

Zelluläre Komponenten im Lungeninterstitium beim plötzlichen Kindstod – Immunhistochemische Charakterisierung

S. Ogbuhi und P. Zink

Gerichtlich-medizinisches Institut der Universität Bern, Bühlstrasse 20, CH-3012 Bern,
Switzerland

Cells of the pulmonary interstitial connective tissue in SIDS – immunohistochemical investigation

Summary. Monoclonal antibodies against the Leucocyte Common Antigens LC and MAC-387 expressed by lymphocytes, mononuclear phagocytes and polymorphonuclears failed to mark the cells of the pulmonary interstitial connective tissue in cases of SIDS. Controls with interstitial pneumonia showed clearly marked inflammatory cells. Although focal proliferation of cells was frequently observed in the vicinity of distended lymphatics in SIDS cases, an inflammatory origin as in the cases of interstitial pneumonia could not be confirmed. A relationship between interstitial edema and a non-inflammatory proliferation of the cells is discussed.

Key words: SIDS, non-inflammatory proliferation in lungs – Leucocyte common antigen

Zusammenfassung. Im Lungenparenchym von SIDS-Fällen werden häufig Zellen beobachtet, die meist als schüttende Rundzellansammlungen beschrieben werden. Die vorliegende Untersuchung hat ergeben, daß es sich bei diesen Zellen nicht um Lymphozyten, Makrophagen oder Granulozyten handelt. Dies wurde belegt mit monoklonalen Antikörpern (LC und MAC-387), die gegen Antigene der weißen Blutzellen (Leucocyte Common Antigen LCA) gerichtet sind. Eine entzündliche Herkunft der häufig beim SIDS im interstitiellen Bindegewebe beobachteten Zellen konnte somit nicht bestätigt werden. Die Zellen liegen in der Regel in der Umgebung von erweiterten Lymphgefäßen. Eine Beziehung zwischen interstitiellem Ödem und einer nicht-entzündungsbedingten Proliferation dieser Zellen wird diskutiert.

Schlüsselwörter: Plötzlicher Kindstod, Lungenbefunde – SIDS, immunhistochemische Befunde der Lunge

Einleitung

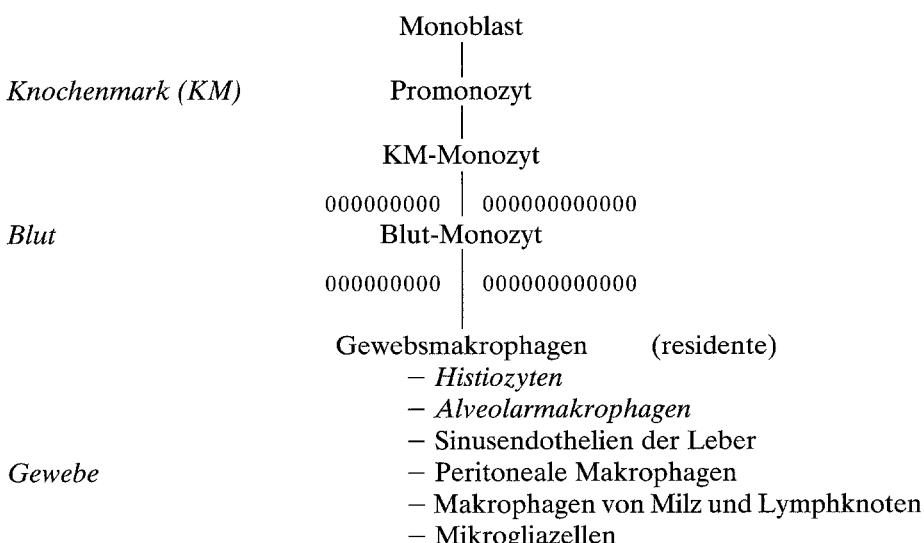
Beim plötzlichen Kindstod (SIDS) werden häufig im Lungenparenchym unterschiedlich ausgeprägte Zellansammlungen registriert, die meist als rundzellige oder mononukleäre Infiltrate beschrieben werden und teils im Interstitium, teils peribronchial liegen (Althoff 1980; Berg und Kijewski 1978; Wilske 1984; Valdes-Dapena 1985).

Mit immunhistochemischen Methoden kann heute am Paraffinschnitt die Mehrzahl dieser Zellen identifiziert werden, was eine genaue Aussage über ihre Herkunft erlaubt. Es kann so auch zu der Frage Stellung genommen werden, ob diese Zellen mit einer entzündlichen Reaktion zusammenhängen oder nicht. Dies soll in vorliegender Arbeit für die im Interstitium liegenden Zellen geprüft werden.

Zellen des Interstitiums sind Histiozyten, alveolär-kapilläre Perizyten – sog. Rouget cells, Mastzellen, Fibroblasten, Myofibroblasten und Lymphozyten. Dabei steht das Mononukleäre-Phagozyten System (MPS) (van Furth 1980) an erster Stelle. Die Zellen dieses Systems sind an allen entzündlichen Prozessen beteiligt – akut, chronisch oder chronischgranulomatös (Ryan und Spector 1970; Spector und Ryan 1970; Volkman und Collins 1974; van Furth 1980; Spector und Mariano 1975). Die nachstehende Darstellung zeigt Herkunft, Entwicklung und normale Transformation des Zellen des MPS.

Das Mononukleäre-Phagozyten-System (MPS)

Darstellung der Herkunft der mononukleären Zellen



Das mononukleäre Phagozyten-System ist somit nicht homogen, sondern aus unterschiedlichen Subpopulationen zusammengesetzt. Die im Sinne der norma-

len Transformation ins Gewebe übergetretenen Subpopulationen sind gewebs-spezifisch und funktionell differenziert, wobei ein Überwechseln von einer Subpopulation zu einer anderen nicht möglich ist (Sorg und Neumann 1981; Lee 1980; Picker et al. 1980; Walker 1980). Die residenten Makrophagen sind in der Lunge im lockeren Bindegewebe des Interstitiums als Histiozyten und in den Alveolen als Alveolarmakrophagen ausdifferenziert, in der Leber als Sinusendothelien – von Kupfer'sche Sternzellen – und im ZNS als Mikrogliazellen.

Eine Besonderheit der ruhenden Bindegewebshistiozyten ist die Fähigkeit, sich unter Entzündungsreizen in aktive Gewebsmakrophagen umzuwandeln. Die Umwandlung geht mit Änderungen der Enzymcharakteristiken und Antigen-eigenschaften einher (Edelson 1980, 1981), wodurch sich die aktivierten Ge-websmakrophagen von den ruhenden Histiozyten unterscheiden lassen. Auch die Blutmonozyten werden als Reaktion auf Entzündungsreize aktiviert und stimuliert und wandern als sog. Exsudatmakrophagen ins Gewebe ein. Wie die aktivierten Gewebsmakrophagen besitzen auch die Exsudatmakrophagen Anti-geneigenschaften, welche sie von den ruhenden Histiozyten zu unterscheiden erlauben (Edelson 1981).

Sowohl die aktivierten Gewebsmakrophagen als auch die Exsudatmakro-phagen besitzen im Gegensatz zu den ruhenden Histiozyten ein *intrazytoplas-matisches Antigen*, welches durch die Formalin-Fixierung und Paraffineinbettung nicht zerstört wird. Dieses als MAC-387 charakterisierte Antigen (Third Workshop and Conference on Leucoocyte Differentiation Antigens, Oxford 1986) ist mit dem monoklonalen Antikörper – Anti-Human Myeloid/Histiocyte Antigen (Dakopatts) nachweisbar. Bei dem Anti-MAC 387 besteht eine starke Bindung für das Zytoplasma von entzündlich aktivierten, ins Gewebe eingewanderten Exsudatmakrophagen und aktivierten Gewebsmakrophagen sowie eine schwache Bindung für Alveolarmakrophagen. Außerdem findet sich eine Bindung an das Zytoplasma von Blutmonozyten. Die genannten Zellen zeigen mit der PAP-Methode eine mehr oder minder homogene braun-rötliche Färbung des gesamten Zytoplasmas.

An entzündlichen Reaktionen beteiligt sind nicht nur die Zellen des mono-nukleären Phagozytensystems sondern auch Lymphozyten. Wieder in Gegen-satz zu den ruhenden Histiozyten verfügen die Lymphozyten über ein *Oberflä-chenantigen*, welches gegen Formalin-Fixierung und Paraffineinbettung resi-stent ist. Dieses als LC (CD45) charakterisierte Antigen ist mit dem monoklo-nalen Antikörper Dako LC (Dakopatts) nachweisbar. Es handelt sich bei die-sem Antikörper um ein Gemisch von zwei monoklonalen Antikörpern (Clone PD 7/26 und 2B 11), die für zwei verschiedene Epitope des Membranproteins (Oberflächenantigen) spezifisch sind. Auf Paraffinschnitten zeigt der Antikör-per LC eine besonders starke Bindung für die Oberfläche von lymphoiden Zel-len. Andere Zellen der weißen Reihe werden nur schwach und ungleichmäßig markiert. Mit der PAP-Methode lassen sich dementsprechend lymphoide Zel-len durch eine kräftige Färbung der Zellmembrane erkennen, was als ringför-mige braun-rötliche Anfärbung der Zellgrenzen imponiert.

Durch die Anwendung von Antikörpern gegen das Oberflächenantigen einerseits und gegen das intrazytoplasmatische Antigen anderseits werden sämtliche an einer etwaigen Entzündung beteiligten Zellen erfaßt.

Material und Methodik

Zur Klärung der Frage, ob das Verhalten und die Verteilung der Zellen im Lungenparenchym beim plötzlichen Kindstod (SIDS) entzündungsbedingt sind, wurden Lungenparaffinschnitte von 27 SIDS-Fällen (erreichtes Lebensalter 1–13 Monate, Durchschnittsalter 4,9 Monate), untersucht. Als Kontrollfälle (erreichtes Lebensalter 1 Tag–18 Monate, Durchschnittsalter 5,4 Monate) dienten 4 Fälle von Pneumonie, je 1 Fall von Schädelhirntrauma, mechanischer Asphyxie und Verbrennung sowie 2 Fälle von Ertrinken, außerdem Kontrollpräparate von Lymphknoten und Pneumonie. Aus dem gesamten Formalin-fixierten Material wurden drei Schnittserien angefertigt – 5 µ dicke Paraffinschnitte.

Zwei Schnittserien wurden wie folgt entparaffiniert, rehydriert und angedaut:

- a) 30 min in einem Brutofen bei 58°C belassen,
- b) anschließend 2 × 3 min in Xylol bei Zimmertemperatur,
- c) 2 × 3 min in absolutem Alkohol,
- d) 2 × 3 min in 95%igem Alkohol und 30 sec in fließendem Leitungswasser spülen,
- e) 20 min mit 0,1 g% Pronase E in Tris-Puffer, pH 7,6, bei 37°C inkubieren (zur Demaskierung der Antigene). Anschließend 3 × 5 min in Tris-Puffer waschen

Die Präparate werden dann für die Reaktion mit den primären monoklonalen Antikörpern und die PAP-Reaktion wie folgt weiter behandelt:

- f) die Schnittserien mit 3% gem H₂O₂ bedecken, 5 min bei Zimmertemperatur belassen und anschließend 5 min in Tris-Puffer waschen – (Ausschaltung der endogenen Peroxidasen)
- g) mit Kaninchenserum 20 min bei Zimmertemperatur inkubieren, überschüssiges Serum abgießen, *nicht abspülen* – (Blockierung unspezifischer Eiweißbindungen)
- h₁) eine Schnittserie mit dem primären monoklonalen Antikörper (Maus) Anti-Human Leukocyte Common Antigen Dako LC (Dakopatts) in einer Verdünnung von 1 : 100 beschichten und 20 min bei Zimmertemperatur inkubieren. Kontrollpräparate (Pneumonie und Lymphknoten) parallel dazu teils mit dem gleichen Antikörper und teils mit dem „negative control reagent“ der Lieferfirma inkubieren
- h₂) Die zweite Serie mit dem primären monoklonalen Antikörper (Maus) Anti-Human Myeloid/Histiocyte Antigen Dako MAC 387 (Dakopatts) inkubieren. Parallel dazu die gleichen Kontrollpräparate teils mit dem Antikörper und teils mit dem „negative control reagent“ inkubieren
- i) sämtliche Präparate mit Tris-puffer spülen und 20 min in Tris-puffer belassen
- j) mit dem Verbindungsantikörper (Immunglobulinfraktion von Kaninchen-Antiserum gegen Maus-Immunglobuline) beschichten, 20 min bei Zimmertemperatur inkubieren, spülen und 20 min in Tris-puffer belassen
- k) mit dem PAP-Komplex bedecken, 20 min bei Zimmertemperatur inkubieren, spülen und 20 min in Tris-puffer belassen
- l) mit einer frischen Substratlösung – Amino-äthyl-carbazol in Dimethyl-formamid, 3% H₂O₂ und Acetatpuffer pH 5,2 – 40 min bei Zimmertemperatur inkubieren
- m) nach Abspülen mit Aqua dest. 30 sec in Meyer's Hämatoxylin gegenfärbeln, 10 × in Ammoniakwasser tauchen, 5 min mit fließendem Wasser waschen und mit Glycerin-gelatine eindecken

Sämtliche hier verwendeten immunhistochemischen Reagenzien sind bei der Firma Dakopatts zu beziehen.

Die dritte Schnittserie wurde nach dem Schritt d) mit Toluidin-Blau – 0,05%ige wäßrige Lösung in Phosphatpuffer bei pH 5,0 – 6 min gefärbt, (Darstellung der Mastzellen) und mit Eukitt eingedeckt.

Ergebnisse

1. An allen Präparaten lässt sich Zellumriß und die Morphologie der Kerne durch die Gegenfärbung mit Hämatoxylin gut erkennen.
2. Die Schnittpräparate, welche mit dem „negative control reagent“ inkubiert wurden, sind einheitlich bläulich tingiert mit stärkerer blauer Färbung der Kerne.
3. Die Lymphknotenpräparate (positive Kontrolle) zeigen bei allen Lymphozyten intensive ringförmige braun-rötliche Färbung der Zelloberfläche.
4. Die Pneumoniepräparate (positive Kontrolle) zeigen im Interstitium neben ringförmig gefärbten Zellen (Lymphozyten) auch zahlreiche mononukleäre Zellen mit Einbuchtungen der Kernoberfläche und intensiver braun-rötlicher Färbung des Zytoplasmas, welches einen granulären Charakter aufweist. Ähnliche Zellen finden sich in den Kapillaren der Alveolarsepten. Intraalveolär lassen sich Alveolarmakrophagen erkennen, die eine (gelegentlich nur schwache) rötliche Färbung des Zytoplasmas aufweisen.

Die Kontrollfälle von Verbrennung, Schädelhirntrauma und Ertrinken zeigen stellenweise vereinzelte Lymphozyten im peribronchovaskulären Interstitium, die kräftig rotbräunlich gefärbt sind. Es besteht ein mäßiges interstitielles

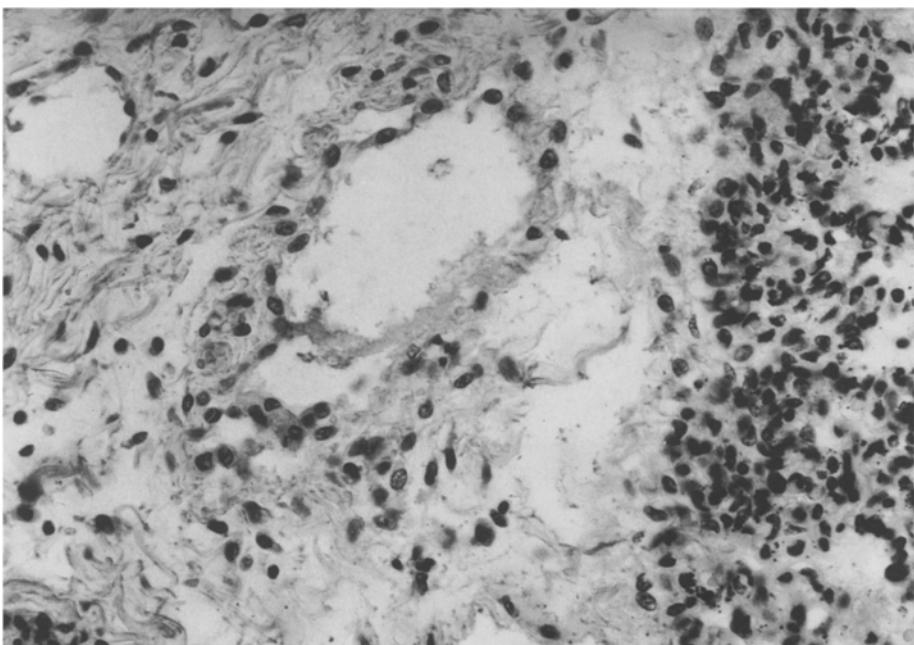


Abb.1. SIDS-Fall: Unmittelbar neben einem Lymphgefäß im interlobulären Interstitium. Lockere Ansammlung von Zellen, die mononukleären Infiltraten ähneln, jedoch kein Leucocyte Common Antigen (LCA) aufweisen – also nicht entzündlicher Herkunft sind. (Anti-LCA, PAP, Hämatoxylin) $\times 182$

Ödem. Die in den Kapillaren vorhandenen Zellen der weißen Blutreihe sind ebenfalls deutlich rot-bräunlich gefärbt. Proliferierende Zellen sind im Interstitium nicht nachweisbar.

Der Kontrollfall von mechanischer Asphyxie (Neugeborenes, 1 Tag alt) zeigt als Besonderheit eine starke Infiltration der Bronchialschleimhaut mit mononukleären Zellen, die zytoplasmatische PAP-positive Färbung aufweisen.

5. Sämtliche SIDS-Fälle zeigen zahlreiche Zellen im Interstitium, und zwar stets in der Umgebung von Lymphgefäßen. Diese Zellen sind vorwiegend oval oder abgerundet, dicht aneinander gelagert und weisen weder eine Färbung der Oberfläche noch des Zytosplasmas auf (Abb. 1 und 2). Sie proliferieren und zeigen stellenweise diffuse (Abb. 3a), umschrieben lockere und z. T. dichtere granulomähnliche Anordnungen (3b), allerdings ohne mehrkernige Riesenzellen. Im verbreiterten muralen Interstitium lassen sich ähnliche Zellen erkennen. Die akkumulierten Makrophagen in den Alveolen sind nur zum Teil schwach rötlich angefärbt.

Die exzessiv desquamierten Alveolarepithelien sowie die proliferierenden granulären Pneumozyten sind als solche erkennbar und sind nicht angefärbt. In 5 Fällen fanden sich zusätzlich spärliche, PAP-positive lymphozytäre Infiltrate, teils peribronchiolär und teils interstitiell.

6. Sämtliche mit Toluidin-Blau gefärbten Präparate (SIDS und Kontrolle) weisen metachromatische Mastzellen auf, die am häufigsten im peribronchovasku-

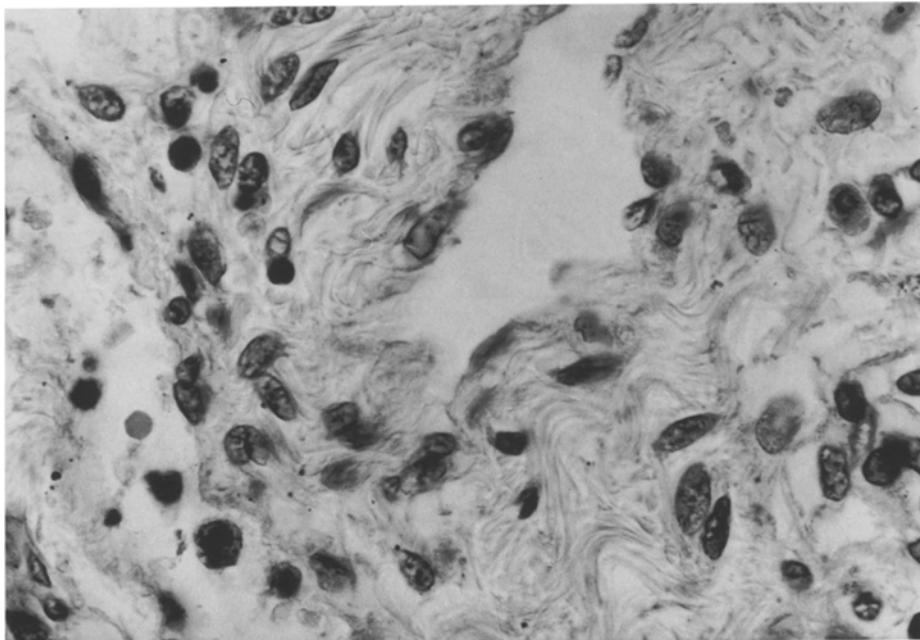


Abb. 2. SIDS-Fall: um ein Lymphgefäß im interlobulären Interstitium. Ähnliche Zellen wie in Abb. 1 bei stärkerer Vergrößerung – LCA-negativ, oval bis leicht abgerundet, und mit prominenten Organellen. (Anti-LCA, PAP, Hämatoxylin) $\times 458$

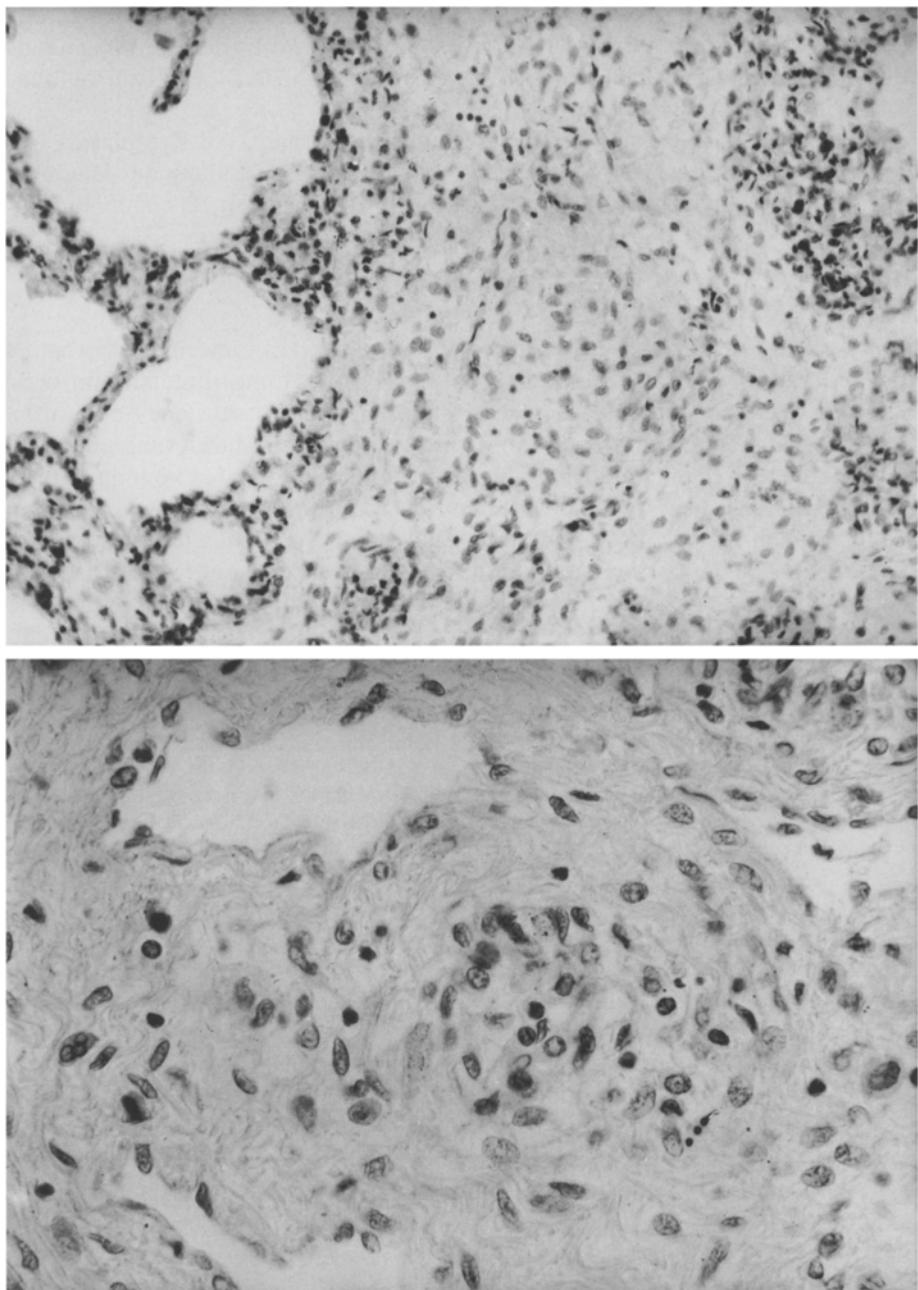


Abb. 3a und b. Zwei SIDS-Fälle mit unterschiedlichen perilymphangischen Gruppierungen ähnlicher LCA-negativer Zellen im interlobulären Interstitium: (a) diffus – Lymphgefäß nicht im Bild (b) granulomartig ohne epitheloide Zellen oder Riesenzellen. (Anti-LCA, PAP, Hämatoxylin) 3a: $\times 73$ 3b: $\times 290$

lären Interstitium zu finden sind. Die Mehrzahl der Fälle zeigt zusätzlich vereinzelt Mastzellen subpleural. Quantitative Unterschiede in der Häufigkeit und Verteilung der Mastzellen zwischen den SIDS-Fällen und den Kontrollfällen sind nicht festzustellen.

Wegen starker Schwankungen der Dichte der Granula im Zytoplasma und der Homogenität der Zelloberfläche ist eine genaue Beurteilung der Degranulation, wie sie von Berg und Kijewski (1978) beschrieben wurde, nicht möglich.

Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu prüfen, ob und in wieweit das Verhalten und die Verteilung der zellulären Komponenten im Lungeninterstitium beim SIDS durch entzündliche Reaktionen bedingt sind. Dazu wurde eine für Paraffinschnitte geeignete Methode zur immunhistochemischen Markierung angewendet, mit der Zellen entzündlicher Herkunft identifiziert werden können (Kurtin und Pinkus 1985). Die Wirksamkeit dieser Markierung wurde an Schnitten von Kontrollfällen ähnlicher Altersverteilung überprüft. Es handelt sich dabei um Non-SIDS-Fälle mit bekannten Todesursachen, z.B. mechanische Asphyxie, Lungenentzündung, Schädelhirntrauma. In den Kontrollfällen wurden aktivierte mononukleäre Phagozyten sowie Lymphozyten und Granulozyten deutlich erfaßt.

Beachtenswert als Nebenbefund ist eine starke mononukleäre Infiltration der Bronchialschleimhaut bei einem Kontrollfall von mechanischer Asphyxie. Eine klare Deutung dieses Befundes erscheint schwierig; es handelt sich nicht um eine isolierte Beobachtung: so berichteten Berg und Kijewski (1978) über mehrere Todesfälle von Kindern infolge mechanischer Asphyxie und Strangulation, bei denen zusätzlich Bronchiolitis und interstitielle Herdpneumonie mehr oder weniger als „Nebenbefunde“ festgestellt wurden. Dieser Befund könnte innerhalb einer entsprechenden Befundkonstellation einen diskriminierenden Charakter zwischen gewaltsamem Ersticken und SIDS erhalten.

Die untersuchten SIDS-Fälle zeigen keine entzündliche Infiltration des Interstitiums: Die Zellen im Interstitium wurden weder durch monoklonale Antikörper gegen Oberflächenantigene von lymphoiden Zellen noch durch monoklonale Antikörper gegen Cytoplasmaantigene von Zellen des Mononukleären Phagozyten Systems markiert. Demnach handelt es sich bei diesen Zellen weder um Lymphozyten, lymphoide Zellen noch um aktivierte Zellen des MPS. Es handelt sich ebenso wenig um Mastzellen, wie sich aus dem Fehlen der typischen Metachromasie der Granula ergibt.

Nachdem die immunhistochemische Untersuchung ergeben hat, daß die bei den SIDS-Fällen gehäuft auftretenden Zellen nicht entzündungsbedingt und damit nicht eingewandert sind, erhebt sich die Frage, welcher anderen Zellpopulation die fraglichen Zellen zuzuordnen sind. Ganz allgemein ist das Lungeninterstitium im wesentlichen nichts anders als lockeres Bindegewebe, das aus den zellulären Bestandteilen Histiozyten, Perizyten, Mastzellen, Fibrozyten/Fibroblasten und Lymphozyten besteht. Unter Berücksichtigung der Morphologie kann es sich bei den fraglichen Zellen nur um ortsständige Fibrozyten/Fibroblasten und Histiozyten handeln. Als die wichtigsten Makrophagen des Bindegewebes treten Histiozyten als ruhende ortsständige Zellen oder auch als

amoeboid bewegliche Wanderzellen auf. Sie stellen normale zelluläre Bestandteile des Bindegewebes dar (Reith und Ross 1974; Bucher 1967).

Bei unseren SIDS-Fällen zeigen die Zellen eine lokale Proliferation – erkennbar an umschriebener numerischer Zunahme, Abrundung der sonst spindelförmigen Zellen, Prominenz der Zellorganellen und vermehrter Grundsubstanz.

Gesteigerte Proliferation und erhöhte fibroplastische Aktivität mit Fibrose wurde mehrfach im Lungeninterstitium beschrieben (Berg und Kijewski 1978; Althoff 1980; Ogbuhi und Zink 1987). Es stellt sich nun die Frage, worauf die Proliferation zurückzuführen ist. Als Stimulus für eine derartige Proliferation kommt bei unseren SIDS-Fällen eine chronische Entzündung nicht in Frage, es ist somit nach einer nichtentzündlichen Ursache zu suchen: Ganz allgemein wurde durch autoradiographische Studien und Knochenmarktransplantationsstudien belegt, daß lokale Fibroblastenproliferationen auch ohne Entzündung stattfinden können (Stewart et al. 1981a, b; Helpap und Grouls 1981). Die beim SIDS gehäuft auftretenden Zellen finden sich stets in der Umgebung von Lymphgefäßern. Es ist bekannt, daß eine Lymphostase mit Retention von proteinreicher Flüssigkeit zu einer Aktivierung und Proliferation von Fibroblasten und somit zu einer Fibrose führen kann (Mittermayer et al. 1978; Casley-Smith 1979a, b; Riede et al. 1979). Angesichts der beim plötzlichen Kindstod regelmäßig beobachteten interstitiellen Lungenödeme (Laraya-Cuasay 1977; Ogbuhi und Zink 1987), der uneinheitlichen Lymphangiektasien sowie der gesteigerten fibroplastischen Aktivität (Ogbuhi und Zink 1987) erscheint eine Störung der Lymphdrainage als Ursache der Proliferation naheliegend.

Literatur

- Althoff H (1980) Sudden infant death syndrom. Fischer, Stuttgart New York
- Berg S, Kijewski S (1978) Histologische Befunde an 224 Fällen von plötzlichem Säuglingstod im norddeutschen Raum. Beitr Gerichtl Med 36: 154–160
- Bucher O (1967) Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Medizinischer Verlag Hans Huber, Bern Stuttgart
- Casley-Smith JR (1979a) The passage of macromolecules across inflamed capillary endothelium via large vacuoles. Microvasc Res 18: 319–324
- Casley-Smith JR (1979b) The fine structure of the microvasculature in inflammation. Bibl Anat 17: 36–53
- Edelson PJ (1981) Macrophage plasma membrane enzymes as differentiation markers of macrophage activation. In: Pick E (ed) Lymphokines 3. Academic Press, New York, pp 57–83
- Furth R van (1980) The mononuclear phagocyte system. Verh Dtsch Ges Pathol 64: 1–10
- Helpap B, Grouls V (1981) The cellular reaction of the kidney after different physical injuries. Urol Res 9: 115–121
- Holczabek W (1963) Die Mastzellen der Lunge des Menschen. Dtsch Z Ges Gerichtl Med 54: 175–177
- Kurtin PJ, Pinkus GS (1985) Leucocyte Common Antigen – A diagnostic discriminant between hematopoietic and nonhematopoietic neoplasms in Paraffin sections using monoclonal antibodies: Correlation with immunologic studies and ultrastructural localization. Hum Pathol 16: 353–365
- Laraya-Cuasay LR, Deforest A, Palmer J, Huff DS, Lischner HW, Huang NN (1977) Chronic pulmonary complications of early influenza virus infection. Am Rev Respir Dis 116: 617–625

- Lee KC (1980) Macrophage heterogeneity in the stimulation of T-cell proliferation. In: Unanue ER, Rosenthal AS (eds) *Macrophage regulation of immunity*. Academic Press, New York London Toronto, pp 319–332
- Mittermayer C, Riede UN, Bleyl U, Herzog H, v Wichert P, Reisner K (1978) Shock-lung. *Verh Dtsch Ges Pathol* 62:11–65
- Ogbuihi S, Zink P (1987) Lungengerüstveränderungen beim plötzlichen Kindestod (SIDS). *Z Rechtsmed* 98:191–205
- Picker LJ, Raft HV, Goldyne ME, Stobo JD (1980) Metabolic heterogeneity among human monocytes and its modulation by PGE₂. *J Immunol* 124:2257–2562
- Reith E, Ross R (1974) *Atlas der Histologie und mikroskopischen Anatomie*. FK Schattauer Verlag, Stuttgart New York
- Riede UN, Mittermayer C, Friedburg H, Wytibul K, Sandritter W (1979) Morphologic development of human shock lung. *Pathol Res Pract* 165:269–286
- Ryan GB, Spector WG (1970) Macrophage function in inflamed connective tissue. *Proc R Soc Lond (Biol)* 175:269
- Sorg C, Neumann C (1981) A development concept for the heterogeneity of macrophages in response to lymphokines and other signals. In: Pick E (ed) *Lymphokines 3*. Academic Press, New York London Toronto Sydney San Francisco, pp 85–118
- Spector WG, Ryan GB (1970) The mononuclear phagocyte in inflammation. In: van Furth (ed) *Mononuclear Phagocytes*. Blackwell Scientific Publications, Oxford Edinburgh
- Spector WG, Mariano M (1975) Macrophage behaviour in experimental granulomas. In: van Furth (ed) *Mononuclear phagocytes in immunity, infection and pathology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford London
- Stewart RJ, Duley JA, Rosman J, Fraser R, Allardyce RA (1981a) The wound fibroblast and macrophage I: Wound cell population changes observed in tissue culture. *Br J Surg* 68: 125–128
- Stewart RJ, Duley JA, Dewdney J, Allardyce RA, Beard MEJ, Fitzgerald PH (1981b) The wound fibroblast and macrophage II: Their origin studied in a human after bone marrow transplantation. *Br J Surg* 68:129–131
- Valdes-Dapena MA (1985) Sudden infant death syndrome. Morphology update for forensic pathologists. *Forensic Sci Int* 30:177–186
- Volkmann A, Collins FM (1974) The cytokinetics of monocytosis in acute *Salmonella* infection in the rat. *J Exp Med* 139:264–274
- Walker WS (1980) Macrophage heterogeneity: Membrane markers and population of macrophage subpopulations. In: Unanue ER, Rosenthal AS (eds) *Macrophage regulation of immunity*. Academic Press, New York London Toronto Sydney San Francisco, pp 307–318
- Wilske J (1984) Der plötzliche Säuglingstod. Springer, Berlin Heidelberg New York

Eingegangen am 9. Mai 1988