,8 %
Kreislaufversagen	1	1,8 %
Verbluten	1	1,8 %
Hypoglykämie	1	1,8 %
Hypoxie	1	1,8 %
Epileptischer Anfall	1	1,8 %
Hirnfarkt	1	1,8 %
Gesamt	55	100 %

Tabelle 5: Todesursachen in absoluten Zahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der Kontrollgruppe

3.2 Histomorphologie des Respirationstraktes

3.2.1 Brandleichen

Für die Beschreibung der histologischen Befunde standen bei der Epiglottis 31 Schnitte (26 vital/5 postmortal Verbrannte), bei der Trachea 44 Schnitte (38 Fälle vitaler/6 Fälle postmortaler Verbrennung), bei den Hauptbronchien 25 (20 Fälle vital/5 Fälle postmortal Verbrannter), bei den peripheren Bronchien 71 (61 Fälle vitaler/10 Fälle postmortaler Verbrennung) und beim Lungengewebe 73 Schnitte (63 Fälle vital/10 Fälle postmortal Verbrannter) zur Verfügung.

3.2.1.1 Beurteilung von Epiglottis, Trachea, Hauptbronchien und peripheren Bronchien

3.2.1.1.1 Zustand des respiratorischen Epithels

Zustand des respiratorischen Epithels								
Histologische Ausprägung	Epiglottis				Trachea			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Normal	3	1	21,4	33,3	5	0	17,9	0
Blasig abgehoben	3	0	21,4	0	12	0	42,9	0
Fetzig abgehoben	8	2	57,1	66,7	11	4	39,3	100
Auswertbar	14	3	100	100	28	4	100	100
Nicht beurteilbar	12	2			10	2		
Keine Schnitte	37	5			25	4		

Histologische Ausprägung	Hauptbronchien				Periphere Bronchien			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Normal	3	1	21,4	25	11	1	32,4	25
Blasig abgehoben	8	0	57,1	0	3	0	8,8	0
Fetzig abgehoben	3	3	21,4	75	20	3	58,8	75
Auswertbar	14	4	100	100	34	4	100	100
Nicht beurteilbar	6	1			27	6		
Keine Schnitte	43	5			2	0		

Tabelle 6: Zustand des respiratorischen Epithels von Epiglottis, Trachea, Hauptbronchien und peripheren Bronchien in absoluten Zahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der untersuchten Brandfälle

In der Epiglottis und den peripheren Bronchien vital/perimortal Verbrannter beobachtete man vor allem ein fetzig abgehobenes Epithel. In der Trachea und den Hauptbronchien lag in der Mehrzahl der Fälle ein blasig abgehobenes Epithel vor (Bildanhang, Abbildung 16). Aufgrund von Autolyse und Ablösungsprozessen während der Anfärbung der Präparate musste ein hoher Anteil der Fälle der Epiglottis und der Trachea aus der Wertung genommen werden.

In den Fällen, in denen eine postmortale Verbrennung vorlag, überwog das Bild von fetzig abgehobenem Epithel.

3.2.1.1.2 Vorhandensein von Pseudobecherzellen in respiratorischen Epithelien

Pseudobecherzellen								
Histologische Ausprägung	Epiglottis				Trachea			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	6	2	42,9	66,7	13	1	48,1	25
Nein	8	1	57,1	33,3	14	3	51,9	75
Auswertbar	14	3	100	100	27	4	100	100
Nicht beurteilbar	12	2			11	2		
Keine Schnitte	37	5			25	4		

Histologische Ausprägung	Hauptbronchien				Periphere Bronchien			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	5	2	35,7	50	14	0	46,7	0
Nein	9	2	64,3	50	16	4	53,3	100
Auswertbar	14	4	100	100	30	4	100	100
Nicht beurteilbar	6	1			31	6		
Keine Schnitte	43	5			2	0		

Tabelle 7: Vorhandensein von Pseudobecherzellen in Epiglottis, Trachea, Hauptbronchien und peripheren Bronchien in absoluten Zahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der Verbrannten mit Unterscheidung zwischen vital/perimortal und postmortal Verbrannten

In den 4 Atemabschnitten (Epiglottis, Trachea, Hauptbronchien und periphere Bronchien) waren in zwischen 35,7 % und 48,1 % der Fälle mit vitaler/perimortaler Verbrennung Pseudobecherzellen zu beobachten. Am häufigsten wurden sie bei 48,1 % in der Trachea und bei 46,7 % in den peripheren Bronchien beobachtet. Bei den Fällen postmortalen Verbrennung konnten vor allem im Bereich der Epiglottis in 66,7 % Pseudobecherzellen nachgewiesen werden, während sie in den tiefer gelegenen Abschnitten fehlten.

3.2.1.1.3 Kernelongation und Palisadenstellung in respiratorischen Epithelien

Kernelongation und Palisadenstellung								
Histologische Ausprägung	Epiglottis				Trachea			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	1	1	7,1	33,3	4	0	14,3	0
Nein	13	2	92,9	66,7	24	4	85,7	100
Auswertbar	14	3	100	100	28	4	100	100
Nicht beurteilbar	12	2			10	2		
Keine Schnitte	37	5			25	4		

Histologische Ausprägung	Hauptbronchien				Periphere Bronchien			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	1	0	7,1	0	1	0	3,3	0
Nein	13	5	92,9	100	29	4	96,7	100
Auswertbar	14	5	100	100	30	4	100	100
Nicht beurteilbar	6	0			31	6		
Keine Schnitte	43	5			2	0		

Tabelle 8: Kernelongation und Palisadenstellung in Epiglottis, Trachea, Hauptbronchien und peripheren Bronchien in absoluten Zahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der vital/perimortal und postmortal Verbrannten

Relativ selten (zwischen 3,3 % und 14,3 %) traten Kernelongation und Palisadenstellung in den respiratorischen Abschnitten der vital/perimortal verbrannten Personen auf. Bei den postmortalen Fällen wurde lediglich in dem respiratorischen Epithel der Epiglottis in 33,3 % der Fälle eine Kernelongation und Palisadenstellung beobachtet.

3.2.1.1.4 Rußablagerungen auf den respiratorischen Epithelien

Rußablagerungen								
Histologische Ausprägung	Epiglottis				Trachea			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	10	1	71,4	33,3	29	0	87,9	0
Nein	4	2	28,6	66,7	4	6	12,1	100
Auswertbar	14	3	100	100	33	6	100	100
Nicht beurteilbar	12	2			5	0		
Keine Schnitte	37	5			25	4		

Histologische Ausprägung	Hauptbronchien				Periphere Bronchien			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	13	0	81,3	0	40	0	81,6	0
Nein	3	5	18,7	100	9	4	18,4	100
Auswertbar	16	5	100	100	49	4	100	100
Nicht beurteilbar	4	0			12	6		
Keine Schnitte	43	5			2	0		

Tabelle 9: Rußablagerungen auf dem respiratorischen Epithel von Epiglottis, Trachea, Hauptbronchien und peripheren Bronchien in absoluten Zahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der untersuchten Brandfälle

Während bei den vital/perimortal Verbrannten in über 70 % Rußablagerungen bis in die peripheren Bronchien beobachtet wurde, fehlte dieses Merkmal bei den postmortalen Fällen.

3.2.1.1.5 Vorhandensein von Schleim auf der Epiglottis, in der Trachea, in den Hauptbronchien und peripheren Bronchien

Vorhandensein von Schleim								
Histologische Ausprägung	Epiglottis				Trachea			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	10	1	76,9	33,3	24	2	80	33,3
Nein	3	2	23,1	66,7	6	4	20	66,7
Auswertbar	13	3	100	100	30	6	100	100
Nicht beurteilbar	13	2			8	0		
Keine Schnitte	37	5			25	4		

Histologische Ausprägung	Hauptbronchien				Periphere Bronchien			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	13	1	92,9	25	35	1	89,7	25
Nein	1	3	7,1	75	4	3	10,3	75
Auswertbar	14	4	100	100	39	4	100	100
Nicht beurteilbar	6	1			22	6		
Keine Schnitte	43	5			2	0		

Tabelle 10: Vorhandensein von Schleim auf der Epiglottis, in der Trachea, in den Hauptbronchien und peripheren Bronchien in absoluten Fallzahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der untersuchten Brandfälle

Bei der Schleimsekretion konnte Ähnliches beobachtet werden. Bei den vital/perimortal Verbrannten ist bei der Mehrzahl der Fälle eine Sekretion bis in die peripheren Bronchien beobachtet worden, während bei den postmortal Verbrannten eine Schleimsekretion in den Atemwegen meist ausblieb.

3.2.1.1.6 Erhalt des mehrschichtig unverhornten Plattenepithels der Epiglottis

Histologische Ausprägung	Epiglottis			
	Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	21	4	84	80
Nein	4	1	16	20
Auswertbar	25	5	100	100
Nicht beurteilbar	1	0		
Keine Schnitte	37	5		

Tabelle 11: Beurteilung des unverhornten Epithels von Epiglottis in absoluten Zahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der untersuchten Brandfälle

In über 80 % der vital/perimortal Verbrannten blieb das unverhornte Plattenepithel der Epiglottis erhalten, bei den postmortalen Brandleichen lag der Prozentsatz ähnlich hoch.

3.2.1.2 Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter im Lungengewebe bei Brandleichen

An den histologischen Schnitten des Lungengewebes wurden jene Parameter untersucht, die laut Literatur typische Veränderungen im Rahmen von Verbrennungen zeigen. Der Teil I befasste sich mit der Beurteilung von intraalveolärem und interstitiellem Ödem, von Lungenemphysem und Hämorrhagie. Diese Parameter wurden semiquantitativ auf einer Skala von 0 bis 5 (siehe Kapitel 7.3 Variablenliste) ausgewertet.

Im Teil II wurden die Schnitte auf eine mögliche Abschilferung von Alveozyten, eine Hyperämie in den Kapillaren und auf Rußablagerungen an der Alveolarwand untersucht. Diese Variablen wurden qualitativ nach dem Ja/Nein-Schlüssel ausgewertet.

3.2.1.2.1 Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter (Teil I) im Lungengewebe (semi-quantitative Auswertung)

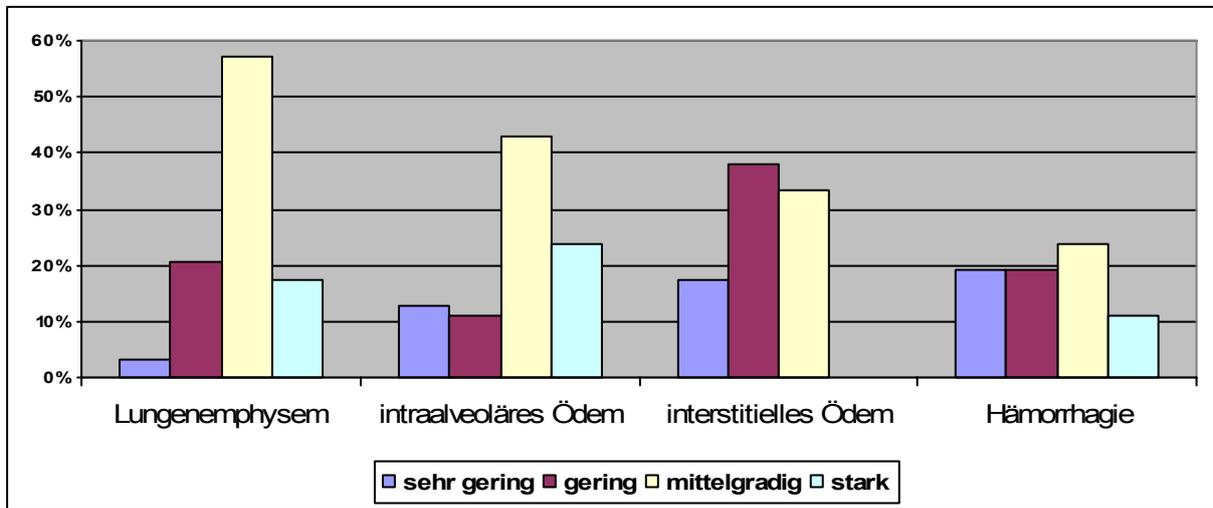


Abbildung 5: Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter im Lungengewebe bei vital/perimortalen Brandleichen (Teil I), aufgeschlüsselt nach der Ausprägung der einzelnen histologischen Parameter - reduziert auf die Fälle, die eine positive Ausprägung aufwiesen.

Während sich im prozentualen Durchschnitt eine mittelgradige Ausprägung des Lungenemphysems mit 57,1 %, des intraalveolären Ödems mit 42,9 % und des interstitiellen Ödems mit 33,3 % in den Alveolarwänden zeigte, war eine Hämorrhagie nur bei 23,8 % der Brandfälle zu beobachten.

Bei den postmortalen Brandleichen zeigte sich in 80 % der Fälle ein intraalveoläres Lungenödem mittleren Ausprägungsgrades.

Die einzelnen Ausprägungsgrade können der Tabelle 18 im Anhang entnommen werden.

3.2.1.2.2 Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter (Teil II) im Lungengewebe (qualitative Auswertung)

Allgemein-histologische Parameter (Teil II)								
Histologische Ausprägung	Abschilferung von Alveozyten				Hyperämie in Kapillaren			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	36	2	67,9	33,3	63	1	100	10
Nein	17	4	32,1	66,7	0	9	0	90
Auswertbar	53	6	100	100	63	10	100	100
Nicht beurteilbar	10	4			0	0		

Histologische Ausprägung	Rußablagerung an den Alveolarwänden			
	Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Ja	23	0	38,3	0
Nein	37	10	61,7	100
Auswertbar	60	10	100	100
Nicht beurteilbar	3	0		

Tabelle 12 : Allgemein-histologische Parameter (Teil II) im Lungengewebe bei Brandfällen (qualitative Auswertung)

Eine Hyperämie konnte in allen Fällen vital/perimortaler Verbrennung nachgewiesen werden. Eine Abschilferung von Alveozyten wurde in über 60 % festgestellt, während eine Rußablagerung an den Alveolarwänden nur in etwa 40 % beobachtet wurde.

Bei postmortaler Verbrennung blieben dagegen eine Abschilferung von Alveozyten, eine Hyperämie und eine Rußablagerung in den meisten Fällen aus.

3.2.2 Kontrollgruppe

Bei der Kontrollgruppe standen uns jeweils 55 Schnitte von peripheren Bronchien und vom Lungengewebe zur Verfügung. Auch hier wurden die nicht-beurteilbaren Schnitte als solche vermerkt und aus der statistischen Wertung genommen.

3.2.2.1 Beurteilung von peripheren Bronchien

3.2.2.1.1 Zustand des respiratorischen Epithels

Zustand des respiratorischen Epithels	Periphere Bronchien	
	Anzahl der Fälle	Prozent %
Normal	10	43,5
Blasig abgehoben	7	30,4
Fetzig abgehoben	6	26,1
Auswertbar	23	100
Nicht beurteilbar	32	

Tabelle 13 : Zustand des respiratorischen Epithels in absoluten Fallzahlen und als prozentualer Anteil an der Gesamtheit der Kontrollgruppe

In über 40 % der Kontrollfälle war das respiratorische Epithel der peripheren Bronchien normal erhalten (Bildanhang, Abbildung 24), bei etwa 30 % war es blasig abgehoben, und in 26 % der Fälle zeigte sich ein fetzig abgehobenes Epithel. In über 50 % der Fälle (32 Schnitte) konnte wegen Nicht-Beurteilbarkeit der Schnitte keine Aussage über den Zustand des respiratorischen Epithels gemacht werden.

3.2.2.1.2 Histologische Veränderungen in den peripheren Bronchien bei Kontrollen

Histologische Ausprägung	Pseudobecherzellen		Kernelongation und Palisadenstellung		Rußablagerung		Schleimsekretion ins Lumen	
	Anzahl d. Fälle	Prozent %	Anzahl d. Fälle	Prozent %	Anzahl d. Fälle	Prozent %	Anzahl d. Fälle	Prozent %
Ja	4	17,4	0	0	0	0	12	52,2
Nein	19	82,6	23	100	23	100	11	47,8
Auswertbar	23	100	23	100	23	100	23	100
Nicht beurteilbar	32		32		32		32	

Tabelle 14: Histologische Veränderungen in den peripheren Bronchien bei den Kontrollfällen

In 20 % der Kontrollfälle zeigten sich Pseudobecherzellen im respiratorischen Epithel. Eine Kernelongation, Palisadenstellung der Zellkerne sowie Rußablagerungen auf dem respiratorischen Epithel wurden in keinem der Fälle beobachtet. Eine Schleimsekretion lag bei über 50 % der Kontrollfälle vor.

3.2.2.2 Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter im Lungengewebe der Kontrollgruppe

3.2.2.2.1 Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter (Teil I) im Lungengewebe (semi-quantitative Auswertung)

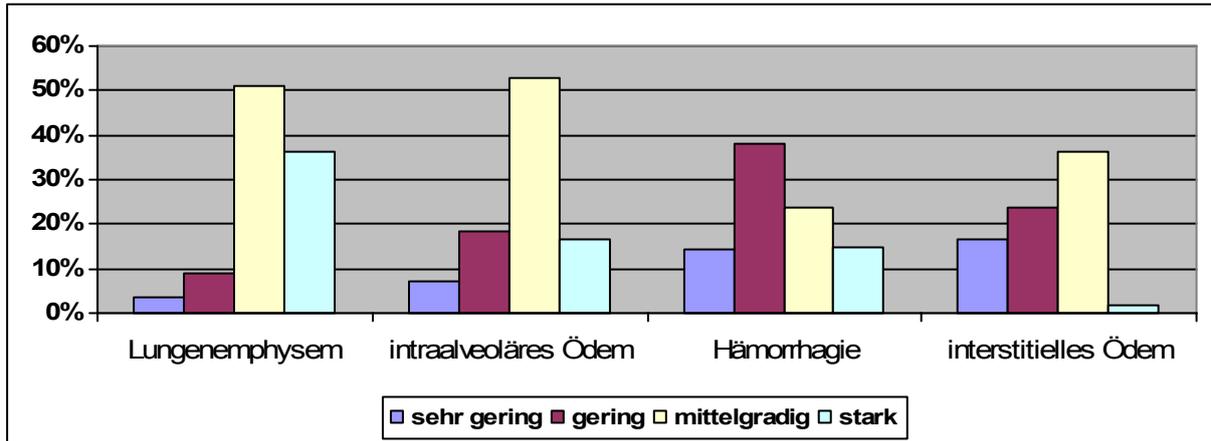


Abbildung 6: Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter (Teil I) im Lungengewebe bei Kontrollfällen, aufgeschlüsselt nach der Ausprägung der einzelnen histologischen Parameter - reduziert auf die Fälle, die eine positive Ausprägung aufwiesen.

Bei der semiquantitativen Beurteilung lag am häufigsten ein Lungenemphysem (100 %) vor, gefolgt vom intraalveolärem Ödem mit 94,6 %. In 90,9 % der Fälle wurde eine Hämorrhagie beobachtet. Bei über 70 % konnten Merkmale eines interstitiellen Ödems festgestellt werden. Genauere Angaben zu den Ausprägungen können der Tabelle 19 im Anhang entnommen werden.

3.2.2.2.2 Häufigkeit allgemein-histologischer Parameter (Teil II) im Lungengewebe (qualitative Auswertung)

Allgemein-histologische Parameter (Teil II)						
Histologische Ausprägung	Abschilferung von Alveozyten		Hyperämie in Kapillaren		Rußablagerungen an den Alveolarwänden	
	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %
Ja	55	100	38	69,1	0	0
Nein	0	0	17	30,9	55	100
Auswertbar	55	100	55	100	55	100

Tabelle 15: Allgemein-histologische Parameter (Teil II) im Lungengewebe bei der Kontrollgruppe

In der Mehrzahl der Kontrollfälle war ebenfalls eine Abschilferung von Alveozyten zu beobachten. Außerdem zeigte sich bei fast 70 % eine Hyperämie in den Kapillaren. Rußablagerungen lagen in den peripheren Bronchien nicht vor.

3.2.3 Statistischer Vergleich zwischen Brandfällen und Kontrollgruppe

Für den statistischen Vergleich der allgemeinen Lungenhistologie von Brandfällen und der Kontrollgruppe wurde zunächst der Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben verwendet. Mit diesem Test wurden die Parameter Hämorrhagie und Lungenemphysem, die in unserer Arbeit einer semiquantitativen Beurteilung unterlagen, ausgewertet. Die anderen untersuchten Variablen im Abschnitt allgemeine Lungenhistologie (wie z. B. Vorhandensein von Pseudo-becherzellen, Rußablagerungen oder auch Schleimsekretion) wurden qualitativ ausgewertet und konnten somit in diesem Zusammenhang nicht berücksichtigt werden. Es zeigte sich, dass der Parameter Lungenemphysem die beiden Gruppen am stärksten mit einem χ^2 -Wert als Abstandsmaß von 6,2997 bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p = 0,0121$ trennte. Bei einer Signifikanzschwelle von $p < 0,05$ stellte sich dieses Merkmal mit einem p-Wert kleiner als 0,05 als signifikant heraus und kann somit für die Unterscheidung zwischen den beiden Gruppen verwendet werden. Hingegen hatte der Parameter Lungenhämorrhagie einen p-Wert von 0,0635, so dass keine statistische signifikante Unterscheidung zwischen den beiden Gruppen vorlag.

Histologisches Merkmal	p	χ^2
Lungenemphysem	0,0121	6,2997
Lungenhämorrhagie	0,0635	3,4430

Tabelle 16: P-Wert und χ^2 für die Gegenüberstellung der allgemeinen histologischen Merkmale. Als Signifikanzschwelle wurde $p < 0,05$ gesetzt.

Die untersuchten Merkmale „Pseudobecherzellen im respiratorischen Epithel“, „Rußablagerung auf dem Epithel“ als auch „Schleimsekretion ins Lumen der peripheren Bronchien“, die qualitativ ausgewertet wurden, wurden in der logistischen Regression mit Backward Elimination Procedure analysiert. Dabei ergaben sich keinerlei statistisch signifikanten Unterschiede. Es waren lediglich Tendenzen festzustellen, die durch die deskriptive Statistik aufgezeigt werden konnten.

3.3 Färbung mit Fibronektin (FN)

3.3.1 Brandfälle

3.3.1.1 Expression von Fibronektin in der Epiglottis

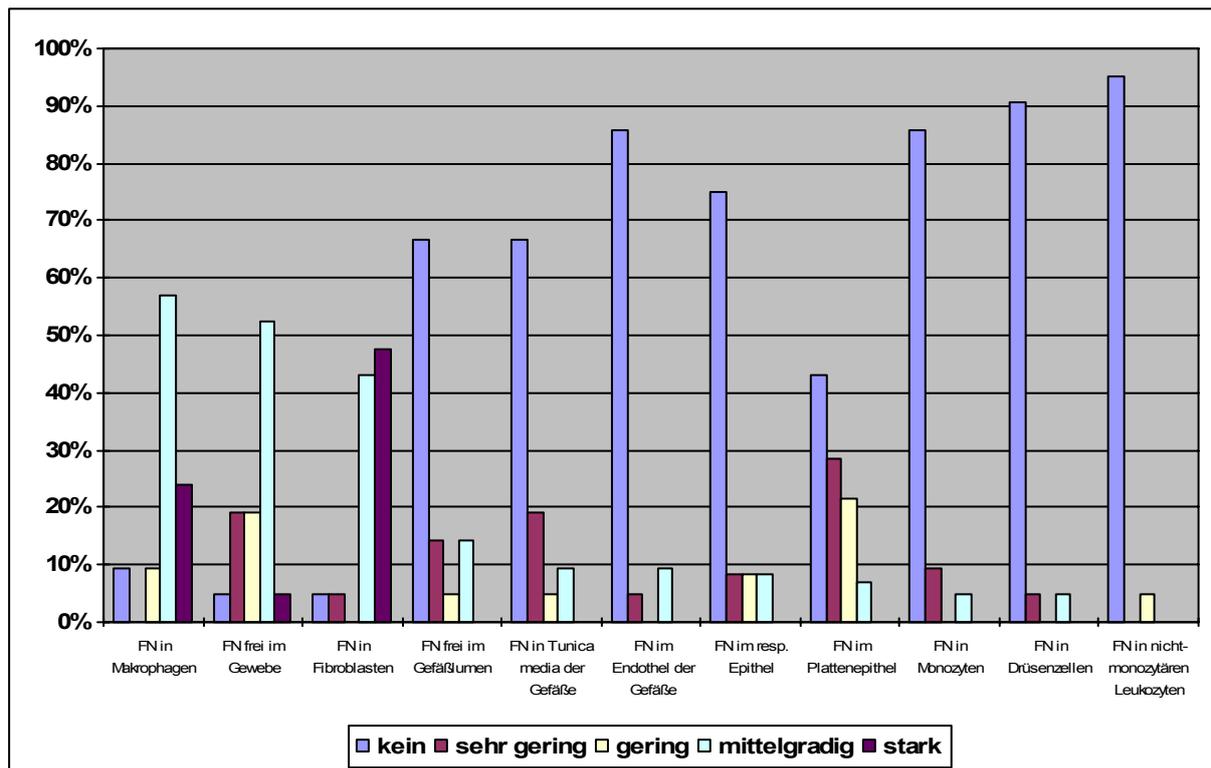


Abbildung 7: Häufigkeit der Expression von Fibronektin in Strukturen der Epiglottis bei Fällen vitaler/perimortaler Verbrennung

In der Gruppe der vital/perimortal Verbrannten konnte in den Makrophagen in 57,1 % der Fälle eine mittelgradige und in 23,8 % eine starke Anfärbung mit Fibronektin beobachtet werden. Gefolgt von der nicht-Zellen-assoziierten Expression im umgebenden Gewebe, bei der der Prozentsatz für die mittelgradige Anfärbung über 50 % lag. Eine starke Anfärbung konnte in 4,8 % der Fälle nachgewiesen werden. In den Fibroblasten lag die Häufigkeit einer mittelgradigen und einer starken Anfärbung bei jeweils 42,9 % bzw. 47,6 %. Die nicht-Zellen-assoziierte Expression von Fibronektin im Gefäßlumen zeigte bei 14,3 % eine mittelgradige Anfärbung. Sowohl im Endothel als auch in der Tunica media der Blutgefäße in der Epiglottis konnte eine mittelgradige Expression in 9,5 % der Fälle beobachtet werden. Es

folgten das respiratorische Epithel mit noch 8,3 %, das Plattenepithel mit 7,1 % und die Monozyten und Drüsenzellen mit jeweils 4,8 % mittelgradiger Anfärbung. Werden nur die Fälle mit positiver Anfärbung betrachtet, zeigte sich die häufigste Anfärbung mit Fibronectin in den Fibroblasten in 95,3 % der Fälle, dicht gefolgt von einer nicht-Zellen-assoziierten Expression von Fibronectin im umgebenden Gewebe mit 95,2 % und in Makrophagen in 90,4 % der untersuchten Fälle. Es folgten die Expression des Proteins im Plattenepithel mit 57,1 %, in der Tunica media und nicht-Zellen-assoziiert im Gefäßlumen mit jeweils über 30 %. Im respiratorischen Epithel zeigte sich bei 24,9 % eine positive Anfärbung. Das Schlusslicht einer Fibronectin-Expression bildeten hier die Monozyten, die Drüsenzellen und die nicht-monozytären Leukozyten. Weiterhin konnte beobachtet werden, dass außer bei den zuerst genannten Variablen - Fibronectin-Expression in Fibroblasten, Makrophagen und nicht-Zellen-assoziiert im umgebenden Gewebe - der Anteil einer fehlenden Anfärbung weit über dem einer Anfärbung lag.

Im Unterschied dazu konnte bei den postmortalen Fällen beobachtet werden, dass sie zwar häufiger eine positive Anfärbung zeigten, aber der Prozentsatz einer mittelgradigen und starken Anfärbung deutlich unter dem bei den vital/perimortal Verbrannten lag. Genaue Werte sind der Tabelle 20 im Anhang zu entnehmen.

3.3.1.2 Expression von Fibronectin in der Trachea

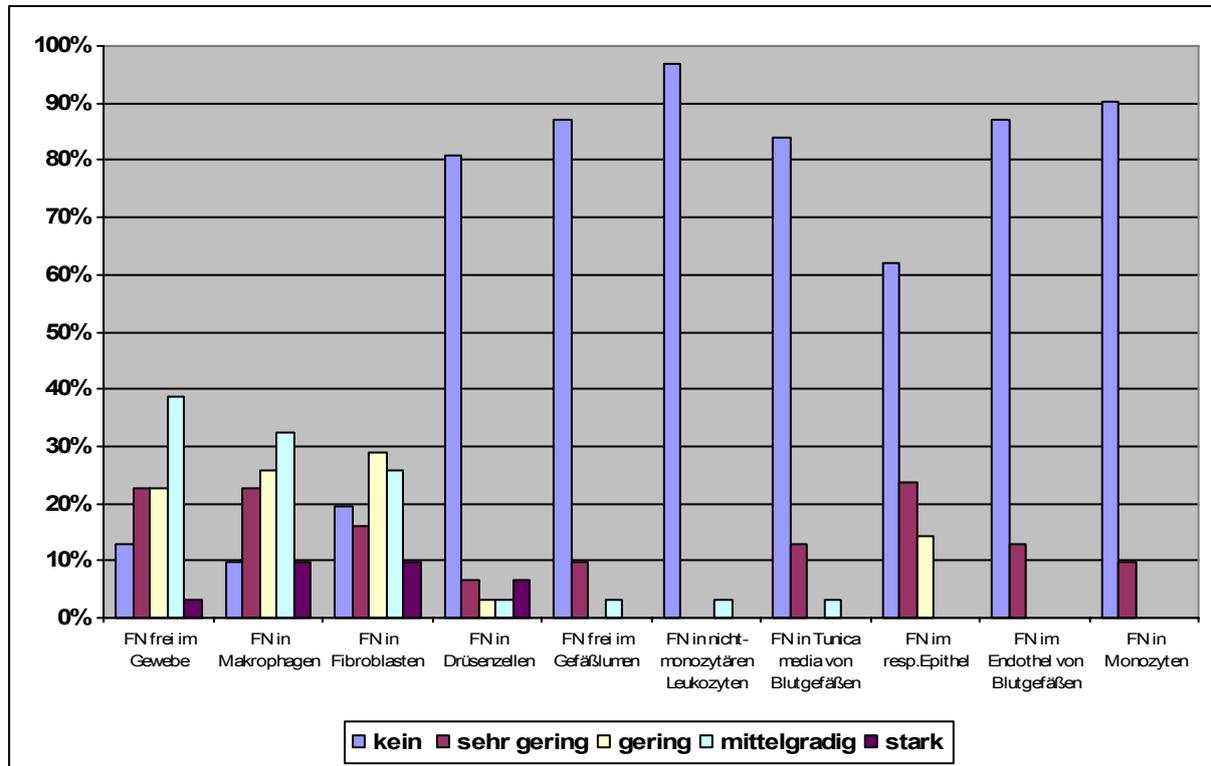


Abbildung 8: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in Strukturen der Trachea bei Fällen vitaler/perimortaler Verbrennung

Bei der Gruppe der vital/perimortal Verbrannten zeigte sich in der Trachea ein ähnliches Anfärbungsmuster wie in der Epiglottis. Der höchste Anteil einer mittelgradigen Anfärbung zeigte sich bei der nicht-Zellen-assoziierten Expression von Fibronectin im umgebenden Gewebe mit 38,7 %, gefolgt von der Expression in Makrophagen mit 32,3 % (Bildanhang, Abbildung 17) und in Fibroblasten mit 25,8 %, wobei die beiden letztgenannten Zelltypen eine starke Anfärbung in 9,7 % der Fälle zeigten. In der Tunica media, in nicht-monozytären Leukozyten und in Drüsenzellen konnte eine mittelgradige Expression bei jeweils 3,2 % beobachtet werden. Die restlichen Variablen (Fibronectin-Expression im respiratorischen Epithel, in Endothelzellen und in Monozyten) zeigten in zwischen 9,7 % und 38,1 % der Fälle eine positive Anfärbung, allerdings lag der Prozentsatz der mittelgradigen und starken Anfärbung bei 0 %.

In der Gruppe der postmortal Verbrannten konnte ebenfalls häufiger eine positive Anfärbung festgestellt werden. Im Gegensatz zur Epiglottis konnte hier beobachtet werden, dass hinsichtlich der Variablen Expression von Fibronectin in den Makrophagen und in den Fibroblasten

die postmortal Verbrannten einen höheren Prozentsatz in der mittelgradigen Anfärbung zeigten als die vital/perimortal Brandleichen. Genaue Werte können auch hier im Anhang (Tabelle 21) entnommen werden.

3.3.1.3 Expression von Fibronektin in den Hauptbronchien

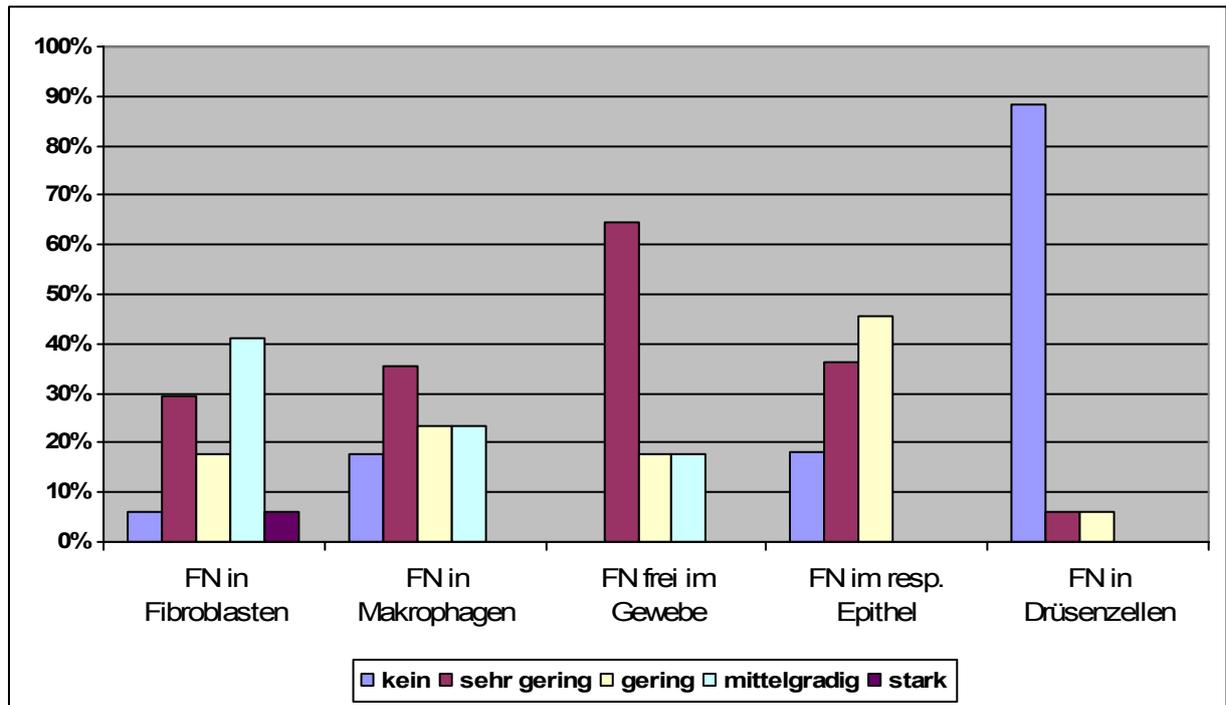


Abbildung 9: Häufigkeit der Expression von Fibronektin in Strukturen der Hauptbronchien bei Brandleichen (vitale/perimortale Verbrennung)

Bei der Untersuchung der Hauptbronchien bot sich in der Gruppe der vital/perimortal Verbrannten ein ähnliches Bild wie bei der Trachea. An der Spitze der mittelgradigen Anfärbung standen die Fibroblasten mit 41,2 %, gefolgt von den Makrophagen mit 23,5 % und der nicht-Zellen-assoziierten Expression von Fibronektin im umgebenden Gewebe in 17,6 % der Fälle. Das respiratorische Epithel zeigte einen hohen Prozentsatz an positiver Anfärbung (81,9 %), aber es konnte keine mittelgradige und starke Färbung, sondern lediglich eine sehr geringe oder geringe Expression von Fibronektin beobachtet werden. Bei der Beurteilung der postmortalen Fälle konnte gezeigt werden, dass viele Strukturen der Hauptbronchien einen höheren Prozentsatz bei der mittelgradigen Expression zeigten als die Gruppe der vital/perimortal Verbrannten. Die genauen Werte sind der Tabelle 22 im Anhang zu entnehmen.

3.3.1.4 Expression von Fibronectin in den peripheren Bronchien

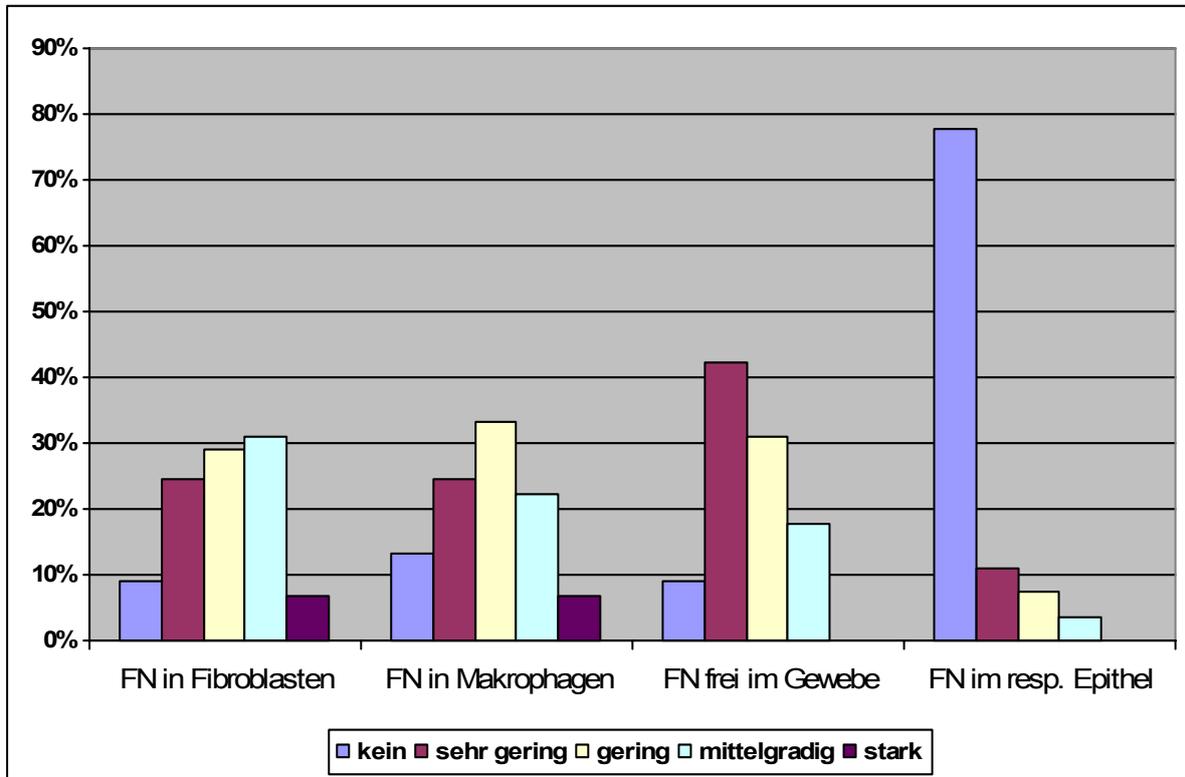


Abbildung 10: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in Strukturen der peripheren Bronchien bei Brandleichen (vitale/perimortale Verbrennung)

Bei den Fällen vitaler/perimortaler Verbrennung konnte in den Fibroblasten in 31,1 % (Bildanhang, Abbildung 19), in den Makrophagen in 22,2 % und nicht-Zellen-assoziiert im umgebenden Gewebe in 17,8 % der Fälle eine mittelgradige Anfärbung mit Fibronectin beobachtet werden (Bildanhang, Abbildung 18 und 19). In den beiden zuerst genannten Strukturen lag in jeweils 6,7 % eine starke Anfärbung vor. Insgesamt konnte in diesen Strukturen zwischen 81,8 % und 91,9 % der Fälle eine positive Expression verzeichnet werden.

In der Gruppe der postmortalen Brandleichen blieb eine Fibronectinanfärbung im respiratorischen Epithel aus. In den Fibroblasten und Makrophagen zeigte sich in dieser Gruppe häufiger eine positive Anfärbung als in der Gruppe der vital/perimortalen Verbrannten. Genaue Werte können der Tabelle 23 im Anhang entnommen werden.

3.3.1.5 Expression von Fibronektin im Lungengewebe

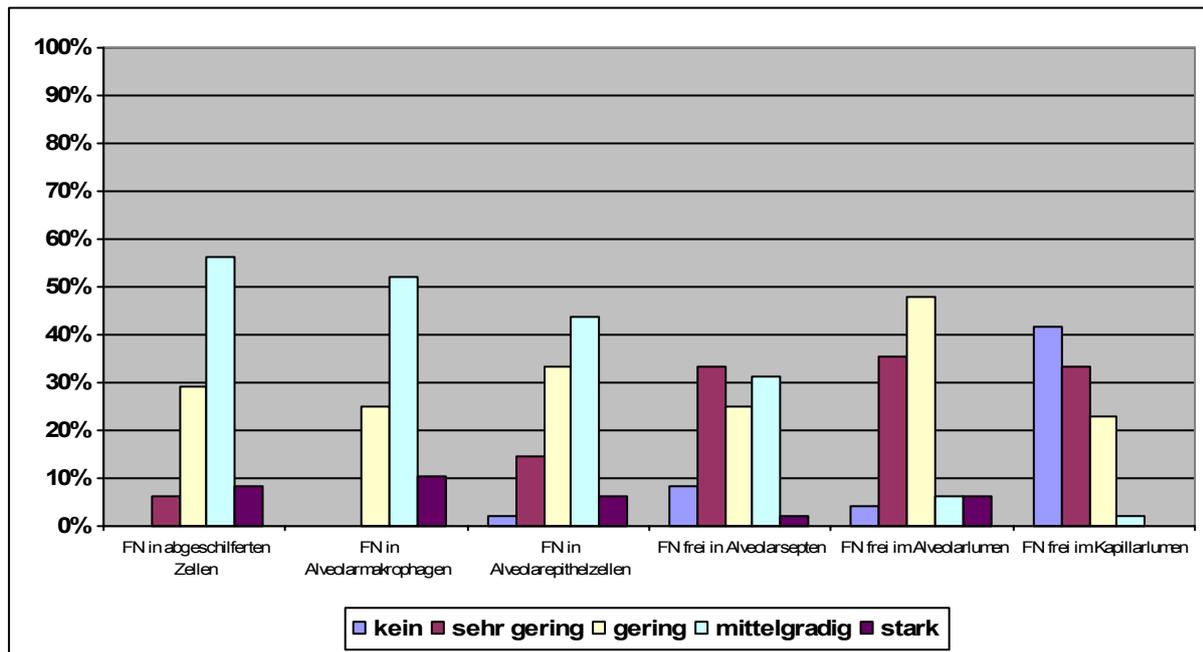


Abbildung 12: Häufigkeit der Expression von Fibronektin in Strukturen des Lungengewebes bei vitaler/perimortaler Verbrennung

In der Gruppe der vital/perimortalen Brandleichen konnte in 56,3 % der Fälle in den abgeschilferten Zellen eine mittelgradige, bei 8,3 % eine starke Expression von Fibronektin nachgewiesen werden (Bildanhang, Abbildung 22 und 23). In den Alveolarmakrophagen lag der Prozentsatz einer mittelgradigen Anfärbung bei 52,1 %. In 10,4 % der Fälle war eine starke Expression zu beobachten (Bildanhang, Abbildung 21-23). In den Alveolarepithelzellen zeigte sich bei 43,8 % eine mittelgradige und bei 6,3 % eine starke Fibronektinanfärbung. In 31,3 % der Fälle war eine nicht-Zellen-assoziierte Expression von Fibronektin mittleren Ausprägungsgrades in den Alveolarsepten zu beobachten. Eine nicht-Zellen-assoziierte Expression im Alveolarlumen zeigte sich bei jeweils 6,3 % in mittelgradiger und starker Ausprägung (Bildanhang, Abbildung 22 und 23). Im Kapillarlumen konnte eine nicht-Zellen-assoziierte Expression mittleren Grades bei 2,1 % gezeigt werden (Bildanhang, Abbildung 20).

In der Gruppe der postmortalen Brandleichen zeigte sich bei 62,5 % eine mittelgradige Anfärbung in den abgeschilferten Alveolarzellen, eine starke Anfärbung bei jeweils 12,5 % in den Alveolarmakrophagen, in den Alveolarepithelzellen und nicht-Zellen-assoziiert im Alveolarlumen und bei 25 % in den abgeschilferten Alveozyten. In den Alveolarmakrophagen, in den Alveolarepithelzellen und nicht-Zellen-assoziiert in den Alveolarsepten konnte im Ver-

gleich zur Gruppe der vital/perimortal Verbrannten häufiger eine positive Anfärbung beobachtet werden. Genauer Werte können der Tabelle 24 im Anhang entnommen werden.

3.3.1.6 Expression von Fibronectin in großen Gefäßen des Lungengewebes

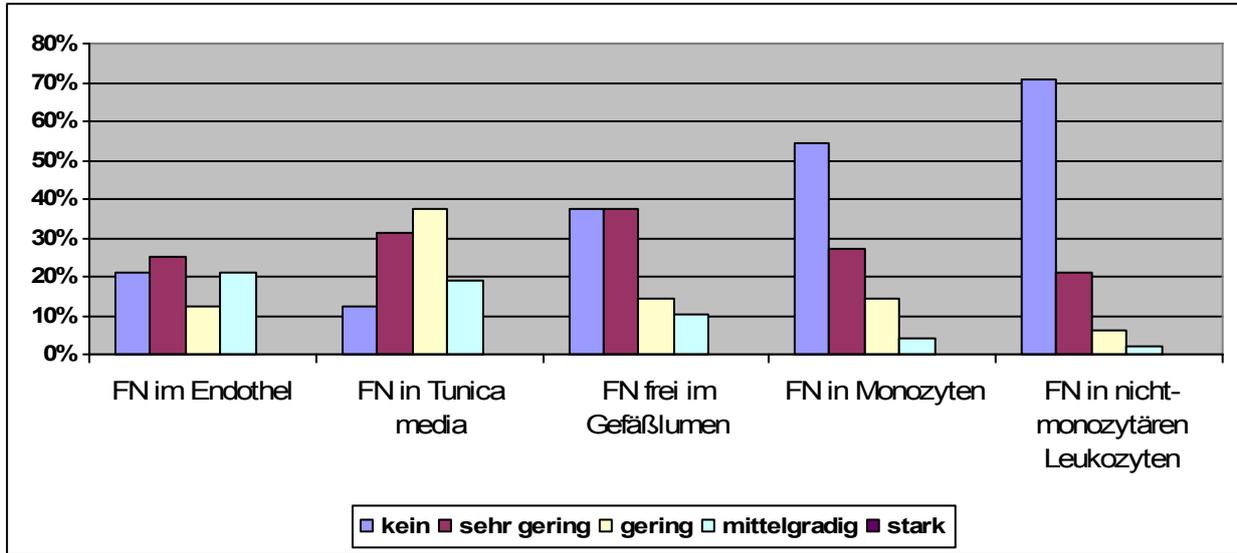


Abbildung 12: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in großen Gefäßen des Lungengewebes von Brandleichen (vitale/perimortale Verbrennung)

In den großen Gefäßen des Lungengewebes zeigte sich eine mittelgradige Fibronectinanfärbung bei 20,8 % im Endothel, bei 18,8 % in der Tunica media, bei 10,4 % nicht-Zellen-assoziiert im Gefäßlumen und bei unter 5 % in den Monozyten und den nicht-monozytären Leukozyten. In diesen Strukturen wurde in den meisten Fällen eine sehr geringe bis geringe Expression von Fibronectin beobachtet.

In der Gruppe der postmortal Verbrannten blieb in den meisten Fällen eine Expression von Fibronectin im Endothel der Blutgefäße und in den monozytären Leukozyten aus. Auch eine nicht-Zellen-assoziierte Fibronectinanfärbung im Gefäßlumen wurde meist nicht beobachtet. Genauer Zahlenwerte sind der Tabelle 25 im Anhang zu entnehmen.

3.3.2 Kontrollgruppe

3.3.2.1 Expression von Fibronectin in peripheren Bronchien

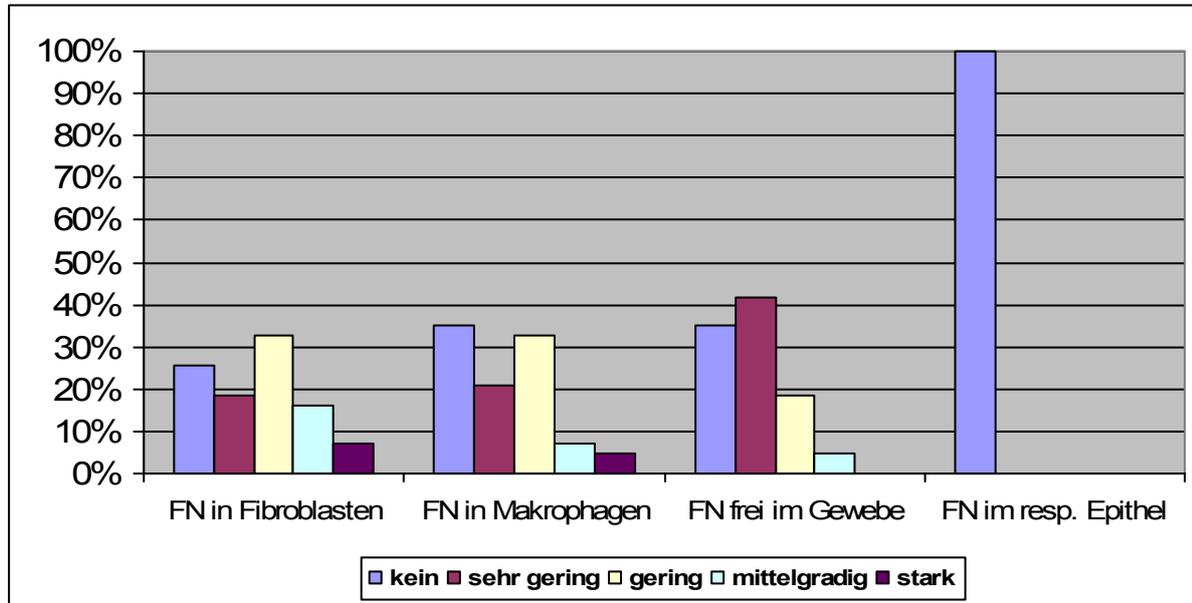


Abbildung 13: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in Strukturen der peripheren Bronchien bei Kontrollfällen

In der Kontrollgruppe beobachtete man in den Fibroblasten bei 16,3 % eine mittelgradige Anfärbung und bei 7 % eine starke Anfärbung. Eine Fibronectin-Expression sehr geringen bis geringen Ausprägungsgrades war in den Makrophagen, Fibroblasten und nicht-Zellen-assoziiert im umgebenden Gewebe (Bildanhang, Abbildung 24) zu verzeichnen. Im respiratorischen Epithel blieb eine Fibronectinanfärbung meist aus. Genaue Zahlenwerte können der Tabelle 26 im Anhang entnommen werden.

3.3.2.2 Expression von Fibronektin im Lungengewebe

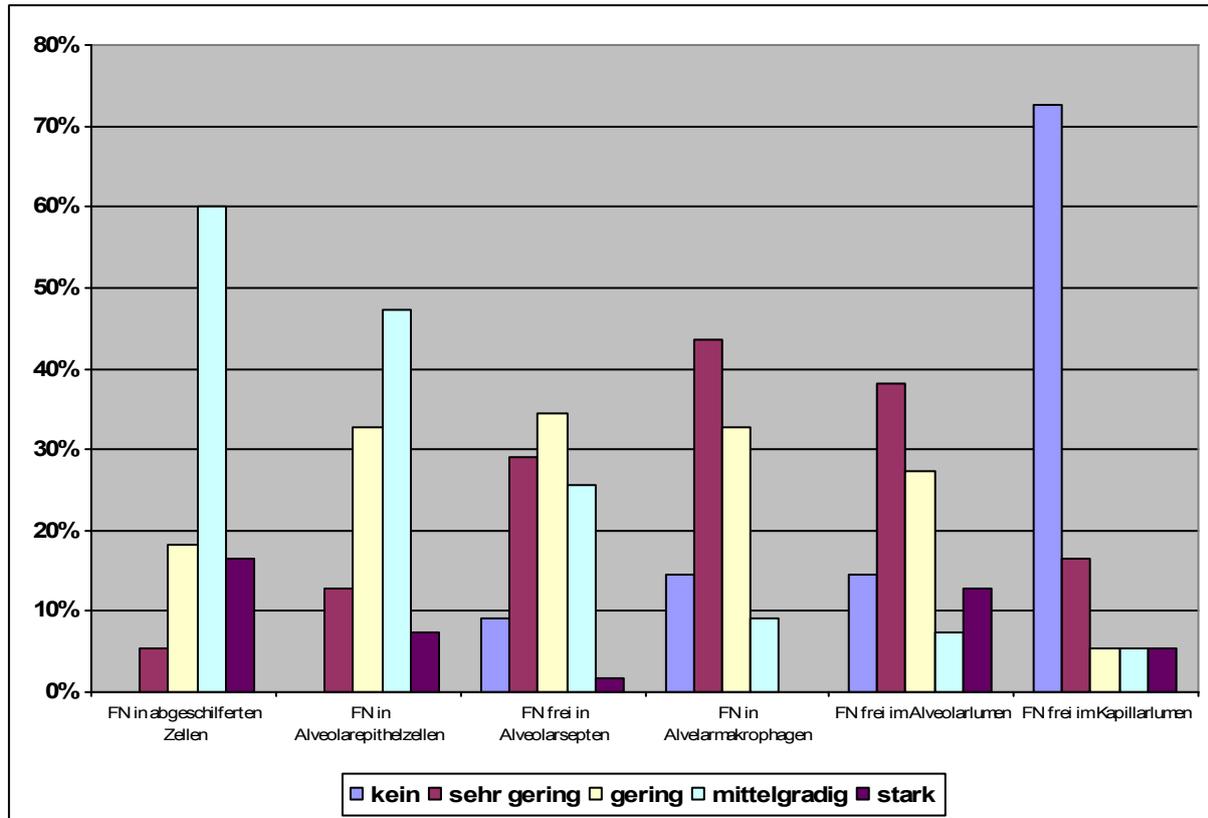


Abbildung 14: Expression von Fibronektin in Strukturen des Lungengewebes bei Kontrollfällen

Eine mittelgradige Anfärbung bestand in den abgeschilferten Zellen bei 60 % und eine starke Expression bei 16,4 % der Kontrollfälle. Auch die Alveolarzellen zeigten bei 47,3 % der Kontrollfälle eine Anfärbung mittleren Grades. Es folgte die nicht-Zellen-assoziierte Expression in den Alveolarsepten in 25,5 % der Fälle. In den Alveolarmakrophagen und nicht-Zellen-assoziiert im Alveolarlumen (Bildanhang, Abbildung 25 und 26) konnte zwar ein hoher Anteil (über 80 %) an positiver Anfärbung von Fibronektin festgestellt werden, allerdings betrug die Expression mittleren Ausprägungsgrades lediglich 9,1 %. Im Kapillarlumen blieb eine Fibronektinanfärbung meist aus (Bildanhang, Abbildung 25 und 26). Genaue Werte sind der Tabelle 27 im Anhang zu entnehmen.

3.3.2.3 Expression von Fibronektin in großen Gefäßen des Lungengewebes

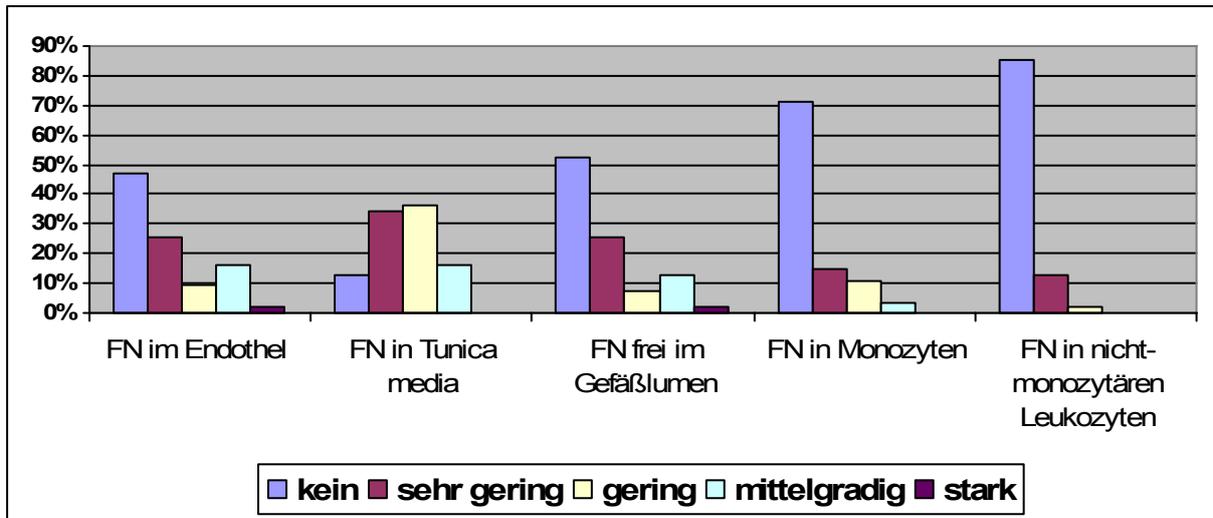


Abbildung 15: Expression von Fibronektin in großen Gefäßen des Lungengewebes bei Kontrollfällen

In der Kontrollgruppe zeigte sich, dass das Endothel und die Tunica media großer Blutgefäße in jeweils 16,4 % der Fälle mittelgradig angefärbt waren. Eine nicht-Zellen-assoziierte Expression von Fibronektin mittleren Ausprägungsgrades war im Gefäßlumen in 12,7 % der Kontrollfälle zu verzeichnen. In Monozyten und nicht-monozytären Leukozyten blieb meist eine Fibronektin-Expression aus. Genaue Angaben können der Tabelle 28 im Anhang entnommen werden.

3.3.3 Statistischer Vergleich zwischen Brandfällen und Kontrollgruppe

Für den statistischen Vergleich der Anfärbung histologischer Strukturen mit Fibronektin bei Brand- und Kontrollfällen wurde zunächst der Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben angewandt. Fälle, bei denen Merkmale als nicht beurteilbar bewertet wurde, konnten nicht getestet werden und fielen somit aus der statistischen Wertung. In der Gruppe der Brandleichen traf dies bezüglich peripherer Bronchien in den Merkmalen „nicht-Zellen-assoziierte Expression von Fibronektin im umgebenden Gewebe“ sowie in den Variablen „Fibronektin-Expression in Fibroblasten und Makrophagen“ in jeweils 16 von 61 Fällen zu. Bei der Beurteilung der Ausprägung im respiratorischen Epithel in diesem Atemwegsabschnitt waren 34 von 61 Schnitten nicht beurteilbar, so dass dieses Merkmal aufgrund der zu niedrigen Fallzahl nicht in die Statistik mit einbezogen wurde. Bei der Beurteilung des Lungengewebes und der dortigen großen Gefäße wurden jeweils 48 Fälle in allen Merkmalen getestet. Aufgrund der geringen Fallzahl an postmortalen Brandleichen wurden diese auch aus der statistischen Wertung genommen und konnten nur deskriptiv ausgewertet werden. In der Kontrollgruppe fiel das Merkmal „Expression des Fibronektins im respiratorischen Epithel der peripheren Bronchien“ ebenfalls aufgrund einer zu geringen Fallzahl aus der Wertung (33 von 55 Fällen nicht beurteilbar). Bei den Merkmalen, auf die die Lunge und die dortigen großen Blutgefäße hin getestet wurden, konnten alle 55 Fälle mit in die Statistik einbezogen werden.

Geht man von dem höchsten Abstandsmaß zwischen den beiden Gruppen aus, so konnte gezeigt werden, dass die nicht-Zellen-assoziierte Expression von Fibronektin im Gewebe der peripheren Bronchien bzw. im Kapillarlumen im Lungengewebe mit einem χ^2 -Wert von 10,75 bzw. 8,94 bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p = 0,001$ bzw. $0,002$ die Gruppen am stärksten trennte. Als weiteres Unterscheidungsmerkmal konnte die „Expression von Fibronektin in Makrophagen der peripheren Bronchien“ dienen, weil auch hier der p -Wert von $0,0164$ unter der Signifikanzschwelle von $p = 0,05$ lag. Für die restlichen Merkmale konnte keine statistische signifikante Unterscheidung festgelegt werden. Zur Überprüfung dieser Ergebnisse wurde die logistische Regression korrigiert nach Holm mittels Backward Elimination Procedure angewandt, die die Reihenfolge des Wilcoxon-Tests bestätigte.

Expression von Fibronectin	P	χ^2
Nicht-Zellen-assoziiert im Gewebe peripherer Bronchien	0,0010	10,7592
Nicht-Zellen-assoziiert im Kapillarlumen	0,0028	8,9468
In Makrophagen der peripheren Bronchien	0,0164	5,7559
In nicht-monozytären Leukozyten großer Lungengefäße	0,0606	3,5201
In Fibroblasten peripherer Bronchien	0,0970	2,7544
In Alveolarmakrophagen	0,1030	2,6581
In Monozyten großer Lungengefäße	0,1165	2,4639
In abgeschilferten Zellen im Lungengewebe	0,1267	2,3323
Nicht-Zellen-assoziiert im Lumen großer Lungengefäße	0,2680	1,2272
Nicht-Zellen-assoziiert im Alveolarlumen	0,3479	0,8809
Im Endothel großer Lungengefäße	0,5462	0,3643
In Alveozyten	0,5579	0,3434
In Tunica media großer Lungengefäße	0,7782	0,0793
Nicht-Zellen-assoziiert in Alveolarsepten	0,8713	0,0262

Tabelle 17: P-Wert und χ^2 für die Gegenüberstellung der Expression von Fibronectin an verschiedenen histologischen Strukturen. Als Signifikanzschwelle wurde $p < 0,05$ gesetzt.

4 DISKUSSION

4.1 Allgemeine Datenerhebung

4.1.1 Brandleichen

4.1.1.1 Geschlecht und Alter

Im vorgestellten Untersuchungsgut war die Verteilung zwischen männlichen und weiblichen Opfern etwa 2/3 (60 %) zu 1/3 (40 %). Eine ähnliche Geschlechterverteilung fanden auch Gerling [22] and Gormsen et al. [24]. Sie sprachen von einem Prozentsatz von 60 % bzw. 56 % männlichen und 40 % bzw. 44 % weiblichen Brandleichen. Gründe für diese Geschlechterverteilung nannten sie nicht. Ein Gipfel zeigte sich bei den männlichen Brandleichen in den mittleren Lebensjahren, während die weiblichen Todesfälle sich häufiger im höheren Lebensalter ereigneten. Eine geringere Mobilität und somit schlechtere Möglichkeiten, dem Brand zu entkommen, sowie das vermehrte Vorkommen kardiovaskulärer Erkrankungen bei älteren Opfern können das höhere durchschnittliche Lebensalter der Brandleichen erklären [3, 12]. Das Maximum der männlichen Opfer im mittleren Lebensalter ist Ausdruck der generell statistisch höheren Beteiligung an Unfällen in dieser Altersgruppe [12].

4.1.1.2 Brandeinwirkung, Todesart, Brandort

Die Mehrzahl der Brandopfer (80,8 %) war bei Ausbruch des Brandes am Leben gewesen, und bei über 10 % der Untersuchten war von einer Verbrennung postmortem auszugehen. In dem von Gerling untersuchten Kollektiv waren 11 % postmortal verbrannt [22].

In jeweils über 30 % der Fälle befand sich der Brandort in einem Gebäude bzw. in einem Fahrzeug. Das bedeutet, dass in fast 70 % ein geschlossener Raum als Ereignisort vorlag. Bei über 20 % lagen keine Angaben über den Brandort vor. Vielleicht liegt es an der hohen Zahl nicht zu ermittelnder Brandorte, dass Gerling von einer deutlich höheren Zahl an in geschlossenen Räumen gefundenen Opfern sprach. Sie nannte eine Verteilung von 98,2 % in geschlossenen Räumen und 1,7 % im Freien [22]. Nimmt man die Fälle mit unbekanntem Fund-

ort aus der Wertung, nähern sich unsere Ergebnisse (92,7 % Fundort in geschlossenen Räumen) denen von Gerling an.

Bei den Todesarten lag der Unfall an der Spitze (55 %), danach folgte der Suizid (22 %). Nur ein kleiner Teil des untersuchten Kollektivs fiel einem Tötungsdelikt zum Opfer oder verstarb eines natürlichen Todes. Bei 20 % konnte die Todesart nicht geklärt werden. Bei den Berliner Fällen wurde keine Unterteilung vorgenommen. Möglicherweise liegt in der hohen Zahl mit ungeklärter Todesart die Begründung dafür, dass in der Literatur die Verteilung der Todesarten eine andere ist. Gerling sprach von 60,8 %, die durch einen Unfall starben. 16,5 % begingen Suizid [22]. Bei Maxeiner [48] lag die Rate an Verunfallten höher (73 %), während der Prozentsatz an Suizidenten deutlich niedriger lag (9 %). Nimmt man bei unserer Arbeit wiederum die Fälle mit unbekannter Todesart aus der Wertung, starben 68,9 % durch einen Unfall, bei 27,6 % lag Suizid als Todesart vor und bei jeweils 1,7 % konnte ein Tötungsdelikt bzw. ein natürlicher Tod festgestellt werden. So gesehen hatte auch unser Untersuchungsgut eine für Brandtodesfälle typische Zusammensetzung.

4.1.1.3 Brandbeschleuniger und Überlebenszeit

In über 50 % der Fälle befanden sich Substanzen am Brandort, die brandbeschleunigend wirkten. Bei Bränden in Fahrzeugen war wie zu erwarten in über 90 % ein Brandbeschleuniger involviert. In über 60 % der Fälle mit sofortigem Todeseintritt war ebenfalls ein Brandbeschleuniger im Einsatz. Es ist davon auszugehen, dass die Überlebenszeit der Opfer bei Wirksamwerden eines Brandbeschleunigers kürzer war, da die Hitzeentwicklung in diesen Fällen stärker ausfiel. Als Todesursachen kommen dabei ein Laryngo- und Bronchospasmus oder ein Atemstillstand nach vagalem Reflex (Inhalationsschock) in Betracht [74].

4.1.1.4 Lungengewichte

Boyd [10] ermittelte als durchschnittliches Normalgewicht für beide Lungen zusammen bei Männern 953,0 g und bei Frauen 792,8 g. Bei unseren Ergebnissen lag der Durchschnitt der Lungengewichte bei den männlichen Brandleichen mehr als 30 %, bei den weiblichen Opfern mehr als 10 % über dem Normalwert. Für die Zunahme der Lungengewichte über die anatomisch durchschnittlichen Lungengewichte hinaus können die Entstehung eines histologisch

nachgewiesenen intraalveolären und interstitiellen Ödems und eine akute Blutstauung verantwortlich gemacht werden.

4.2 Histomorphologie des gesamten Respirationstraktes (Epiglottis, Trachea, Hauptbronchus, periphere Bronchien)

Die Schnitte wurden hinsichtlich typischer, aus der Literatur übernommener Veränderungen bei Brandopfern untersucht. Von den vorliegenden Brandfällen wurden die Epiglottis, die Trachea, der Hauptbronchus und die peripheren Bronchien untersucht. In der Kontrollgruppe wurden ausschließlich die peripheren Bronchien beurteilt, so dass die strukturellen Veränderungen von Epiglottis, Trachea und Hauptbronchus nur als Beobachtungen aufgenommen werden konnten.

Das respiratorische Epithel war mit 32,4 % am häufigsten in den peripheren Bronchien unverändert erhalten. Die Epiglottis zeigte an der Seite mit dem respiratorischen Flimmerepithel zu 21,4 % ein unbeschädigtes Epithel, wobei beachtet werden muss, dass in diesem Abschnitt von den 26 vorhandenen Schnitten aufgrund autolytischer Vorgänge 12 Schnitte nicht ausgewertet werden konnten. Darüber hinaus kam es vermutlich bedingt durch die große Hitzeexposition beim Brand zu einem „Abschwemmen“ der Epithelien bei der präparatorischen Aufarbeitung. Ein blasig abgehobenes Epithel war mit 57,1 % im Hauptbronchus zu sehen, in der Trachea zu 42,9 % und in der Epiglottis zu 21,4 % und unter 10 % war es in den peripheren Bronchien ausgeprägt. Diese Ergebnisse zeigen, dass brandbedingte Organschädigungen in den oberen respiratorischen Abschnitten wie Epiglottis und Trachea stärker ausgeprägt waren als in den peripheren Abschnitten. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Brinkmann et al. [11] bei Untersuchungen von vitalen Reaktionen beim akuten Verbrühungstod. Sie fanden im Bereich von Epiglottis und Trachea fetzig und membranös desquamiierte Koagulationsnekrosen und in der Bronchialschleimhaut tapetenartig abgelöste Koagulationsnekrosen. In unseren Untersuchungen war ein fetzig abgehobenes Epithel am häufigsten in den peripheren Bronchien und der Epiglottis vorzufinden. Diese Beobachtung war seltener im Hauptbronchus, dafür aber wieder in der Häufigkeit ansteigend in der Trachea. Allerdings konnten aufgrund der oben genannten Probleme (Autolyse und „Abschwemmen“ der Epithelien bei der Präparation/Fixation) nicht alle Fälle gewertet werden. Im Vergleich dazu fand sich bei den postmortalen Brandfällen überwiegend in allen Abschnitten des Atemtraktes ein fetzig abgehobenes respiratorisches Epithel. Da hier keine Einatmung von Heißgasen vorgelegen haben kann,

lässt sich dieser Befund möglicherweise dadurch erklären, dass auch hier Autolyse und Fäulnisprozesse zu einer Ablösung der Mucosa von Epiglottis, Trachea und Bronchien geführt haben. Von den Kontrollschnitten der peripheren Bronchien konnten aufgrund oben erklärter Vorgänge nur noch 40 % beurteilt werden, so dass sich die Ergebnisse als nicht sehr aussagekräftig erwiesen haben. Von diesen ausgewerteten Schnitten waren immerhin 10 der 23 Schnitte unverändert erhalten, bei 7 Fällen fiel ein blasig abgehobenes Epithel auf, bei 6 Fällen war es fetzig abgehoben.

Das mehrschichtig unverhornte Plattenepithel der Epiglottis war sowohl bei den vital Verbrannten als auch in den Fällen postmortaler Verbrennung meist gut erhalten. Dies liegt sicherlich an der größeren Widerstandsfähigkeit des Plattenepithels im Gegensatz zum empfindlichen respiratorischen Epithel [50].

Eine besondere Formation im Bereich des respiratorischen Epithels stellt die Kernelongation und Palisadenstellung dar. Diese wurden in 3,3 % (peripheren Bronchien) und 14,3 % (Trachea) der Brandfälle beobachtet, während bei den Kontrollen in keinem der Fälle ein solches Merkmal zu finden war. Bei den postmortalen Brandfällen konnte diese Epithelformation ebenfalls gezeigt werden. Foerster [18] erklärte die Entstehung der Kernelongation und der Palisadenstellung dadurch, dass es durch eine plötzlich auftretende starke Hitzeeinwirkung zur Verdampfung von Gewebsflüssigkeit kommen kann. Der hierbei entstehende Wasserdampf gelangt in das Gewebe und führt hier zu diesen typischen Epithelformationen. Diese Veränderungen erinnern an histologische Bilder verbrannter Haut, wo sie ebenfalls vorkommen. Es muss beim Auftreten dieser Zellformation in den Atemwegen davon ausgegangen werden, dass hohe Temperaturen oder lange Hitzeeinwirkung geherrscht haben [18], jedoch kann letztlich nicht immer geklärt werden, ob eine vitale oder postmortale Hitzewirkung geherrscht hat [9].

Ein weiteres wichtiges Merkmal vitaler Verbrennung ist laut Bschor [12] die Rußablagerung in den Atemwegen. Im eigenen Untersuchungsgut war in allen Abschnitten der Atemwege zwischen 70 % (Epiglottis) und über 80 % (Trachea, Hauptbronchus und periphere Bronchien) eine Rußablagerung nachweisbar. Ähnliche Werte können in verschiedenen Literaturquellen nachgelesen werden [11, 20, 21, 34, 46]. Im Alveolarlumen fanden sich ebenfalls Rußablagerungen. Es zeigte sich somit ein Vordringen der Rußpartikel bei vielen Brandfällen bis in die tiefen respiratorischen Abschnitte [11]. In den Kontrollen und den Fällen postmortaler Verbrennung blieb, wie auch Gerling et al. [22] zeigten, eine Rußablagerung aus.

Als weitere Merkmale vitaler Verbrennung werden die vermehrte Schleimsekretion und das Auftreten von Pseudobecherzellen [20, 46] genannt. Eine gesteigerte Schleimsekretion, wie sie häufig bei Verbrennungstraumen beobachtet wird, ist notwendig, um die durch die Hitze, den Ruß und die Irritantien im Rauch entstandenen Fremdstoffe abzutransportieren und die Schleimhaut zu kühlen. Im eigenen Untersuchungsgut wurde in über 70 % der Fälle vermehrt Schleim im Lumen von Trachea, Hauptbronchus und peripheren Bronchien gefunden. Im Vergleich dazu wurden bei den Kontrollfällen und den postmortalen Brandopfern niedrigere Werte erreicht. Da jedoch auch in über 50 % der Kontrollfälle und in über 20% der postmortalen Brandfälle eine vermehrte Schleimsekretion zu beobachten war, ist der Nachweis einer gesteigerten Schleimsekretion allein kein sicheres Vitalitätsmerkmal [9]. Besonders auch im Hinblick darauf, dass schon vor dem Brandgeschehen Schleim sezerniert worden sein kann, etwa bei einer katarrhalischen Bronchitis.

Im vorgestellten Untersuchungsgut konnten bei den Brandfällen ein Auftreten von Pseudobecherzellen in den Hauptbronchien (35,7 %) und in der Trachea (48,1 %) festgestellt werden. Als Pseudobecherzellen bezeichnet man hydropisch vergrößerte Zellen, die granuläre und basophile Einschlüsse in hellem Zytoplasma enthalten und im nicht-zerstörten Epithel bei Verbrennung vorkommen. Schmidt und Madea [46] beschrieben diese Zellen als Ausdruck einer Schädigung des Bronchialepithels bei trockener und feuchter Hitze. In unseren Kontrollfällen waren ebenfalls Pseudobecherzellen im respiratorischen Epithel aufgetreten. Bei den Fällen postmortaler Verbrennung konnte im Bereich der Epiglottis und Hauptbronchien eine größere Zahl von Pseudobecherzellen festgestellt werden, wobei jedoch beachtet werden muss, dass lediglich 3 auszuwertende Schnitte vorhanden waren, so dass im Hinblick auf die postmortalen Fälle keine signifikante Aussagekraft besteht. Es kann nach diesen Ergebnissen davon ausgegangen werden, dass es sich bei dem Auftreten von Pseudobecherzellen eher um ein unspezifisches Zeichen handelt, das nicht nur bei Hitzeeinwirkung auftritt. Janssen [34] hatte darauf hingewiesen, dass nur das gleichzeitige Vorkommen mehrerer Veränderungen am Trachealbaum und Lungengewebe einen Beweiswert habe. Nach den Erfahrungen von Bohner et al. [9] besitzt das gleichzeitige Vorhandensein von Pseudobecherzellen, vermehrter Schleimsekretion und blasig abgehobenen Epithelien eine hohe Aussagekraft hinsichtlich einer vitalen Hitzeinwirkung.

Im folgenden Abschnitt wird auf die Pathophysiologie des Lungenemphysems und der Ödeme eingegangen:

Im Rahmen unserer Untersuchungen zur Ausprägungshäufigkeit allgemein-histologischer Parameter wurde hierbei Folgendes beobachtet: Die Entstehung eines akuten Lungenemphysems grenzte mit einem p-Wert von 0,012 die Brandfälle sehr deutlich von der Gruppe der Kontrollfälle ab. Unter einem Lungenemphysem versteht man die irreversible Erweiterung der terminalen Bronchiolen und Alveolen infolge einer Destruktion der Alveolarsepten. Man unterscheidet zwischen einem akuten und chronischen Lungenemphysem, deren Pathomechanismus ein jeweils anderer ist: Beim akuten Lungenemphysem, das vor allem bei einem schnellen Inhalationstrauma beobachtet wird, führt eine akute Verlegung der Atemwege dazu, dass die Atemluft aus den Alveolen schlechter abgeatmet werden kann. Dies führt zu einer Überblähung der Alveolen, ein Emphysem ist die Folge. Beim chronischen Lungenemphysem, das sich häufig bei überlebten Brandfällen zeigt, ist die Zerstörung der Alveolarsepten Folge eines Proteasen-Antiproteasen-Ungleichgewichtes. Wie in der Einleitung [57] bereits beschrieben, kommt es bei einem Inhalationstrauma zu einem Einstrom von neutrophilen Granulozyten und damit zu einer vermehrten Freisetzung von Proteasen, vor allem der Elastase, die nicht mehr vollständig von Antiproteasen, wie z. B. Alpha-Antitrypsin inaktiviert werden können. Es resultiert ein Übergewicht der Proteasen, die dann die Lungengerüststrukturen wie z. B. Alveolarwände, ungehindert andauern [59].

Die Bildung eines intraalveolären Ödems war bei 90 % der Brandfälle zu beobachten. Im Vergleich zu den Kontrollfällen war es nicht signifikant erhöht, da dort in ähnlichem Ausmaß intraalveoläre Ödeme vorlagen. Das interstitielle Ödem fehlte bei etwa 12 % der Brandfälle und bei 20 % der Kontrollfälle. Allerdings kann es nicht als brandspezifisch angesehen werden, da die Ödembildung auch als Folge einer Linksherzinsuffizienz und somit durch andere Ursachen bedingt sein kann [31]. Es wird vermutet, dass das Ödem in Folge der Schädigung der Endothelien und des Gewebes im Atemtrakt durch vasoaktive Mediatoren entsteht [57]. Über die in der Einleitung beschriebene Signalkaskade (Abbildung 1) kommt es zunächst zu der Bildung eines interstitiellen Ödems, welches sich später zum intraalveolären Ödem ausweiten kann. Das erklärt wiederum die im Vergleich zu den Kontrollfällen häufigere Bildung des intraalveolären Ödems.

Durch die Schädigung des Alveolarepithels entstehen abgeschilferte Alveozyten [20, 46]. In unserer Arbeit fanden sich in der Mehrzahl der Brandfälle abgeschilferte Alveozyten. Im Zuge der Ödembildung kommt es zu einem „Capillary Leak Alveolar Flooding“. Dies bedeutet,

dass sich die Alveolardeckzellen (Pneumozyten Typ 1) als auch die Nischenzellen (Pneumozyten Typ 2) von der Alveolaroberfläche lösen. Die Folge ist eine Inaktivierung des Surfactants. Dieser Surfactantmangel führt zu einer Veränderung der alveolären Oberflächenspannung. Das Epithel wird mit der Zeit undicht. Besonders geschädigt werden die Pneumozyten Typ 1, weil diese nur schwache Verbindungen untereinander aufweisen [72].

4.3 Die Rolle von Fibronektin in der Lunge bei Brandopfern

In der Klinik zeigt sich, dass das Lungenversagen eine der häufigsten Todesursachen nach Verbrennungstraumen darstellt. Häufig manifestieren sich die Lungenkomplikationen in Form des akuten Lungenversagens (ARDS). Wie bereits in der Einleitung (Kapitel 1.2) beschrieben, gibt es Hinweise dafür, dass die Entstehung von Lungenschäden und ARDS nach Verbrennungen in engem Zusammenhang mit einem vermehrten Einstrom von neutrophilen Granulozyten in der Lunge steht [2]. Ihr vermehrtes Vorkommen im Lungengewebe und ihre Aktivierung mit der Freisetzung von freien Sauerstoffradikalen und Proteasen führt zur Lungenfunktionsstörung bis hin zum Organversagen [57].

In der vorliegenden Untersuchung an Lungengewebe konnte aufgezeigt werden, dass eine unterschiedliche Expression des frühen Entzündungsmarkers Fibronektin bei Todesfällen durch Verbrennungstrauma im Vergleich zu anderen Todesursachen und Fällen von postmortaler Verbrennung zu beobachten ist.

Die Expression des Fibronektins in Makrophagen peripherer Bronchien war eines der Merkmale, womit eine Unterscheidung zwischen der Gruppe der vital Verbrannten von der Kontrollgruppe möglich war. In diesen Zellen gelang bei den Fällen vitaler Verbrennung in über 80 % ein Fibronektinnachweis, meist in Form einer geringen bis mittelgradigen Anfärbung, während diese in den Kontrollfällen und den Fällen postmortaler Verbrennung keine oder eine sehr geringe Expression des Fibronektins zeigten. Ähnliche Tendenzen wurden in den Makrophagen der Epiglottis und der Trachea festgestellt. In den Alveolarmakrophagen, den Phagozyten der Lunge, wurde in der Gruppe der vital Verbrannten häufig eine mittelgradige und starke Anfärbung des Fibronektins beobachtet, während sich diese Zellen in der Kontrollgruppe und in den Fällen postmortaler Verbrennung meist nur sehr gering anfärbten. Die von uns beobachtete Expression von Fibronektin in den Makrophagen und Alveolarmakrophagen wurde bereits durch Wallaert et al. [70] in anderem Zusammenhang beobachtet. Er zeigte, dass diese Zellen eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der Alveolitis spie-

len, bei der es zu einer Ansammlung von Entzündungs- und Abwehrzellen kommt. Er wies darauf hin, dass Alveolarmakrophagen für die Freisetzung von Sauerstoffradikalen, chemotaktischen Mediatorstoffen und Faktoren, die die Fibroblastenproliferation vorantreiben, nämlich Fibronectin oder den Fibroblasten-Wachsumsfaktor, notwendig sind. Infolge der vermehrten Sekretion von Fibronectin und freien Sauerstoffradikalen kommt es bei der Alveolitis zu einer zunehmenden Verschlechterung der Lungenfunktion. Verschiedene andere Studien [49, 56] konnten ebenfalls zeigen, dass Alveolarmakrophagen, die in Zusammenhang mit chronisch-entzündlichen Erkrankungen der unteren Atemwege auftreten wie z. B. bei der idiopathischen interstitiellen Pneumonie [49] oder der bronchopulmonalen Dysplasie [66], wesentlich größere Mengen an Fibronectin als normal bilden und dieses anschließend sezernieren. Rennard et al. [56] stellten bei einer idiopathischen Lungenfibrose und einer Lungensarkoidose eine Zunahme der Fibronectinproduktion in Alveolarmakrophagen auf 20- bzw. 10-fache der Norm fest.

Fibroblasten, die in engem Kontakt zu den Makrophagen stehen, zeigten bei den Fällen vitaler Verbrennung eine mittelgradige und starke Abfärbung des Fibronectins, während bei den Kontrollfällen und den Fällen postmortaler Verbrennung in diesen Zellen häufig kein Fibronectinnachweis gelang. Eine Erklärung für das häufig gemeinsame Auftreten der Makrophagen und der Fibroblasten und deren vermehrte Expression von Fibronectin in der Nähe von Bronchien und im Lungengewebe mag an dem engen Zusammenspiel dieser Zellen liegen. Dieses Phänomen war Bittermann et al. [7] auch bei chronisch-entzündlichen Lungenerkrankungen aufgefallen. Sie beobachteten, dass Alveolarmakrophagen zwei primäre Wachstumsfaktoren für Fibroblasten freisetzen, nämlich einerseits Fibronectin und andererseits den Alveolar macrophage-derived growth-factor (AMDGF). Diese beiden Faktoren sind in der Lage, zusammen mit Transferrin die Fibroblastenproliferation voranzutreiben, so dass es innerhalb der alveolären Strukturen zu einer Zunahme von Fibroblasten kommt. Die Entstehung einer Fibrose und damit ein Zusammenbruch der alveolar-kapillären Einheit sind die Folgen [7, 37, 56, 70, 76]. Die gewonnenen Erkenntnisse können somit auch auf die bei einem Inhalationstrauma ablaufenden Entzündungsprozesse übertragen werden und liefern damit einen Erklärungsansatz für die auch in unserer Studie beobachtete Expression von Fibronectin in Makrophagen und Fibroblasten.

In den Monozyten, den Vorläuferzellen der Makrophagen, und den nicht-monozytären Leukozyten großer Lungengefäße wurde sowohl bei den Fällen vitaler und postmortaler Verbrennung als auch bei den Kontrollfällen selten eine Fibronectin-Expression beobachtet. Leukozyten, zu denen auch die Granulozyten gehören und von denen die Monozyten die größten dar-

stellen, stellen einen wichtigen Teil des Abwehrsystems dar und haben ihre Hauptaufgabe als Makrophagen im Beseitigen von Zelltrümmern und anderen Materialteilchen. Die Monozyten an sich nehmen kaum Aufgaben im Blut wahr, benutzen das Blut lediglich als Verkehrsmittel zwischen Bildungs-, Speicher- und Arbeitsstätten. Sie werden im Knochenmark gebildet, gelangen in die Blutbahn, um dann als höchst bewegliche Zellen in die verschiedenen Gewebe innerer Organe zu gelangen und dadurch zu Gewebemakrophagen zu werden [73]. Yamauchi et al. [76] erklärten, dass es einen entscheidenden Unterschied zwischen den im Blut befindlichen Monozyten und den Alveolarmakrophagen im Hinblick auf die Bildung des Fibronektins gibt. Während die Phagozyten der Lunge in der Lage sind, unter bestimmten Voraussetzungen spontan das Fibronektin-Gen zu exprimieren, sind die Monozyten dazu nicht befähigt. Obwohl Reizstoffe wie z. B. Lipopolysaccharide oder Immunkomplexe die Ausschüttung zahlreicher Mediatorstoffe aus den Monozyten erhöhen, sind sie nicht in der Lage, in den Monozyten, den Vorläuferzellen der Alveolarmakrophagen, die Expression des Fibronektin-Gens zu steigern. Sie vermuteten, dass erst der Entwicklungsprozess von Monozyten zu Alveolarmakrophagen mit einer spontanen Expression des Fibronektin-Gens verknüpft ist und eine Hochregulation des Gens und damit eine Erhöhung der Fibronektinsekretion in den Alveolarmakrophagen und nicht in den Monozyten möglich ist [76]. Anhand dieser Beobachtung lässt sich erklären, warum auch bei einem Verbrennungstrauma, bei dem neben der lokalen Reaktion auf die inhalativen Noxen auch eine komplexe Immunantwort ausgelöst wird, eine Erhöhung der Fibronektinexpression in den Monozyten ausbleibt und in den Alveolarmakrophagen beobachtet wird.

Ein weiteres Merkmal, das sich zur Unterscheidung zwischen Brand- und Kontrollfällen gut eignete, war die Expression nicht-Zellen-assoziierten Fibronektins im umgebenden Gewebe peripherer Bronchien. Hierbei handelte es sich um frei im Gewebe liegende Fibronektinfäden, die in den Fällen vitaler Verbrennung überwiegend eine geringe bis mittelgradige Anfärbung, in den Kontrollfällen und den Fällen postmortaler Verbrennung keine oder eine sehr geringe Anfärbung zeigten. Ähnliche Tendenzen wurden im umgebenden Gewebe der Epiglottis, der Trachea und in den Alveolarsepten beobachtet. Mit dem zeitabhängigen Auftreten von freiem Fibronektin während der Wundheilung beschäftigten sich bereits Viljanto et al. [69], die in chirurgischen Wunden von Kindern Cell-Sticks implantierten und immunfluoreszenzoptisch Fibronektin bereits 1 Stunde und mit einem Maximum zwischen 24 und 48 Stunden nach Wundsetzung nachweisen konnten. Auch in tierexperimentellen Studien von Grinell et al. [26] und Repesh et al. [60] konnte eine Fibronektinexpression in frühen Phasen der Wundheilung festgestellt werden. Diese Arbeitsgruppen [26, 60] beobachteten in Hautwunden zu-

nächst eine wundaltersabhängige Zunahme der Reaktionsintensität von Fibronectin. Des Weiteren stellte Kurkinen [38] bei Mäusen fest, dass im Zuge der Wundheilung Fibronectin in Zellulose-Schwämmchen, die in die Nackenhaut der Mäuse implantiert worden waren, zusammen mit einwandernden Fibroblasten bereits vor dem Auftreten von Kollagen I und III im Wundgebiet nachgewiesen werden konnte. Er führte dies auf eine Einschwemmung des Plasmafibronectins, der Serumform des Proteins, in das umgebende Gewebe zurück. Nach den Erfahrungen von Betz et al. [4, 6] zeigen Hautwunden mit Überlebenszeiten von bis zu wenigen Minuten eine eindeutige und von postmortalen unspezifischen Artefakten unterscheidbare Fibronectinreaktion. Sie beschrieben in vitalen Wunden eine Anfärbung von Fibronectin in Form scharf konturierter, kräftig anfärbbarer Fibronectinstränge, während bei postmortal gesetzten Wunden band- bis fleckförmige, eher verwaschene oder körnige Ausprägungsmuster beobachtet wurden. Clark et al. [13] zeigten anhand tierexperimenteller Studien, dass die Intensität der Reaktion im Wundgebiet zunächst mit steigender Überlebenszeit zunimmt und sich mit zunehmender Ausbildung des Granulationsgewebes nach Abschluss der Zellmigration nach Wochen reduziert. In den untersuchten Wunden war das typische vitale, aus vielfach sich verzweigenden und kräftig reagierenden Strukturen bestehende Fibronectin-Netzwerk nach ca. 3 Wochen Wundalter außerhalb des Granulations- bzw. Narbengewebes nicht mehr darstellbar. Diese Ergebnisse bestätigten im Wesentlichen die Untersuchungen von Fechner [17], der die Vorteile der immunhistochemischen Darstellung von Fibronectin zur Vitalitätsbeurteilung von Skelettmuskeltraumen beschrieb und ein Einsetzen einer vitalen Fibronectinreaktion unmittelbar nach Traumatisierung beobachtet hatte.

Herard et al. [28] beschäftigten sich in Versuchen mit dem Ablauf der Wundheilung im Bereich von Epithelien der Atemwege. In ihren Versuchen entnahmen sie Oberflächenepithelien aus Nasenpolypen und bebrüteten sie auf einer Matrix, bestehend aus Kollagen Typ I. Sie beobachteten immunfluoreszenzoptisch die Lokalisation von Fibronectin, Beta 1-, Alpha v-, Alpha 2-, Alpha 3-, und Alpha 5-Integrin-Untereinheiten. Nach Gabe von Anti-Integrin- und Fibronectin-Antikörpern konnte die Arbeitsgruppe zeigen, dass Fibronectin und eine der Rezeptoruntereinheiten des Alpha 5-Integrins, nämlich das Alpha 5 Beta 1-Integrin, ausschließlich von Zellen in der Wundumgebung exprimiert und sezerniert wurden. Deno et al. [15] lieferten eine andere Erklärung für den Anstieg des nicht-Zellen-assoziierten Fibronectins im umgebenden Gewebe. Er führte es darauf zurück, dass sich das Plasmafibronectin bei starker Hitze an Bestandteile des umgebenden verletzten Gewebes anhefte und somit dort vermehrt nachgewiesen werden kann [15]. Da bei einem Verbrennungstrauma hohe Temperaturen auf die Lunge wirken und die geschädigten Lungenareale als Wunden betrachtet werden können,

liefern die Beobachtungen von Betz et al. [4, 6], Deno et al. [15] und Herard et al. [28] einen Erklärungsansatz für die auch in unserer Studie beobachtete vermehrte Expression nicht-Zellen-assoziierten Fibronektins im umgebenden Gewebe der peripheren Bronchien. Eine weitere Erklärung könnte darin liegen, dass die infolge des Inhalationstraumas ausgelöste Entzündungsreaktion gleichzeitig Alveolarmakrophagen und Fibroblasten anlockt. Da diese beiden Zellen in der Lage sind, Fibronektin in großen Mengen zu produzieren und ins umgebende Gewebe zu sezernieren, kann Fibronektin vermehrt im geschädigten Gewebe nachgewiesen werden [7].

Weiteres Augenmerk galt der Beurteilung der Fibronektin-Expression in Endothelzellen [33] und glatten Gefäßmuskelzellen [66]. Hier fiel in unserer Arbeit ein ähnliches Ausprägungsmuster in den Fällen vitaler und postmortaler Verbrennung und den Kontrollfällen auf. Werden die Fälle mit nur kurzer Überlebenszeit mit denen längerer Überlebenszeit verglichen, zeigte sich in denen mit kurzer Überlebenszeit eine geringere Anfärbung dieser Zellen. Diese Beobachtung entspricht den Erfahrungen von Plassart et al. [55]. Sie beschrieben, dass es nach Brandeinwirkung zunächst zu einer Reduktion des Fibronektins in den Endothelzellen kommt. Grund hierfür lag ihrer Meinung nach darin, dass nach Brandwirkung eine geringere Zahl an Endothelzellen zur Verfügung steht und damit die Fibronektin-Expression in diesen noch zur Verfügung stehenden Zellen gedrosselt wird [55]. Betz [4] und Clark et al. [13] vermuteten, dass diesem Protein aufgrund seiner Lokalisation und Expression in den Endothelzellen eine wichtige Aufgabe in der Gefäßneubildung zukommen muss, und sie zeigten, dass es im Rahmen der Gefäßneubildung zu einer vermehrten Proliferation der Endothelzellen und damit verbunden zu einer Zunahme der Fibronektinexpression in diesen Zellen kommt. Niewiarowski et al. [53] gingen wegen der Expression des Fibronektins in glatten Gefäßmuskelzellen von einer Beteiligung des Fibronektins an der Wundkontraktion aus, die im Rahmen der Wundheilung zu einem Wundverschluss führt. Unter Berücksichtigung der Erfahrungen von Betz [4], Clark [13], Plassart [55] und Niewiarowski et al. [53] kann die These aufgestellt werden, dass es kurze Zeit nach der Hitzeeinwirkung zunächst zu einer Abnahme der Fibronektin-Expression in den Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen kommt, aber anschließend Reparationsmechanismen (Gefäßneubildung und Wundverschluss) einsetzen, die mit einer Zunahme der Fibronektinexpression in diesen Zellen verknüpft sind.

Die Expression nicht-Zellen-assoziierten Fibronektins im Kapillarlumen, auch hier in Form von nicht an Zellen gebundenen Fibronektinfäden, zählte ebenfalls zu den Merkmalen, mit deren Hilfe eine Unterscheidung zwischen der Gruppe der vital Verbrannten und der Kontrollgruppe möglich war. Es zeigte sich in unserem Untersuchungsgut bei den Fällen vitaler

Verbrennung eine sehr geringe bis geringe Expression des freien Fibronektins, während bei den Kontrollfällen und den Fällen postmortaler Verbrennung die Expression dieser Fibronektinfäden meist ausblieb. In den Gefäßlumina der Epiglottis und der Trachea zeigte sich ein ähnliches Expressionsmuster. Bei der nicht-Zellen-assoziierten Form des Fibronektins in Blutgefäßen handelt es sich um die Plasmaform des Fibronektins. Deno et al. [15] stellten in Versuchen mit Ratten, die sie der Hitze des Brandes aussetzten, fest, dass es unmittelbar nach der Hitzeeinwirkung zunächst zu einem Absinken der Plasmafibronektinkonzentration und anschließend nach ca. 8 Stunden zu einem Wiederanstiegen über die Normwerte hinaus kam, während bei der Kontrollgruppe die Plasmafibronektinkonzentration konstant bei 600 µg/ml lag. Grund hierfür liegt in der Regeneration des Plasmafibronektins nach 8 Stunden und seiner vollständigen Wiederherstellung etwa 24 Stunden nach dem Brandgeschehen. Großmann et al. [27] war aufgefallen, dass das Plasmafibronektin ein dem Lymphfluss entgegengesetztes Verhalten zeigt. Nach den Erfahrungen von Herndon [29] und Settle [65] kommt es nach einem Verbrennungstrauma innerhalb der ersten 24 Stunden über eine Zunahme des Lungenarteriendruckes und des Gefäßwiderstandes zu einer Zunahme des Lymphflusses. Innerhalb weiterer 24 Stunden normalisiert sich der Lymphfluss wieder. Bezogen auf das Plasmafibronektin, dass sich umgekehrt zum Lymphfluss verhält, sahen Großmann et al. [27] darin eine Begründung, dass zunächst eine Abnahme des Proteins und anschließend ein Ansteigen der Plasmafibronektinkonzentration beobachtet werden kann. Saba und Großmann et al. [27, 64] fanden weiterhin heraus, dass bei Brandopfern neben einem Mangel an Plasmafibronektin auch eine Fehlfunktion des Reticuloendothelialen Systems (RES) besteht oder eine Unterdrückung des Reticuloendothelialen Systems vorliegt. Die Folge ist, dass die Zellen des Reticuloendothelialen Systems, die ihre Aufgabe ebenfalls in der Phagozytose von Zelltrümmern haben, nicht aktiviert werden und die entstehenden Gewebetrümmer nicht beseitigt werden. Diese zusätzlichen Blutbestandteile führen zu Gefäßembolisationen und später zu einem Zusammenbruch der alveolar-kapillären Einheit mit all ihren bereits genannten Konsequenzen [64]. Als weitere mögliche Begründung für die Abnahme des Plasmafibronektins in den ersten Stunden gaben Deno et al. [15] an, dass es bei starker Hitze zu einer Ansammlung von Fibronektin in der Leber kommt, das dann im Plasma selbst nicht mehr nachgewiesen werden kann. La Celle et al. [39, 40] machten ähnliche Beobachtungen. Sie vermuteten zum einen, dass sich nach der Hitzeeinwirkung kollagenartige Gewebetrümmer aus der verbrannten Haut ablösen und ins Plasma gelangen, um sich dort direkt mit dem löslichen Fibronektin - dem Plasmafibronektin - zu verbinden. Somit ist das Plasmafibronektin in seiner ursprünglichen Form nicht mehr nachweisbar. Zum anderen gingen sie von einer proteolytischen Spaltung

des Plasmafibronektins nach Verbrennungstraumen aus, wobei diese Fibronektinbruchstücke mit dem noch intakten Plasmafibronektin in Konkurrenz treten und die Zellverbände zwischen den Endothelzellen lösen. Die Folge ist ein Undichtwerden der Kapillaren und damit eine Erhöhung der Permeabilität [39, 40]. Diese Überlegungen ähnelten denen von Plassart et al. [55]. Er führte das zunächst schnelle Absinken des Plasmafibronektins innerhalb der ersten Stunden nach Verbrennungstraumen darauf zurück, dass sich das Plasmafibronektin an die geschädigten Kapillaren hängt und somit im Plasma auch nicht mehr nachgewiesen werden kann. Bei ganzheitlicher Betrachtung liegt eine mögliche Erklärung für die im Vergleich zu den Kontrollfällen vermehrte Expression des Fibronektins darin, dass in einigen ausgewerteten Brandfällen der Tod erst nach 24 Stunden oder später eingetreten war oder der genaue Zeitpunkt nicht mehr ermittelt werden konnte und somit zum Sterbezeitpunkt bereits die Regenerationsphase des Fibronektins begonnen hatte und es über eine Normalisierung/Abnahme des Lymphflusses wieder zu einem Ansteigen der Plasmafibronektinkonzentration gekommen war.

Im Zusammenhang mit der Expression des Plasmafibronektins konnte eine weitere interessante Beobachtung in unserer Untersuchung gemacht werden. Es fiel auf, dass sich das Lumen großer Lungengefäße, die in unmittelbarer Umgebung zu den peripheren Bronchien lagen, stärker anfärbte als das Kapillarlumen, also in den peribronchial gelegenen Gefäßen Fibronektin vermehrt exprimiert wurde. Bei Überlegungen zur Ursache muss beachtet werden, dass die Lunge in zweifacher Weise geschädigt werden kann: Zum einen systemisch durch die bei Verbrennungen freigesetzten Toxine, zum anderen durch die inhalative Aufnahme der Rauchgase [30, 67]. Eine mögliche Erklärung für die verstärkte peribronchiale Anfärbung ist, dass aufgrund der lokalen Wirkung der heißen Brandrauchgase und der inhalativen Toxine die durch Mediatoren ausgelösten Entzündungsvorgänge um den Bronchialbaum herum beginnen. Von dort aus könnte eine systemische Ausbreitung über die Blutzirkulation in das periphere Lungengewebe stattfinden. Diese These weist in die gleiche Richtung wie die Untersuchungsergebnisse von Loick et al. [45], die an Schafen feststellen konnten, dass nach Exposition der Trachea und der rechten Lunge mit Rauchgasen ein Ödem und „lipid peroxidation products“ in beiden Lungen gefunden werden konnten. Nachdem aber nur die unteren Bereiche der rechten Lunge einer Rauchgasexposition ausgesetzt waren, konnte keine direkte Schädigung der kontralateralen Lunge aufgetreten sein. Als mögliche Erklärung für das Betroffensein beider Lungen wurde genannt, dass das Blut aus dem venösen Abfluss der oberen Atemwege über die Vena cava ins rechte Herz – ungefiltert durch sonstige Organe – in die Lunge zurückfließt. Der venöse Abfluss der Gefäße der intrapulmonalen Luftwege verläuft jedoch in

das Gefäßsystem der Lunge. Aufgrund broncho-pulmonaler Shunts kann es zur raschen Ausbreitung der Lungenschädigung kommen [45].

Weiteres Augenmerk in unserer Arbeit galt der Beurteilung der Fibronektin-Expression in den alveolären Strukturen. Es wurde eine Anfärbung der Alveolarepithelzellen (Pneumozyten Typ I), der abgeschilferten Alveozyten und nicht-Zellen-assoziiert in Form von Fibronektinfäden beobachtet, wobei in diesen Strukturen kein Unterschied in der Expression des Fibronektins zwischen den Brand- und Kontrollfällen und Fällen postmortaler Verbrennung auffiel. Rosenkrans [61] hatte festgestellt, dass Fibronektin nur von Pneumozyten Typ I gebildet wird und Fibronektin in diesen Zellen und auch an deren basaler und luminaler Oberfläche zu finden ist. Nach den Untersuchungen von Werner [72] kommt es bei Hitzeeinwirkung im Zuge der Ödembildung zu einer Abschilferungen von Alveolardeckzellen (Pneumozyten Typ I) und Nischenzellen (Pneumozyten Typ II) von der Alveolaroberfläche, wobei vor allem eine Ablösung von Pneumozyten Typ I beobachtet wird, weil diese untereinander nur sehr schwache Verbindungen zeigen. Das ähnliche Anfärbungsmusters von Fibronektin in den verschiedenen Gruppen (Gruppe vital/postmortal Verbrannter/Kontrollgruppe) lässt vermuten, dass neben der Hitzeeinwirkung auch andere Ursachen die Bildung eines Ödems und die damit verbundene Abschilferung von Alveolarepithelzellen bedingen können. Bei einem Schädelhirntrauma oder bei einer Hypoxie, z. B. infolge von Ersticken oder Erhängen kommt es zu einer reflektorischen Konstriktion der Pulmonalvenolen mit der Ausbildung eines neurogenen Lungenödems. Infolge einer Linksherzinsuffizienz ist ein Anstieg des pulmonalvenösen Druckes zu erwarten. Ein kardiales Lungenödem ist die Folge [16].

Im Rahmen dieser Arbeit konnte in unterschiedlichen Strukturen (Makrophagen, umgebendes Gewebe, Gefäßlumen) im Vergleich zur Kontrollgruppe eine vermehrte Expression von Fibronektin nachgewiesen werden. Die vermehrte Expression des Fibronektins kann vermutlich auf die auch bei einem Inhalationstrauma ausgelöste Entzündungsreaktion zurückgeführt werden, so dass Fibronektin hier unter geeigneten Voraussetzungen als früher Entzündungsmarker zum Einsatz kommt. Trotz der niedrigen Zahl an Fällen postmortaler Verbrennung konnte dennoch gezeigt werden, dass diese ein ähnliches Expressionsmuster wie die Kontrollfälle aufweisen, und somit eine Unterscheidung zwischen vital und postmortal einem Brand ausgesetzten Personen anhand der Expression von Fibronektin möglich ist. Es kann davon ausgegangen werden, dass der Nachweis eines der Merkmale allein kein sicheres Vitalitätsmerkmal darstellt. Nach unseren Erfahrungen besitzt erst das gleichzeitige Zusammentreffen mehrerer der untersuchten Merkmale, nämlich die vermehrte Expression von Fibronektin in Makrophagen, nicht-Zellen-assoziiert im umgebenden Gewebe peripherer Bronchien und im

Kapillarlumen eine hohe Aussagekraft hinsichtlich einer vitalen Hitzeeinwirkung. Da jedoch das zuletzt genannte Merkmal ein den Erfahrungen zahlreicher Wissenschaftler entgegengesetztes Verhalten zeigte, bedarf es in diesem Punkt noch weiterer Untersuchungen, um auch diese Variable in Zukunft in die Liste der Vitalitätsparameter aufnehmen zu können.

5 Zusammenfassung

Es wurden 73 Brandfälle (63 vital/perimortale Brandfälle und 10 Fälle postmortalen Verbrennung) aus dem Sektionsgut des Rechtsmedizinischen Instituts der Universität Freiburg und der Freien Universität Berlin bezüglich histomorphologischer Veränderungen im Respirationstrakt untersucht. Diese Methode wurde um immunhistochemische Verfahren erweitert. Ziel war es, einen signifikanten Unterschied in der Expression des im Rahmen der Wundheilung oder bei Entzündungsvorgängen früh exprimierten Zellmarkers Fibronectin (FN) im Respirationstrakt bei Brandleichen nachzuweisen. Als Kontrollgruppe dienten 55 nicht-selektierte Todesfälle, die nicht mit einem Brandgeschehen in Zusammenhang gebracht werden konnten.

In der Studiengruppe zeigte sich eine vermehrte Expression von Fibronectin in den Makrophagen peripherer Bronchien und nicht-Zellen-assoziiert im umgebenden Gewebe der peripheren Bronchien. Die Ausprägung der Anfärbung war bei den Fällen vitaler Verbrennung im Vergleich zu den Kontrollfällen und den Fällen postmortalen Verbrennung signifikant stärker. Der mutmaßliche Grund hierfür liegt in der durch ein Inhalationstrauma hervorgerufenen Entzündungsreaktion, die zu einem Einstrom von Granulozyten ins verletzte Gewebe führt und mit einer Aktivierung von Makrophagen einhergeht. Diese Zellen bilden bei entzündlichen Prozessen vermehrt Fibronectin und setzen diesen Zellmarker anschließend ins umgebende Gewebe frei. Gleichzeitig kommt es zu einer Verlagerung von Plasmafibronectin aus den Gefäßen ins umliegende Gewebe und kann dort nicht-zellen-assoziiert in Form von Fibronectinfäden nachgewiesen werden. Die vermehrte Expression nicht-Zellen-assoziierten Fibronectins in das Kapillarlumen gilt als weiteres Merkmal, mit dem eine Unterscheidung zwischen Fällen vitaler und postmortalen Verbrennung und Kontrollfällen möglich ist. Da bei vitaler Verbrennung jedoch im Gegensatz zu bisherigen Studien eine vermehrte Expression des nicht-Zellen-gebundenen Fibronectins beobachtet wurde, bedarf es in Bezug auf diese Variable noch weiterer Untersuchungen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass nicht nur eines der Merkmale zur Vitalitätsdiagnostik herangezogen werden sollte. Erst ein gleichzeitiges Zusammentreffen mehrerer der genannten Faktoren lässt eine Differenzierung zwischen vitaler und postmortalen Verbrennung zu.

6 BILDANHANG

Anfärbungen mit Fibronectin bei Brandfällen

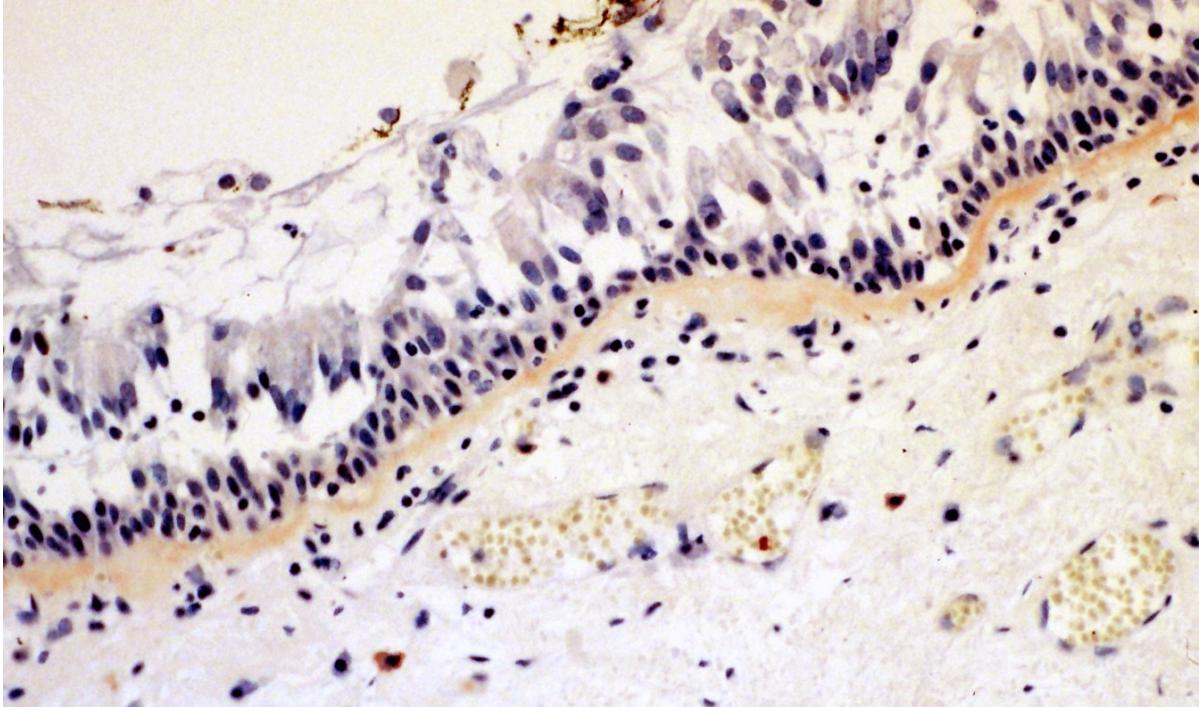


Abbildung 16: Trachea: blasig abgehobenes Epithel, Basalmembran und vereinzelte Makrophagen angefärbt mit Anti-Fibronectin,

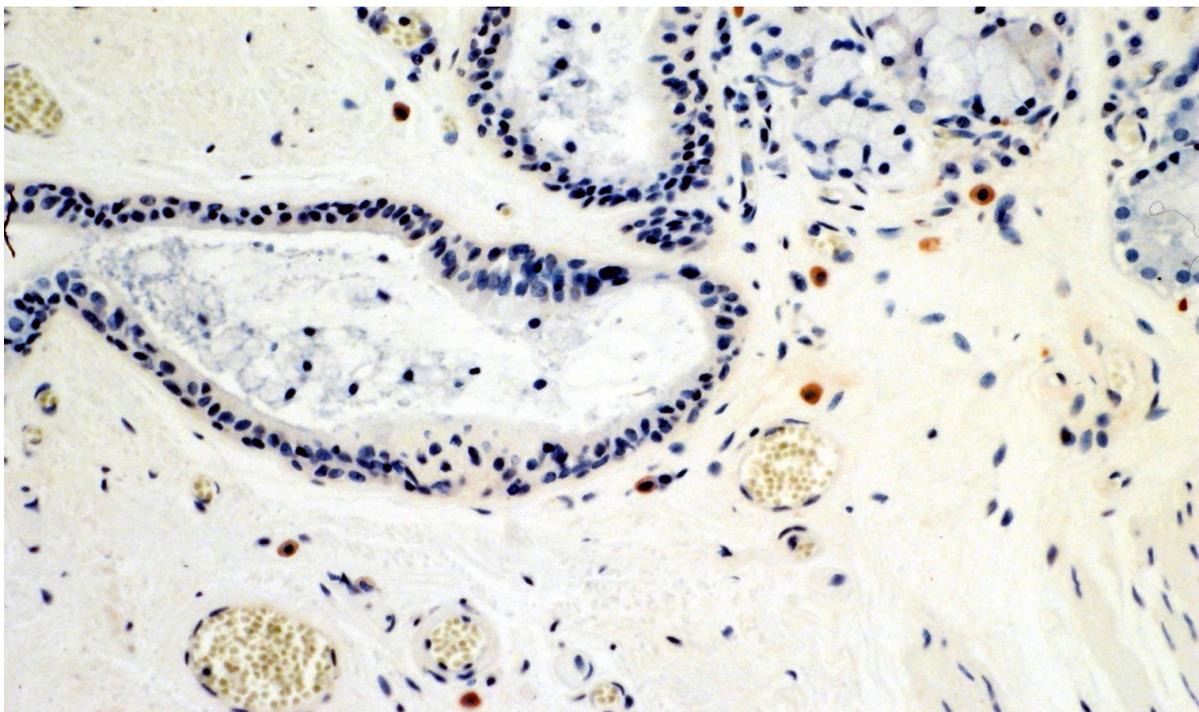


Abbildung 17: Trachea: Makrophagen angefärbt mit Anti-Fibronectin

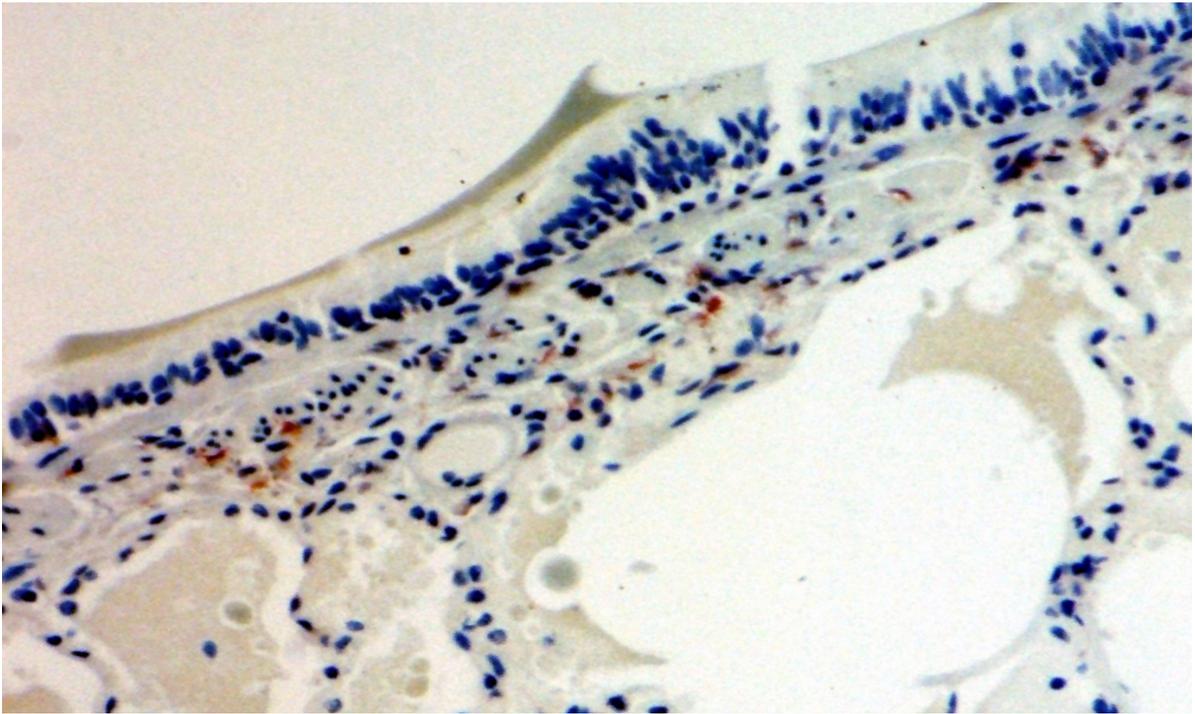


Abbildung 18: Periphere Bronchien: Nicht-Zellen-assoziierte Anfärbung des umgebenden Gewebes mit Anti-Fibronektin und angeschnittene angefärbte Makrophagen

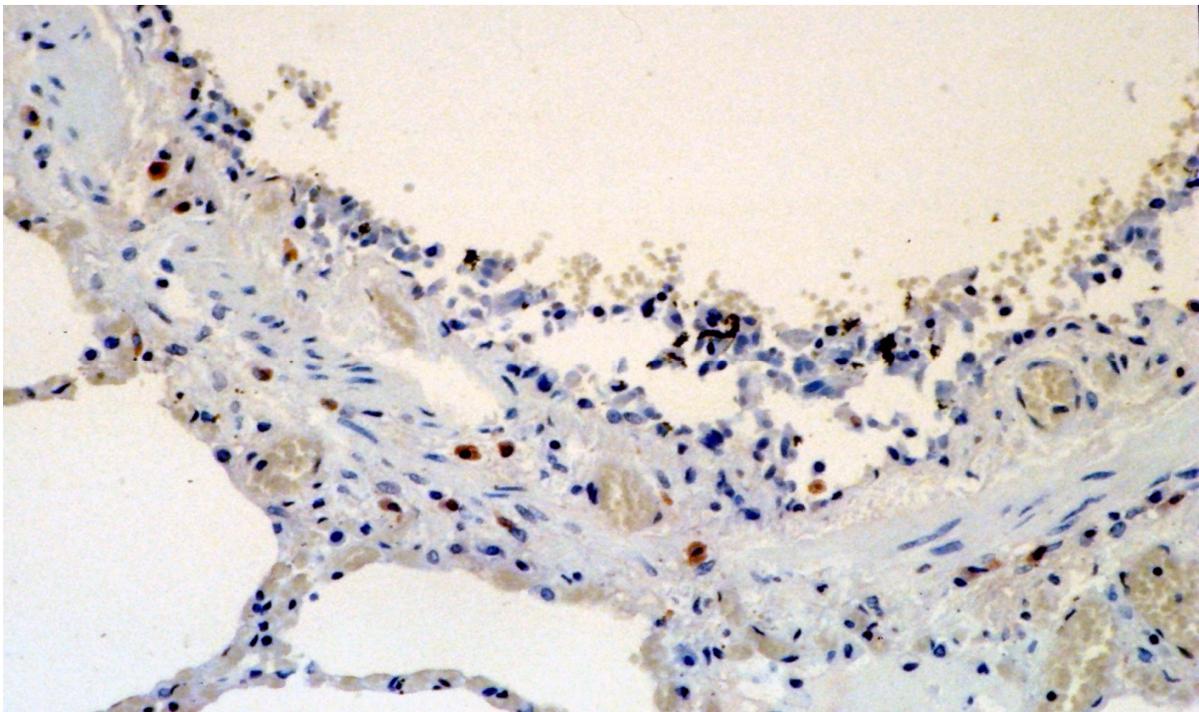


Abbildung 19: Periphere Bronchien: Fibroblasten und Makrophagen angefärbt mit Anti-Fibronektin

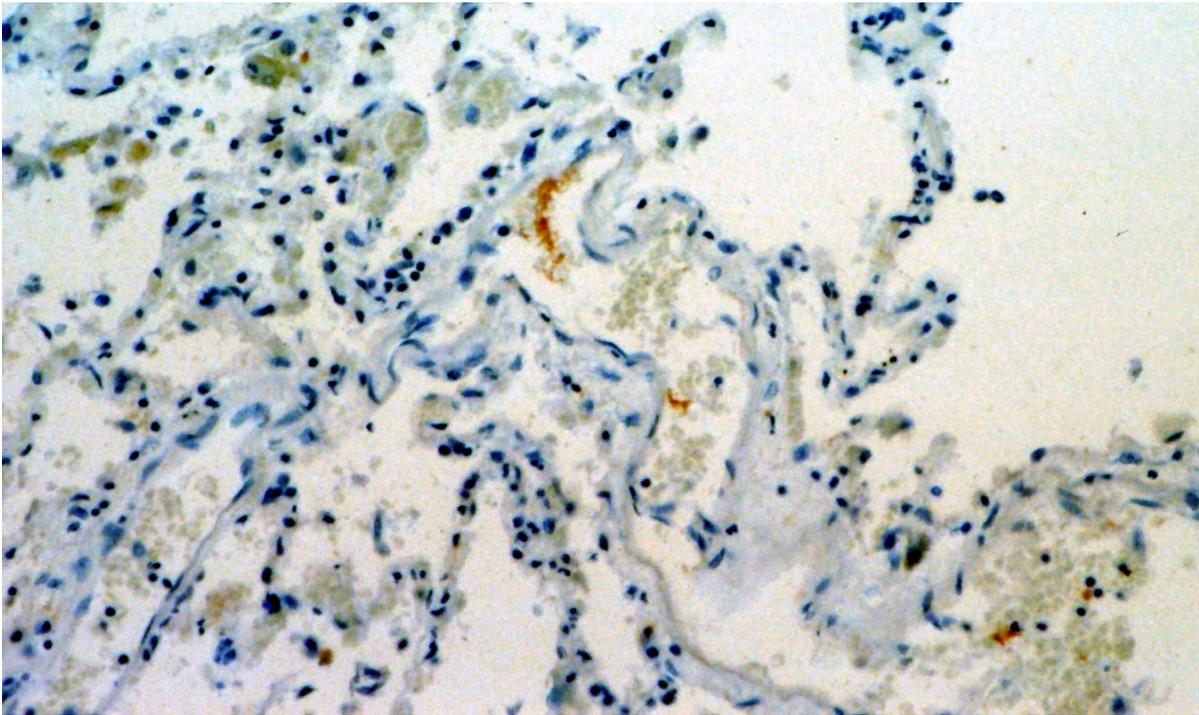


Abbildung 20: Lungengewebe: Nicht-Zellen-assozierte Anfärbung mit Anti-Fibronectin im Kapillarlumen

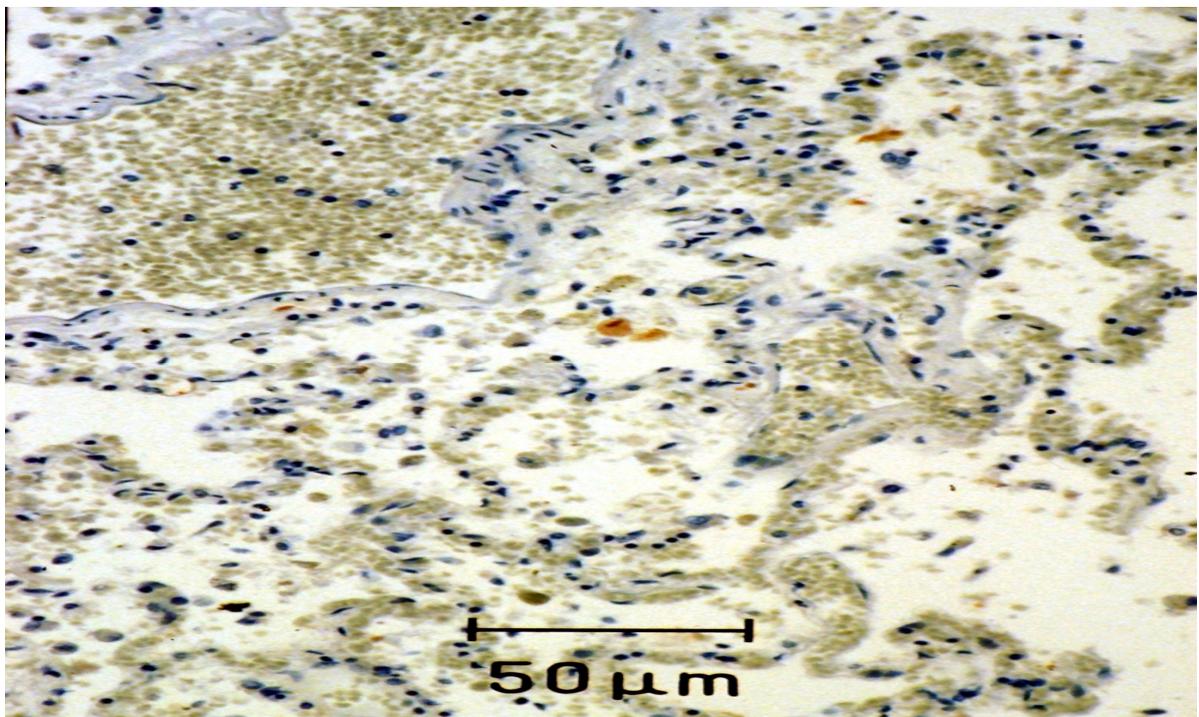


Abbildung 21: Lungengewebe: Alveolarmakrophagen angefärbt mit Anti-Fibronectin

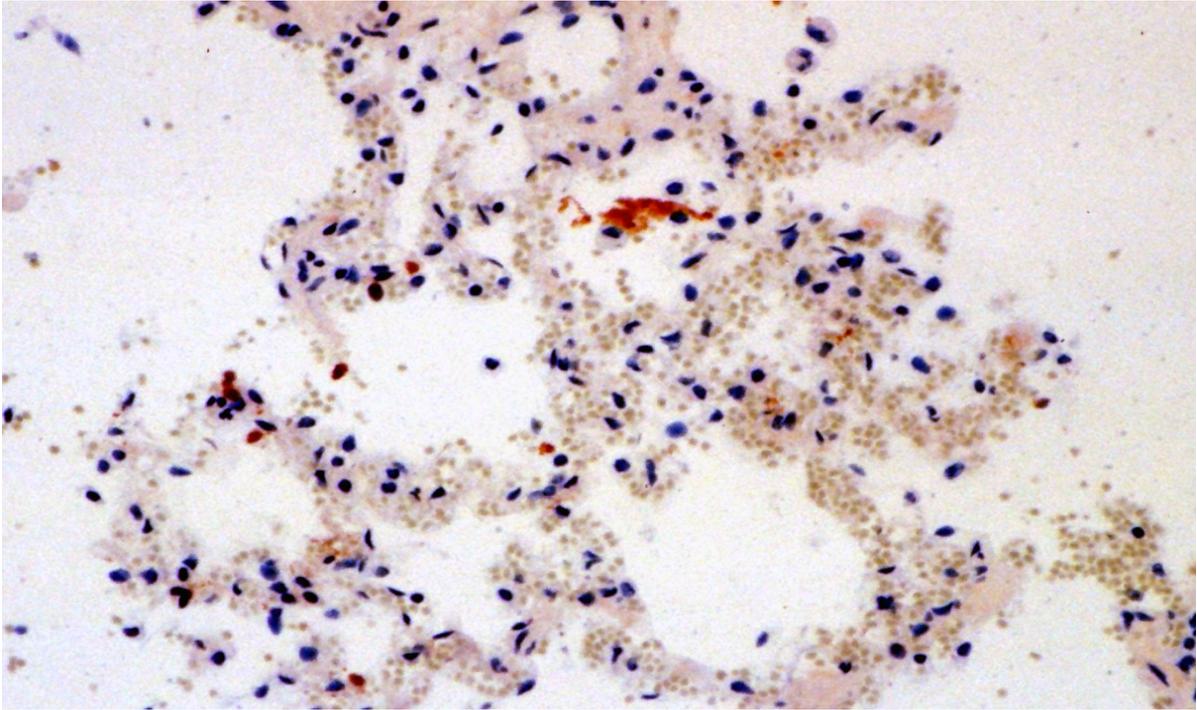


Abbildung 22: Lungengewebe: angefärbte abgeschilferte Alveolarepithelzellen und Alveolarmakrophagen, teilweise auch nicht-zellen-assoziierte Fibronectinfäden im Alveolarlumen

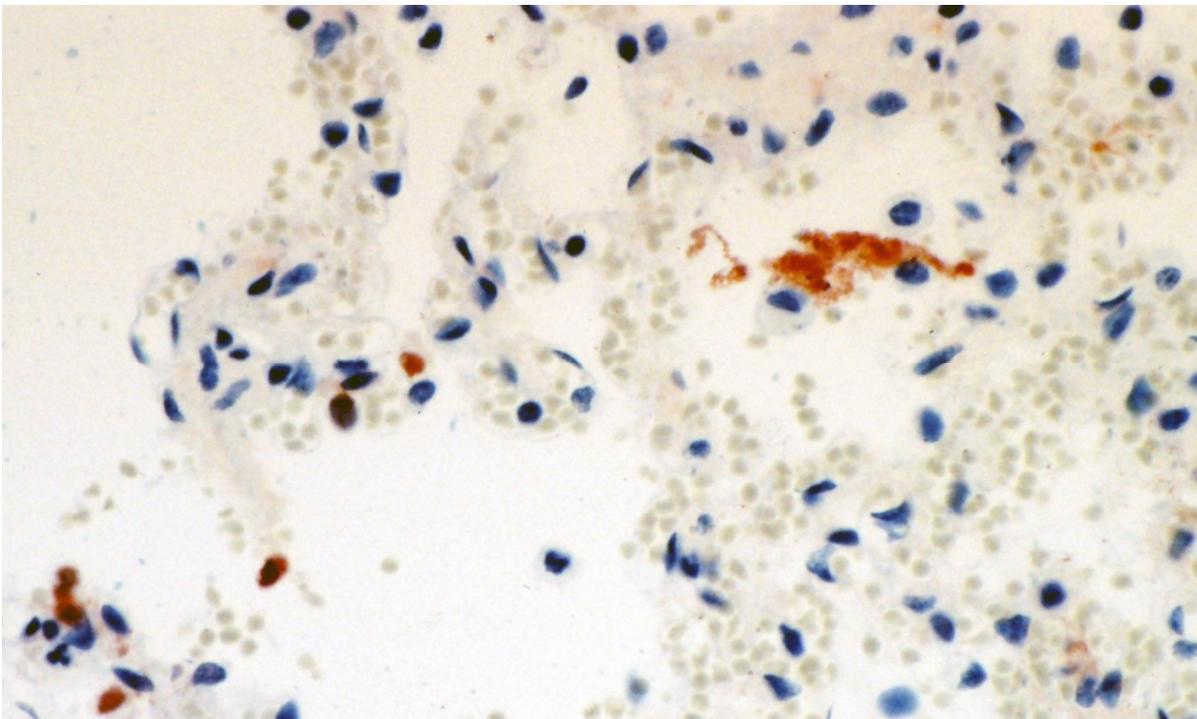


Abbildung 23: Lunge: : angefärbte abgeschilferte Alveolarepithelzellen, teilweise auch nicht-Zellen-assoziierte Fibronectinfäden im Alveolarlumen, und angefärbte Alveolarmakrophagen (Detail)

Anfärbungen mit Fibronektin bei Kontrollfällen

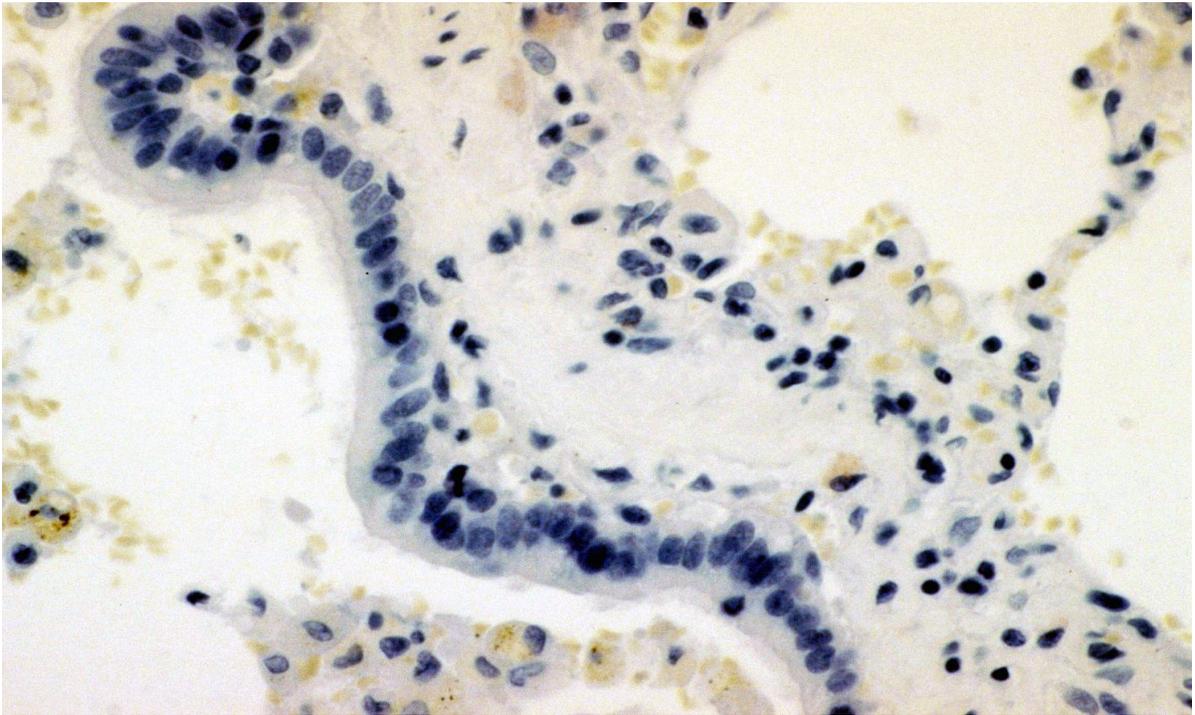


Abbildung 24: Periphere Bronchien: Gut erhaltenes respiratorische Epithel; das umgebende Gewebe und die Makrophagen zeigen keine Anfärbung mit Anti-Fibronektin.

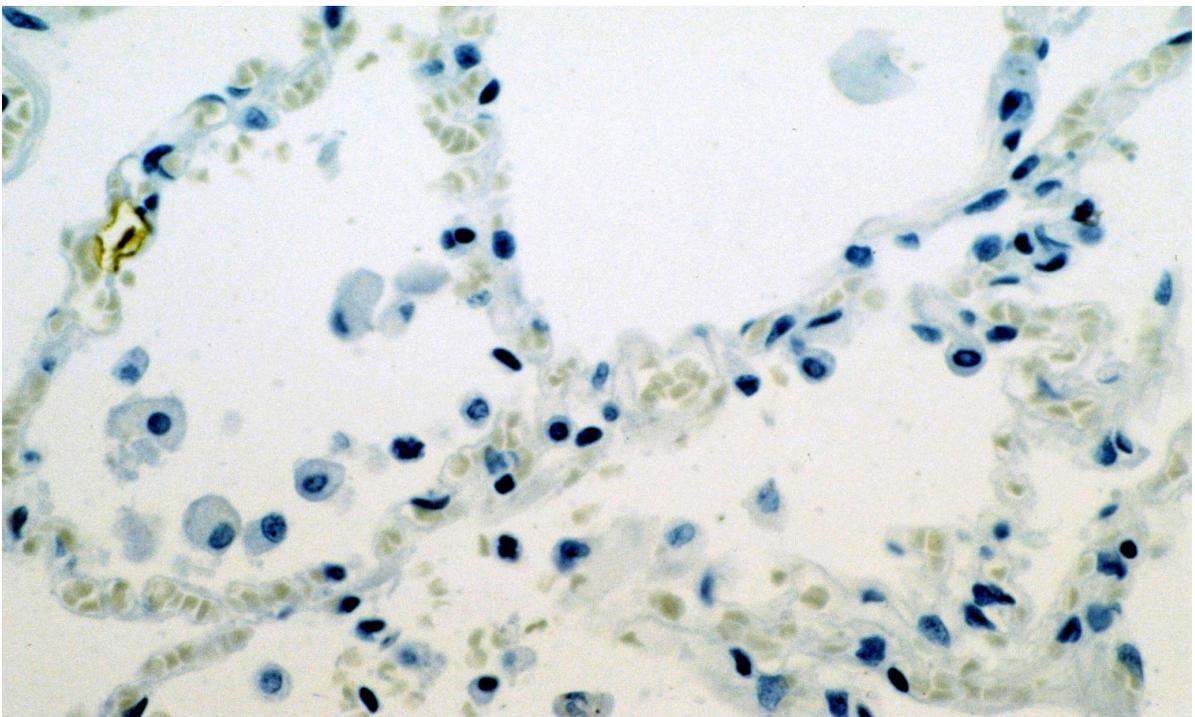


Abbildung 25: Lungengewebe: Alveolarmakrophagen färben sich mit Anti-Fibronektin nicht an. Das Kapillarlumen zeigt keine nicht-Zellen-assoziierte Anfärbung mit Anti-Fibronektin.

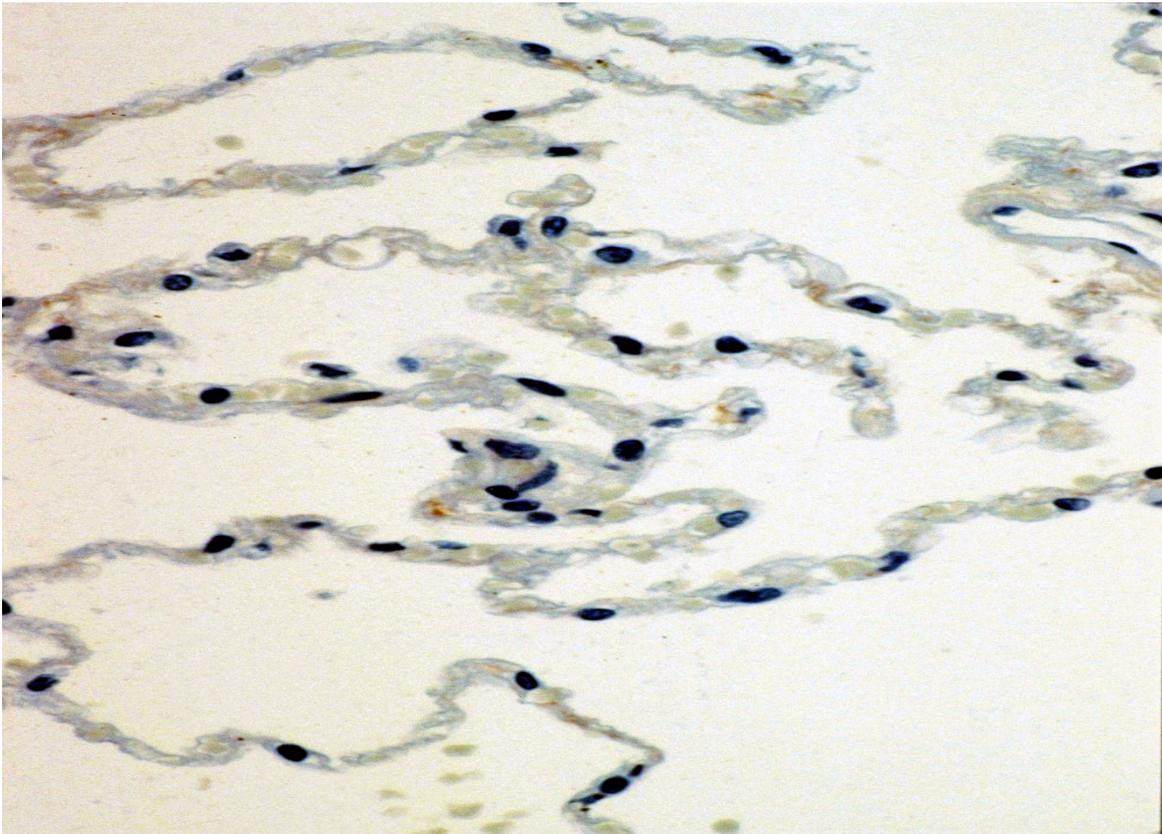


Abbildung 26: Lungengewebe: Alveolarmakrophagen färben sich nur selten mit Anti-Fibronektin an. Das Kapillarlumen zeigt keine nicht-Zellen-assoziierte Anfärbung mit Anti-Fibronektin.

7 ANHANG

7.1 Tabellenanhang

Allgemein-histologische Parameter (Teil I)								
Histologische Ausprägung	Intraalveoläres Ödem				Interstitielles Ödem			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Keine	6	2	9,5	20	7	0	11,1	0
Sehr geringe	8	0	12,7	0	11	2	17,5	20
Geringe	7	0	11,1	0	24	4	38,1	40
Mittelgradige	27	8	42,9	80	21	4	33,3	40
Starke	15	0	23,8	0	0	0	0	0
Auswertbar	63	10	100	100	63	10	100	100

Histologische Ausprägung	Hämorrhagie				Lungenemphysem			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Keine	17	2	26,9	20	1	0	1,6	0
Sehr geringe	12	1	19,1	10	2	2	3,2	20
Geringe	12	3	19,1	30	13	3	57,1	30
Mittelgradige	15	4	23,8	40	36	6	57,1	30
Starke	7	0	11,1	0	11	5	17,5	50
Auswertbar	63	10	100	100	63	10	100	100

Tabelle 18: Allgemein-histologische Parameter im Lungengewebe (Teil I) bei Brandfällen (semiquantitative Auswertung)

Allgemein-histologische Parameter (Teil I)								
Histologische Ausprägung	Intraalveoläres Ödem		Interstitielles Ödem		Hämorrhagie		Lungenemphysem	
	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %	Fallzahl	Prozent %
Keine	3	5,5	12	21,8	5	9,1	0	0
Sehr geringe	4	7,3	9	16,4	8	14,5	2	3,6
Geringe	10	18,2	13	23,6	21	38,2	5	9,1
Mittelgradige	29	52,7	20	36,4	13	23,6	28	50,9
Starke	9	16,4	1	1,8	8	14,6	20	36,4
Auswertbar	55	100	55	100	55	100	55	100

Tabelle 19: Allgemein-histologische Parameter im Lungengewebe (Teil I) bei der Kontrollgruppe

Fibronektin in der Epiglottis								
Histologische Ausprägung	FN im respiratorischen Epithel				FN im Plattenepithel			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal
Keine	9	1	75	33,3	6	1	42,9	25
Sehr geringe	1	2	8,3	66,7	4	1	28,6	25
Geringe	1	0	8,3	0	3	1	21,4	25
Mittelgradige	1	0	8,3	0	1	1	7,1	25
Starke	0	0	0	0	0	0	0	0
Auswertbar	12	3	100	100	14	4	100	100
Nicht beurteilbar	14	2			12	1		
Keine Schnitte	37	5			37	5		

Histologische Ausprägung	FN im Endothel von Blutgefäßen				FN in Tunica media von Blutgefäßen				FN frei im Gefäßlumen			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/ perim.	post-mort.	vital/ perim.	post-mort.	vital/ perim.	post-mort.	vital/ perim.	post-mort.	vital/ perim.	post-mort.	vital/ perim.	post-mort.
Keine	18	3	85,7	75	14	4	66,7	100	14	3	66,7	75
Sehr geringe	1	1	4,8	25	4	0	19	0	3	0	14,3	0
Geringe	0	0	0	0	1	0	4,8	0	1	1	4,8	25
Mittelgradige	2	0	9,5	0	2	0	9,5	0	3	0	14,3	0
Starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Auswertbar	21	4	100	100	21	4	100	100	21	4	100	100
Nicht beurteilbar	5	1			5	1			5	1		
Keine Schnitte	37	5			37	5			37	5		

Histologische Ausprägung	FN in Monozyten in Blutgefäßen				FN in nicht-monozytären Leukozyten in Blutgefäßen				FN frei im umgebenden Gewebe der Epiglottis			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.
Keine	18	3	85,7	75	20	4	95,2	100	1	0	4,8	0
Sehr geringe	2	1	9,5	25	0	0	0	0	4	3	19	75
Geringe	0	0	0	0	1	0	4,8	0	4	1	19	25
Mittelgradige	1	0	4,8	0	0	0	0	0	11	0	52,4	0
Starke	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4,8	0
Auswertbar	21	4	100	100	21	4	100	100	21	4	100	100
Nicht beurteilbar	5	1			5	1			5	1		
Keine Schnitte	37	5			37	5			37	5		

Histologische Ausprägung	FN in Makrophagen				FN in Fibroblasten				FN in Drüsenzellen			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.
Keine	2	0	9,5	0	1	0	4,8	0	19	3	90,5	75
Sehr geringe	0	0	0	0	1	0	4,8	0	1	1	4,8	25
Geringe	2	0	9,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mittelgradige	12	2	57,1	50	9	1	42,9	25	1	0	4,8	0
Starke	5	2	23,8	50	10	3	47,6	75	0	0	0	0
Auswertbar	21	4	100	100	21	4	100	100	21	4	100	100
Nicht beurteilbar	5	1			5	1			5	1		
Keine Schnitte	37	5			37	5			37	5		

Tabelle 20: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in der Epiglottis bei Brandleichen

Fibronektin in der Trachea												
Histologische Ausprägung	FN im respiratorischen Epithel				FN im Endothel von Blutgefäßen				FN in Tunica media von Blutgefäßen			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.
Keine	13	2	61,9	100	27	2	87,1	66,7	26	2	83,9	66,7
Sehr geringe	5	0	23,8	0	4	1	12,9	33,3	4	0	12,9	0
Geringe	3	0	14,3	0	0	0	0	0	0	1	0	33,3
Mittelgradige	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3,2	0
Starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Auswertbar	21	2	100	100	31	3	100	100	31	3	100	100
Nicht beurteilbar	17	4			7	3			7	3		
Keine Schnitte	25	4			25	4			25	4		

Histologische Ausprägung	FN frei im Gefäßlumen				FN in Monozyten in Blutgefäßen				FN in nicht-monozytären Leukozyten in Blutgefäßen			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.
Keine	27	2	87,1	66,7	28	3	90,3	100	30	2	96,7	66,7
Sehr geringe	3	0	9,7	0	3	0	9,7	0	0	1	0	33,3
Geringe	0	1	0	33,3	0	0	0	0	0	0	0	0
Mittelgradige	1	0	3,2	0	0	0	0	0	1	0	3,2	0
Starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Auswertbar	31	3	100	100	31	3	100	100	31	3	100	100
Nicht beurteilbar	7	3			7	3			7	3		
Keine Schnitte	25	4			25	4			25	4		

Histologische Ausprägung	FN frei im umgebenden Gewebe der Trachea				FN in Makrophagen				FN in Fibroblasten			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.
Keine	4	0	12,9	0	3	0	9,7	0	6	0	19,4	0
Sehr geringe	7	2	22,6	66,7	7	0	22,6	0	5	0	16,1	0
Geringe	7	1	22,6	33,3	8	0	25,8	0	9	1	29,0	33,3
Mittelgradige	12	0	38,7	0	10	2	32,3	66,7	8	1	25,8	33,3
Starke	1	0	3,2	0	3	1	9,7	33,3	3	1	9,7	33,3
Auswertbar	31	3	100	100	31	3	100	100	31	3	100	100
Nicht beurteilbar	7	3			7	3			7	3		
Keine Schnitte	25	4			25	4			25	4		

Histologische Ausprägung	FN in Drüsenzellen			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.
Keine	25	2	80,7	66,7
Sehr geringe	2	0	6,5	0
Geringe	1	0	3,2	0
Mittelgradige	1	1	3,2	33,3
Starke	2	0	6,5	0
Auswertbar	31	3	100	100
Nicht beurteilbar	7	3		
Keine Schnitte	25	4		

Tabelle 21: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in der Trachea bei Brandopfern

Fibronectin in den Hauptbronchien												
Histologische Ausprägung	FN im respiratorischen Epithel				FN frei im Gewebe der Hauptbronchien				FN in Fibroblasten			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.
Keine	2	2	18,2	100	0	0	0	0	1	0	5,9	0
Sehr geringe	4	0	36,4	0	11	0	64,7	0	5	0	29,4	0
Geringe	5	0	45,5	0	3	1	17,6	33,3	3	0	17,6	0
Mittelgradige	0	0	0	0	3	2	17,6	66,7	7	3	41,2	100
Starke	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	5,9	0
Auswertbar	11	2	100	100	17	3	100	100	17	3	100	100
Nicht beurteilbar	9	3			3	2			3	2		
Keine Schnitte	43	5			43	5			43	5		

Histologische Ausprägung	FN in Makrophagen				FN in Drüsenzellen			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	postmort.	vital/perim.	postmort.	vital/perim.	postmort.	vital/perim.	postmort.
Keine	3	0	17,6	0	15	2	88,2	66,7
Sehr geringe	6	0	35,3	0	1	0	5,9	0
Geringe	4	0	23,5	0	1	1	5,9	33,3
Mittelgradige	4	3	23,5	100	0	0	0	0
Starke	0	0	0	0	0	0	0	0
Auswertbar	17	3	100	100	17	3	100	100
Nicht beurteilbar	3	2			2	2		
Keine Schnitte	43	5			43	5		

Tabelle 22: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in den Hauptbronchien bei Brandopfer

Fibronectin in peripheren Bronchien								
Histologische Ausprägung	FN im respiratorischen Epithel				FN frei im Gewebe der Bronchien			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perimortal	postmortal	vital/ perim.	post-mort.	vital/ perim.	post-mort.
Keine	21	2	77,8	100	4	2	8,9	25
Sehr geringe	3	0	11,1	0	19	5	42,2	62,5
Geringe	2	0	7,4	0	14	1	31,1	12,5
Mittelgradige	1	0	3,7	0	8	0	17,8	0
Starke	0	0	0	0	0	0	0	0
Auswertbar	27	2	100	100	45	8	100	100
Nicht beurteilbar	34	8			16	2		
Keine Schnitte	2	0			2	0		

Histologische Ausprägung	FN in Fibroblasten				FN in Makrophagen			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/ perim.	postmort.	vital/ perim.	postmort.	vital/ perim.	postmort.	vital/ perim.	postmort.
Keine	4	0	8,9	0	6	1	13,3	12,5
Sehr geringe	11	1	24,4	12,5	11	3	24,4	37,5
Geringe	13	3	28,9	37,5	15	2	33,3	25
Mittelgradige	14	2	31,1	25	10	2	22,2	25
Starke	3	2	6,7	25	3	0	6,7	0
Auswertbar	45	8	100	100	45	8	100	100
Nicht beurteilbar	16	2			16	2		
Keine Schnitte	2	0			2	0		

Tabelle 23: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in den peripheren Bronchien bei Brandopfern

Fibronektin im Lungengewebe												
Histologische Ausprägung	FN in abgeschilfertenzellen				FN in Alveolarepithelzellen				FN in Alveolarmakrophagen			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.
Keine	0	0	0	0	1	0	2,1	0	0	0	0	0
Sehr geringe	3	1	6,25	12,5	7	0	14,6	0	6	0	0	0
Geringe	14	0	29,2	0	16	4	33,3	50	12	4	25	50
Mittelgradige	27	5	56,3	62,5	21	3	43,8	37,5	25	3	52,1	37,5
Starke	4	2	8,3	25	3	1	6,3	12,5	5	1	10,4	12,5
Auswertbar	48	8	100	100	48	8	100	100	48	8	100	100
Nicht beurteilbar	15	2			15	2			15	2		
Keine Schnitte	0	0	0	0	1	0	2,1	0	0	0	0	0

Histologische Ausprägung	FN frei im Alveolarlumen				FN frei im Kapillarlumen				FN frei in Alveolarsepten			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	postmort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	postmort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.
Keine	2	1	4,2	12,5	20	6	41,7	75	4	0	8,3	0
Sehr geringe	17	3	35,4	37,5	16	2	33,3	25	16	2	33,3	25
Geringe	23	2	47,9	25	11	0	22,9	0	12	4	25	50
Mittelgradige	3	1	6,3	12,5	1	0	2,1	0	15	2	31,3	25
Starke	3	1	6,3	12,5	0	0	0	0	1	0	2,1	0
Auswertbar	48	8	100	100	48	8	100	100	48	8	100	100
Nicht beurteilbar	15	2			15	2			15	2		
Keine Schnitte	2	1	4,2	12,5	20	6	41,7	75	4	0	8,3	0

Tabelle 24: Häufigkeit der Expression von Fibronektin im Lungengewebe bei Brandopfern

Fibronectin in großen Gefäßen des Lungengewebes												
Histologische Ausprägung	FN im Endothel großer Lungengefäßen				FN in Tunica media großer Lungengefäße				FN frei im Lumen großer Lungengefäße			
	Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %		Anzahl d. Fälle		Prozent %	
	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.	vital/perim.	post-mort.
Keine	20	4	41,7	50	6	0	12,5	0	18	0	37,5	0
Sehr geringe	12	1	25	12,5	15	2	31,3	25	18	2	37,5	25
Geringe	6	0	12,5	0	18	4	37,5	50	7	4	14,6	50
Mittelgradige	10	2	20,8	25	9	2	18,8	25	5	2	10,4	25
Starke	0	1	0	12,5	0	0	0	0	0	0	0	0
Auswertbar	48	8	100	100	48	8	100	100	48	8	100	100
Nicht beurteilbar	15	2			15	2			15	2		
Keine Schnitte	20	4	41,7	50	6	0	12,5	0	18	0	37,5	0

Histologische Ausprägung	FN in Monozyten im Gefäßlumen				FN in nicht-monozytären Leukozyten im Gefäßlumen			
	Anzahl der Fälle		Prozent %		Anzahl der Fälle		Prozent %	
	vital/perimortal	postmortal	vital/perimortal	postmortal	vital/perimortal	postmortal	vital/perimortal	postmortal
Keine	26	2	54,2	25	34	6	70,8	75
Sehr geringe	13	4	27,1	50	10	1	20,8	12,5
Geringe	7	2	14,6	25	3	1	6,3	12,5
Mittelgradige	2	0	4,2	0	1	0	2,1	0
Starke	0	0	0	0	0	0	0	0
Auswertbar	48	8	100	100	48	8	100	100
Nicht beurteilbar	15	2			15	2		
Keine Schnitte	26	2	54,2	25	34	6	70,8	75

Tabelle 25: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in großen Gefäßen des Lungengewebes bei Brandopfern

Fibronectin in peripheren Bronchien				
Histologische Ausprägung	FN im respiratorischen Epithel		FN frei im umgebenden Gewebe peripherer Bronchien	
	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %
Keine	22	100	15	34,9
Sehr geringe	0	0	18	41,9
Geringe	0	0	8	18,6
Mittelgradige	0	0	2	4,7
Starke	0	0	0	0
Auswertbar	22	100	43	100
Nicht beurteilbar	33		12	

Histologische Ausprägung	FN in Fibroblasten		FN in Makrophagen	
	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %
Keine	11	25,6	15	34,9
Sehr geringe	8	18,6	9	20,9
Geringe	14	32,6	14	32,6
Mittelgradige	7	16,3	3	7
Starke	3	7	2	4,7
Auswertbar	43	100	43	100
Nicht beurteilbar	12		12	

Tabelle 26: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in peripheren Bronchien von Kontrollfällen

Fibronektin im Lungengewebe						
Histologische Ausprägung	FN in abgeschilferten Zellen		FN im Alveolarlumen		FN in Alveolarepithelzellen	
	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %
Keine	0	0	8	14,5	0	0
Sehr geringe	3	5,5	21	38,2	7	12,7
Geringe	10	18,2	15	27,3	18	32,7
Mittelgradige	33	60	4	7,3	26	47,3
Starke	9	16,4	7	12,7	4	7,3
Auswertbar	55	100	55	100	55	100

Histologische Ausprägung	FN in Alveolarmakrophagen		FN frei in Alveolarsepten		FN frei im Kapillarlumen	
	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %
Keine	8	14,5	5	9,1	40	72,7
Sehr geringe	24	43,6	16	29,1	9	16,4
Geringe	18	32,7	19	34,5	3	5,5
Mittelgradige	5	9,1	14	25,5	3	5,5
Starke	0	0	1	1,8	0	0
Auswertbar	55	100	55	100	55	100

Tabelle 27: Häufigkeit der Expression von Fibronektin im Lungengewebe von Kontrollfällen

Fibronectin in großen Gefäßen des Lungengewebes						
Histologische Ausprägung	FN im Endothel großer Lungengefäßen		FN in Tunica media großer Lungengefäße		FN frei im Lumen großer Lungengefäße	
	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %
Keine	26	47,3	7	12,7	29	52,7
Sehr geringe	14	25,5	19	34,5	14	25,5
Geringe	5	9,1	20	36,4	4	7,3
Mittelgradige	9	16,4	9	16,4	7	12,7
Starke	1	1,8	0	0	1	1,8
Auswertbar	55	100	55	100	55	100

Histologische Ausprägung	FN in Monozyten im Lumen großer Lungengefäße		FN in nicht-monozytären Leukozyten im Lumen großer Lungengefäße	
	Anzahl der Fälle	Prozent %	Anzahl der Fälle	Prozent %
Keine	39	70,9	47	85,5
Sehr geringe	8	14,5	7	12,7
Geringe	6	10,9	1	1,8
Mittelgradige	2	3,6	0	0
Starke	0	0	0	0
Auswertbar	55	100	55	100

Tabelle 28: Häufigkeit der Expression von Fibronectin in großen Lungengefäßen bei Kontrollfällen

7.2 Färbeprotokoll: Immunhistochemischer Nachweis von Fibronectin

<u>Gewebe:</u>	Schnitte von Epiglottis, Trachea, Hauptbronchus, periphere Bronchien, Lungengewebe
<u>Fixativ:</u>	Formalin
<u>Einbettung:</u>	Paraffin
<u>Schnittdicke:</u>	3 µm
<u>Entparaffinieren:</u>	1h bei 70°C

1. Entparaffinieren:

<u>Alkohol</u>		<u>Xylol</u>
100% EtOH	100% EtOH	Wanne 3
96% EtOH	96% EtOH	Wanne 2
70% EtOH	70% EtOH	Wanne 1

Zuerst Xylolbäder: Wanne 1 bis 3 je 5 min.

Anschließend Alkoholbäder je 2 min. in absteigender Alkoholreihe

In neuem Behälter: **AD** (1 mal, 5 min.)

2. **Vorbehandlung Wasserstoffperoxid (H₂O₂) – 18 min.**

(200 ml PBS-Puffer, 300µl H₂O₂)

anschließend auf Schüttler

3. **PBS-Puffer** (3 mal jew. 5 min.)

Objektträger auf Coverplates mit PBS- Tropfen aufziehen

4. **Vorinkubation NHS** (normal horse serum) 60 min.

(2,5 ml PBS, 25 µl NHS = 1Tropfen)

Danach nicht spülen!!!

5. **Primärer AK: Fibronectin (Dako®, Rabbit Anti-Human, Fibronectin, Code No. A 0245, Lot No. 097) pro Schnitt 200µl**

Ansetzen des Verdünnungsmediums:

	1 Schnitt	22 Schnitte
PBS	199,8 µl	4399,56 µl
BSA	0,002g=2mg	0,044g
NaN₃ 5%	0,2 µl	0,44 µl

Menge primärer AK:

Verdünnungsmedium x AK Verdünnung = 4400µl x (1:400) = **11µl**

oder 4400µl x (1:800) = **5,5µl**

250µl = 5 Tropfen pro Schnitt

In Alufolie verpacken und mind. *3h* warten **oder** bei Hinzufügen von NaN₃ 5% *über Nacht* bei 4°C

6. Mit **PBS** in der Halterung 3 mal spülen (jeweils 5 min.; pH 7,2)
Nach dem 3. Mal abklopfen

7. **Sekundärer AK** mind. *25 min. bis 1 h* (pro Schnitt 250µl = 5 Tropfen)
(**5,0 ml** PBS + **1 Tropfen** NHS + **2 Tropfen** Sek. AK + **0,05g** BSA (Bovines Serumalbumin))
bei RT mit Alu abgedeckt
danach **ABC- Reagenz herstellen** (mind. 30 min. vor Gebrauch)
(**5,0 ml** PBS + **2 Tropfen** Reagenz A + **2 Tropfen** Reagenz B) nie NaN₃!!!

8. **PBS** (3 mal *jeweils 5 min.*), anschließend abklopfen

9. **ABC** (*45 min.*, jeweils 250µl = 5 Tropfen)

AEC Substratlösung herstellen (siehe unten)

Herstellen des Acetatpuffers: (0,1 M; pH 5,2)

Stammlösung 1: **8,2g** Na-Acetat auf **500ml** AD

Stammlösung 2: **250ml** AD + **3ml** 99,8% Essigsäure

Acetatpuffer: **150ml** Lösung 1 + **40ml** + **~7000µl** (bis pH bei 5,2 ist) Lösung 2

Endmenge auf 150ml reduzieren!

Herstellen der AEC Substratlösung:

DMSO (**2700µl**) + Triton (**300µl**) = 3 ml, also im Verhältnis 10:1 = 9+1Teil

mit **0,06g** AEC mischen- **ABZUG!!**

dann in **150ml** Acetatpuffer

kurz vorher 15µl H₂O₂

10. Präparate aus Coverplates in Wanne zurück

PBS (3mal *jeweils 3 min.*)

11. AEC Färbung in der Wanne (*7 min.*)

12. kurz **PBS**

13. AD (3mal *jeweils 3 min.*)

14. Hämalaun *2-3min.*

15. AD (2 bis 3 mal)

16. Bläuen in Leitungswasser (*7 min.*)

17. AD

18. Eindeckeln mit Aquatex®

7.3 Variablenliste

Var.- Nr.	Variablenbezeichnung		
1	Fallnummer		
2	Geschlecht:	1 = männlich	2 = weiblich
3	Alter in Jahren zum Zeitpunkt des Todes		
4	Brandeinwirkung:	1 = vital	2 = perimortal
		3 = postmortal	4 = unbekannt
		5 = keine	
5	Todesart	1 = Unfall	2 = Tötungsdelikt
		3 = Suizid	4 = natürlicher Tod
		5 = unklar	
6	Todesursache Brand: siehe Schlüssel 1		
7	Brandort:	1 = Fahrzeug	2 = Gebäude
		3 = im Freien	4 = unbekannt
8	Überlebenszeit nach vitaler Verbrennung	1 = Minuten	2 = Stunden
		3 = Tage	4 = keine
		5 = unbekannt	
9	Brandbeschleuniger:	1 = ja	2 = nein
		3 = unbekannt	
10	Gewicht der rechten Lunge in Gramm zum Zeitpunkt des Todes		
11	Gewicht der linken Lunge in Gramm zum Zeitpunkt des Todes		

Epiglottis

12	Zustand des respiratorischen Epithels der Epiglottis:	
	1 = normal	2 = blasig abgehoben
	3 = zerfetzt	4 = nicht beurteilbar
13	Vorhandensein von Pseudobecherzellen im respiratorischen Epithel der Epiglottis	Schlüssel 2
14	Kernelongation und Palisadenstellung im respiratorischen Epithel der Epiglottis	Schlüssel 2
15	Russablagerungen auf dem respiratorischen Epithel der Epiglottis	Schlüssel 2

16	Schleimsekretion ins Lumen der Epiglottis	Schlüssel 2
17	Erhalt des mehrschichtigen unverhornten Plattenepithels der Epiglottis	Schlüssel 2
	Expression von Fibronektin in Strukturen der Epiglottis	
18	FN-Expression im respiratorischen Epithel der Epiglottis	Schlüssel 3
19	FN-Expression im Plattenepithel der Epiglottis	Schlüssel 3
20	FN-Expression im Endothel der Blutgefäße (Epiglottis)	Schlüssel 3
21	FN-Expression in Tunica media der Blutgefäße (Epiglottis)	Schlüssel 3
22	Nicht-Zellen-assoziierte FN-Expression im Lumen von Blutgefäßen der Epiglottis	Schlüssel 3
23	FN-Expression in Monocyten (Blutgefäß) der Epiglottis	Schlüssel 3
24	FN-Expression in nicht-monozytären Leukozyten (Blutgefäß) der Epiglottis	Schlüssel 3
25	Nicht-Zellen-assoziierte FN-Expression im Gewebe der Epiglottis	Schlüssel 3
26	FN-Expression in Makrophagen (Gewebe der Epiglottis)	Schlüssel 3
27	FN-Expression in Fibroblasten (Gewebe der Epiglottis)	Schlüssel 3
28	FN-Expression in Drüsenzellen der Epiglottis	Schlüssel 3

Trachea

29	Zustand des respiratorischen Epithels der Trachea 1 = normal 2 = blasig abgehoben 3 = zerfetzt 4 = nicht beurteilbar	
30	Vorhandensein von Pseudobecherzellen im respiratorischen Epithel der Trachea	Schlüssel 2
31	Kernelongation und Palisadenstellung im respiratorischen Epithel der Trachea	Schlüssel 2
32	Rußablagerungen auf dem respiratorischen Epithel der Trachea	Schlüssel 2
33	Schleimsekretion ins Lumen der Trachea	Schlüssel 2
	Fibronektin-Expression in Strukturen der Trachea	
34	FN-Expression im respiratorischen Epithel der Trachea	Schlüssel 3
35	FN-Expression im Endothel der Blutgefäße (Trachea)	Schlüssel 3
36	FN-Expression in Tunica media der Blutgefäße (Trachea)	Schlüssel 3
37	Nicht-Zellen-assoziierte FN-Expression im Lumen von Blutgefäßen der Trachea	Schlüssel 3

38	FN-Expression in Monozyten (Blutgefäß) der Epiglottis	Schlüssel 3
39	FN-Expression in nicht-monozytären Leukos (Blutgefäß) der Trachea	Schlüssel 3
40	Nicht-Zellen-assoziierte FN-Expression im umgebenden Gewebe der Trachea	Schlüssel 3
41	FN-Expression in Makrophagen der Trachea	Schlüssel 3
42	FN-Expression in Fibroblasten der Trachea	Schlüssel 3
43	FN-Expression in Drüsenzellen der Trachea	Schlüssel 3

Hauptbronchus

44	Zustand des respiratorischen Epithels des Hauptbronchus 1 = normal 2 = blasig abgehoben 3 = zerfetzt 4 = nicht beurteilbar	
45	Vorhandensein von Pseudobecherzellen im respiratorischen Epithel des Hauptbronchus	Schlüssel 2
46	Kernelongation und Palisadenstellung im respiratorischen Epithel des Hauptbronchus	Schlüssel 2
47	Rußablagerungen auf dem respiratorischen Epithel des Hauptbronchus	Schlüssel 2
48	Schleimsekretion ins Lumen des Hauptbronchus	Schlüssel 2

periphere Bronchien

49	Zustand des respiratorischen Epithels der Bronchien 1 = normal 2 = blasig abgehoben 3 = zerfetzt 4 = nicht beurteilbar	
50	Vorhandensein von Pseudobecherzellen im respiratorischen Epithel peripherer Bronchien	Schlüssel 2
51	Kernelongation und Palisadenstellung im respiratorischen Epithel peripherer Bronchien	Schlüssel 2
52	Rußablagerungen auf dem respiratorischen Epithel peripherer Bronchien	Schlüssel 2
53	Schleimsekretion ins Lumen peripherer Bronchien	Schlüssel 2

Lungengewebe

54	Intraalveoläres Ödem im Lungengewebe	Schlüssel 3
55	Interstitielles Ödem im Lungengewebe	Schlüssel 3
56	Hämorrhagie im Lungengewebe	Schlüssel 3
57	Emphysem des Lungengewebes	Schlüssel 3
58	Abschilferung der Alveozyten	Schlüssel 2
59	Hyperämie in Kapillaren der Alveolarwand	Schlüssel 2
60	Rußablagerung an den Alveolarwänden	Schlüssel 2

Fibronektin-Expression in Strukturen der Hauptbronchien

61	FN-Expression im respiratorischen Epithel des Hauptbronchus	Schlüssel 3
62	Nicht-Zellen-assoziierte FN-Expression im umgebenden Gewebe des Hauptbronchus	Schlüssel 3
63	FN-Expression in Fibroblasten des Hauptbronchus	Schlüssel 3
64	FN-Expression in Makrophagen des Hauptbronchus	Schlüssel 3
65	FN-Expression in Drüsenzellen des Hauptbronchus	Schlüssel 3

Fibronektin-Expression in Strukturen peripherer Bronchien

66	FN-Expression im respiratorischen. Epithel peripherer. Bronchien	Schlüssel 3
67	Nicht-Zellen-assoziierte FN-Expression im umgebenden Gewebe peripherer Bronchien	Schlüssel 3
68	FN-Expression in Fibroblasten peripherer Bronchien	Schlüssel 3
69	FN-Expression in Makrophagen peripherer Bronchien	Schlüssel 3

Fibronektin-Expression in Strukturen des Lungengewebes

70	FN-Expression in abgeschilferten Zellen (Alveozyten)	Schlüssel 3
71	FN-Expression in Alveolarepithelzellen	Schlüssel 3
72	FN-Expression in Alveolarmakrophagen	Schlüssel 3
73	Nicht-Zellen-assoziierte FN-Expression in Alveolarlumen	Schlüssel 3
74	Nicht-Zellen-assoziierte FN-Expression in Alveolarsepten	Schlüssel 3
75	Nicht-Zellen-assoziierte FN-Expression im Kapillarlumen	Schlüssel 3

Fibronektin-Expression in großen Lungengefäßen

76	FN-Expression im Endothel der Blutgefäße	Schlüssel 3
77	FN-Expression in Tunica media der Blutgefäße	Schlüssel 3
78	Nicht-Zellen-assoziierte FN-Expression in Lumen großer Lungengefäße	Schlüssel 3
79	FN-Expression in Monozyten großer Lungengefäße	Schlüssel 3
80	FN-Expression in nicht-monozytären Leukozyten großer Lungengefäße	Schlüssel 3

8 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Alitalo K, Hovi T, Vaheri A (1980) *Fibronectin is produced by human macrophages.* J Exp Med **147**: 1779-1791.
- [2] Basadre JO, Sugi K, Traber DL, Traber LD, Niehaus G, Herndon DN (1988) *The effect of leukocyte depletion on smoke inhalation injury in sheep.* Surgery (St.Louise) **104**: 208-215.
- [3] Berg S, Schuhmann W (1985) *Die Differentialdiagnose vitaler und postmortaler Vorgänge bei Brandleichen.* Arch Kriminol **175**: 65-75.
- [4] Betz P, Nerlich A, Trübel I, Penning R, Eisenmenger W (1992) *Immunohistochemical localization of fibronectin as a tool for the age determination of human skin wounds.* Int J Leg Med **105**: 21-26.
- [5] Betz P, Nerlich A, Wilske J, Tübel J, Penning R, Eisenmenger W (1993) *The immunohistochemical analysis of fibronectin, collagen type III, laminin und cytokeratin 5 in putrified skin.* Forensic Sci Int **61**: 35-42.
- [6] Betz P, Nerlich A, Wilske E, Tübel J, Penning R, Eisenmenger W (1993) *The immunohistochemical localization of alpha-antichymotrypsin and fibronectin and its meaning for the determination of the vitality of human skin wounds.* Int J Leg Med **105**: 223-227.
- [7] Bittermann PB, Wewers M, Rennard SI, Adelberg S, Crystal RG (1986) *Modulation of Alveolar Macrophage-driven Fibroblast Proliferation by Alternative Macrophage Mediators.* J Clin Invest **77**: 700-708.
- [8] Blumenstock FA, La Celle P, Herrmannsdoerfer A, Giunta C, Minnear FL, Cho E, Saba TM (1993) *Hepatic removal of 125I-DLT gelatin after burn injury: a model of soluble collagenous debris that interacts with plasma fibronectin.* J Leukoc Biol **54**(1): 56-64.

- [9] Bohnert M, Werner CR, Pollak S (2003) *Problems associated with the diagnosis of vitality in burned bodies*. Forensic Sci Int **135**: 197-205.
- [10] Boyd E (1962) *Growth, Including Reproduction and Morphological Development*. In: Altmann D (ed) Biological Handbooks. 1st edn. Federation of American Society for Experimental Biology, Washington DC, pp 486.
- [11] Brinkmann B, Kleiber M, Koops E, Püschel K (1979) *Vitale Reaktionen bei akutem Verbrühungstod*. Z Rechtsmedizin **83**: 1-16.
- [12] Bschor F (1965) *Befunde bei Brandleichen und deren Bewertung*. Arch Kriminol **136**: 30-38, 93-105.
- [13] Clark RAF, Dellapella P, Manseau E, Lanigan JM, Dvorak HF, Colvin RB (1982) *Blood vessel fibronectin increases in conjunction with endothelial cell proliferation and capillary ingrowth during wound healing*. J Invest Dermatol **79**: 221-229.
- [14] Davison P, Karasek M (1980) *Serial cultivation of human dermal vessel endothelium: role of serum and fibronectin*. Clin Res **28**: 566a.
- [15] Deno DC, McCafferty MH, Saba TM, Blumenstock FA (1984) *Mechanism of Acute Depletion of Plasma Fibronectin Following Thermal Injury in Rats*. J Clin Invest **73**: 20-34.
- [16] Emmerich B, Huber R, Lehnert P (2002) *Lungenödem*. In: Innere Medizin Pur. 3rd edn. Börm Bruckmeier Verlag, pp 112.
- [17] Fechner G, Bajanowski T, Sepulchre MA, Brinkmann B (1992) *Immunohistochemical alterations after muscle trauma*. Int J Leg Med **105**: 203-207.
- [18] Foerster A (1932) *Über Veränderungen der Luftröhrenschleimhaut bei Verbrannten*. Dtsch Z ges Gerichtl Med **19**: 293-301.
- [19] Foerster A (1933) *Experimentelle Untersuchungen über Veränderungen an den Atmungsorganen bei plötzlicher Einwirkung hoher Temperaturen*. Dtsch Z ges Gerichtl Med **20**: 445-461.

- [20] Foerster A (1933) *Vitale Reaktion und die elastische Längsfaser des Bronchus*. Dtsch Z ges Gerichtl Med **21**: 158-163.
- [21] Foerster A (1934) *Mikroskopische Untersuchungen über das Verhalten der Alveolen bei Verbrannten*. Dtsch Z ges Gerichtl Med **23**: 281-288.
- [22] Gerling I, Meissner C, Reiter A, Oehmichen M (2000) *Death from thermal effects and burns*. Forensic Sci Int **115**: 33-41.
- [23] Goldbach HJ (1956) *Gibt es vitale Reaktionen der Lunge nach Heißluftatmung?* Dtsch Z ges Gerichtl Med **45**: 394-400.
- [24] Gormsen H, Jeppesen N, Lund A (1984) *The causes of death in fire victims*. Forensic Sci Int **24**: 107-111.
- [25] Grinnell F, Feld M, Minter D (1980) *Fibroblast adhesion to fibrinogen and fibrin substrata: requirement for cold-insoluble globulin (plasma fibronectin)*. Cell **19**: 517-525.
- [26] Grinnell F, Billingham RE, Burgess L (1981) *Distribution of fibronectin during wound healing in vivo*. J Invest Dermatol **76**: 181-189.
- [27] Grossmann JE, Demling RH, Duy ND, Mosher DF (1980) *Response of plasma fibronectin to major body burn*. J Trauma **20**: 967-70.
- [28] Herard AL, Pierrot D, Hinnrasky J, Kaplan H, Sheppard D, Puchelle E, Zahm JM (1996) *Fibronectin and its alpha 5 beta 1-integrin receptor are involved in the wound-repair process of airway epithelium*. Am J Physiol **271**: 726-733.
- [29] Herndon DN (2002) *The pathophysiology of inhalation injury*. In: Traber DL, Herndon DN, Soejima K (eds) Total burn care. 2nd edn. Saunders, London, pp 221-231.
- [30] Herndon DN, Traber DL, Niehaus GD, Linares HA, Traber LD (1984) *The pathophysiology of smoke inhalation injury in a sheep model*. J Trauma **24**: 1044-1051.
- [31] Hill I (1989) *Inhalational injury in fires*. Med Sci Law **29**: 91-99.

- [32] Hörmann H (1982) *Fibronectin-mediator between cells und connective tissue*. *Klin Wochenschr* **60**: 1265-1277.
- [33] Jaffee EA, Mosher DF (1978) *Synthesis of fibronectin by cultured human endothelial cells*. *J Exp Med* **147**: 1779-1791.
- [34] Janssen W (1984) *Schädigungen durch Hitze und Kälte*. In: Janssen W (ed) *Forensische Histologie*. Schmidt-Römhild, Lübeck, pp 270-297.
- [35] Janssen W (1984) *Injuries caused by heat and cold*. In: *Forensic histopathology*. Springer, Berlin, pp 234-260.
- [36] Jilek F, Hörmann H (1979) *Fibronectin (cold insoluble globulin) IV. Influence of heparin and hyaluronic acid on the binding of native collagen*. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* **360**: 597-603.
- [37] Kradin RL, Zhu Y, Hales CA, Bianco C, Colvin RB (1986) *Response of pulmonary macrophages to hyperoxid pulmonary injury. Acquisition of surface fibronectin and fibrinogen and enhanced expression of a fibronectin receptor*. *Am J Pathol* **125**: 349-357.
- [38] Kurkinen M, Vaheri A, Roberts P, Steinmann S (1980) *Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue*. *Lab Invest* **43**: 47-57.
- [39] La Celle P, Blumenstock FA, Saba TM (1991) *Blood-borne fragments of fibronectin after thermal injury*. *Blood* **77**: 2037-2041.
- [40] La Celle P, Blumenstock FA, McKinley C, Saba TM, Vincent P, Gray V (1990) *Blood-borne collagenous debris complexes with plasma fibronectin after thermal injury*. *Blood* **75**: 470-478.
- [41] Lanser ME, Saba TM (1981) *Neutrophil-mediated lung localization of bacteria: a mechanism for pulmonary injury*. *Surgery* **90**: 473-81.
- [42] Litvinov RI, Zinkevich OD, Zubairova LD (1983) *Fibronectin receptor on the surface of alveolar macrophages*. *Tsitologiya* **25**: 1185-1190.

- [43] Löffler G, Petrides P (1997) *Adhäsive Glykoproteine*. In: Biochemie und Pathobiochemie. 5th edn. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp 747.
- [44] Löffler G, Petrides P (1997) *Blutstillung*. In: Biochemie und Pathobiochemie. 5th edn. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp 920-921.
- [45] Loick HM, Traber LD, Stothert JC, Herndon DN, Traber DL (1995) *Smoke inhalation causes a delayed increase in airway blood flow to primarily uninjured lung areas*. Intensive Care Med **21**: 326-333.
- [46] Madea B, Schmidt P (2000) *Vitale - supravitale - postmortale Befunde bei Verbrennungen*. In: Oehmichen M (ed) Hyperthermie, Brand und Kohlenmonoxid. Schmidt-Römhild, Lübeck, pp 305-340.
- [47] Marschall S, Rothschild MA, Bohnert M (2006) *Expression of heat-shock protein 70 (HSP 70) in the respiratory tract and lungs of fire victims*. Int J Leg Med **120**: 355-359.
- [48] Maxeiner H (1988) *Umstände und Befunde bei 202 Brandtodesfällen*. Beitr Gerichtl Med **46**: 313-325.
- [49] Moriguchi H, Ozaki T, Yasuoka S, Ogura T (1989) *Production of fibronectin and PGE2 by cultured human alveolar macrophages*. Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi **27**: 1322-1329.
- [50] Moritz A, Henriques F, Mc Lean R (1945) *The effects of inhaled heat on the air passages and lungs*. Am J Pathol **21**: 311-331.
- [51] Mosesson M, Umfleet R (1970) *The cold-insoluble globulin of human plasma. I. Purification, primary characterization, and relationship to fibrinogen and other cold-insoluble fraction components*. J Biol Chem **245**: 5728-5736.
- [52] Mosher D (1980) *Fibronectin*. Prog. Hemostasis Thromb. **5**: 111-151.

- [53] Niewiarowski ST, Regoezi E, Mustard JF (1972) *Adhesion of fibroblasts to polymerizing fibrin and retraction of fibrin induced by fibroblasts*. Proc Soc Exp Biol Med **140**: 199-204.
- [54] Pendino K, Shuler R, Laskin J, Laskin D (1994) *Enhances production of interleukin-1, tumor necrosis factor-alpha, and fibronectin by rat lung phagocytes following inhalation of a pulmonary irritant*. Am J Respir Cell Mol Biol **11**: 279-286.
- [55] Plassart F, Cynober L, Baudin B, Lioret N, Beneteau-Burnat B, Nolland X, Saizy R, Giboudeau J (1994) *Plasma fibronectin and angiotensin-converting enzyme: markers of primary pulmonary injury in burns patients*. Clin Chim Acta **227**: 135-144.
- [56] Rennard SI, Hunninghake GW, Bittermann PB, Crystal RG (1981) *Production of fibronectin by the human alveolar macrophage: mechanism for the recruitment of fibroblast to sites injury in interstitial lung diseases*. Proc Natl Acad Sci USA **78**: 7147-7151.
- [57] Renz-Polster H, Braun J (2000) *Schocklunge (ARDS)*. In: Basislehrbuch Innere Medizin. 2nd edn. Urban&Fischer, München, Jena, pp 471-473.
- [58] Renz-Polster H, Braun J (2000) *Leitsymptome und -befunde*. In: Basislehrbuch Innere Medizin. 2nd edn. Urban&Fischer, München, Jena, pp 407-408.
- [59] Renz-Polster H, Braun J (2000) *Lungenemphysem*. In: Basislehrbuch Innere Medizin. 2nd edn. Urban&Fischer, München, Jena, pp 426-427.
- [60] Repesh L, Fitzgerald T, Furcht L (1982) *Fibronectin involvement in granulation tissue and wound healing in rabbits*. J Histochem Cytochem **30**: 351-358.
- [61] Rosenkrans WAJ, Albright J, Hausman RE, Penney DP (1983) *Ultrastructural immunocytochemical localization of fibronectin in the developing rat lung*. Cell Tissue Res **234**: 165-177.
- [62] Ruoslahti E, Vaheri A (1974) *Novel human serum protein from fibroblast, plasma membrane*. Nature **248**: 789-791.

- [63] Ruoslahti E, Engvall E, Hayman EG (1981) *Fibronectin: current concepts of its structure and functions*. Collagen Res. **1**: 95-128.
- [64] Saba TM, Jaffee E (1980) *Plasma fibronectin (opsonic glycoprotein): its synthesis by vascular endothelial cells and role in cardiopulmonary integrity after trauma as related to reticuloendothelial function*. Am J Med **68**: 577-594.
- [65] Settle J (2000) *Burns*. In: Mason J, Purdue B (eds) The pathology of trauma. 3rd edn. Arnold, London, pp 211-229.
- [66] Sinkin R, Roberts M, LoMonaco M, Sanders R, Metlay L (1998) *Fibronectin Expression in Bronchopulmonary Dysplasia*. Pediatr Dev Pathol **1**: 494-502.
- [67] Stein MD, Herndon DN, Stevens M, Traber DL (1986) *Production of chemotactic factors and lung cell changes following smoke inhalation in a sheep model*. J Burn Care Rehabil **7**: 117-121.
- [68] Vaheri A, Ruoslahti E, Westermark B, Pontén J (1976) *A common cell type specific surface antigen in cultured human glial cells and fibroblasts: loss in malignant cells*. J Exp Med **143**: 64-72.
- [69] Viljanto J, Penttinen R, Raekallio J (1981) *Fibronectin in early phases of wound healing in children*. Acta Chir Scand **147**: 7-13.
- [70] Wallaert B, Dugas M, Tonnel A, Voisin C (1990) *Latent alveolitis in systemic disease. The transition between the normal and the pathological*. Rev Mal Respir **7**: 17-25.
- [71] Weis A (2005) *Expressionsmuster der Adhäsionsmoleküle P-Selektin, von-Willebrand-Faktor und PECAM-1 in der Lunge von Todesfällen durch Verbrennungsschock versus Verblutungsschock*. Inaugural, Dissertation, Medizinische Fakultät, Universität Freiburg.
- [72] Werner C (2003) *Makro- und Histomorphologie des Respirationstrakts von Brandleichen*. Inaugural, Dissertation, Medizinische Fakultät, Universität Freiburg.

- [73] Wheater P, Burkitt H, Daniels V (1987) *Blut*. In: Funktionelle Histologie Lehrbuch und Atlas. 2nd edn. Urban-Schwarzenberg, München, Wien, pp 36-51.
- [74] Wilk E, Lindner D, Vock R (1999) *Untersuchungen zum Inhalations-Hitzeschock*. Arch Kriminol **203**: 159-169.
- [75] Yamada K, Olden K (1978) *Fibronectins: Adhesive glycoproteins of cell surface and blood*. Nature **275**: 179-184.
- [76] Yamauchii K, Martinet Y, Crystal RG (1987) *Modulation of Fibronectin Gene Expression in Human Mononuclear Phagocytes*. J. Clin. Invest. **80**: 1720-1727.

9 DANKSAGUNG

Für die Überlassung des Themas, den stets spürbaren Rückhalt, die enge und zuverlässige Zusammenarbeit möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Michael Bohnert sehr herzlich bedanken. Sein Einsatz und Engagement haben die gemeinsame Zusammenarbeit sehr produktiv gestaltet.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Ralf Gutwald für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Herrn Prof. Dr. Stefan Pollak danke ich für die fachliche Unterstützung und das Interesse an dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. M. A. Rothschild danke ich für die Bereitstellung der Berliner Fälle, die mir eine repräsentativere Auswertung ermöglicht haben.

Tatkräftige Hilfe rund um die statistischen Fragen leistete mir Herr Prof. Dr. J. Schulte-Mönting vom Institut für Medizinische Biometrie und Medizinische Information (IMBI) der Universität Freiburg.

Für die immer freundliche Auskunftsbereitschaft und Unterstützung beim Anfertigen der Präparate danke ich unserer medizinisch-technischen Assistentin Frau Hannelore Majores.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern, meinem Freund Julian und auch Swantje, die mir mit viel Geduld und konstruktiver Kritik zur Seite standen und deren Rückhalt und Motivation den erfolgreichen Abschluss der Arbeit ermöglicht haben.

Freiburg, im Mai 2007

Jürina Anderson

10 Lebenslauf

Persönliche Daten :

Geboren am 31.03.1976 in Leer/Ostfriesland

Ausbildungsdaten :

1982-1986	Besuch der Grundschule in Helmstedt
1986-1987	Besuch der Orientierungsstufe der Lutherschule in Helmstedt
1987-1996	Besuch des Albert-Schweitzer-Gymnasiums in Gundelfingen
1996	Abschluss: allgemeine Hochschulreife
1996-2004	Medizinstudium an der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg
03/2000	Abschluss des Physikums
03/2001	Abschluss des 1. Staatsexamens
03/2003	Abschluss des 2. Staatsexamens
2003-2004	Praktisches Jahr im Evangelischen Diakoniever- krankenhaus Freiburg (Wahlfach: Gynäkologie/ Ge- burtshilfe)
05/2004	Abschluss des 3. Staatsexamens
seit 10/2004	Assistenzärztin der Chirurgischen Abteilung des St. Anna Krankenhauses in Sulzbach-Rosenberg