

**Lokale Vitalitätsmarker bei mechanischer und  
thermischer Gewalteinwirkung: Besondere Bedeutung  
von Aquaporin 3**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

**Anna-Lena Witte**

aus Münster  
2021

Angefertigt mit der Genehmigung  
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter\*in: Prof. Dr. med. Burkhard Madea
2. Gutachter\*in: PD Dr. Friederike Schröck

Tag der Mündlichen Prüfung: 12.10.2021

Aus dem Institut für Rechtsmedizin  
Direktor\*in: Prof. Dr. med. Burkhard Madea

*Meiner Familie*



## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	8
1. Einleitung.....	9
1.1 Vitalität und Wundalterbestimmung.....	9
1.2 Haut.....	10
1.2.1 Aufbau und Funktion der Haut .....	10
1.2.2 Aufbau der Epidermis.....	10
1.2.3 Aufbau der Dermis .....	11
1.2.4 Aufbau der Subkutis .....	12
1.3 Gewalteinwirkungen auf die Haut.....	12
1.3.1 Allgemein.....	12
1.3.2 Biss.....	13
1.3.3 Brandwunde .....	13
1.3.4 Exkoration.....	14
1.3.5 Hautvertrocknung .....	15
1.3.6 Kälteerythem .....	15
1.3.7 Quetsch-Risswunde .....	16
1.3.8 Schnitt .....	17
1.3.9 Schuss.....	18
1.3.10 Strangulation .....	19
1.4 Hitzeschockproteine .....	20
1.4.1 Die Rolle von Chaperonen .....	20
1.4.2 Vorkommen und Funktion von Hitzeschockproteinen .....	21
1.4.3 Hitzeschockprotein 27 .....	22
1.4.4 Hitzeschockprotein 60 .....	23
1.4.5 Hitzeschockprotein 70 .....	23
1.5 Aquaporine .....	24
1.5.1 Vorkommen und Funktion .....	24
1.5.2 Struktur.....	25
1.5.3 Expression der Aquaporine in der Haut .....	26
1.6 Fibronektin.....	28

1.6.1 Vorkommen und Funktion .....	28
1.6.2 Struktur .....	29
1.6.3 Expression von Fibronectin in der Haut .....	29
1.7 Das Prinzip der Immunhistochemie.....	33
1.8 Zielsetzung der Arbeit .....	34
2. Material und Methoden.....	36
2.1 Zusammensetzung Studienkollektiv .....	36
2.2 Zusammensetzung des Kontrollkollektivs .....	42
2.3 Vorbereitung des histologischen Materials.....	42
2.4 Immunhistochemische Färbung .....	43
2.5 Fotografie und mikroskopische Auswertung .....	45
2.6 Statistische Auswertung .....	49
3. Ergebnis .....	51
3.1 Allgemein.....	51
3.2 Expression von Hitzeschockprotein 27 .....	52
3.3 Expression von Hitzeschockprotein 60 .....	55
3.4 Expression von Hitzeschockproteins 70.....	57
3.5 Expression von Aquaporin 1 .....	59
3.6 Expression von Aquaporin 3 .....	62
3.7 Zusammenhang zwischen Aqp3-Expression und Studienkollektiv .....	68
3.8 Expression von Fibronectin .....	73
3.9 Kasuistiken der Aqp3-Expression .....	77
3.9.1 Kasuistik 1 .....	77
3.9.2 Kasuistik 2 .....	79
3.9.3 Kasuistik 3 .....	82
4. Diskussion .....	85
4.1 Allgemein.....	85
4.2 Hitzeschockproteine .....	85
4.3 Fibronectin.....	86
4.4 Aquaporin 1 .....	87
4.5 Aquaporin 3 .....	88
4.6 Aqp3-Expression in Bezug auf die Art der Verletzung .....	89

4.7 Aqp3-Expression in Bezug auf die Agoniedauer.....	89
4.8 Aqp3-Expression in Bezug auf das maximale postmortale Intervall bis zur Obduktion .....	90
4.9 Limitationen der Studie.....	90
4.10 Ausblick .....	92
5. Zusammenfassung.....	94
6. Anhang .....	96
6.1 Färbeprotokoll der immunhistochemischen Färbung .....	96
7. Abbildungsverzeichnis.....	98
8. Tabellenverzeichnis.....	101
9. Literaturverzeichnis .....	102
10. Danksagung .....	114

## Abkürzungsverzeichnis

ABC	Avidin-Biotin-Komplex
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
Aqp	Aquaporine
BMI	Body-Mass-Index
C	Kohlenstoff
COOH-	Carboxygruppe
CHIP28	Aquaporin 1-Kanal
dest.	destilliert
DNA	Desoxyribonukleinsäure
HE	Hämatoxylin-Eosin
Hse	Hitzeschockelement
Hsf	Hitzeschockfaktor
Hsp	heat shock proteins, Hitzeschockproteine
kDa	Kilodalton
LSAB	Labeled-Streptavidin-Biotin
NH <sub>2</sub> -	Stickstoffgruppe
sHsp	small heat shock proteins, kleine Hitzeschockproteine
TRIS	Tris (hydroxymethyl)-aminomethan

# 1. Einleitung

## 1.1 Vitalität und Wundalterbestimmung

Die Bestimmung der Vitalität und des Alters einer Wunde sind in der forensischen Diagnostik von großer Bedeutung. Dem Rechtsmediziner werden Fragen über den Zusammenhang von Wunden und der Todesursache gestellt. Zum einen müssen Aussagen über die Verletzungsart der Haut gemacht werden. Es ist möglich, dass Strangulationsmarken nur bloss ausgebildet sind und im weiteren postmortalen Verlauf verschwinden (Adelson 1974; Gordon et al. 1988). Zum anderen wird der Rechtsmediziner häufig mit der Frage konfrontiert, ob die Verletzungen ante- oder postmortem entstanden sind und wie lang die Überlebenszeit war (Madea et al. 2014a).

Nach der Definition von Orsós (1935) lässt sich die Vitalität in vitale Reaktionen, Prozesse und Zeichen gliedern.

Vitale Reaktionen beziehen sich auf lokale Gewebsreaktionen an dem Ort der Verletzung. Vitale Prozesse setzen ein noch funktionierendes Organsystem voraus. Die Funktionen des Nervensystems, des Herz-Kreislaufsystems und des Respirations- und Gastrointestinaltrakts sind noch intakt. Es reagieren nicht nur Zellen und Gewebe, sondern der gesamte Organismus.

Vitale Zeichen sind beispielsweise eine arterielle Spritzspur oder Blutaspiration, die auf eine vitale Entstehung der Verletzung zurückgeführt werden können. (Madea et al. 2014a)

Die Vitalität einer Wunde steht im engen Zusammenhang mit der Wundheilung. Nach einer Verletzung können die Veränderungen in der frühen Phase sowohl als vitale Reaktionen, wie auch als beginnende Wundheilung beschrieben werden (Madea et al. 2014a). Es werden verschiedene Prozesse eingeleitet, die für eine Reparatur des geschädigten Gewebes sorgen. Die Wundheilung verläuft in allen Geweben ähnlich und lässt sich in Phasen gliedern. Dieser in Phasen separierbare Ablauf ermöglicht somit eine Bestimmung des Wundalters. Das Wundalter entspricht dem Zeitraum zwischen dem Zeitpunkt des Traumas und dem Zeitpunkt des Todes. (Kondo und Ishida 2010)

## **1.2 Haut**

### **1.2.1 Aufbau und Funktion der Haut**

Die Haut ist mit einer Oberfläche von 1,6 - 2 m<sup>2</sup> das größte Organ des menschlichen Körpers und bedeckt seine gesamte Oberfläche. Die Dicke der Haut beträgt beim Erwachsenen ohne Subkutis 1,5 - 4 mm (Rassner 1978). Es handelt sich um ein „Schichtenorgan“ mit drei charakteristischen Hautschichten (s. Abb. 1): der Epidermis (Oberhaut), der Dermis (Lederhaut) und der Subcutis (Unterhaut) (Montagna et al. 1992). Zusätzlich befinden sich Hautanhangsgebilde in der Haut. Darunter fallen Haare mit den sich anschließenden Talgdrüsen, Schweißdrüsen und Nägel (Lüllmann-Rauch und Paulsen 2003).

Die Hauptfunktion der Haut besteht in der Bildung einer Barriere. Sie ist die Abgrenzung zwischen der Umwelt und dem Organismus. Sie schützt vor Infektionen, aber auch vor mechanischen und thermischen Verletzungen oder chemischen Noxen. Außerdem sorgt die Haut für einen kontrollierten Stoffaustausch und eine regulierte Körpertemperatur. Beispielsweise werden Wasser, aber auch Salze und Stoffwechselprodukte ausgeschieden und aufgenommen (Rassner 1978; Lüllmann-Rauch und Paulsen 2003).

### **1.2.2 Aufbau der Epidermis**

Die Epidermis (griechisch: epi - über, darauf; derma - Haut) ist die Oberhaut und besteht aus einem mehrschichtig verhornendem Plattenepithel. Die vorherrschenden Zellen sind die Keratinozyten, die 90 % der Epidermis ausmachen und verschiedene Differenzierungsschritte durchlaufen (Eckert und Welter 1996).

Die Epidermis gliedert sich in vier Schichten, die durch die unterschiedlichen Differenzierungsstadien der Keratinozyten charakterisiert werden können.

Die unterste epidermale Schicht ist das Stratum basale (Basalzellschicht), die direkt auf der Basallamina sitzt und aus einer Reihe von prismatischen Zellen besteht. Im Stratum basale befinden sich die epidermalen Stammzellen und es kommt zur Zellteilung.

Dem Stratum basale schließt sich das Stratum spinosum an, welche auch aufgrund des Aussehens der Zellen als Stachelzellschicht bezeichnet wird und welche für die Synthese des Keratohyalins zuständig ist.

Im Anschluss folgt das Stratum granulosum, in dem die Keratinozyten ihren Zellkern verlieren und zu Korneozyten umgewandelt werden. Im Stratum corneum, der obersten Schicht, befinden sich die Hornzellen, auch Korneozyten genannt, die als Ziel der Differenzierung beschrieben werden können. Die stark abgeflachten Korneozyten (ca. 0,5 µm dick und 30 µm lang) enthalten keinen Kern und Organellen mehr. (Eckert und Rorke 1989; Fuchs und Raghavan 2002; Lüllmann-Rauch und Paulsen 2003; Montagna et al. 1992)

Es findet eine ständige Erneuerung statt. Es werden neue Keratinozyten aus den unteren Schichten zur Verfügung gestellt, nachdem die obersten Korneozyten abgeschilfert werden. Dieser sogenannte Desquamationsprozess dauert vier Wochen (O'Shaughnessy und Christiano 2004).

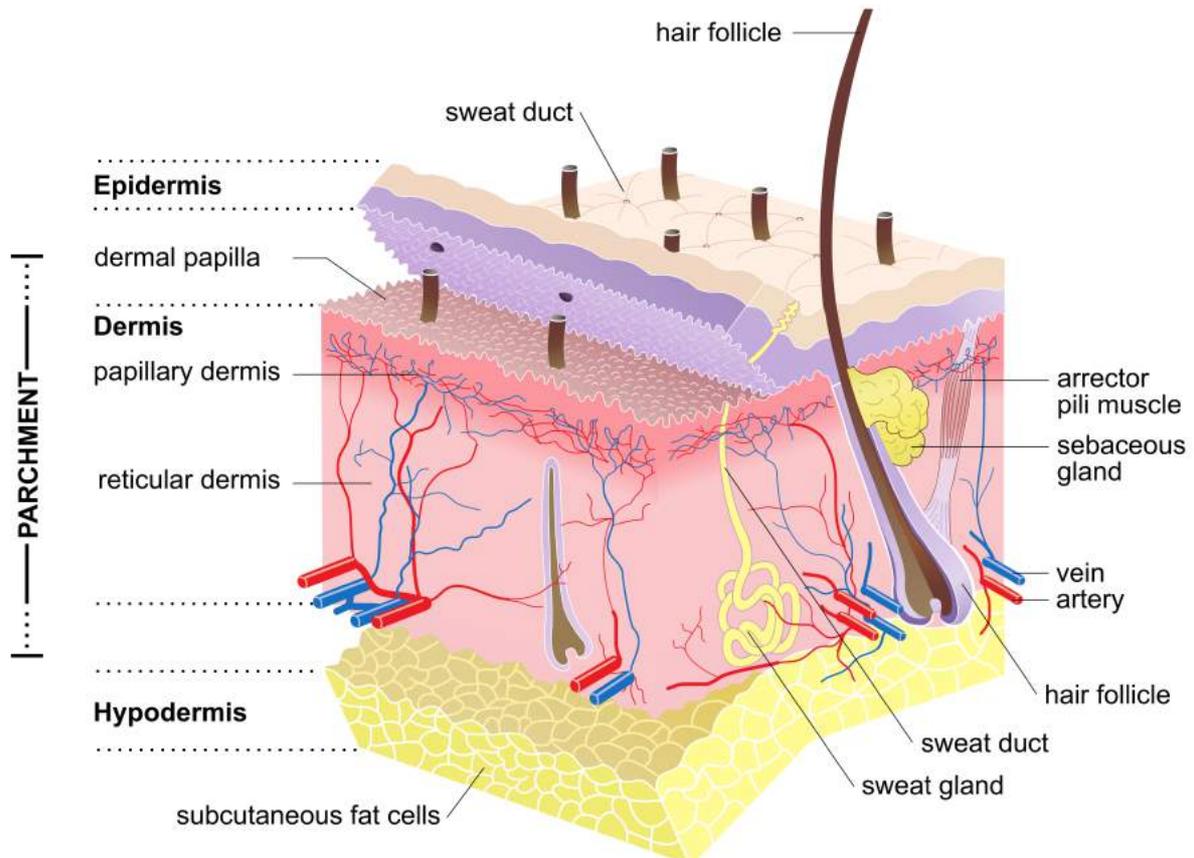
Neben den Keratinozyten sind in der Epidermis noch andere Organellen zu finden. Sie machen nur 10 % der Epidermiszellen aus, sind jedoch auch von essentieller Bedeutung: melaninbildenden Zellen des Pigmentsystems (Melanozyten), Zellen des Immunsystems (Langerhans-Zellen) und Zellen des peripheren Nervensystems (Merkel-Zellen) (Rassner 1978).

### **1.2.3 Aufbau der Dermis**

Die Dermis gliedert sich in zwei Etagen: die papilläre Dermis (Stratum papillare) und die retikuläre Dermis (Stratum reticulare). Im Gegensatz zur Epidermis ist die Dermis durchblutet und somit für die Versorgung der Epidermis verantwortlich. Durch die Papillen wird die Austauschfläche maximiert. Darüber hinaus weist die Dermis Zellen der Immunabwehr (Monozyten, Makrophagen und Mastzellen), aber auch Nerven und Hautanhangsgebilde (Schweiß- und Talgdrüsen, Haare) auf (Rassner 1978; Lüllmann-Rauch und Paulsen 2003).

### 1.2.4 Aufbau der Subkutis

Die Subkutis als Verbindung zwischen Kutis und tiefer liegenden Schichten (Faszien, Periost) setzt sich aus lockerem Binde- und Fettgewebe zusammen. Der Anteil des Fettgewebes variiert und funktioniert als Druckpolster oder zur Speicherung von Energie und Wärme. In dem Fettgewebe liegen zudem die Leitungsbahnen.



**Abb. 1:** schematischer Aufbau der Haut. (Dorethy S 2020)

## 1.3 Gewalteinwirkungen auf die Haut

### 1.3.1 Allgemein

Es gibt diverse Formen hinsichtlich der Gewalteinwirkung auf die Haut. Man unterscheidet im Wesentlichen zwischen mechanischer und thermischer Gewalt. Unter die mechanische Gewalt fallen Schuss, Strangulation, stumpfe und scharfe Gewalt (Madea et al. 2012). Die genaue Zusammensetzung des Kollektivs, welches mechanische und

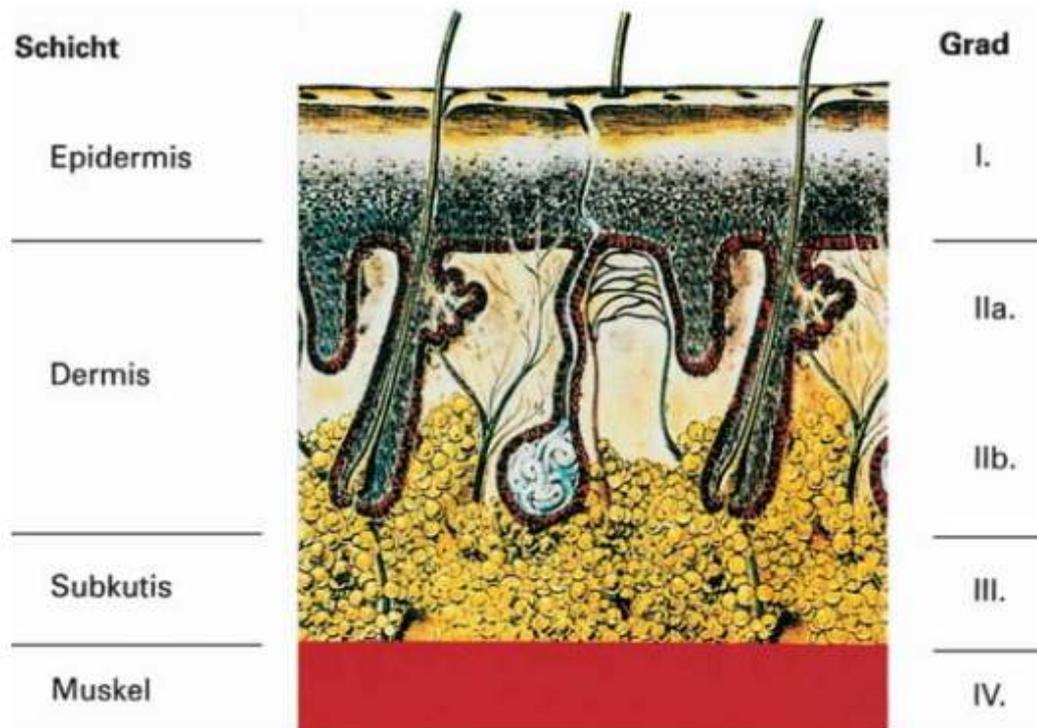
thermische Gewalt beinhaltet, wird unter 2.1 näher beschrieben. Jedoch soll hier bereits Bezug auf die vorliegenden Arten der Verletzungen genommen werden. (Madea et al. 2012)

### **1.3.2 Biss**

Eine Bissverletzung zeichnet sich durch Schürfungen, Einblutungen und Perforation der Haut aus. Es gibt zwei Arten von Bissverletzungen: Abwehribiss und Saugbiss. Während sich beim Abwehribiss die oberste Hautschicht an der Innenseite der Zahnbögen befindet, wird beim Saugbiss die Epidermis aufgrund des Wegziehens an die Außenseite der Zahnbögen geschoben (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).

### **1.3.3 Brandwunde**

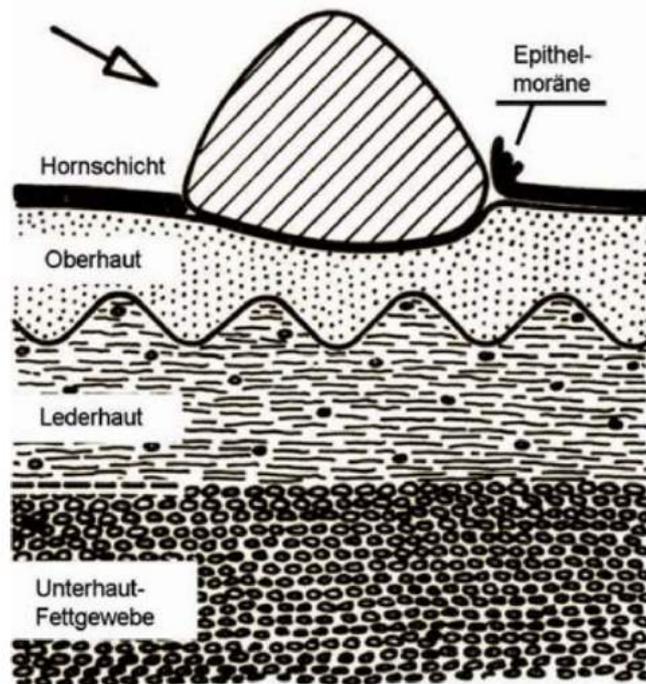
Die Schädigung der Haut durch die Einwirkung von Hitze lässt sich in Abhängigkeit von der Tiefe in verschiedene Grade einteilen (s. Abb. 2). Die Schädigung ist bei der Verbrennung I. Grades epidermal, bei der Verbrennung II. Grades dermal, bei der Verbrennung III. Grades transdermal und bei der Verbrennung IV. Grades betrifft die Verbrennung zusätzlich das Unterhautfettgewebe. Postmortal kann es auch zu Veränderungen der Haut kommen, indem die Haut einreißt (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).



**Abb. 2:** Verbrennungsgrade und betroffene Hautschichten: Verbrennung I. Grades epidermal, Verbrennung II. Grades dermal, Verbrennung III. Grades transdermal, Verbrennung IV. Grades Subkutis (aus Madea 2007)

#### 1.3.4 Exkoration

Eine Exkoration (lateinisch: *excoriare* - abhäuten) oder Hautabschürfung ist ein flächiger Substanzdefekt der Haut, der durch eine tangentielle Kraft entsteht (s. Abb. 3). Der Substanzdefekt betrifft meist die obersten Schichten. In Schürfrichtung können sich Epithelschüppchen ablösen (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012) und im Randbereich der Wunde ablagern. Das Gewebe trocknet und es entsteht brauner Schorf an der Oberfläche. Wunden, die nicht bis in die Dermis reichen, heilen innerhalb von ein paar Tagen ab. Tritt die Verletzung kurz vor oder nach Eintritt des Todes auf, so bildet sich eine lederartige Abschürfung mit gelbbrauner, rotbrauner oder dunkelbrauner Farbe (Madea et al. 2014b).



**Abb. 3:** Exkoration mit abgehobenen Epithelschüppchen; mit Genehmigung von Zollinger 2020

### 1.3.5 Hautvertrocknung

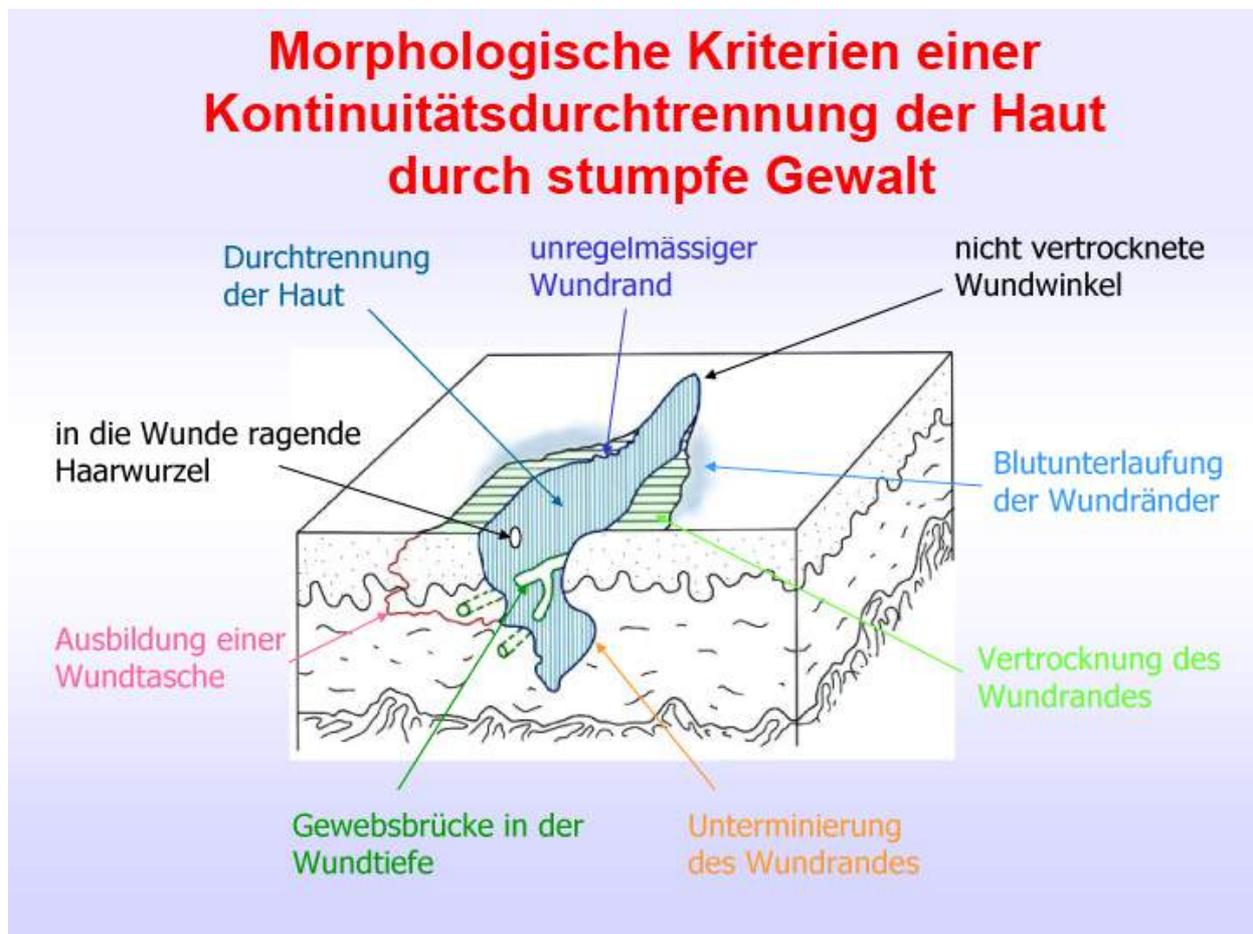
Hautkompressionen, die die oberste Hautschicht betreffen, vertrocknen postmortal. Beispielsweise kommt es im Rahmen von Reanimationen zu Kompressionen. Mithilfe der Farbe der Wunde können Aussagen über das Alter gemacht werden. Sie können sich verhärten und zudem gelblich-bräunlich werden (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).

### 1.3.6 Kälteerythem

Ein Kälteerythem zählt neben den hellroten Totenflecken zu den typischen äußeren Befunden bei einem Tod durch Unterkühlung. Der Pathomechanismus ist bisher unklar. Es handelt sich um blau-livide Hautverfärbungen an hypostasefreien Arealen des Körpers, häufig an der Streckseite des Kniegelenks oder über dem Handrücken (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).

### 1.3.7 Quetsch-Risswunde

Riss-, Quetsch- und Platzwunden gehören zu den penetrierenden Hautverletzungen durch stumpfe Gewalt. Wird ein starker Zug auf die Haut ausgeübt, so entsteht eine Risswunde (s. Abb.4). Ein starker Druck auf die Haut führt zu einer Quetschwunde (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012). Im Rahmen einer flächenhaften Gewalteinwirkung auf die Haut entstehen Gewebsbrücken im Wundgrund. Darüber hinaus können bei einer Kontinuitätsdurchtrennung der Haut Fremdkörper in der Wunde zu finden sein, welche Rückschlüsse auf das Tatwerkzeug ermöglichen (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).



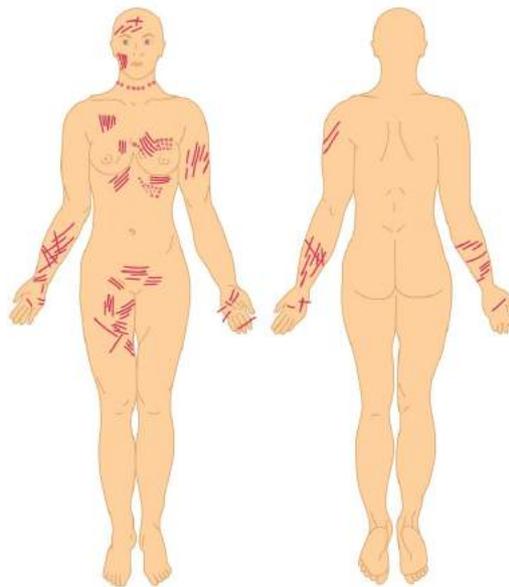
**Abb. 4:** Morphologische Kriterien einer Kontinuitätsdurchtrennung der Haut durch stumpfe Gewalt; mit Genehmigung von Prof. Dirrhofer

### 1.3.8 Schnitt

Zusammen mit der Stich- und Hiebverletzung wird die Schnittverletzung zu den Verletzungen durch scharfe Gewalt gerechnet. Aufgrund der scharfen Gewalteinwirkung kommt es zu gemeinsamen charakteristischen Merkmalen. Es zeigen sich eine Gewebedurchtrennung unterschiedlichen Ausmaßes, gerade glattrandige Wundränder und die Abwesenheit von Gewebebrücken (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).

Schnittverletzungen lassen sich von Stichverletzungen abgrenzen, denn sie sind im Gegensatz zu ihnen, bezogen auf die Hautoberfläche, länger und weniger tief.

Darüber hinaus kann zwischen Schnittverletzungen, die selbst (s. Abb. 5) oder fremd beigebracht wurden (Vergleich s. Tab. 1) unterschieden werden. Selbst beigebrachte Verletzungen sind symmetrisch, oberflächlich und parallel angeordnet. Sie sind häufig an den Armen, der Brust- und Bauchhaut zu finden. Empfindliche Regionen, wie beispielsweise das Gesicht, werden ausgespart. Die Einstichstelle ist entkleidet und Abwehrverletzungen fehlen. Fremd beigebrachte Verletzungen erstrecken sich über den gesamten Körper und sparen keine empfindlichen Regionen aus. Der Einbezug der Kleidung und das Vorkommen von Abwehrverletzungen ist häufig (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).



**Abb. 5:** Lokalisationen selbstbeigebrachter Verletzungen (aus Madea und Dettmeyer 2007).

**Tab. 1:** Merkmale selbst- und fremdbeigebrachter Verletzungen (Madea et al. 2012).

	<b>Selbstbeibringung</b>	<b>Fremdbeibringung</b>
Anordnung	<ul style="list-style-type: none"> <li>• symmetrisch</li> <li>• parallel</li> <li>• gruppiert</li> <li>• oberflächlich</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• über den gesamten Körper</li> </ul>
Lokalisation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Arme, Brust- und Bauchhaut</li> <li>• empfindliche Regionen ausgelassen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• überall</li> <li>• empfindliche Regionen nicht ausgelassen</li> </ul>
Stärke der Verletzung	<ul style="list-style-type: none"> <li>• leicht</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• schwer</li> </ul>
Verlauf	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dem Links- / Rechtshänder entsprechend</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• unterschiedliche Verläufe möglich</li> </ul>
Kleidung	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nicht mit einbezogen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• mit einbezogen</li> </ul>
Abwehrverletzung	<ul style="list-style-type: none"> <li>• keine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• deutliche Abwehrverletzungen, z. B.: Unterarmstreckseiten</li> </ul>

### 1.3.9 Schuss

Eine Schussverletzung entsteht beim Auftreffen des Projektils auf das Gewebe. Bei einer Geschossgeschwindigkeit von 50 m/sec kommt es zu einer Perforation aller Hautschichten. Bezüglich der Schussdistanz wird zwischen absolutem Nahschuss, relativem Nahschuss und Fernschuss differenziert. Der absolute Nahschuss bedeutet, dass die Waffenmündung dem Körper aufgesetzt war. Beim relativen Nahschuss beträgt die Schussentfernung weniger und beim Fernschuss mehr als einen Meter. Zudem können Ein- und Ausschuss voneinander unterschieden werden. Wenn die Haut das primäre Ziel war, liegen beim Einschuss ein Abstreif- und Kontusionsring vor und es ist

möglich, dass Gewebsteile in den Körper hineinragen (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).

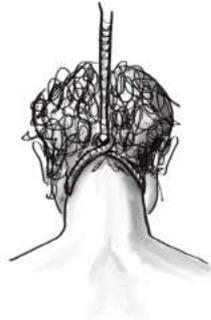
### **1.3.10 Strangulation**

Strangulation bezeichnet eine Kompression des Halses von außen und kann aus rechtsmedizinischer Sicht in Erhängen, Erwürgen oder Erdrosseln unterteilt werden. Beim Erwürgen und Erdrosseln liegt meist eine Fremdeinwirkung zugrunde, wohin gegen Erdrosseln auch auf einen Suizid zurückgeführt werden kann (Doberentz et al. 2009; Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).

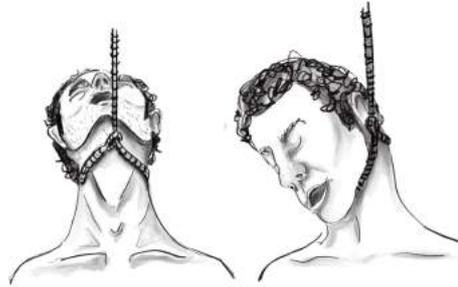
Beim Tod durch Erhängen lassen sich zwei Formen unterscheiden: das typische und das atypische Erhängen (s. Abb.6). Das typische Erhängen ist charakterisiert durch eine freie Suspension, das heißt der Körper berührt den Boden nicht. Das Strangwerkzeug steigt zur Nackenmitte symmetrisch an und die Verknotung befindet sich mittig im Nacken. Die Strangfurche befindet sich an der Halsvorderseite, da dort das Strangwerkzeug am stärksten bei freier Suspension in die Haut einschneidet. Venöse und arterielle Gefäße werden unterbunden und es treten keine Stauungsblutungen auf (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).

Beim atypischen Erhängen ist das Strangwerkzeug in jeder anderen Lage zu finden (submental, an der Halsseite) oder es liegt keine freie Suspension vor. Lediglich der venöse Blutfluss ist unterbunden, da die Kraft zur Unterbrechung der arteriellen Zufuhr nicht ausreicht. Somit lassen sich Stauungsblutungen und Petechien nachweisen. Beispielsweise kommt es zu Stauungsblutungen im Bereich der Mundvorhofschleimhaut, der Augenlidbindehäute und retroaurikulär. Die Blutstauung an den inneren Organen zeigt sich meist an der Leber und an einer akuten Dilatation des rechten Ventrikels. Hierbei werden Kräfte von mehreren Kilogramm benötigt (Madea und Dettmeyer 2007; Madea et al. 2012).

typisches Erhängen



atypisches Erhängen



**Abb. 6:** typisches und atypisches Erhängen nach Ponsold 1967, gezeichnet von Anna Blumberg

## 1.4 Hitzeschockproteine

### 1.4.1 Die Rolle von Chaperonen

Hitzeschockproteine (Hsp) gehören zur Gruppe der molekularen Chaperone. Chaperone sorgen für eine korrekte Proteinfaltung und verhindern eine Proteinaggregation. Proteinaggregationen entstehen, wenn sich die hydrophoben Seitenketten ungefalteter Proteine zusammenlagern. Chaperone verhindern diese Fehlfaltung, indem sie sich an die hydrophoben Enden der Polypeptidkette anlagern. Das Wort „Chaperone“ leitet sich aus dem Französischen „le chaperon“ ab und bedeutet „die Anstandsdame“. Es wurde erstmalig von Laskey et al. (1978) beschrieben. Sie hoben die Eigenschaft von Nukleoplasmin hervor, unproduktive Interaktionen zwischen Desoxyribonukleinsäure (DNA) und Histonen zu umgehen. (Agashe und Hartl 2000; Feder und Hofmann 1999; Quan und Bardwell 2012; Walter und Buchner 2002)

Nach Hendrick und Hartl (1993) wird ein molekulares Chaperon heutzutage wie folgt definiert: Ein Chaperon ist ein Protein, welches zeitweise mit einer instabilen Konformation eines anderen Proteins in Verbindung steht, es stabilisiert und durch reguliertes Binden und Lösen dessen korrektes Schicksal in vivo unterstützt, sowohl durch

Faltung (im Anschluss an die de novo Synthese, Transit durch eine Membran oder stressinduzierte Denaturierung), Oligomerisierung, Interaktion mit anderen zellulären Komponenten, intrazellulären Transport oder proteolytischen Verdau entweder eigenständig oder mit der Unterstützung von Kofaktoren.

#### **1.4.2 Vorkommen und Funktion von Hitzeschockproteinen**

Beschrieben wurden Hsp erstmalig von Ritossa im Jahre 1962 durch Experimente an der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*. Damals wurde die Expression der Hsp auf Hitze zurückgeführt. Heute ist bekannt, dass diverse Stressfaktoren zu einem verstärkten Anstieg führen. Beispiele sind hypo- und hyperthermale Effekte, aber auch Stimuli wie Energiearmut oder Ischämie (Ciocca et al. 1993; Craig 1985; Doberentz et al. 2014; Doberentz 2017; Feder und Hofmann 1999; Ritossa 1962). Hsp sind sowohl in jedem Organismus, als auch in nahezu allen zellulären Bereich aufzufinden (Parsell und Lindquist 1993).

Wird auf die Zelle durch einen der bereits beschriebenen Faktoren Stress ausgeübt, kommt es aufgrund der Bildung von Hitzeschockfaktoren (Hsf) zur Induktion der Hsp (Ciocca et al. 1993). Unter normalen physiologischen Bedingungen ist der Hsf in Form eines Monomers im Zellkern und im Zellplasma lokalisiert. Die Stressfaktoren führen dazu, dass sie sich als Transkriptionsfaktoren zu Trimeren im Zellkern formieren, sich an Hitzeschock-Elemente (Hse) der DNA binden und eine Transkription der Hsp-Gene bewirken (Morimoto 1993; Sorger 1991). Hsf-1 und Hsf-2 sind die am besten beschriebenen Hitzeschockfaktoren. Hsf-1 reguliert die stressabhängige Induktion schneller als Hsf-2 (Mathew et al. 1998).

Anhand ihrer molekularen Masse und ihrem Aufbau lassen sich die Hsp in verschiedene Familien klassifizieren (s. Tab.2). Insgesamt gibt es fünf Familien: Hsp110, Hsp90, Hsp70, Hsp60 und Hsp27 (Jee 2016; Jolly und Morimoto 2000; Lindquist 1988; Madden et al. 2008).

**Tab. 2:** Übersicht über die Familien der Hitzeschockproteine (nach Madden et al. 2008).

Hsp-Familie	Lokalisation in der Zelle	Hauptfunktion
Hsp27	Zytoplasma und Nukleus	Stabilisierung von Mikrofilamenten
Hsp60	Mitochondrien	Schutz und Reparatur von Proteinen
Hsp70-Familie		
Hsp72	Zytoplasma und Nukleus	Proteinfaltung und Zytoprotektion
Hsp73	Zytoplasma und Nukleus	Proteintranslokation
Hsp75	Mitochondrien	Proteintranslokation
Hsp78	Endoplasmatisches Retikulum	Zytoprotektion und Proteintranslokation

### 1.4.3 Hitzeschockprotein 27

Hsp27 ist mit seinem Molekulargewicht von 27 kDa Bestandteil der Gruppe der kleinen Hitzeschockproteine (small heat shock proteins: sHsp). Neben ihrem geringen Molekulargewicht ist diese Gruppe durch eine  $\alpha$ -Kristallin-Domäne an ihrem C-terminalen Ende charakterisiert. Zudem sind die sHSP unabhängig von Adenosintriphosphat (ATP) (Haslbeck et al. 2005; Kato et al. 2011, Doberentz 2017). Hsp27 besitzt die Eigenschaft zu phosphorylieren und zu oligomerisieren. Im dephosphorylierten Zustand kann Hsp27 Oligomere mit einer Größe von bis zu 1000 kDa bilden. Die Oligomerisation spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation der Chaperonaktivität (Mehlen und Arrigo 1994; Wang et al. 2014).

Ohne Ausübung von Stress auf die Zelle wird Hsp27 in der Epidermis exprimiert. Mit zunehmender Differenzierung der Keratinozyten steigt die Expression des Proteins an und im Stratum corneum ist es nicht mehr immunhistochemisch nachweisbar. Hierfür gibt es verschiedene Erklärungsansätze. Zum einen kann es mit der Umwandlung zu

Korneozyten erklärt werden. Eine weitere mögliche Ursache ist der Einbau von Hsp27 in die Matrix der Korneozyten, wodurch das Protein für die immunhistochemische Reaktion nicht mehr verfügbar ist (Jonak et al. 2006; Trautinger et al. 1995). Darüber hinaus postulieren neue Studien einen Zusammenhang zwischen der Hsp27-Expression und altersabhängigen Hautveränderungen (Haslbeck et al. 2005, Rassow et al. 2012).

#### **1.4.4 Hitzeschockprotein 60**

Hsp60 ist in den Mitochondrien lokalisiert, besitzt eine molekulare Masse von 60 kDa und besteht aus 14 Monomeren, die zusammen eine fassartige Struktur formen. Unter ATP-Bindung kommt es zum Schluss des Fasses. In Zusammenarbeit mit dem Co-Chaperon Hsp10 wandelt sich das fehlgefaltete Protein unter ATP-Hydrolyse um und wird anschließend wieder freigesetzt (Beck et al. 2000; Georgopoulos und Welch 1993; Rassow et al. 2012).

#### **1.4.5 Hitzeschockprotein 70**

Die Hitzeschockproteine der Hsp70-Familie haben eine molekulare Masse von 70 bis 78 kDa und stellen bis zu 2 % der gesamten zellulären Proteine dar (Katschinski 2018). Es gibt verschiedene Typen der Hsp70-Familie, die in menschlichem Gewebe vorkommen und in verschiedenen Bereichen einer Zelle lokalisiert sind. Hsp72 und Hsp73, die im Zytoplasma und Nukleus lokalisiert sind, stellen die Hauptvertreter der Hsp70-Familie dar. Hsp72 wird durch Stress induziert und Hsp73 wird konsekutiv in den Zellen gebildet (Feige und Polla 1994; Welch 1992). Darüber hinaus gibt es Hsp75, lokalisiert in den Mitochondrien, und Hsp78, lokalisiert im Endoplasmatischen Retikulum (Madden et al. 2008).

Zusammen mit dem Co-Chaperon Hsp40 unterstützt Hsp70 die Faltung neuer Proteine und die Reparatur falsch konformierter und denaturierter Proteine. Hsp70 ist ATP-abhängig und kann in zwei Zuständen vorliegen: Zum einen gebunden an ATP und mit einer hohen Affinität an Proteine, zum anderen gebunden an Adenosindiphosphat (ADP) und mit einer geringeren Affinität an Proteine (Agashe und Hartl 2000; Beck et al. 2000; Dugaard et al. 2007; Doberentz et al. 2017; Rassow et al. 2012; Welch und Feramisco 1984).

Hsp70 ist bereits Gegenstand vieler Studien. Laplante et al. (1988) untersuchte die Expression von Hsp70 in der Haut von Mäusen während der Wundheilung. Sechs Wochen alten narkotisierten Mäusen wurden Hautwunden hinzugefügt. 24 Stunden bis 21 Tage nach der Verletzung wurden intakte und verletzte Haut als Proben entnommen. Die Ergebnisse zeigten eine Expression von Hsp70 in den oberflächlichen, aber auch in den tiefen Schichten der Epidermis.

Hsp72 als Mitglied der Hsp70-Familie konnte von Trautinger et al. (1993) sowohl unter stressfreien, als auch unter stressinduzierten Bedingungen in der Epidermis detektiert werden. Unter stressfreien Bedingungen war Hsp72 in der Epidermis, jedoch nicht in der Dermis zu finden. Unter Einwirkung von Hitze kam es zu einem Anstieg der Hsp72-Expression in der Epidermis und in den dermalen Kompartimenten. Weitere Studien zeigten, dass die Hsp72-Expression auch im Rahmen von induzierter Kälte zunimmt (Holland et al. 1993).

## **1.5 Aquaporine**

### **1.5.1 Vorkommen und Funktion**

Die Aquaporine (Aqp) gehören zur Familie der Wasserkanäle. Ihre Entdeckung gelang Peter Agre und seinen Kollegen an der Johns-Hopkins-Universität in Baltimore im Jahre 1992 durch Zufall, als sie an Proteinen der Erythrozytenoberfläche forschten. Sie erkannten, dass Aquaporine den Transport von Wasser und kleineren Molekülen wie Glycerol durch biologische Membranen ermöglichen. Der von Ihnen identifizierte erste Wasserkanal wurde CHIP28 genannt und ist heute unter dem Namen Aquaporin 1 (Aqp1) bekannt. Für ihre Entdeckung erhielt Peter Agre 2003 den Nobelpreis für Chemie (Agre 2004; Liu und Agre 2013).

Es existieren 13 Klassen von Aquaporinen bei Säugetieren, wobei sie sich anhand ihrer Funktionen in verschiedene Klassen einteilen lassen. Die klassischen Aquaporine (Aqp1, 2, 4) sind nur für Wasser permeabel. Die Aquaporinkanäle Aqp3, 7, 9 und 10 werden auch Aquaglyceroporine genannt und sind zusätzlich in der Lage Glycerol zu transportieren.

Eine weitere Klasse stellen die Aquaporine Aqp6, 8, 11 und 12 dar, deren Funktion noch nicht abschließend geklärt ist (Rojek et al. 2008; Verkman 2002).

Als Familie der Wasserkanäle sind die Aquaporine maßgeblich an der Regulation des Wasserhaushaltes im menschlichen Organismus beteiligt (Verkman 2002). Viele der Aquaporinkanäle kommen in epithelialen und endothelialen Geweben mit aktivem Flüssigkeitstransport vor. Einige der Aquaporinkanäle lassen sich aber auch in Geweben finden, die nicht am aktiven Flüssigkeitstransport beteiligt sind. Beispielsweise in der Epidermis, im Skelettmuskel, im Fettgewebe oder den Erythrozyten (Hara-Chikuma und Verkman 2008; Verkman 2012). In Abhängigkeit von ihrem Vorkommen erfüllen die Aquaporinkanäle zahlreiche wichtige physiologische Aufgaben. Beispielsweise regulieren sie die Harnkonzentrierung (Aqp1 - 4), den Liquor (Aqp4), oder die exokrine Drüsenfunktion (Aqp5) (Guo et al. 2013; Tradtrantip et al. 2009; Verkman 2008; Verkman 2012; Verkman et al. 2011).

### **1.5.2 Struktur**

Die Aquaporinkanäle haben ein Gewicht von 30 kDa und lagern sich in der Zellmembran zu einem Tetramer zusammen. Jedes Monomer besteht aus sechs  $\alpha$ -Helices, die durch insgesamt fünf Schleifen miteinander in Verbindung stehen. Sowohl der NH<sub>2</sub>- , als auch der COOH-Terminus liegen intrazellulär. Die Schleifen A, C und E sind auf der extrazellulären und die Schleifen B und D auf der intrazellulären Seite zu finden. Die Schleifen B und E beinhalten die Aminosäuresequenz Asparagin, Prolin und Alanin. Untersuchungen von Jung et al. zeigten (s. Abb.7), dass diesen hochkonservierten NPA motifs (Asparagin-Prolin-Alanin) eine zentrale Bedeutung für den Wassertransport zu kommt. Sie bilden die Wasserpore. Pro Sekunde passieren  $3 \times 10^9$  Moleküle den Wasserkanal (Jin Sup Jung et al. 1994; Pollard und Earnshaw 2007; Walz et al. 1997).



keine Keratinozyten und Aqp3-Kanäle auf. Somit kann angenommen werden, dass Aqp3 in Bezug auf die Hydratation der Epidermis eine entscheidende Rolle spielt. Es verhindert einen osmotischen Gradienten über die verschiedenen Schichten der Haut. Weitere Studien an menschlicher Haut kamen zu dem Ergebnis, dass Aqp3 in der Epidermis und Aqp1 um die dermalen Kapillaren lokalisiert ist. Beispielsweise wiesen die Proteine in der Studie von Marchini et al. (2003) an Neugeborenenexanthemen diese Lokalisation auf.

Aqp3 transportiert Glycerol, das für die Regulation der Hautfeuchtigkeit von zentraler Bedeutung ist. Mäusen ohne Aqp3-Kanal und somit auch ohne Glycerol im Stratum corneum wiesen eine trockene Haut auf. Somit ist der Aqp3-Kanal mit der Transportfähigkeit von Glycerol für eine regulierte Hydratation, Elastizität und Zellproliferation der Haut verantwortlich (Hara-Chikuma und Verkman 2005, Bollag et al. 2020). Dies zeigt sich zudem in der Studie von Korany et al. (2019), wo Aqp3 in geringerem Umfang bei der Hauterkrankung des bullösen Pemphigoids vorlag. Beim bullösen Pemphigoid, einer chronischen Autoimmunerkrankung, bilden sich IgG-Autoantikörper gegen die basalen Keratinozyten. Es kommt zur Ausbildung von großen, subepidermalen Blasen.

Aqp3 ist ein verlässlicher Marker für die forensische Diagnostik in Bezug auf antemortem Brandfälle. In der Mitte der Verbrennungswunde fehlt Aqp3 und im Bereich der Brandwundenkante kommt es zur verstärkten Expression (Sebastian et al. 2015).

Aqp3 greift in den Prozess der Wundheilung ein. In Experimenten an Aqp3-defizienten Mäusen wurde deutlich, dass die Wundheilung bei diesen Mäusen verzögert war. Nach dem Beibringen von Hautschnittwunden, wurde die Zeit der Wundheilung an Wildtyp-Mäusen und denen ohne Aqp3-Kanal gemessen. In Wildtyp-Mäusen zeigte sich direkt nach der Verletzung, an Tag eins und an Tag drei eine vermehrte epidermale Zellmigration im Bereich der Wundränder (Hara-Chikuma und Verkman 2008a).

Immunhistochemische Untersuchungen von Aqp1 und Aqp3 der Arbeitsgruppe von Ishida et al. (2018a) konnten bereits einen Zusammenhang zwischen der Expression der Wasserkanäle und verletzter Haut im Rahmen von Strangulationen aufzeigen. Das Kollektiv setzte sich aus 35 Erhängungsfällen und 21 Strangulationsfällen mit einem

postmortalen Intervall von weniger als drei Tagen zusammen. Die intakte Haut der gleichen Fälle wurde als Kontrolle verwendet. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Aqp1-positiv gefärbten Blutgefäßen der verletzten und der intakten Haut festgestellt werden. Aqp3 färbte sich hingegen in der verletzten Haut nach Strangulationen verstärkt in der Epidermis an. Die intakte Haut des Kontrollkollektivs zeigte eine sehr geringe Aqp3-Expression der Keratinozyten. Darüber hinaus ergaben die Untersuchungen von Ishida et al., dass es keine Verbindung zwischen dem Geschlecht, dem Alter oder dem postmortalen Intervall mit der Stärke der Expression von Aqp3 gibt. Bei Ishida et al. (2018a) betrug  $P = 0,01$  und  $P < 0,05$  wurde als signifikant angenommen.

Aqp1 und Aqp3 können zudem zur genaueren Bestimmung des Wundalters verwendet werden (Ishida et al. 2018b). Die 55 Hautverletzungen wurden nach ihrem Wundalter in Gruppen eingeteilt. In Gruppe I betrug das Wundalter null bis drei Tage, in Gruppe II vier bis sieben Tage, in Gruppe III neun bis 14 Tage und in Gruppe IV 17 bis 21 Tage. Es zeigte sich, dass Aqp1 in Gruppe I nur gering nachzuweisen ist. In Gruppe II (vier bis sieben Tage) ist die Aqp1-Expression am stärksten ausgeprägt und sinkt danach wieder. Ähnlich verlief die Expression von Aqp3. In unverletzter Haut und bei verletzter Haut mit einem Wundalter geringer als einen Tag war die Expression des Proteins gering. In Gruppe II und III war Aqp3 verstärkt exprimiert. In Gruppe IV war die Exprimierung reduziert.

## **1.6 Fibronektin**

### **1.6.1 Vorkommen und Funktion**

Der Name Fibronektin stammt aus dem lateinischen „fibra“ (Faser) und „conectere“ (verknüpfen). Fibronektin kommt ubiquitär in Geweben vor und spielt bei zahlreichen physiologischen Prozessen eine bedeutende Rolle. Es ist beispielsweise an der Wundheilung, Zelladhäsion und -migration und Geweberegeneration beteiligt (Grinnell et al. 1981; Repesh et al. 1982; Ruoslahti 1988).

Es gibt zwei Varianten des Fibronektins, das plasmatische und das zelluläre Fibronektin. Das im Zellplasma lokalisierte Fibronektin liegt bei einer Konzentration von 300 µg/ml und

wird von den Hepatozyten synthetisiert (Hörmann 1982; Tamkun und Hynes 1983). Das zelluläre Fibronectin existiert in Form von Fibrillen in der extrazellulären Matrix. Es wird größtenteils von Fibroblasten, aber auch von Endothelzellen, Makrophagen und Chondrozyten gebildet (Mouw et al. 2014; Ruoslahti und Vaheri 1974; Jaffee und Mosher 1978; Alitalo et al. 1980).

### **1.6.2 Struktur**

Fibronectin ist ein dimeres Protein mit einem Molekulargewicht von 45 kDa, dessen Monomere über Disulfidbrücken am C-Terminus miteinander verbunden sind. Jedes Monomer setzt sich aus drei verschiedenen Arten von Modulen zusammen, die sich in ihrer Funktion unterscheiden. Zusammen stellen sie 90 % der Aminosäuresequenz des Fibronectins dar (Löffler und Petrides 1997; Mosher 1993; Ruoslahti et al. 1982).

Sowohl die zwölf Typ I-Module, die sich aus 40 Aminosäureresten zusammensetzen, als auch die zwei Typ II-Module, die aus 60 Aminosäureresten bestehen, binden an Kollagen. Das Typ III-Modul wiederholt sich 15 - 17 Mal und besitzt die charakteristische Bindungsstelle für Integrine mit den Aminosäuren R, G, D (Arginin, Glycin und Asparaginsäure, sogenannte RGD-Regel). Mithilfe dieser verschiedenen Domänen und Bindungsstellen für Integrin und Kollagen schafft Fibronectin eine Verbindung zwischen den Zellen und der extrazellulären Matrix. Durch alternatives Splicing liegen über 20 verschiedene Isoformen des Fibronectins vor (Mouw et al. 2014; Pankov und Yamada 2002; Potts und Campbell 1994; White et al. 2008).

### **1.6.3 Expression von Fibronectin in der Haut**

Fibronectin ist bereits Gegenstand verschiedener Studien, aus welchen sich wichtige Rückschlüsse auf das Protein und seinen Zusammenhang zur Haut herstellen lassen (s. Tab. 3). Grinnell et al. (1981) untersuchten die Expression von Fibronectin während der Wundheilung. Meerschweinchen wurden Hautschnittwunden zugefügt und sowohl fünf Stunden nach der Verwundung, als auch an Tag eins bis acht wurden Proben entnommen. Es zeigte sich, dass Fibronectin bereits in der Wunde mit einem Wundalter von fünf Stunden vorliegt und Fibronectin eine wichtige Komponente der Wundheilung darstellt. Repesh et al. (1982) kamen mit seinen Versuchen an Ratten zu einem ähnlichen

Ergebnis. Die Ratten wurden getötet und Schnittwunden mit einem Wundalter von einem, zwei, drei, vier, fünf und acht Tagen wurden untersucht. Fibronektin konnte im Fibringerinnsel nachgewiesen werden und ist somit eine wichtige Komponente in der frühen Wundheilung.

Fibronektin kann nach Erkenntnissen von Betz et al. (1992) zur Beurteilung der Vitalität von Hautverletzungen verwendet werden. Es zeigte sich immunhistochemisch, dass es zu einer verstärkten Expression in Fällen mit kurzer Überlebenszeit kommt. In zehn von 17 vitalen Wunden mit einem vitalen Wundalter von bis zu einer halben Stunde ließ sich Fibronektin vermehrt nachweisen. Fibronektin fand sich im Bereich des Wundrandes, aber auch in tieferen Schichten. Wunden mit einem Wundalter von bis zu drei Wochen wiesen alle ein typisches Reaktionsmuster im Wundgebiet auf, was auf die Rolle von Fibronektin bei der Wundheilung zurückgeführt wurde. Zudem postulierten Betz et al. (1993) eine postmortale Expression des Proteins am Wundrand, welche aufgrund der Lokalisation von den Fällen mit vitalen Hautverletzungen abgegrenzt werden konnte.

Fieguth et al. (2003) sehen in Fibronektin auch einen Vitalitätsmarker bei kurzer Überlebenszeit. Das Kollektiv der immunhistochemischen Studie von Fieguth et al. setzte sich aus 46 Fällen mit operativ versorgten Wunden und 13 Fällen mit unmittelbar Todesfolge zusammen. Fibronektin färbte sich in Wunden mit einem Wundalter von 20 Minuten an. In den Fällen mit unmittelbarer Todesfolge, zum Beispiel beim Flugzeugabsturz oder Zugüberfahung, zeigte sich keine Expression des Proteins.

Hinsichtlich der postmortal erhöhten Expression von Fibronektin stehen die Ergebnisse von Betz et al. im Kontrast zu Fechner et al. (1993). Diese untersuchten die immunhistochemische Expression an mechanisch beschädigtem Skelettmuskel. Eine positive postmortale Reaktion blieb aus. Kurz nach einer intravitalem Verletzung stieg Fibronektin im Bereich der Schädigung an und es kam im späteren Verlauf auch zu einem Anstieg in der Umgebung. Für den Anstieg unmittelbar posttraumatisch zählen Fechner et al. zwei mögliche Gründe auf. In der frühen Phase bedingt durch den aktiven Transport aufgrund der noch vorhandenen Zirkulation. In der späten Phase bedingt durch die eigene lokale Bildung von infiltrierenden Zellen.

Grellner et al. (1998) führten immunhistochemische Untersuchungen an Schweinen durch. Kurz nach Eintritt des Todes wurden den Schweinen Schnittwunden hinzugefügt. Grellner et al. schließen sich der Meinung Fechners an, denn es konnten keine postmortalen positiven Reaktionen der Muskulatur hinsichtlich der Fibronectin-Expression detektiert werden. Die Verwendung von Fibronectin als Vitalitätsmarker wird als kritisch betrachtet. In lediglich elf von 36 Fälle konnte eine deutliche und in sieben Fällen eine mäßig ausgeprägte Expression von Fibronectin in der Haut beschrieben werden. Zudem entspricht die postmortale Expression nicht der von Betz beschriebenen schwachen Expression, sondern zeigte sich kräftig und in die Umgebung ausstrahlend. Nach Grellner et al. lässt sich somit die postmortale Expression nicht von einer von Betz postulierten vitalen Reaktion unterscheiden.

Untersuchungen von Capatina et al. (2013), aber auch von Ortiz-Rey et al. (2002) sehen die Verwendung von Fibronectin als Vitalitätsmarker kritisch und schreiben Fibronectin eine geringe Sensitivität zu. Die Studie von Capatina et al. umfasst 17 Fälle mit kurzer Überlebenszeit. Die positive Expression von Fibronectin im Bereich der Epidermis war gering und laut Capatina et al. ist eine größere Studie für evidentere Ergebnisse nötig, die individuelle Faktoren wie Begleiterkrankungen oder Todesumstände mit in Betracht zieht. Ortiz-Rey et al. untersuchten die Expression von Fibronectin und Tenascin an menschlichen Hautwunden. Ihr Kollektiv bestand aus 48 vitalen und zehn postmortalen Wunden. Das Wundalter der vitalen Wunden lag zwischen drei Minuten und acht Stunden. In 39,4 % der vitalen Fälle zeigte sich eine immunhistochemische Expression im Bereich des Wundrandes.

Legaz et al. (2018) sehen in Fibronectin einen geeigneten Vitalitätsmarker. Sie fanden in ihrem Kollektiv von 15 Hautverletzungen nach Strangulation eine starke positive Reaktion des Proteins in der Basalmembran und im interstitiellen Bindegewebe. In der Kontrollgruppe mit unverletzter Haut zeigte sich eine leichte Expression von Fibronectin. (Legaz et al. 2018)

**Tab. 3:** Zusammenfassung der Studien Betz et al. (1992), Fieguth et al. (2003), Fechner et al. (1993), Grellner et al. (1998), Capatina et al. (2013), Ortiz-Rey et al. (2002), Legaz et al. (2018).

Untersuchungsgruppe	Zusammensetzung des Kollektivs	Ergebnis
Betz et al.	53 vitale Wunden, 6 postmortale Wunden	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Expression bei kurzer Überlebenszeit (Wundalter bis zu 30 Minuten)</li> <li>• postmortale Expression kann von vitaler Expression abgegrenzt werden</li> </ul>
Fieguth et al.	46 operative Wunden, 13 Fälle mit unmittelbarer Todesfolge	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Expression bei kurzer Überlebenszeit (Wundalter bis zu 20 Minuten)</li> <li>• keine Expression bei Fällen mit unmittelbarer Todesfolge</li> </ul>
Fechner et al.	15 Fälle von mechanisch beschädigter Skelettmuskulatur	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Expression nach 30 Minuten</li> <li>• keine postmortale Expression</li> </ul>
Grellner et al.	postmortal beigebrachte Schnittverletzungen an Schweinen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• geringe Expression (11 von 36 Fällen)</li> <li>• postmortale Reaktion nicht von vitaler Reaktion abgrenzbar</li> </ul>
Capatina et al.	17 Hautwunden	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Expression in Fällen mit kurzer Überlebenszeit gering, geringe Sensitivität</li> </ul>
Ortiz-Rey et al.	48 vitale Wunden, 10 postmortale Wunden	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 39,4 % der vitalen Wunden zeigten Expression, geringe Sensitivität</li> </ul>
Legaz et al.	15 vitale Wunden nach Strangulation, 15 Fälle unverletzter Haut	<ul style="list-style-type: none"> <li>• leichte positive Expression in der Basalmembran und im interstitiellen Bindegewebe in der unverletzten Haut</li> <li>• starke Expression in den Strangulationsmarken</li> </ul>

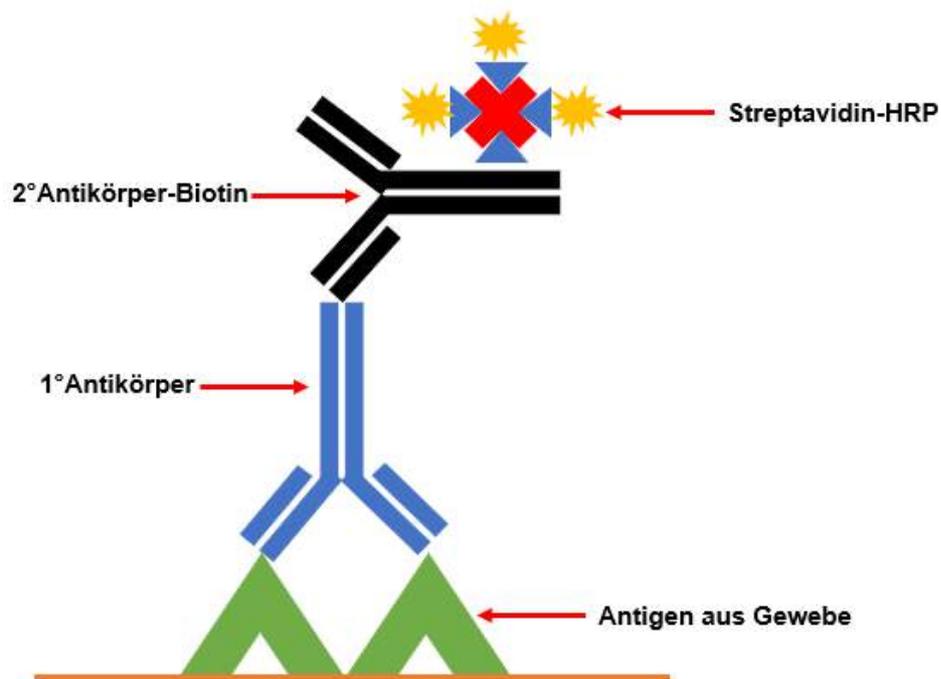
## 1.7 Das Prinzip der Immunhistochemie

Die Verwendung und der Stellenwert von immunhistochemischen Färbemethoden in der forensischen Diagnostik ist in den letzten Jahren zunehmend gewachsen. Erstmals wurden Antigene von Coons und seinen Kollegen mithilfe direkter Immunfluoreszenz nachgewiesen. Seitdem wurden weitere direkte und indirekte Methoden etabliert (Coons et al. 1941).

Die Immunhistochemie beruht auf dem Prinzip der Antigen-Antikörper-Reaktion (s. Abb.10). Die direkte Methode verwendet nur einen Antikörper, der an ein Substrat gebunden ist. Nach dem Auftragen auf das Gewebe bindet der Antikörper an das gesuchte Antigen und löst eine Farbreaktion aus. Die indirekte Methode setzt sich aus mindestens zwei Schritten zusammen und ist, verglichen mit der direkten Methode, präziser. Zunächst wird ein spezifischer Erstantikörper aufgebracht, der sich mit dem zu untersuchenden Antigen verbindet. Im nächsten Schritt wird ein Zweitantikörper hinzugefügt, der sich gegen den Erstantikörper richtet. An diesen Zweitantikörper ist ein Enzym gekoppelt. Durch die Zugabe des Substrates auf das Gewebe wird mithilfe der Enzym-Substrat-Reaktion eine Färbung ausgelöst. Es entsteht ein rotfarbiges Präzipitat, das als indirekter Nachweis für das zu untersuchende Antigen gilt (Coons 1955).

Eine indirekte Methode, die häufig verwendet wird ist die Avidin-Biotin-Komplex (ABC) Methode. Hierbei ist der Erstantikörper unkonjugiert und der Zweitantikörper wird mit dem Vitamin Biotin verbunden. Der Enzymkomplex setzt sich aus biotinylierter Peroxidase und Avidin zusammen. Da Avidin die Fähigkeit besitzt vier Moleküle Biotin zu binden, können mit dieser Methoden an jeden Zweitantikörper mehrere Markermoleküle indirekt binden (Ramos-Vara 2005).

Die ABC-Methode führt bei der Färbung häufig zu falsch positiven Signalen, da Avidin aufgrund des isoelektrischen Punktes an negativ geladene lecithinähnliche Strukturen bindet. Aufgrund dessen wird die Labeled-Streptavidin-Biotin-Methode bevorzugt angewandt. Streptavidin, welches sich vom Bakterium *Streptomyces avidinii* ableitet, hat einen neutralen isoelektrischen Punkt und geht keine Verbindung mit Lecitin ein (Ramos-Vara 2005).



**Abb. 8:** Mechanismus der Immunhistochemie (nach Genecopoeia 2018).

### 1.8 Zielsetzung der Arbeit

Die Vitalitätsbestimmung von Wunden ist ein wichtiger Aspekt in der forensischen Diagnostik. Es ist wichtig, jegliche Art von verletzter Haut zu identifizieren und mit der Todesursache in Verbindung zu setzen. In manchen Fällen mechanischer und thermischer Gewalteinwirkung ist die Erkennung der verletzten Haut nach dem Tod jedoch nicht eindeutig. Beispielsweise können Strangulationsmarken nur bloss ausgebildet sein und im weiteren postmortalen Verlauf verschwinden (Gordon et al. 1988).

In der Vergangenheit konnten bereits verlässliche Marker von einigen unabhängigen Untersuchungsgruppen durch Studien zur Vitalität detektiert werden.

Im Rahmen dieser Dissertation soll durch immunhistochemische Untersuchungen herausgestellt werden, ob unterschiedliche Proteine bei verschiedenen Arten mechanischer und thermischer Gewalteinwirkung im Bereich der verletzten Haut

exprimiert werden und ob sich diese Expression signifikant von unverletzter Haut aus dem Kontrollkollektiv unterscheidet. Somit soll herausgefunden werden, ob sie als Vitalitätsmarker verwendet werden können. Hierbei fokussiert sich die Studie auf die Hsp27, 60, 70, Fibronektin, Aqp1 und 3.

Zudem soll untersucht werden, ob die Parameter Alter, BMI, Geschlecht, das postmortale Intervall, die Agoniedauer und die Art der Verletzung des Studienkollektivs die Expression verändern.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Zusammensetzung Studienkollektiv

Das Studienkollektiv dieser Untersuchungen umfasst 51 Verstorbene. Die Obduktionen wurden im Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Bonn im Zeitraum von 2016 bis 2018 durchgeführt. Fäulnisveränderte Leichname wurden vom Kollektiv ausgeschlossen.

Die 51 Todesfälle setzen sich aus 38 männlichen (74,5 %) und 13 weiblichen (25,5 %) Verstorbenen zusammen. Die Altersspanne liegt zwischen 19 und 95 Jahren (Altersdurchschnitt: 54,7 Jahre) (s. Tab.4).

**Tab. 4:** Übersicht über das Studienkollektiv.

Anzahl	männlich / weiblich	Altersspanne	Altersdurchschnitt
51	38/13	19 - 95	54,7

Die studienrelevanten Informationen wurden aus den Sektionsprotokollen entnommen. Von Bedeutung war hierbei die Art der Verletzung, die Todesursache, das Alter, das Geschlecht, die Größe, das Gewicht, die Lokalisation der verletzten Haut und das postmortale Intervall bis zur Obduktion. Das postmortale Intervall ist der Zeitraum vom Todeszeitpunkt bis zur Obduktion. In Fällen, wo kein exakter Todeszeitpunkt ermittelt werden konnte, wurde der Zeitpunkt gewählt, wo der oder die Verstorbene zuletzt gesehen worden ist. In einem Fall konnte aufgrund der Todesursache (Leichnam mit massiver Körperzerstörung durch Zusanfahung) keine Information zu Größe und Gewicht gewonnen werden.

Darüber hinaus wurde die Agoniedauer bestimmt. Die Agoniedauer beschreibt den Zeitraum von der Entstehung der Verletzung bis zum Todeszeitpunkt. Hier erfolgte die Einteilung in sehr kurz (Sekunden), kurz (Minuten), lang (Stunden) und sehr lang (Tage).

Bei den 51 Todesfällen kam es zu in 47 Fällen zu einer mechanischen Gewalteinwirkung und in vier Fällen zu einer thermischen Gewalteinwirkung auf die Haut. Die

Gewalteinwirkung stellt jedoch nicht zwangsläufig die Todesursache dar. Die geschädigte Haut wurde im Rahmen der Obduktion als Gewebeprobe entnommen und in Formalin fixiert.

Da die Epidermis im Laufe des Färbevorganges nicht in allen 51 Fällen erhalten geblieben ist, variiert die Fallanzahl der jeweiligen Proteine. Tabelle 5 zeigt die Zusammensetzung des Studienkollektivs

**Tab. 5:** detaillierte Zusammensetzung des Studienkollektivs.

Nummer	Art der Verletzung	Todesursache	Geschlecht	Alter	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI	Agoniedauer	Maximales postmortales Intervall bis zur Obduktion in Tagen	Entnahmestelle
1	Biss	Verbluten nach außen	w	40	53	1,71	18,13	kurz	<1	Oberarm
2	Brandwunde	Verbrennen in Kombination mit CO-Vergiftung	m	21	62	1,86	17,86	kurz	2	überall
3	Brandwunde	Verbrennen in Kombination mit CO-Vergiftung	w	75	71	1,60	27,66	kurz	2	überall
4	Exkoration	Kohlenmonoxidvergiftung	m	30	86	1,76	27,76	kurz	3	Finger
5	Exkoration	Polytrauma nach Zugerfassung	m	48	75	1,83	22,40	sehr kurz	3	überall
6	Exkoration	Polytrauma nach Verkehrsunfall	w	78	85	1,54	35,84	sehr lang	2	überall

Nummer	Art der Verletzung	Todesursache	Geschlecht	Alter	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI	Agoniedauer	Maximales postmortales Intervall bis zur Obduktion in Tagen	Entnahmestelle
7	Exkoration	akute Koronarinsuffizienz	m	59	85	1,73	28,40	lang	4	Kopf, Schulter
8	Exkoration	Polytrauma mit Zerreißung des Halsmarks	m	77	80	1,56	33,00	sehr kurz	5	überall
9	Exkoration	Schädel-Hirn-Trauma	m	49	49	1,65	17,92	kurz	5	Wange, Schulter, Ellenbogen
10	Exkoration	Akute Koronarinsuffizienz	m	71	111	1,73	37,09	kurz	2	Kopf
11	Exkoration	Polytrauma	m	73	59	1,72	20,04	kurz	1	Kopf
12	Hautvertrocknung	Ersticken	w	89	74	1,62	28,20	kurz	2	Hals
13	Hautvertrocknung	Reinfarkt	m	74	60	1,70	20,90	lang	5	Brust
14	Hautvertrocknung	Lungenembolie beidseits	w	67	47	1,57	18,95	lang	1	Brust
15	Hautvertrocknung	Verbluten nach innen	m	58	107	1,85	31,26	lang	3	Brust
16	Hautvertrocknung	makroskopisch unklar	m	19	76	1,81	23,20	lang	4	Brust

Nummer	Art der Verletzung	Todesursache	Geschlecht	Alter	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI	Agoniedauer	Maximales postmortales Intervall bis zur Obduktion in Tagen	Entnahmestelle
17	Hautveretrocknung	Subarachnoidalblutung	m	47	90	1,78	28,47	lang	5	Brust
18	Hautveretrocknung	Reinfarkt	m	73	130	1,83	38,82	lang	5	Brust
19	Hautveretrocknung	makroskopisch unklar	m	48	75	1,78	23,67	lang	3	Brust
20	Hautveretrocknung	makroskopisch unklar	w	29	83	1,60	32,42	lang	4	Brust
21	Hautveretrocknung	makroskopisch unklar	m	36	84	1,75	27,43	lang	3	Brust
22	Hautveretrocknung	Verbluten nach innen	w	67	76	1,62	28,96	lang	2	Brust
23	Hautveretrocknung	makroskopisch unklar	m	42	54	1,55	22,48	lang	3	Brust
24	Kälteerythem	Unterkühlung	w	58	62	1,72	21,09	lang	19	Kniegelenk
25	Kälteerythem	Unterkühlung	m	68	80	1,64	29,74	lang	9	Kniegelenk
26	Quetsch-Risswunde	Verbluten nach außen	m	56	88	1,69	30,64	lang	5	Kopf

Nummer	Art der Verletzung	Todesursache	Geschlecht	Alter	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI	Agoniedauer	Maximales postmortales Intervall bis zur Obduktion in Tagen	Entnahmestelle
27	Quetsch-Risswunde	Verbluten nach außen	m	45	65	1,80	20,06	lang	5	Kopf
28	Quetsch-Risswunde	makroskopisch unklar	m	52	91	1,80	28,09	lang	5	Kopf
29	Quetsch-Risswunde	Herzinfarkt	m	66	84	1,75	27,43	kurz	7	Kopf
30	Quetsch-Risswunde	Schädel-Hirn-Trauma	m	71	80	1,80	24,69	kurz	4	Kopf
31	Quetsch-Risswunde	Schädel-Hirn-Trauma	m	50	92	1,75	30,04	kurz	3	Kopf
32	Quetsch-Risswunde	Schädelbasisbruch	m	49	80	1,75	25,96	kurz	2	Kopf
33	Quetsch-Risswunde	Verbluten nach innen	m	73	78	1,74	25,76	kurz	2	Kopf
34	Quetsch-Risswunde	Verbluten nach außen	m	42	87	1,76	28,09	kurz	9	Unterarm
35	Quetsch-Risswunde	Reinfarkt	w	75	61	1,65	22,41	kurz	3	Kopf
36	Quetsch-Risswunde	Herzinfarkt	m	38	97	1,81	29,70	lang	6	Kopf

Nummer	Art der Verletzung	Todesursache	Geschlecht	Alter	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI	Agoniedauer	Maximales postmortales Intervall bis zur Obduktion in Tagen	Entnahmestelle
37	Quetsch-Risswunde	Peritonitis	m	52	63	1,73	21,05	lang	4	Kopf
38	Quetsch-Risswunde	Schädel-Hirn-Trauma	m	55	104	1,75	33,83	kurz	3	Kopf
39	Quetsch-Risswunde	Verbluten nach innen	w	83	59	1,72	20,04	lang	3	Kopf
40	Quetsch-Risswunde	Massive Körperzerstörung durch Zufanführung	m	54	70	/	/	sehr kurz	4	überall
41	Quetsch-Risswunde	Polytrauma	m	31	71	1,70	24,57	sehr kurz	5	Kopf
42	Schnitt	Verbluten nach innen	w	39	43	1,50	19,11	kurz	3	Kopf, Nacken
43	Schnitt	Verbluten nach innen	m	48	119	1,68	42,16	kurz	3	Hals, Unterarm
44	Schuss	Verbluten nach außen	m	40	71	1,80	21,88	kurz	<1	Oberschenkel
45	Schuss	Kopfdurchschuss	m	95	68	1,73	22,72	sehr kurz	8	Kopf
46	Strangulation	atypisches Erhängen	m	27	65	1,63	24,46	kurz	5	Hals

Nummer	Art der Verletzung	Todesursache	Geschlecht	Alter	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI	Agoniedauer	Maximales postmortales Intervall bis zur Obduktion in Tagen	Entnahmestelle
47	Strangulation	atypisches Erhängen	w	55	59	1,56	24,16	kurz	2	Hals
48	Strangulation	typisches Erhängen	m	42	73	1,75	23,84	kurz	6	Hals
49	Strangulation	atypisches Erhängen	m	81	73	1,69	25,56	kurz	5	Hals
50	Strangulation	typisches Erhängen	w	41	125	1,65	45,77	lang	4	Hals
51	Strangulation	Ersticken	m	35	105	1,70	36,40	kurz	3	Hals

## 2.2 Zusammensetzung des Kontrollkollektivs

Bei den Gewebeproben des Kontrollkollektivs handelt es sich um die augenscheinlich unverletzte Bauchhaut des unter 2.1 beschriebenen Studienkollektivs.

## 2.3 Vorbereitung des histologischen Materials

Bei den Obduktionen wurden die Gewebeproben entnommen und in 4 % -igem Formalin fixiert. Bevor die Proben in Paraffin eingebettet wurden, wurden sie im Autotechnikon (Firma Shandon, Modell Citadell 1000) entwässert. Anschließend wurden die Gewebelöcke am Mikrotom (Firma Leica, Modell Jung HN 40) zugeschnitten, auf Objektträger (Firma Superior, Histobond) aufgebracht und anschließend über 48 Stunden bei 37 °C getrocknet.

Für die weitere immunhistochemische Färbung musste zunächst das Paraffin entfernt werden. Dafür wurden die Gewebeschnitte für 20 Minuten in Xylol getaucht und danach in eine absteigende Alkoholreihe (2 x 100 %, 2 x 96 %, 2 x 70 %, 2 x 50 %) gelegt und anschließend in TRIS-Puffer gespült. Auf diese Weise wurde das Paraffin nach und nach aufgelöst und nur das eingebettete Organ blieb zurück.

Durch die Fixierung von Formalin lagen die Antigene nicht frei vor. Durch ein 30-minütiges Kochen in Citratpuffer in einer Mikrowelle wurde die Anfärbbarkeit der Schnitte verbessert. Danach wurden die Schnitte bei Raumtemperatur 20 Minuten abgekühlt und erneut in TRIS-Puffer gespült.

#### **2.4 Immunhistochemische Färbung**

Die Färbung erfolgte nach dem Prinzip der Immunhistochemie (siehe 1.7) in Abhängigkeit von den jeweiligen Proteinen. Es wurden verschiedene Antikörper verwendet (Tabelle 6).

Bei den Proteinen Aqp1, Aqp3 und Fibronectin wurde am ersten Tag nach dem Auftropfen der Peroxidase-Block-Lösung der spezifische Erstantikörper aufgetragen und anschließend über Nacht inkubiert (s. Tab.6). Bei Aqp 1 handelt es sich um den Mouse monoclonal antibody von Abcam, bei Aqp 3 um den Polyclonal rabbit antibody von Abcam und bei Fibronectin um den Rabbit anti-human antibody von Dako. Am nächsten Tag wurde der Zweitantikörper auf das Präparat aufgetragen.

Die Hitzeschockproteine Hsp27, 60, 70 wurden mit der bereits beschriebenen LSAB-Methode gefärbt. Der spezifische Erstantikörper wurde auf die Gewebsschnitte aufgetragen und anschließend über Nacht inkubiert. Am zweiten Tag wurde zunächst der biotinylierte Zweitantikörper und anschließend der Streptavidinkomplex hinzugegeben. Mit dem Substrat wurde letztendlich die Expression erzielt. Unter 6.1 findet sich ein detailliertes Färbeprotokoll.

**Tab. 6:** verwendete Antikörper der einzelnen Proteine.

Färbung	Erstantikörper	Verdünnung	Zweitantikörper
Hsp27	Mouse anti-heat shock protein 27 monoclonal antibody, NCL-Hsp27, abcam	1:20	LSAB2 System-HRP- Kit, Code K0675, von Dako
Hsp60	Mouse anti-Hsp60 clone 1, Sigma Aldrich	1:400	LSAB2 System-HRP- Kit, Code K0675, von Dako
Hsp70	Heat shock protein 70 mouse monoclonal antibody, NCL-Hsp70, abcam	1:25	LSAB2 System-HRP- Kit, Code K0675, von Dako
Aqp1	Mouse monoclonal antibody, abcam	1:100	Dako Envision+, Dual Link System, Code K4063
Aqp3	Rabbit polyclonal antibody, abcam	1:500	Dako Envision+, Dual Link System, Code K4063
Fibronectin	Rabbit anti human Fibronectin, Dako	1:100	Dako Envision+, Dual Link System, Code K4063
HE-Färbung	/	/	/

Die Positivkontrollen entstammen von unterschiedlichen Geweben und wurden bei jedem immunhistochemischen Färbedurchlauf mitgefärbt (s. Tab.7).

**Tab. 7:** Positivkontrollen der einzelnen Proteine.

Färbung	Positivkontrolle
Hsp27	Haut
Hsp60	Niere
Hsp70	Haut
Aqp1	Niere
Aqp3	Niere
Fibronectin	Tonsille

## 2.5 Fotografie und mikroskopische Auswertung

Die lichtmikroskopische Beurteilung der Präparate erfolgte bei 400-facher Vergrößerung. Fotografiert wurde mit dem Fotoapparat Olympus Model-Nummer: E520 bei maximaler Belichtung des Mikroskops (Stufe 10). Die Belichtungszeit betrug 1/160 Sekunde, der Lichtwert lag bei 1,7 Schritten.

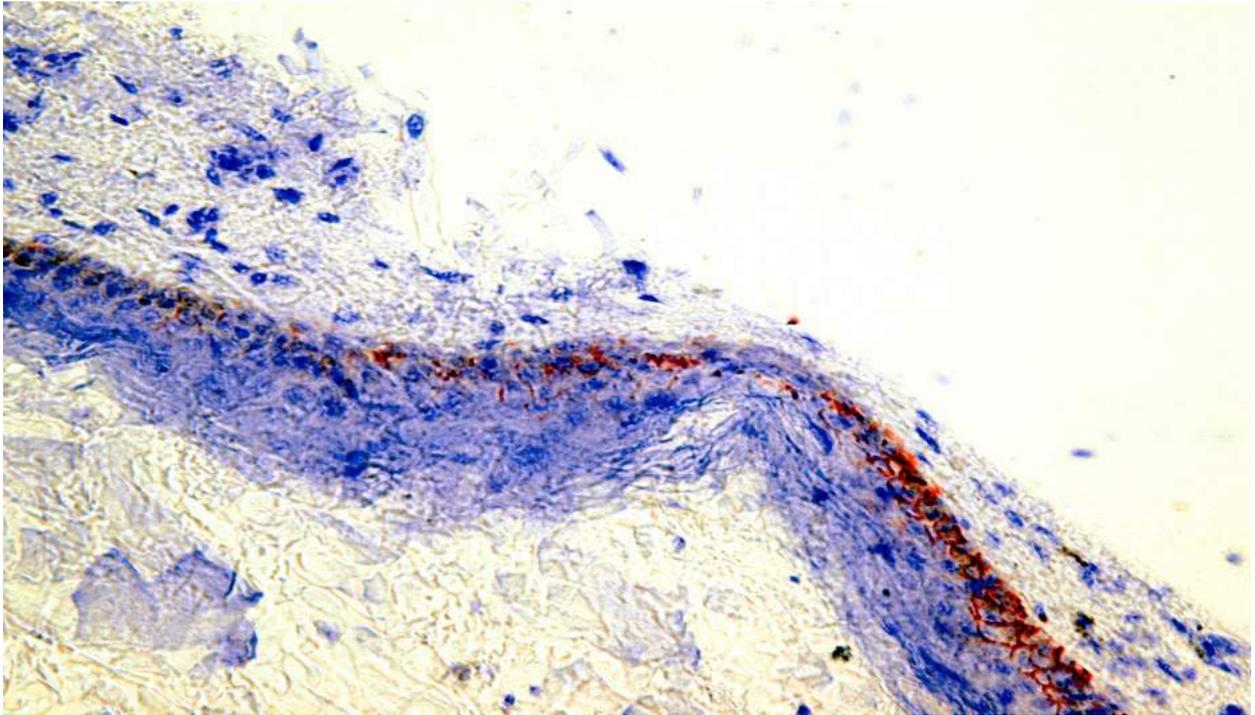
Die mikroskopische Auswertung der immunhistochemisch angefärbten Schnitte erfolgte semiquantitativ.

Bei den Aquaporinen und Hitzeschockproteinen wurden in Anlehnung an Ishida et al. (2018a) sowohl 10 Gesichtsfelder von der Epidermis, als auch von der Dermis nach dem Zufallsprinzip ausgewählt. Beim Betrachten der Epidermis wurde das Verhältnis von angefärbten Keratinozyten zu den dargestellten Keratinozyten prozentual angegeben. Beim Betrachten der 10 Gesichtsfelder der Dermis wurden die positiv gefärbten Kapillaren pro Gesichtsfeld gezählt. Somit wurde bei jedem Fall für jedes Protein die durchschnittliche relative Expression der Epidermis und die durchschnittliche Anzahl positiv gefärbter Kapillaren pro Gesichtsfeld berechnet. Anschließend wurden die Ergebnisse der einzelnen Fälle zusammengerechnet und die gesamte durchschnittliche Expression für jedes Protein ermittelt.

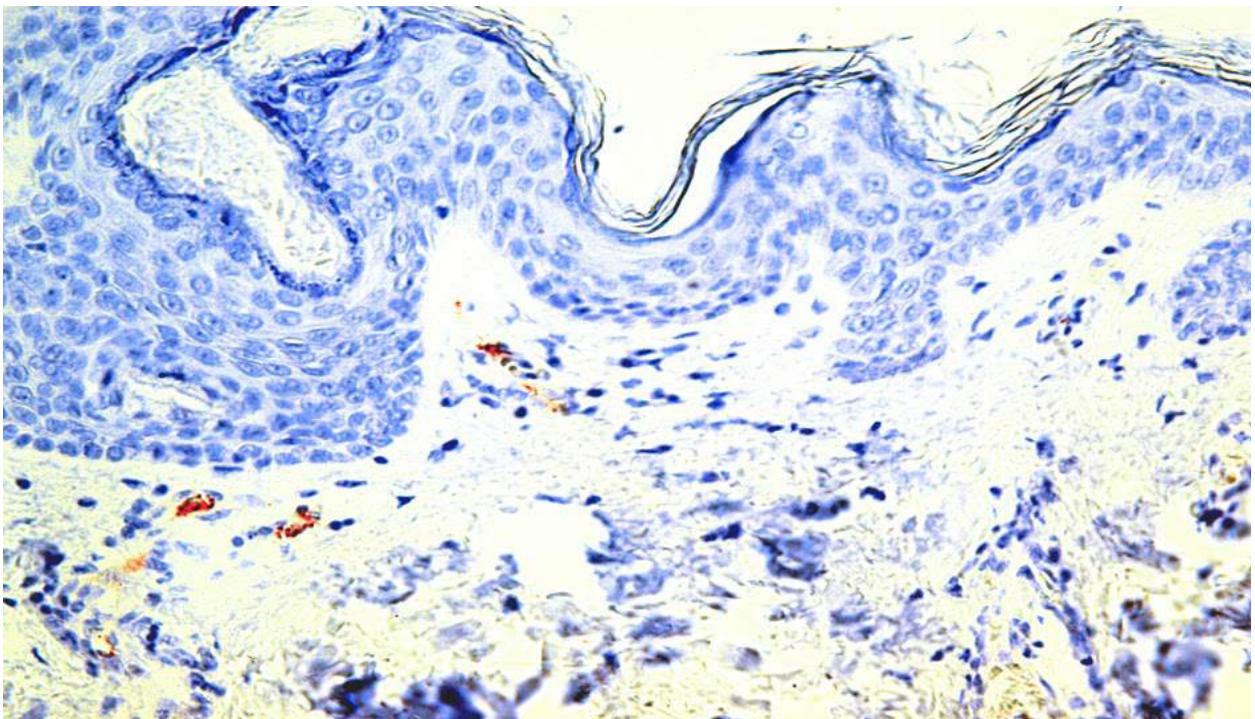
Das Protein Fibronectin wurde in Anlehnung an Capatina et al. (2013) ausgewertet. Es wurde die Expression in der Epidermis und in der extrazellulären Matrix beobachtet und wie folgt eingeteilt: negativ (keine Expression) = 0; schwach positiv (Expression sichtbar in 400-facher Vergrößerung) = 1; stark positiv (Expression sichtbar in 200-facher Vergrößerung).



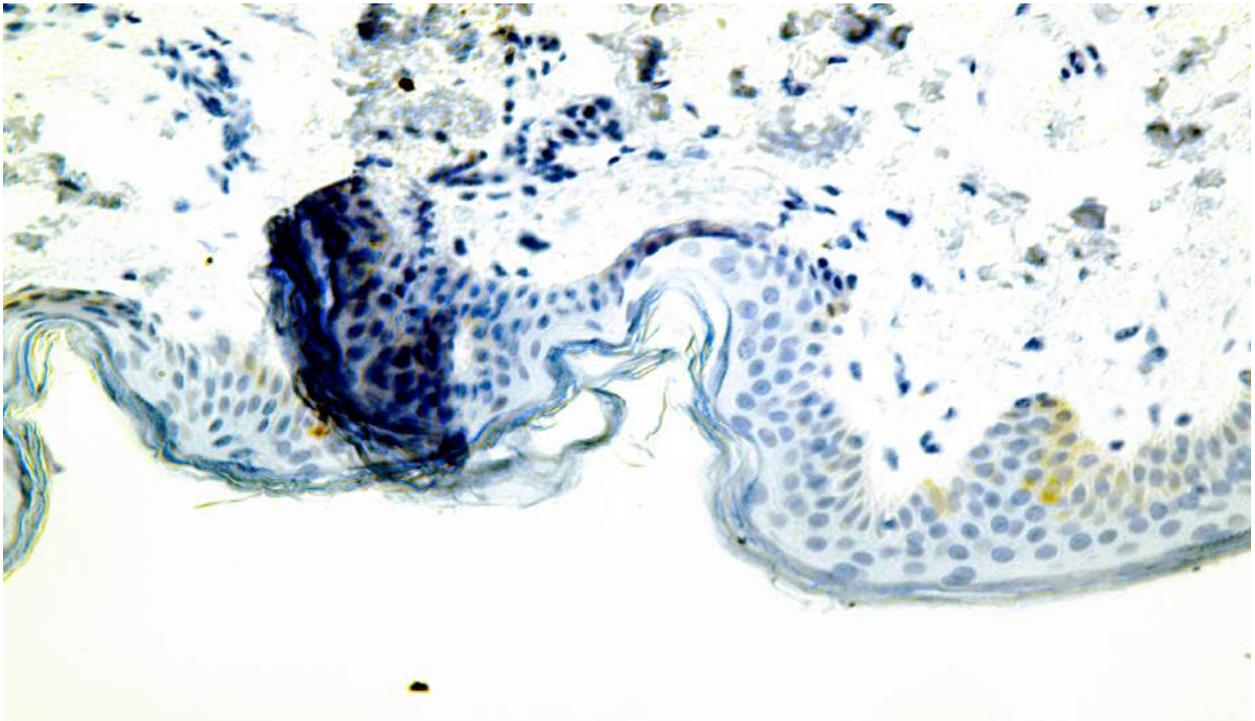
**Abb. 9:** Studienkollektiv, Aqp3, Quetsch-Risswunde, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung.



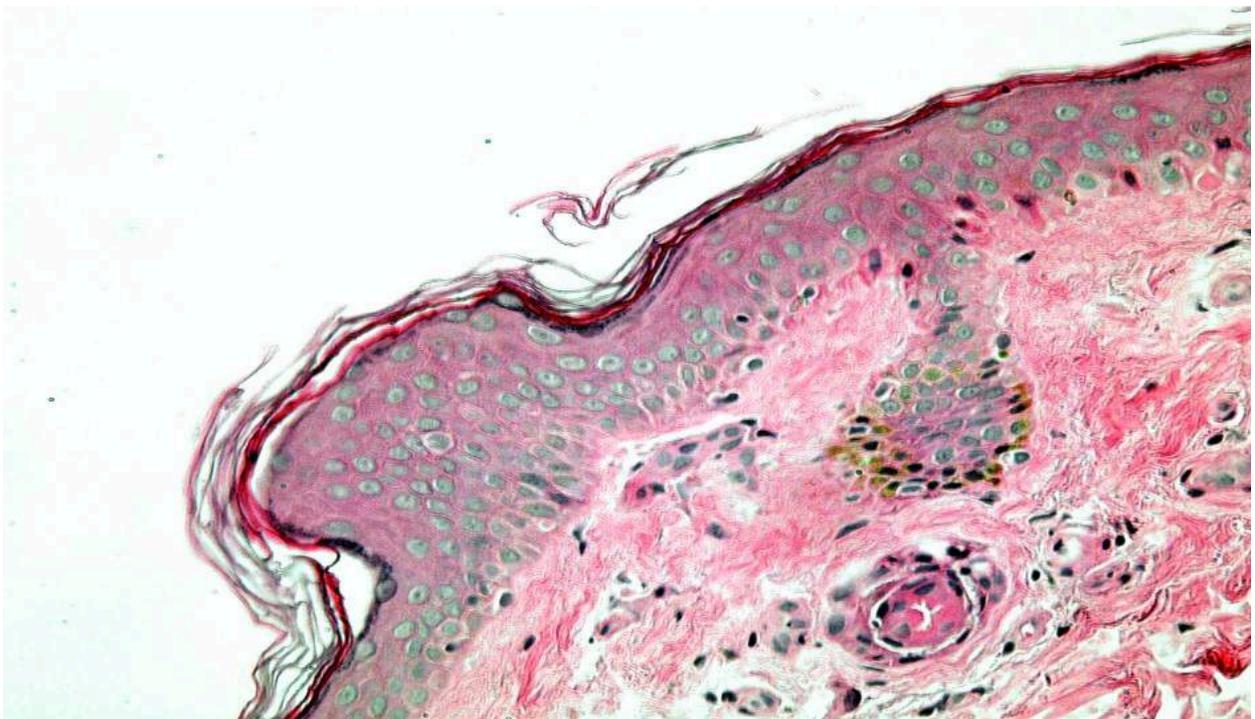
**Abb. 10:** Studienkollektiv, Aqp3, Hautvertrocknung, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 50 %, 400-fache Vergrößerung.



**Abb. 11:** Studienkollektiv, Aqp1, Schnittverletzung, Anzahl Aqp1-positiver Blutgefäße: 3, 400-fache Vergrößerung.



**Abb. 12:** Kontrollkollektiv, Aqp1, Schussverletzung, keine Expression, 400-fache Vergrößerung.



**Abb. 13:** Studienkollektiv, HE-Färbung, Quetsch-Risswunde, 400-fache Vergrößerung.

## 2.6 Statistische Auswertung

Hinsichtlich der Aquaporine und Hitzeschockproteine wurde zunächst für jedes Protein der Mittelwert und die Standardabweichung für die Expression der Epidermis und der Blutgefäße berechnet.

Zur Überprüfung der statistischen Signifikanz wurde der t-Test ( $n > 30$ ) für unabhängige Stichproben und der Mann-Whitney-U-Test ( $n \leq 30$ ) verwendet.  $P < 0,05$  wurde als signifikant angenommen (Verwerfung der Nullhypothese). Die Voraussetzungen zur Anwendung dieser Signifikanztests werden erfüllt. Es handelt sich bei den Stichproben der verletzten und der intakten Haut um zwei unabhängige Stichproben. Darüber hinaus sind Varianzgleichheit und annähernd gleiche Stichprobengrößen gegeben. Von einer Normalverteilung kann man nach dem zentralen Grenzwertsatz der Mathematik ausgehen. Bei Berechnungen, in denen die Anzahl der Fälle kleiner gleich 30 ist, wird der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Ist die Anzahl der Fälle größer 30, kommt der t-Test für unabhängige Stichproben zum Tragen.

Zusätzlich wurde die Relation zwischen der Aqp3-Expression der Epidermis und dem Kollektiv ausgewertet. Hierbei wird auf unterschiedliche Korrelationskoeffizienten zurückgegriffen, da unterschiedliche Skalenniveaus vorliegen. Insgesamt wurde die Verbindung des Alters, des Geschlechts, der Verletzungsart, des BMIs, der Agoniedauer und des postmortalen Intervalls mit dem Aqp3-Kollektiv näher betrachtet.

Für das Alter, den BMI und das postmortale Intervall wurde der Pearson-Korrelationskoeffizient verwendet, da hier metrisch skalierte Daten mit der metrisch skalierten Aqp3-Expression verglichen wurden. Beim postmortalen Intervall wurde Fall 10 nicht berücksichtigt, da es sich um einen Ausreißer handelt.

Bei der Agoniedauer handelt es sich um ein ordinal skaliertes Merkmal, weshalb der Korrelationskoeffizient nach Spearman verwendet werden muss (Vergleich von metrisch skalierten Daten mit ordinal skalierten Daten).

Die Relation des Geschlechts und der Verletzungsart mit der Aqp3-Expression wurde mit dem Eta-Koeffizienten berechnet. Der Eta-Koeffizient erlaubt eine Berechnung des Zusammenhangs zwischen nominal skalierten und metrisch skalierten Merkmalen.

Die Werte der Korrelationskoeffizienten liegen zwischen null bis eins, wobei null keinen Zusammenhang und eins einen starken Zusammenhang bedeutet. Liegt der Korrelationskoeffizient im negativen Bereich von minus eins bis null spricht dies für einen negativen Zusammenhang. Nach der Interpretation nach Cohen besagt ein Korrelationskoeffizient  $r \geq 0,1$  eine geringe,  $r \geq 0,3$  eine mittlere und  $r \geq 0,5$  eine hohe Korrelation.

Aufgrund der multiplen Korrelationstests wurde das Signifikanzniveau mit Hilfe der Bonferroni-Korrektur von  $p < 0,05$  auf  $p < 0,000714$  korrigiert. Das korrigierte Signifikanzniveau ergibt sich in dem das angestrebte Signifikanzniveau (0,05) durch die Anzahl der Korrelationstests (7 – Aqp3-Expression getestet mit Kontrollgruppe, Alter, Geschlecht, BMI, postmortalem Intervall, Verletzungsart und Agoniedauer).

### 3. Ergebnis

#### 3.1 Allgemein

Die Ergebnisse der durchschnittlichen relativen Expression der Epidermis und die durchschnittliche Anzahl der gefärbten Blutgefäße der Aquaporine und der Hitzeschockproteine werden in Tabelle 8 und 9 dargestellt.

Die Positivkontrollen, die in jedem Färbedurchlauf mitgefärbt wurden, wiesen keine Auffälligkeiten auf.

**Tab. 8:** Übersicht der mikroskopischen Auswertung der einzelnen Proteine mit Angabe des Mittelwertes der relativen Epidermisexpression, der Standardabweichung und der Signifikanz des t-Tests in der Epidermis.

	Hsp27	Hsp27-Ko	Hsp60	Hsp60-Ko	Hsp70	Hsp70-Ko	Aqp1	Aqp1-Ko	Aqp3	Aqp3-Ko
Mittelwert Epidermis (%)	60,55	73,60	5,56	8,89	5,65	10,59	0	0	70,48	42,98
Standardabweichung	45,06	38,35	23,57	26,76	17,74	26,57	0	0	27,67	23,31
Mann-Whitney-U-Test	0,125		0,5		0,301		/		0,001	
Anzahl Fälle	20		18		17		18		21	

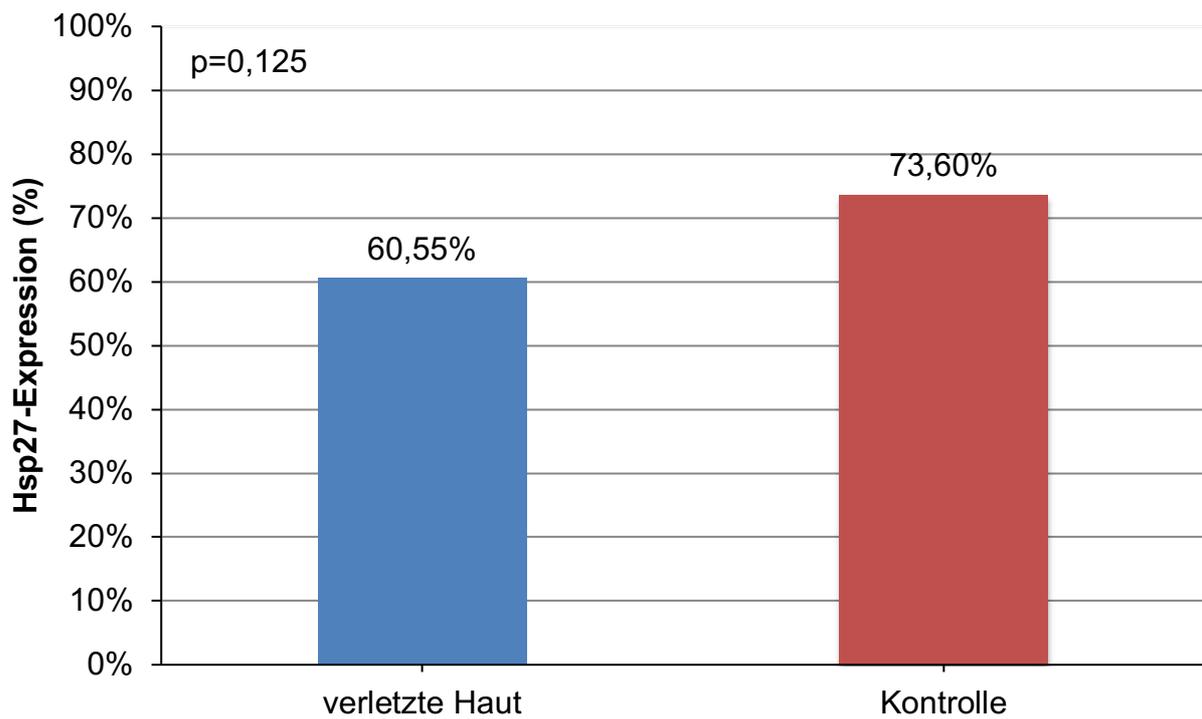
**Tab. 9:** Übersicht der mikroskopischen Auswertung der einzelnen Proteine mit Angabe des Mittelwertes der durchschnittlichen Anzahl an Blutgefäßen pro Gesichtsfeld, der Standardabweichung und der Signifikanz des t-Tests in der Dermis.

	Hsp27	Hsp27-Ko	Hsp60	Hsp60-Ko	Hsp70	Hsp70-Ko	Aqp1	Aqp1-Ko	Aqp3	Aqp3-Ko
durchschnittliche Anzahl Blutgefäße	1,02	0,97	0,16	0,08	0	0	1,32	0,74	0,1	0,12
Standardabweichung	1,35	1,1	0,42	0,27	0	0	1,55	1,25	0,22	0,34
t-Test (1-Seitig)	0,439		0,1375		/		0,0575		0,3595	
Anzahl Fälle	35		41		34		31		38	

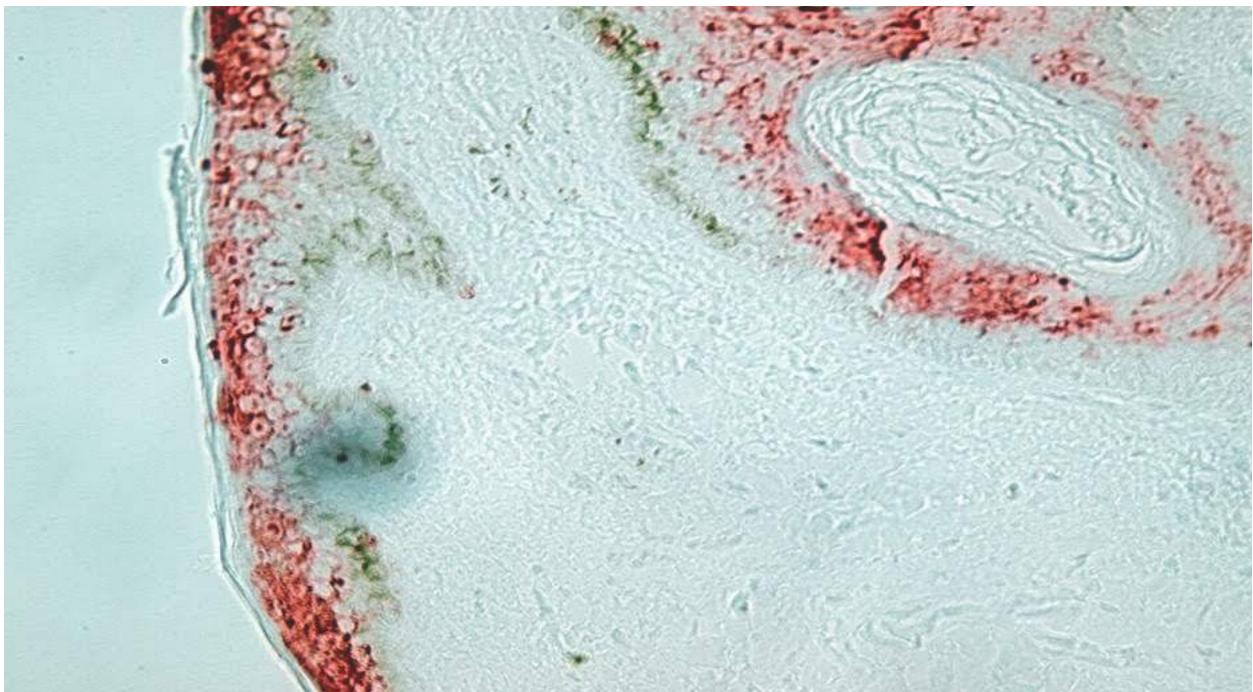
Die Auswertung von Fibronektin in Anlehnung an Capatina et al. (2013) wird in Tabelle 12 aufgeführt.

### 3.2 Expression von Hitzeschockprotein 27

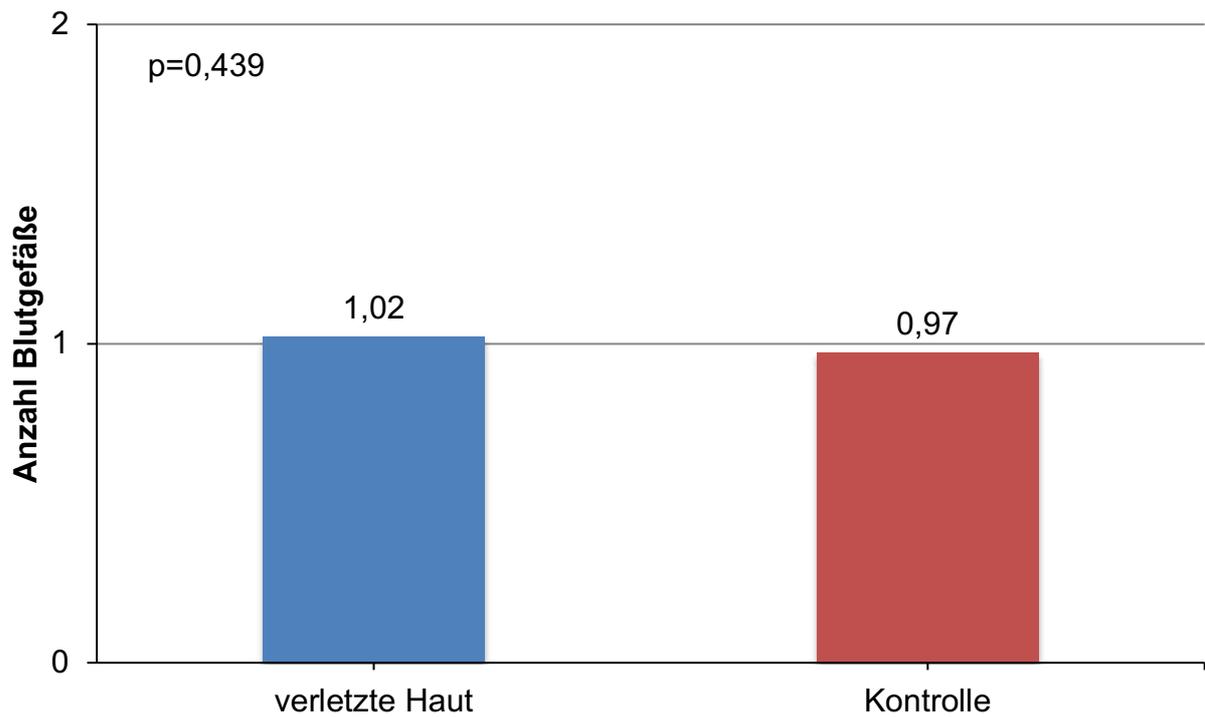
Hsp27 färbte sich in der Epidermis der verletzten Haut zu 60,55 % und in der Kontrollgruppe zu 73,60 % an. Durchschnittlich waren in der Dermis der verletzten Haut 1,02 Blutgefäße pro Gesichtsfeld angefärbt. In der Kontrollgruppe lag die Anzahl der positiv gefärbten Blutgefäße pro Gesichtsfeld bei 0,97 Blutgefäßen.



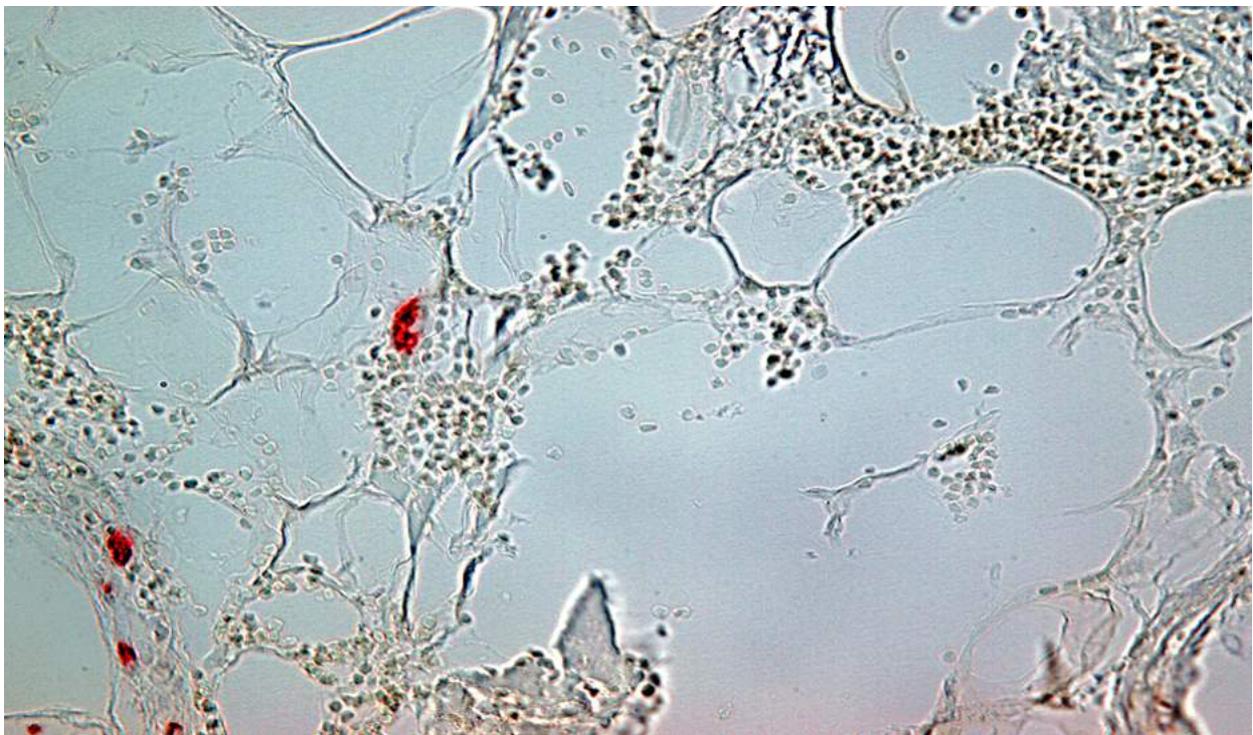
**Abb. 14:** durchschnittliche relative Hsp27-Expression pro Gesichtsfeld der Epidermis, Studienkollektiv.



**Abb. 15:** Studienkollektiv, Hsp27, Schussverletzung, relative Hsp27-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung.



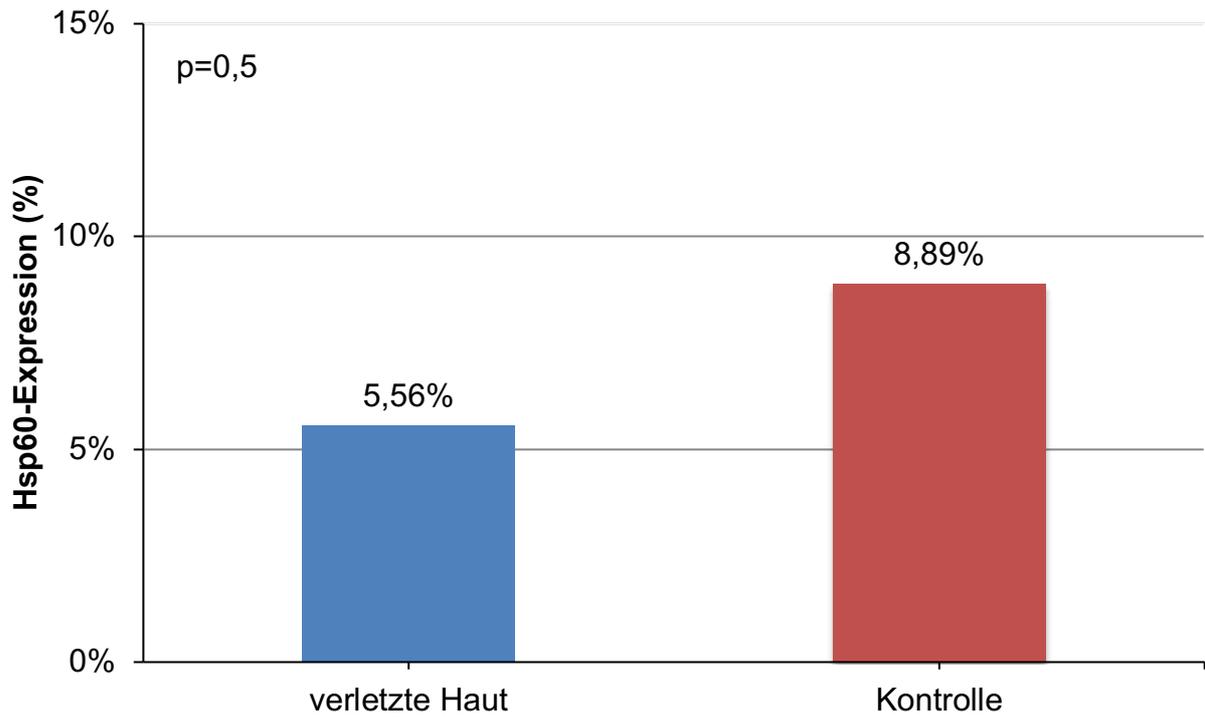
**Abb. 16:** Anzahl durchschnittlich gefärbter Hsp27-Blutgefäße pro Gesichtsfeld in der Dermis, Studienkollektiv.



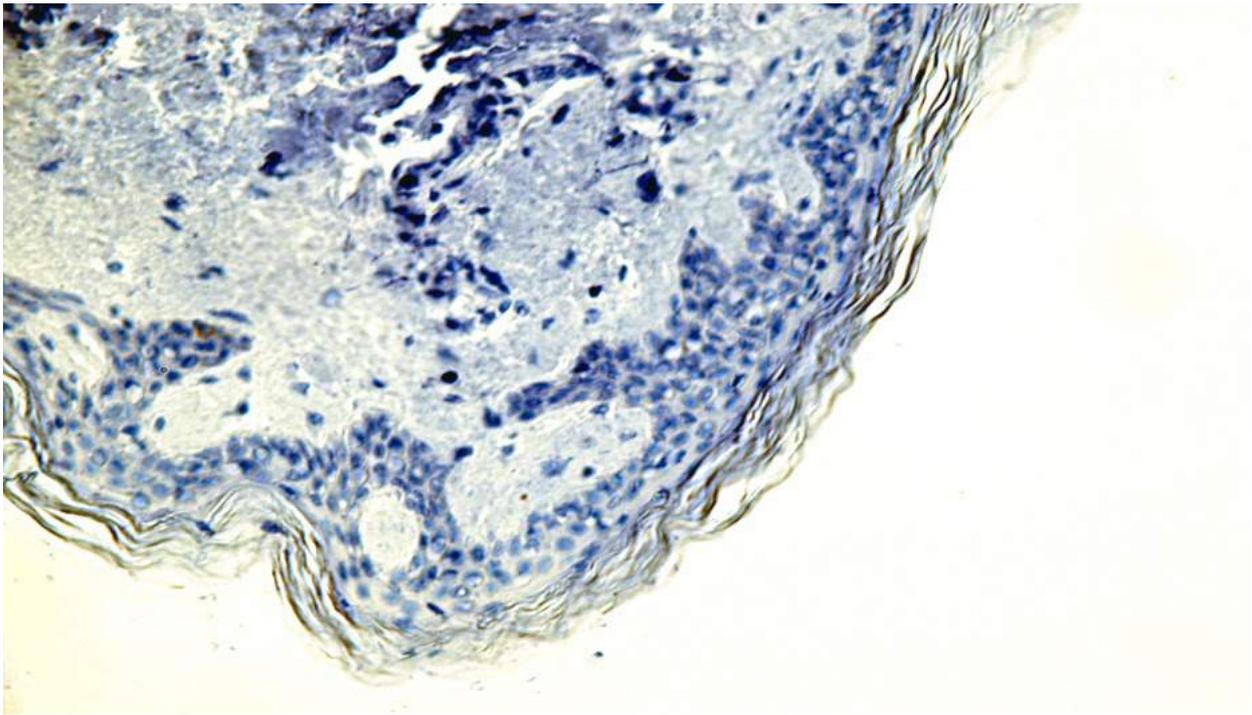
**Abb. 17:** Studienkollektiv, Hsp27, Hautvertrocknung, Anzahl Hsp27-positiver Blutgefäße: 4, 400-fache Vergrößerung.

### 3.3 Expression von Hitzeschockprotein 60

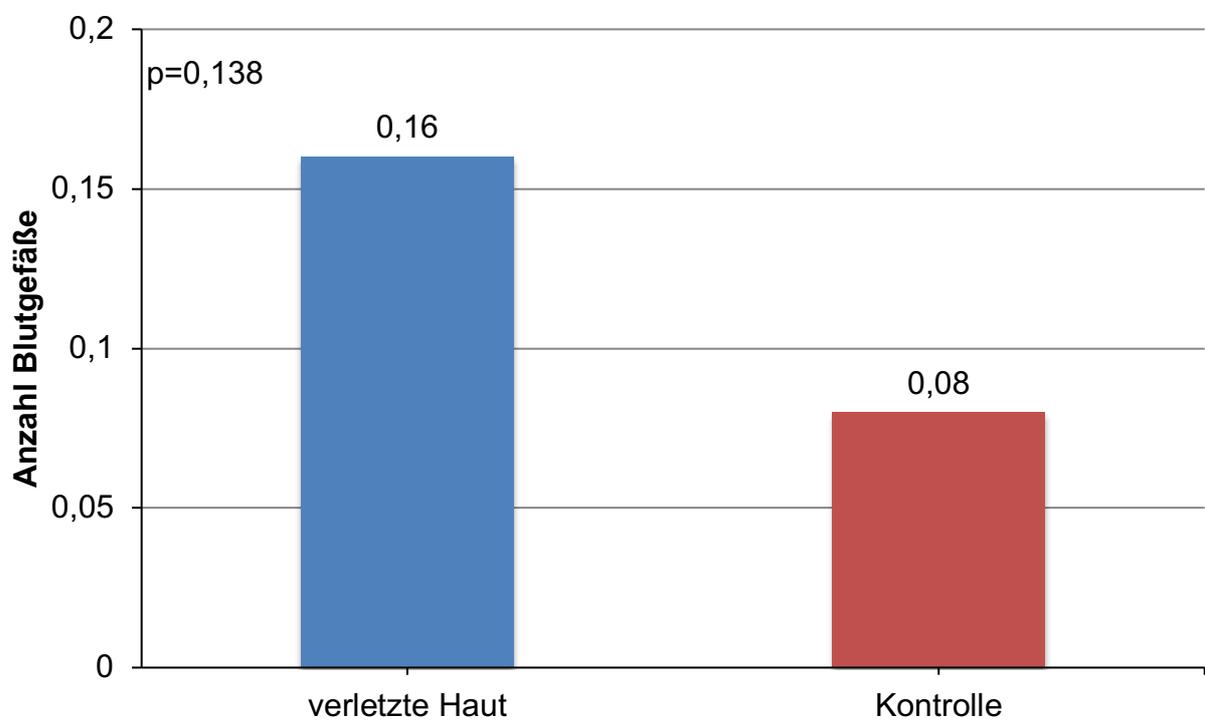
Hsp60 färbte sich in der Epidermis der verletzten Haut zu 5,56 % und in der Kontrollgruppe zu 8,89 % an. Durchschnittlich waren in der Dermis der verletzten Haut 0,16 Blutgefäße pro Gesichtsfeld angefärbt. In der Kontrollgruppe lag die Anzahl der positiv gefärbten Blutgefäße pro Gesichtsfeld bei 0,08 Blutgefäßen.



**Abb. 18:** durchschnittliche relative Hsp60-Expression pro Gesichtsfeld der Epidermis, Studienkollektiv.



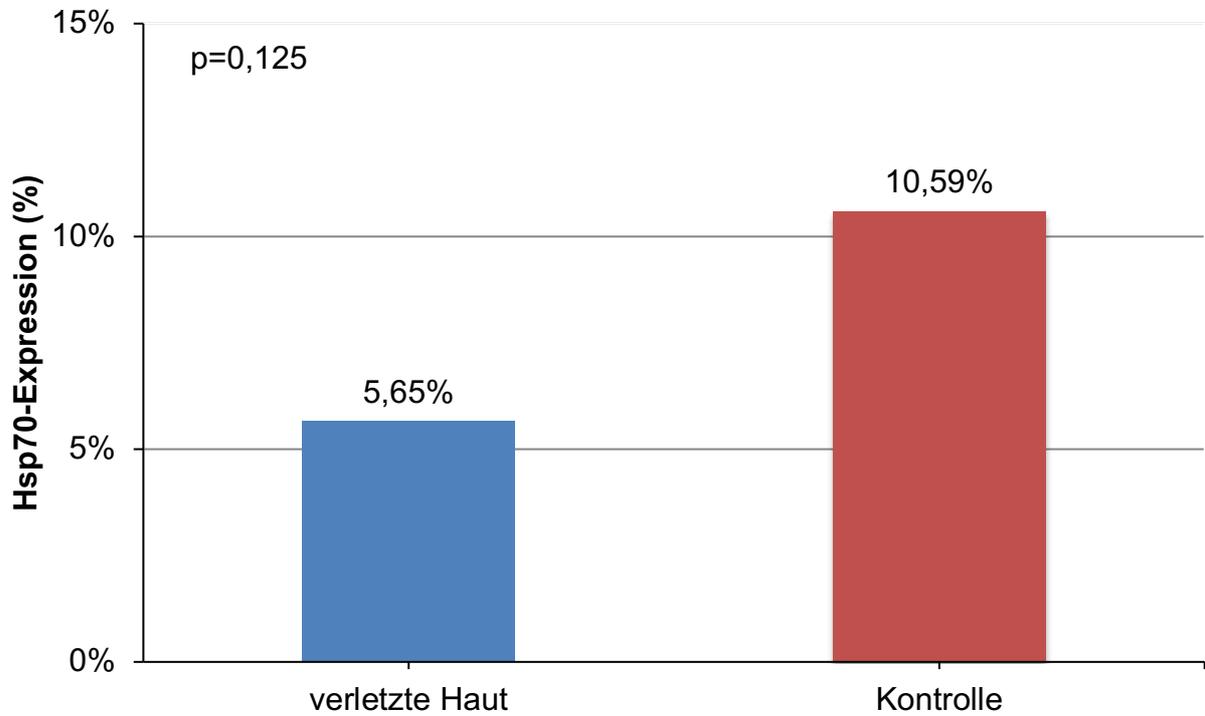
**Abb. 19:** Studienkollektiv, Hsp60, Exkoration, relative Hsp60-Expression der Epidermis: 0 %, 400-fache Vergrößerung.



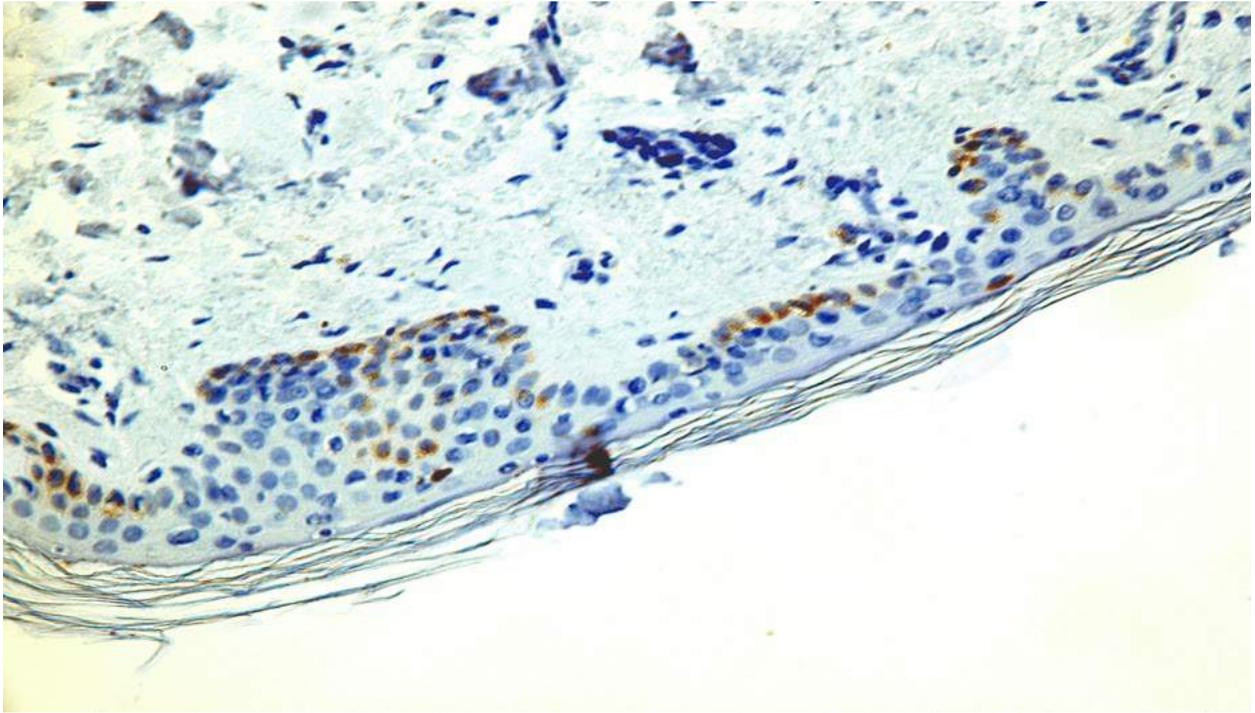
**Abb. 20:** durchschnittliche Anzahl Hsp60-gefärbter Blutgefäße pro Gesichtsfeld in der Dermis, Studienkollektiv.

### 3.4 Expression von Hitzeschockproteins 70

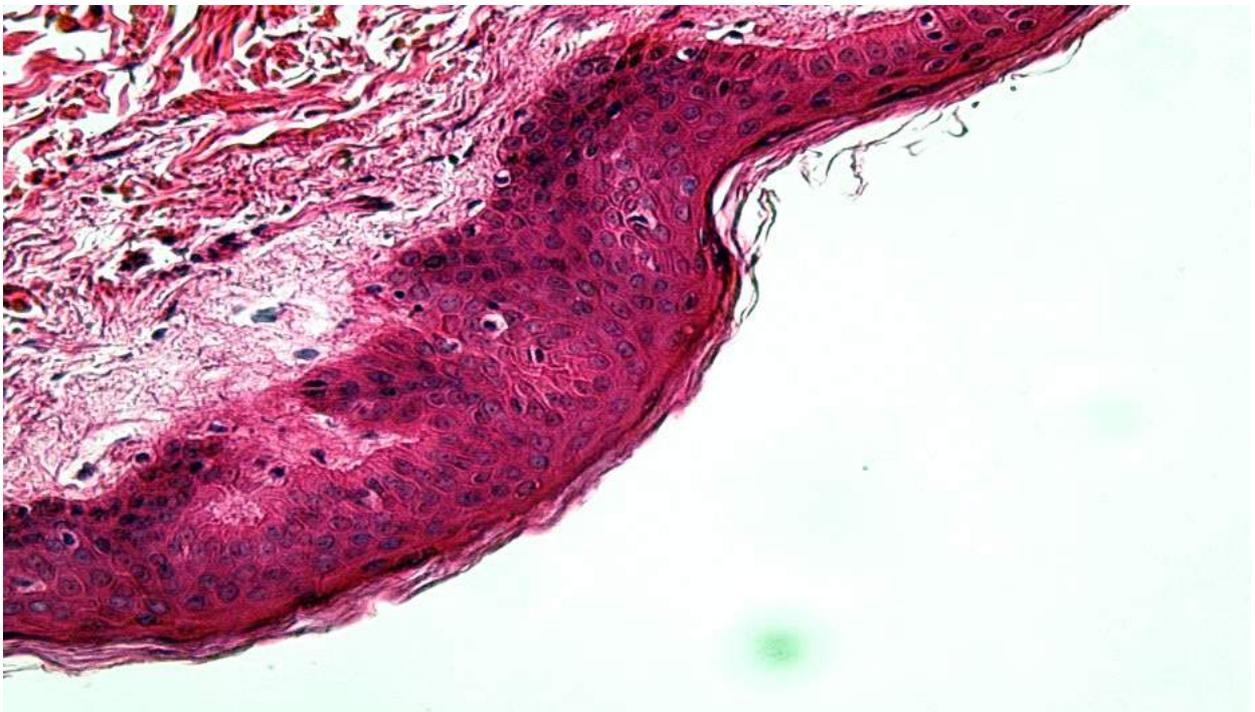
Hsp70 färbte sich in der Epidermis der verletzten Haut zu 5,65 % und in der Kontrollgruppe zu 10,59 % an. In der Dermis waren keine Blutgefäße angefärbt.



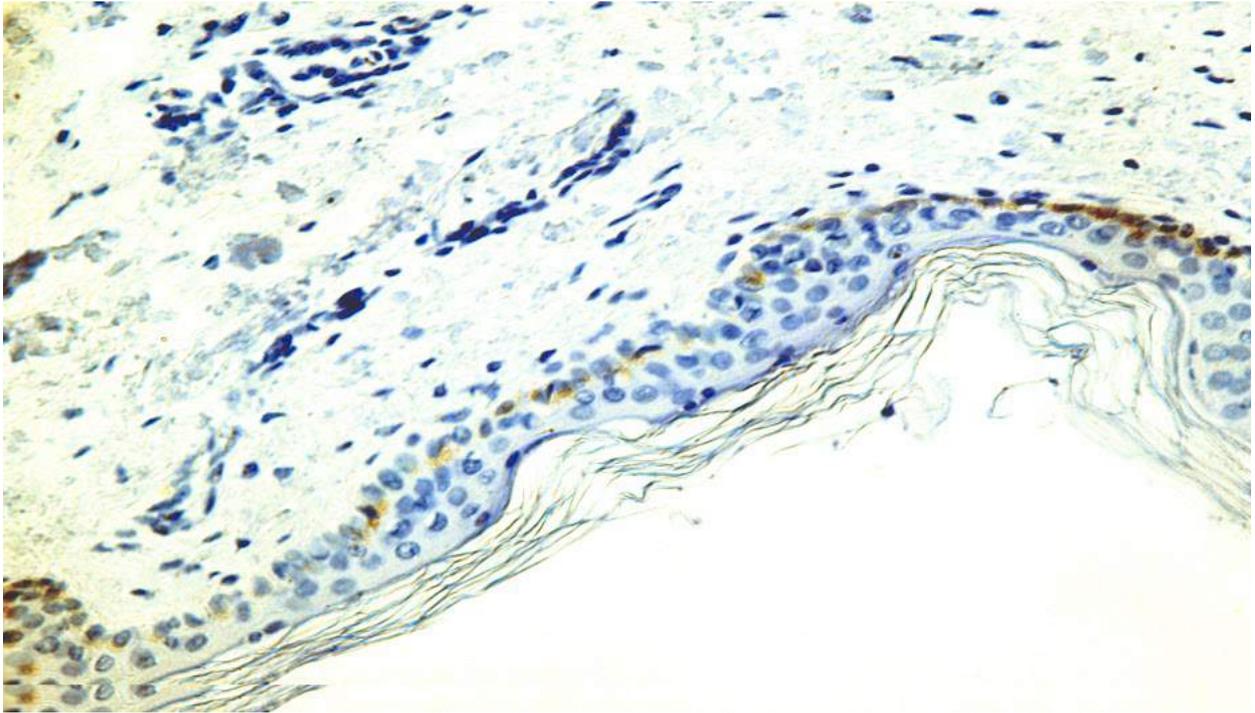
**Abb. 21:** durchschnittliche relative Hsp70-Expression pro Gesichtsfeld der Epidermis, Studienkollektiv.



**Abb. 22:** Studienkollektiv, Hsp70, Hautvertrocknung, keine Expression der Epidermis oder der Blutgefäße in der Dermis, 400-fache Vergrößerung.



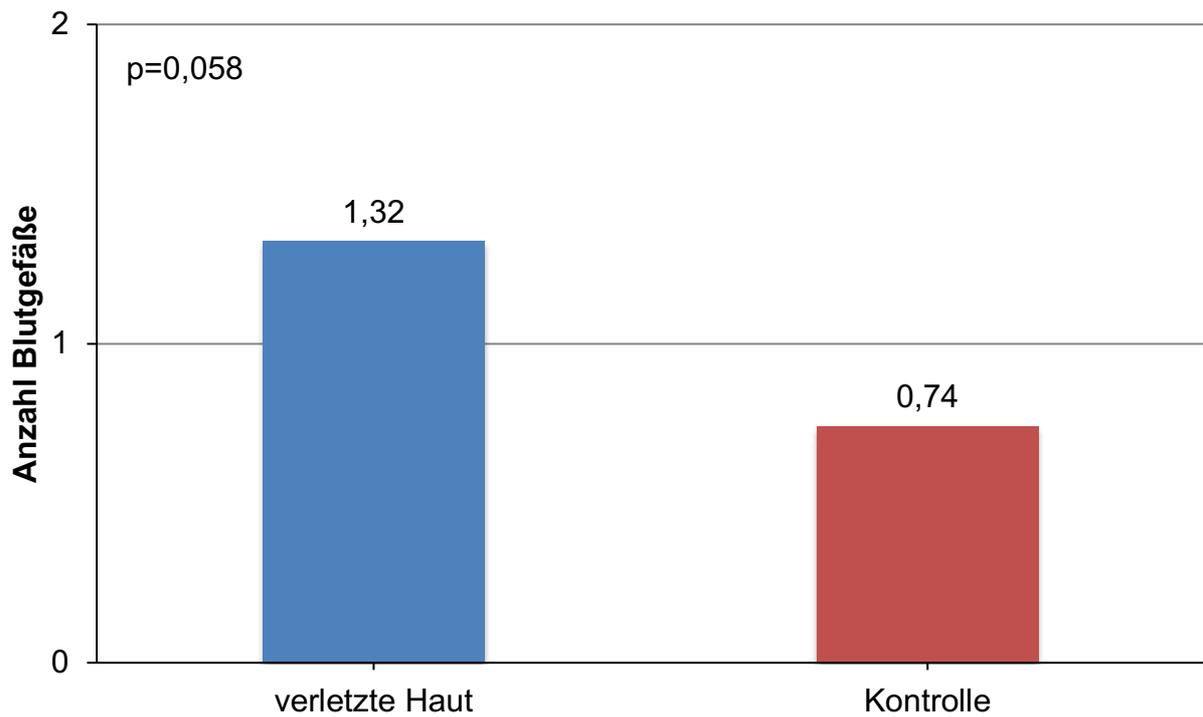
**Abb. 23:** Studienkollektiv, HE-Färbung, Hautvertrocknung, 400-fache Vergrößerung.



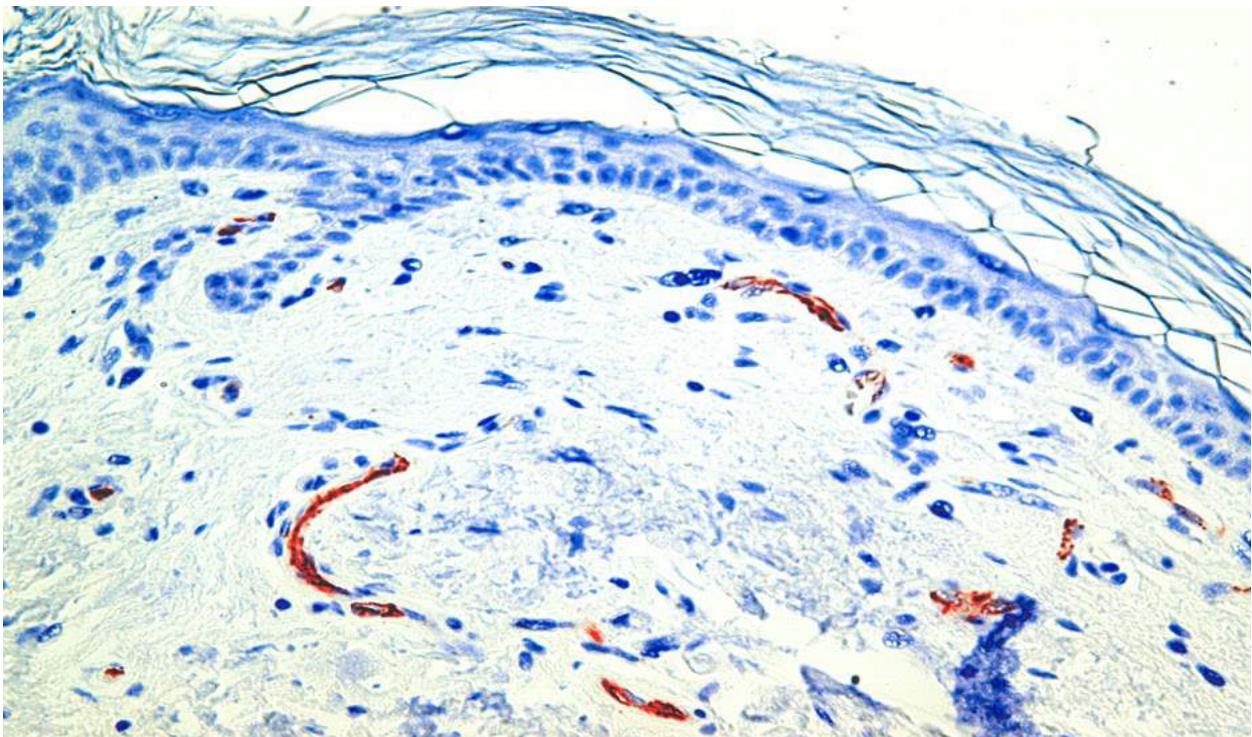
**Abb. 24:** Studienkollektiv, Hsp70, Quetsch-Risswunde, keine Expression der Epidermis oder der Blutgefäße in der Dermis, 400-fache Vergrößerung.

### 3.5 Expression von Aquaporin 1

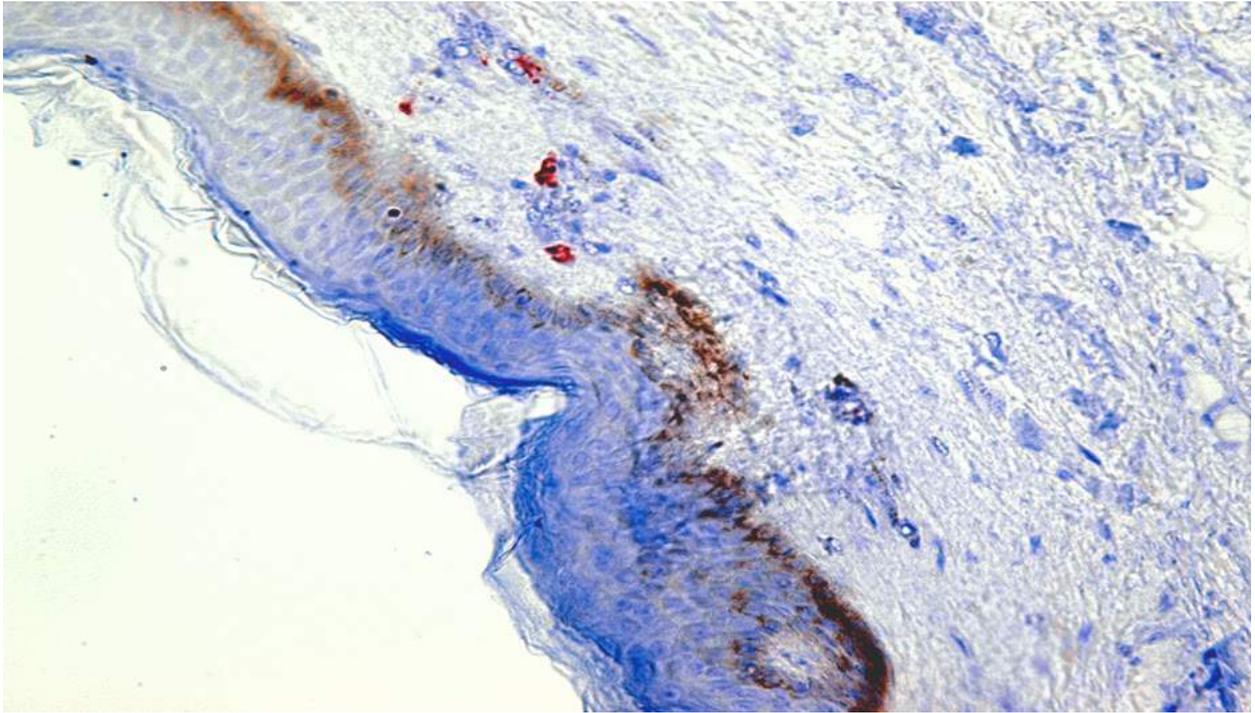
Der Wasserkanal Aqp1 färbte sich in keinem der Fälle positiv in der Epidermis an. Durchschnittlich waren in der Dermis der verletzten Haut 1,32 Blutgefäße pro Gesichtsfeld angefärbt. In der Kontrollgruppe lag die Anzahl der positiv gefärbten Blutgefäße pro Gesichtsfeld bei 0,74 Blutgefäßen.



**Abb. 25:** durchschnittliche Anzahl Aqp1-gefärbter Blutgefäße pro Gesichtsfeld in der Dermis, Studienkollektiv.



**Abb. 26:** Studienkollektiv, Aqp1, Hautvertrocknung, Anzahl Aqp1-positiver Blutgefäße: 12, 400-fache Vergrößerung.



**Abb. 27:** Studienkollektiv, Aqp1, Hautvertrocknung, Anzahl Aqp1-positiver Blutgefäße: 5, 400-fache Vergrößerung.

### 3.6 Expression von Aquaporin 3

Im Gegensatz zu den anderen untersuchten Proteinen zeigte sich bei Aqp3 vor allem in den Keratinozyten der Epidermis eine verstärkte Expression. Das Kollektiv von Aqp3 setzt sich aus den folgenden 21 Fällen (Tabelle 10) zusammen.

**Tab. 10:** detaillierte Zusammensetzung des Aqp3-Studienkollektivs

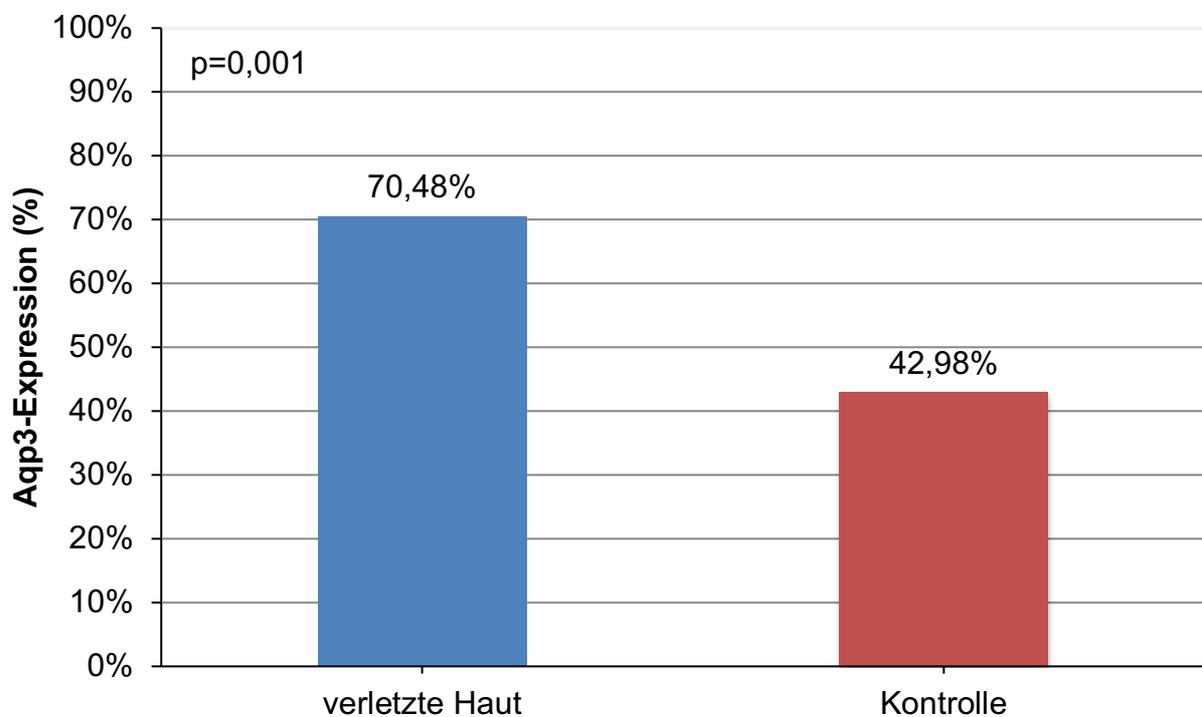
Nummer	Art der Verletzung	Todesursache	Geschlecht	Alter	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI	Agoniedauer	maximales postmortales Intervall bis zur Obduktion in Tagen	Entnahmestelle
1	Exkoration	Schädel-Hirn-Trauma	m	49	49	1,65	17,92	kurz	5	Wange, Schulter, Ellenbogen
2	Hautvertrocknung	Ersticken	w	89	74	1,62	28,20	kurz	2	Hals
3	Hautvertrocknung	Lungenembolie beidseits	w	67	47	1,57	18,95	lang	1	Brust
4	Hautvertrocknung	Verbluten nach innen	m	58	107	1,85	31,26	lang	3	Brust
5	Hautvertrocknung	makroskopisch unklar	w	29	83	1,60	32,42	lang	4	Brust
6	Hautvertrocknung	makroskopisch unklar	m	36	84	1,75	27,43	lang	3	Brust
7	Hautvertrocknung	Reinfarkt	m	73	130	1,83	38,82	lang	5	Brust

Nummer	Art der Verletzung	Todesursache	Geschlecht	Alter	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI	Agoniedauer	maximales postmortales Intervall bis zur Obduktion in Tagen	Entnahmestelle
8	Hautvertrocknung	Reinfarkt	m	74	60	1,70	20,90	lang	5	Brust
9	Hautvertrocknung	makroskopisch unklar	m	19	76	1,81	23,20	lang	4	Brust
10	Kälteerythem	Unterkühlung	m	58	62	1,72	21,09	lang	19	Kniegelenk
11	Kälteerythem	Unterkühlung	w	68	80	1,64	29,74	lang	9	Kniegelenk
12	Quetsch-Risswunde	Verbluten nach außen	m	45	65	1,80	20,06	lang	5	Kopf
13	Quetsch-Risswunde	Verbluten nach innen	m	73	78	1,74	25,76	kurz	2	Kopf
14	Quetsch-Risswunde	Verbluten nach außen	m	42	87	1,76	28,09	kurz	9	Unterarm
15	Quetsch-Risswunde	Schädel-Hirn-Trauma	m	55	104	1,75	33,83	kurz	3	Kopf
16	Quetsch-Risswunde	Schädel-Hirn-Trauma	m	50	92	1,75	30,04	kurz	3	Kopf
17	Schnitt	Verbluten nach innen	w	39	43	1,50	19,11	kurz	3	Kopf, Nacken

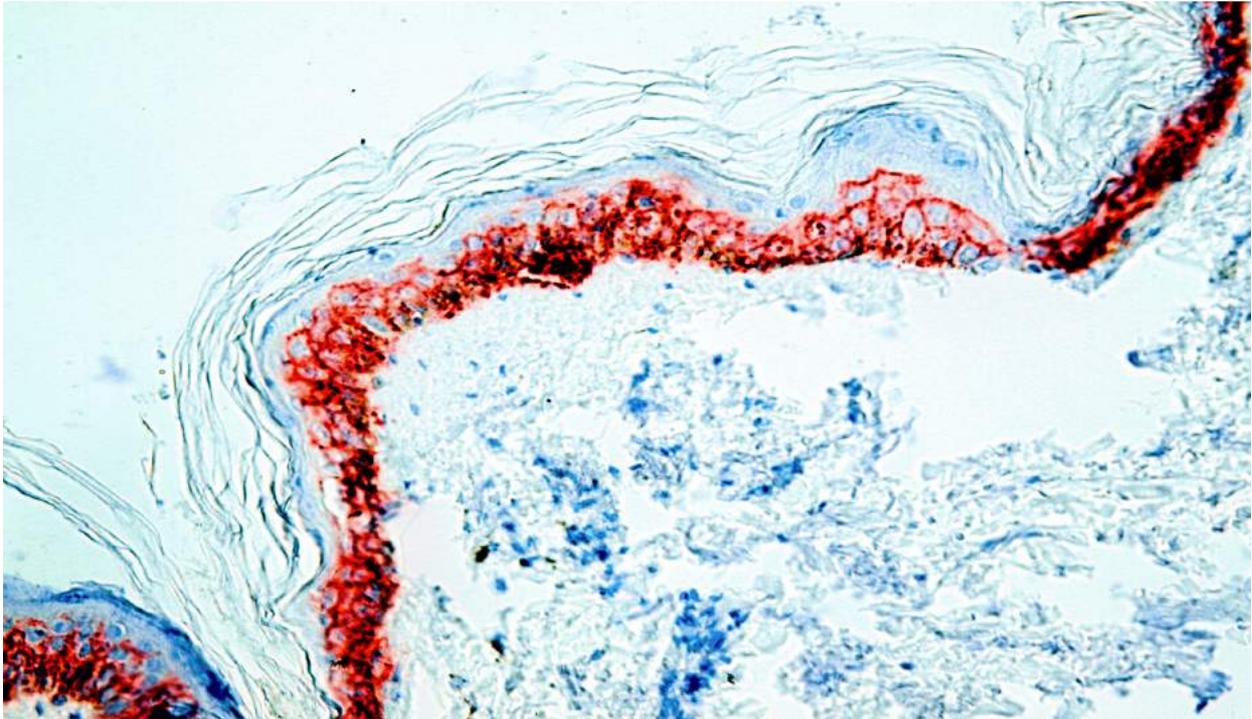
Nummer	Art der Verletzung	Todesursache	Geschlecht	Alter	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI	Agoniedauer	maximales postmortales Intervall bis zur Obduktion in Tagen	Entnahmestelle
18	Schuss	Verbluten nach außen	m	40	71	1,80	21,88	kurz	<1	Oberschenkel
19	Schuss	Kopfdurchschuss	m	95	68	1,73	22,72	sehr kurz	8	Kopf
20	Strangulation	Ersticken	m	35	105	1,70	36,40	kurz	3	Hals
21	Strangulation	typisches Erhängen	m	42	73	1,75	23,84	kurz	6	Hals

Insgesamt war die Epidermis in der Gruppe der verletzten Haut zu 70,48 % angefärbt. In der Kontrollgruppe lag die Expression der Keratinozyten bei 42,98 %. In der Dermis der verletzten Haut waren durchschnittlich 0,1 Blutgefäße pro Gesichtsfeld angefärbt. In der Kontrollgruppe lag die Anzahl der positiv gefärbten Blutgefäße pro Gesichtsfeld bei 0,12 Blutgefäßen.

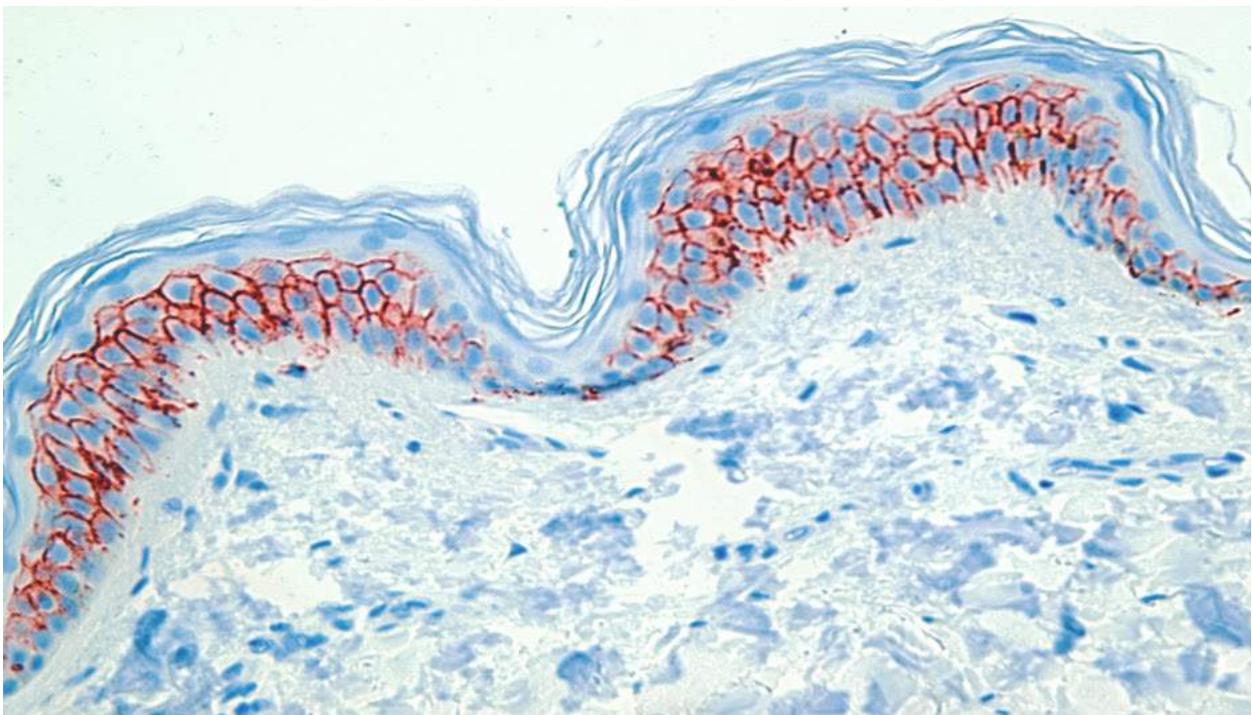
In 19 der 21 Fälle konnte die Lokalisation der verletzten Haut eindeutig zurückverfolgt werden. In 2 Fällen gab es mehrere Körperstellen mit verletzter Haut, wobei die Bauchhaut nicht tangiert wurde.



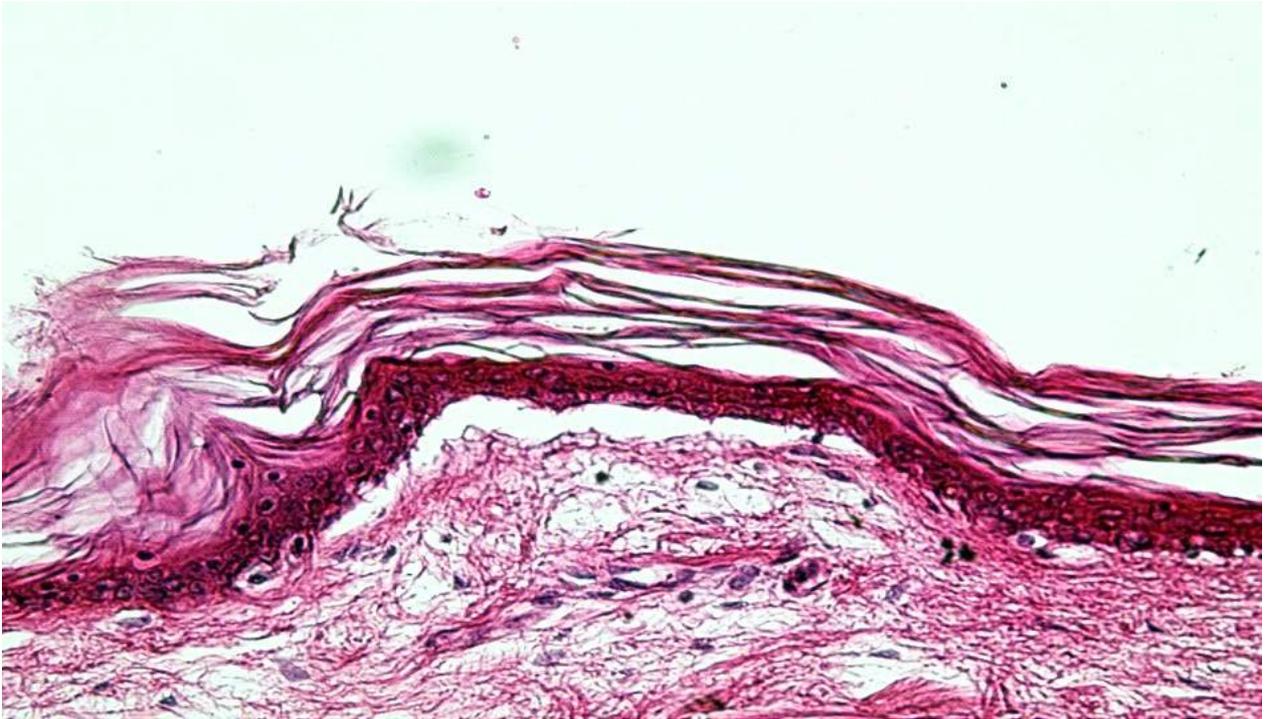
**Abb. 28:** durchschnittliche relative Aqp3-Expression der Epidermis pro Gesichtsfeld, Studienkollektiv.



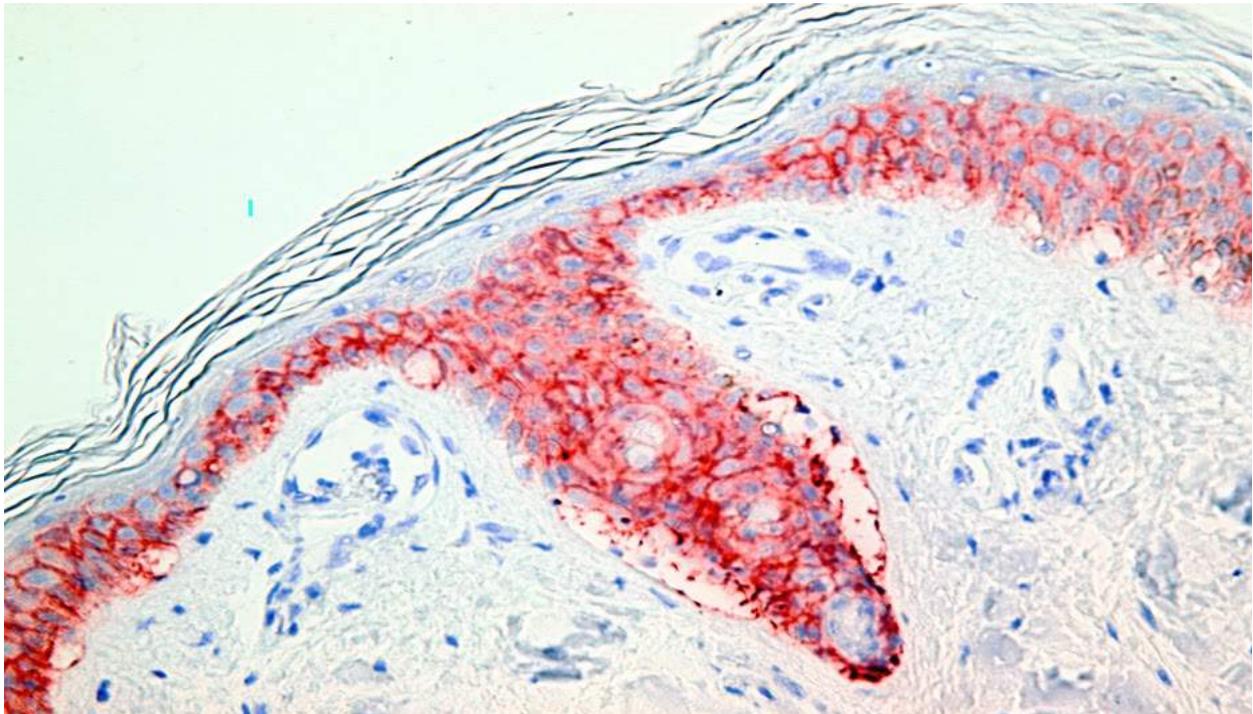
**Abb. 29:** Studienkollektiv, Aqp3, Exkoration, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung.



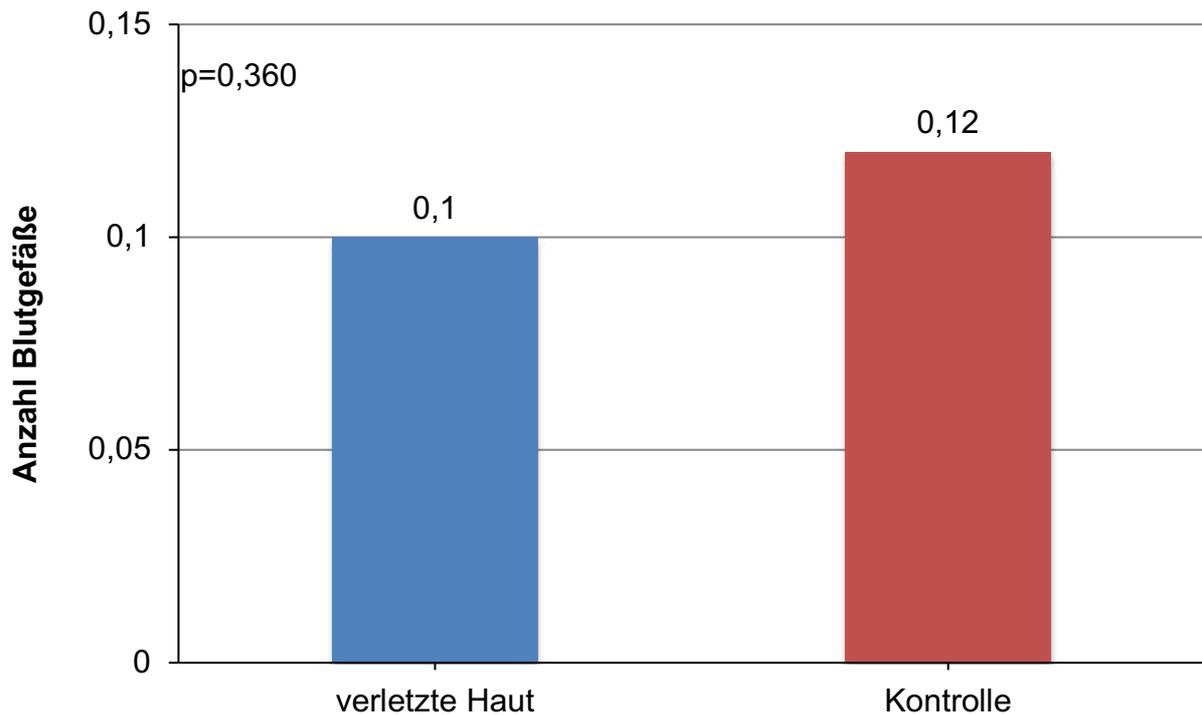
**Abb. 30:** Studienkollektiv, Aqp3, Schussverletzung, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung.



**Abb. 31:** Studienkollektiv, HE-Färbung, Schussverletzung, 400-fache Vergrößerung.



**Abb. 32:** Studienkollektiv, Aqp3, Kälteerythem, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100%, 400-fache Vergrößerung.



**Abb. 33:** durchschnittliche Anzahl Aqp3-gefärbter Blutgefäße pro Gesichtsfeld in der Dermis, Studienkollektiv.

### 3.7 Zusammenhang zwischen Aqp3-Expression und Studienkollektiv

Es wurde überprüft, ob sich die Aqp3-Expression von verletzter Haut signifikant von unverletzter Haut aus dem Kontrollkollektiv unterscheidet und somit als Vitalitätsmarker bei mechanischer und thermischer Gewalteinwirkung verwendet werden kann. Zudem wurde untersucht, ob verschiedene Eigenschaften, wie das Alter, der BMI, das Geschlecht, das postmortale Intervall und die Agoniedauer einen Einfluss auf die Aqp3-Expression haben. Die Ergebnisse wurden mithilfe des Pearson-, des Spearman- und des Eta-Korrelationskoeffizienten berechnet (s. Tab.10).

Die Korrelation zur Aqp3-Expression nach Pearson betrug beim Alter -0,20, beim BMI (=kg/ m<sup>2</sup>) 0,28 und beim postmortalen Intervall -0,27. Die Signifikanz betrug dabei beim Alter 0,39, beim BMI 0,22 und beim postmortalen Intervall 0,25. Es lässt sich festhalten, dass bei diesen Parametern eine geringe nicht signifikante Korrelation der relativen Expression der Epidermis vorliegt (s. Abb. 40 - 42). Hinsichtlich des Alters und des postmortalen Intervalls muss zudem von einem negativen Zusammenhang gesprochen werden. Das heißt, desto jünger der/die Verstorbene ist oder desto geringer das

postmortale Intervall ist, desto stärker ist die Aqp3-Expression. Allerdings sind aufgrund der hohen p-Werte diese Aussagen als nicht signifikant einzustufen.

Die Agoniedauer mit einer Korrelation von 0,15 nach Spearman weist einen geringen Zusammenhang zur Aqp3-Expression auf, welche mit einem  $p=0,5$  als nicht signifikant anzusehen sind. Sie lag in einem Fall im Bereich von Sekunden, in zehn Fällen im Bereich von Minuten und in zehn Fällen im Bereich von Stunden.

Darüber hinaus wurden auch die unterschiedlichen Arten der Verletzung näher betrachtet (Abbildung 43). Im Aqp3-Kollektiv lagen acht Hautvertrocknungen, fünf Quetsch-Risswunden, zwei Schusswunden, zwei Strangulationen, zwei Kälteerytheme, eine Schnittverletzung und eine Exkoration als Arten der Verletzung vor.

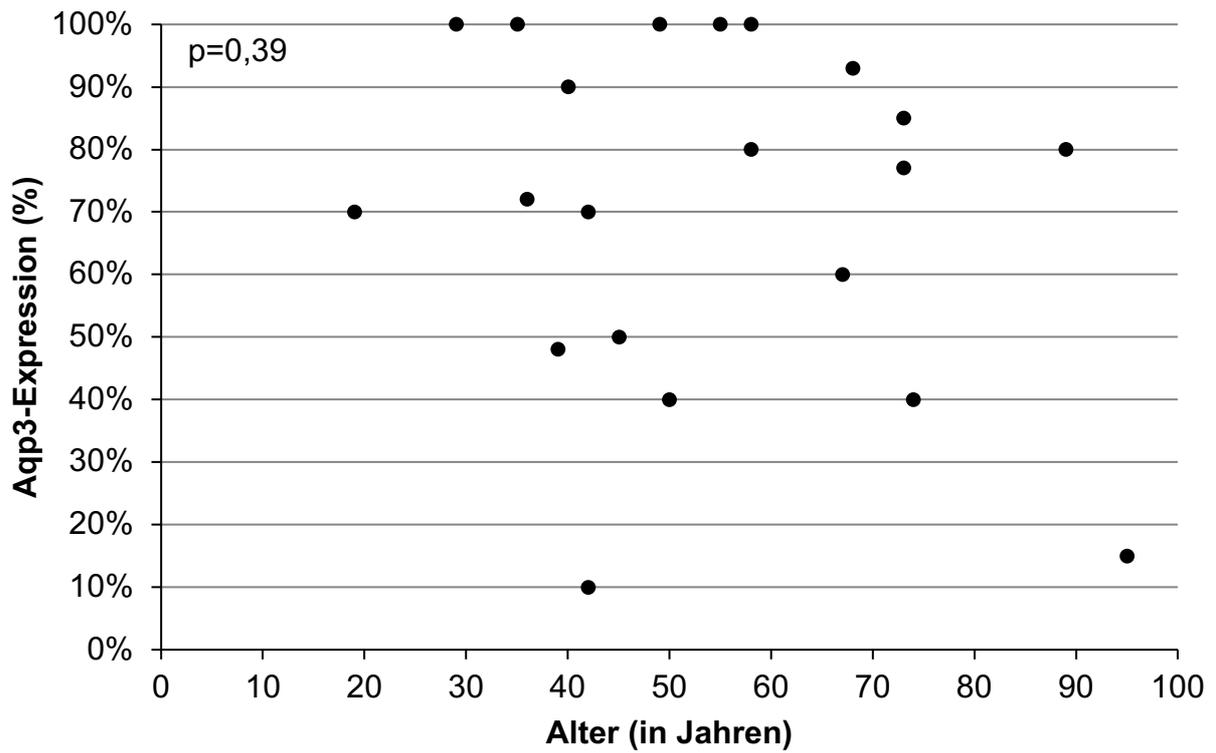
Die Art der Verletzung weist mit einer Korrelation nach Eta von 0,49 eine mittlere Korrelation zur Aqp3-Expression auf. Diese Korrelation ist mit  $p=0,35$  nicht signifikant, weshalb dieser Zusammenhang als nicht aussagekräftig einzustufen ist.

**Tab. 11:** Korrelation zur Aqp3-Expression nach Pearson, Spearman und Eta.

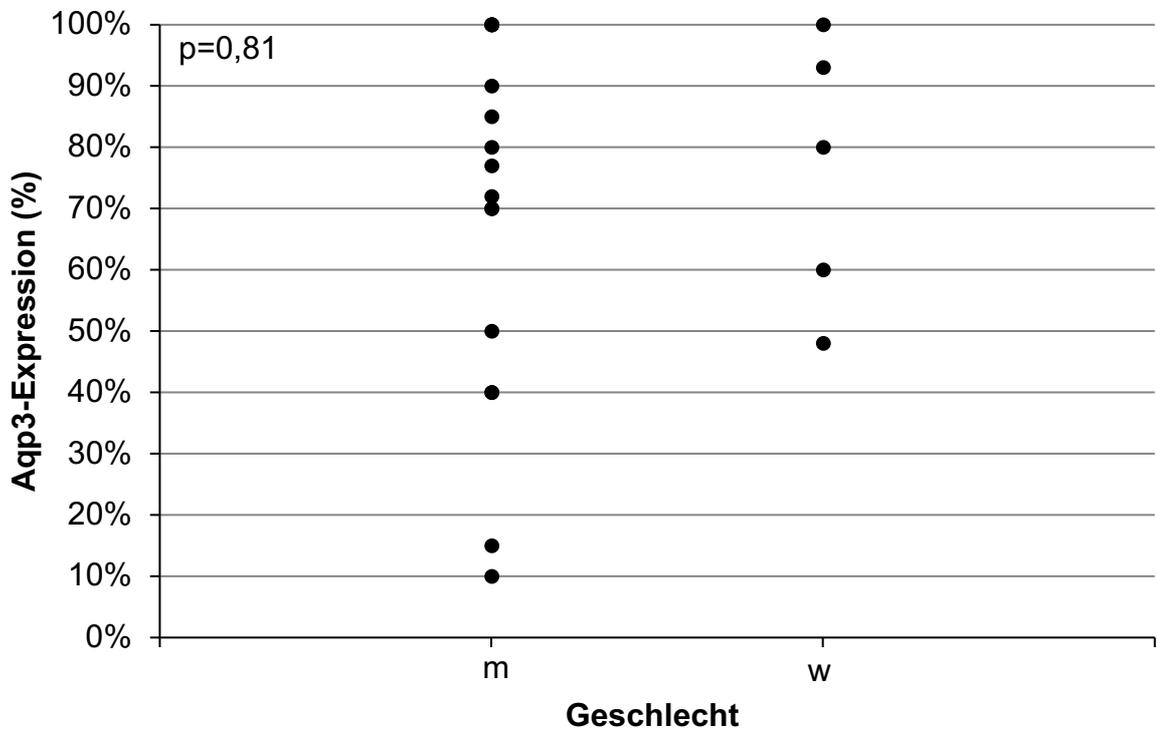
	Alter	BMI	PMI
Korrelation zur Aqp3-Expression nach Pearson	-0,20	0,28	-0,27
Signifikanz	0,39	0,22	0,25

	Agoniedauer
Korrelation zur Aqp3-Expression nach Spearman	0,15
Signifikanz	0,50

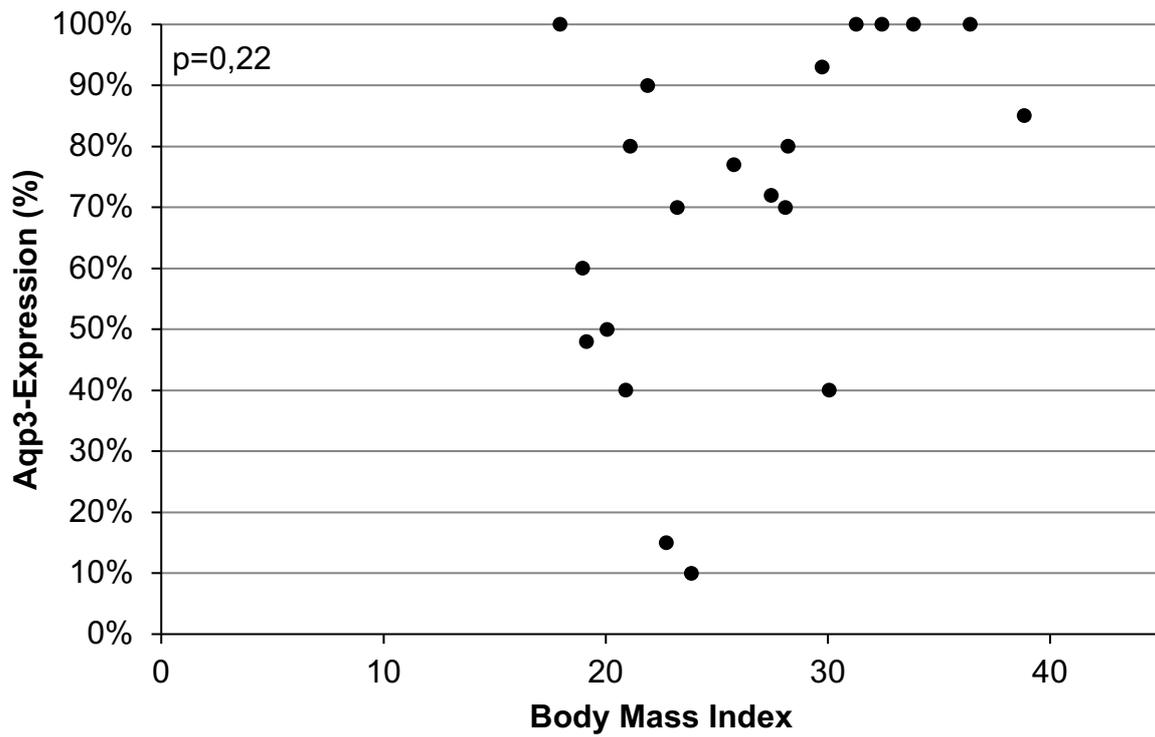
	Geschlecht	Art der Verletzung
Eta-Koeffizient zur Aqp3-Expression	0,12	0,46
Signifikanz	0,81	0,35



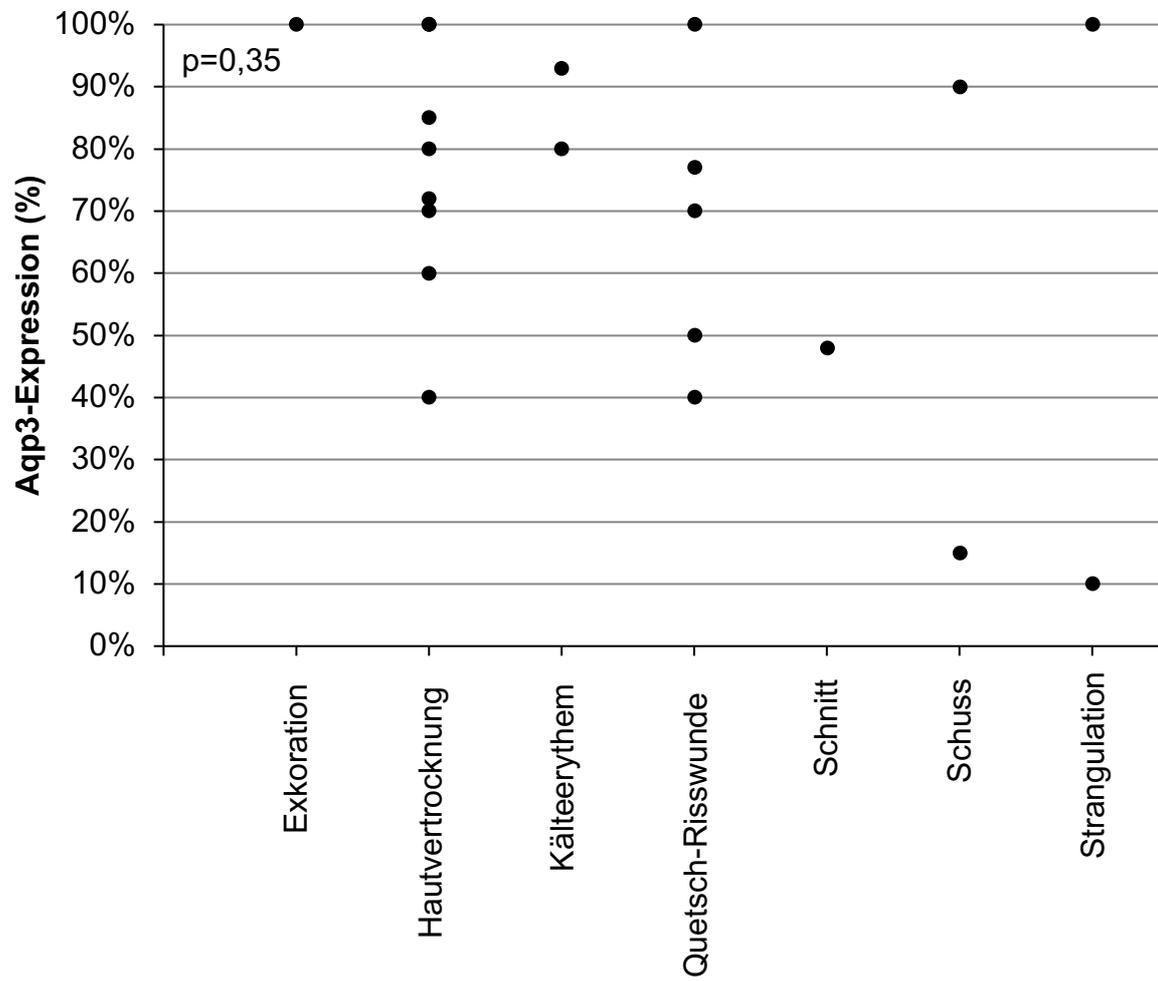
**Abb. 34:** Zusammenhang zwischen dem Alter und der Aqp3-Expression.



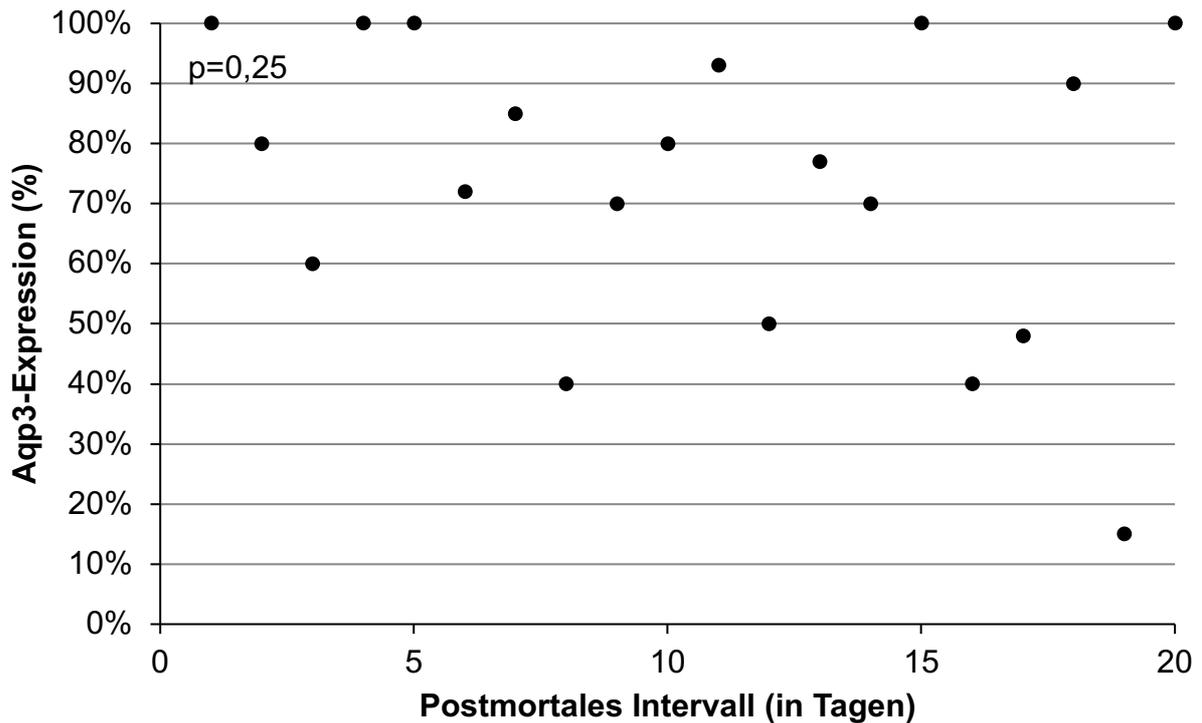
**Abb. 35:** Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und der Aqp3-Expression.



**Abb. 36:** Zusammenhang zwischen dem BMI und der Aqp3-Expression.



**Abb. 37:** Zusammenhang zwischen der Art der Verletzung und der Aqp3-Expression



**Abb. 38:** Zusammenhang zwischen dem maximalen postmortalen Intervall und der Aqp3-Expression.

### 3.8 Expression von Fibronektin

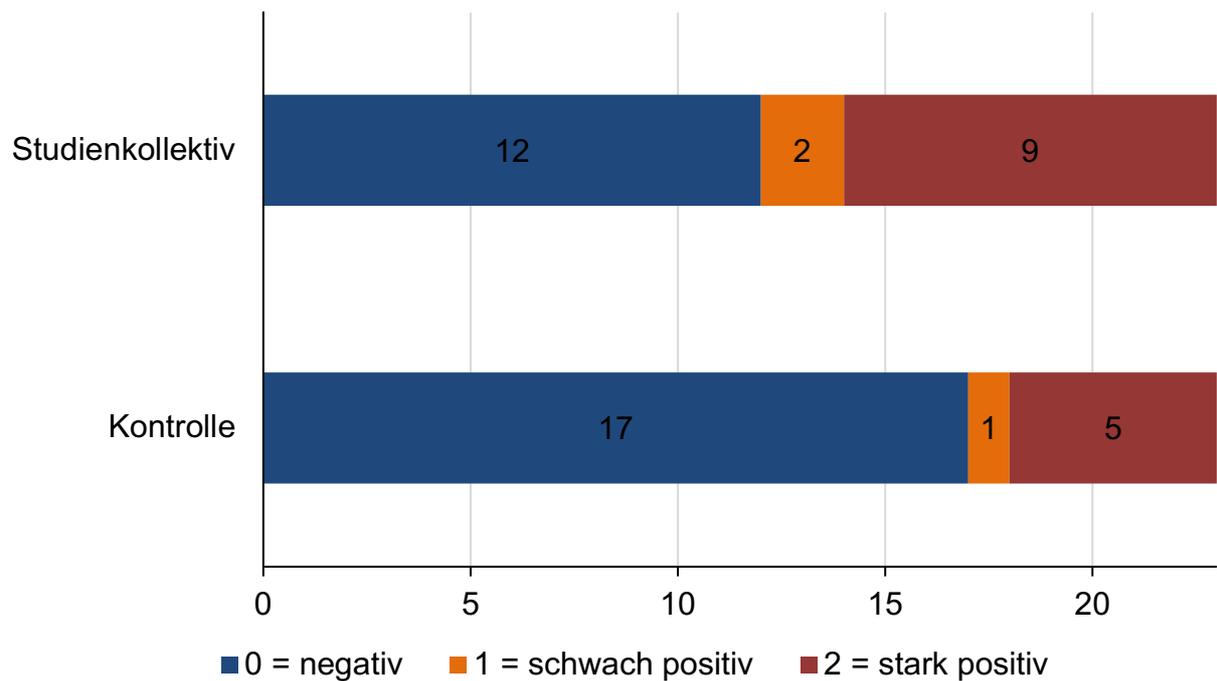
Das Kollektiv setzte sich aus 23 Fällen des ursprünglichen Studienkollektivs mit 51 Fälle aus Tabelle 5 zusammen. Die Fallnummern entsprechen den Fallnummern aus Tabelle 5.

Das Protein Fibronektin färbte sich sowohl in der verletzten Haut als auch in der Kontrollgruppe nicht in der Epidermis an.

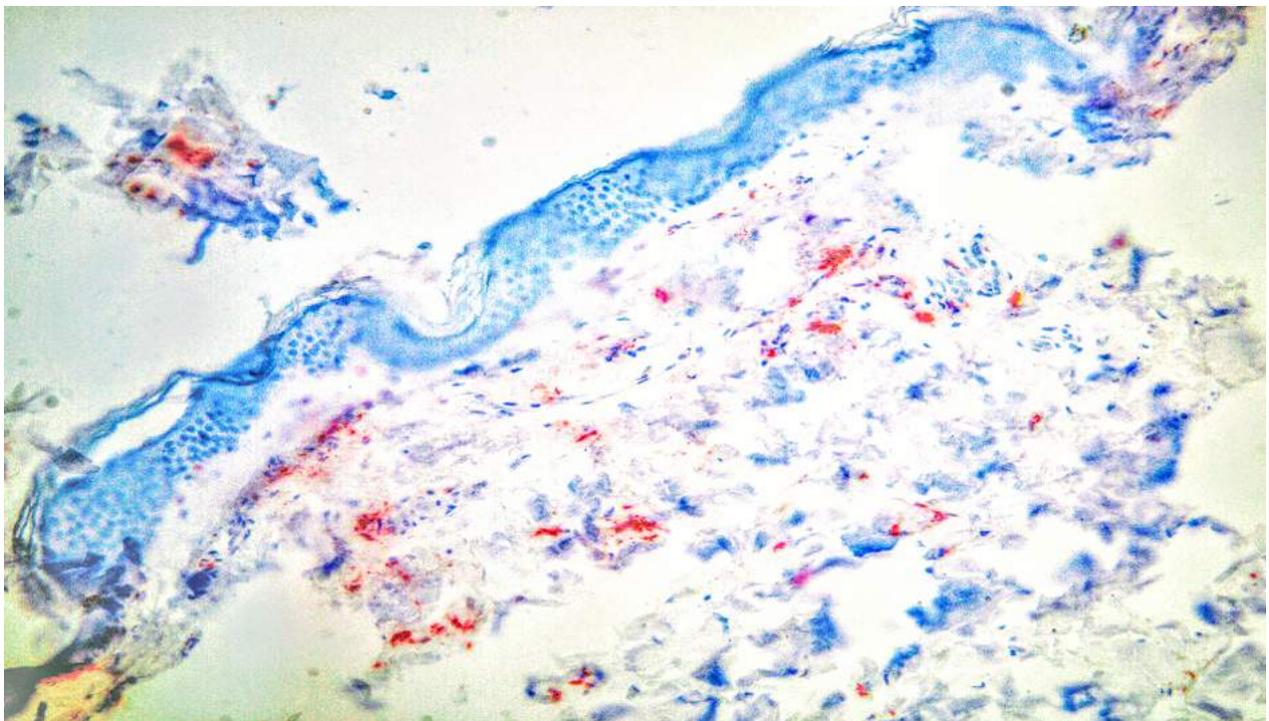
In der extrazellulären Matrix zeigte sich in neun Fällen eine starke Expression (Expression sichtbar bei 200-facher Vergrößerung), in zwei Fällen eine schwache Expression (Expression bei 400-facher Vergrößerung); und in zwölf Fällen keine Expression. Somit zeigten elf von 23 Fällen (47,82 %) eine Expression und können als positiv angesehen werden. In der Kontrollgruppe färbte sich die extrazelluläre Matrix in fünf Fällen stark, in einem Fall schwach und in 17 Fällen gar nicht an.

**Tab. 12:** Ergebnisse Fibronectin; 0 = keine Expression; 1 = schwach positiv (Expression bei 400-facher Vergrößerung); 2 = stark positiv (Expression bei 200-facher Vergrößerung).

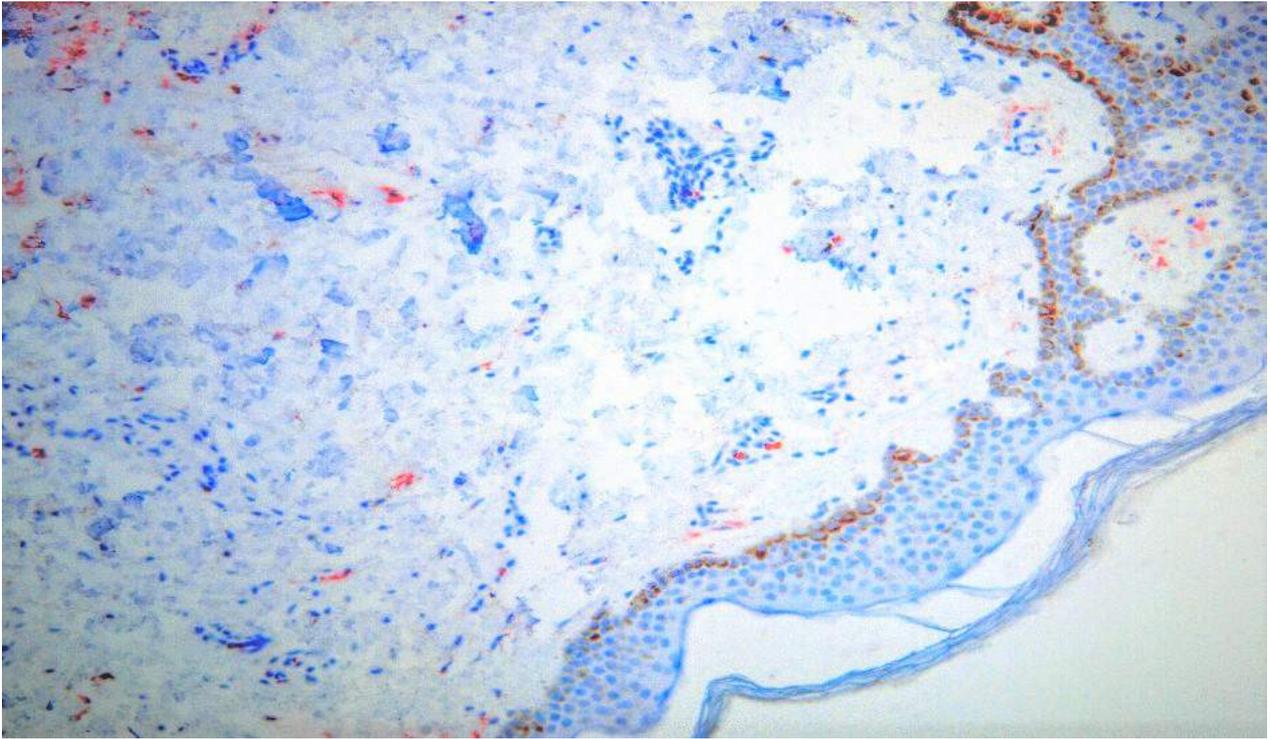
Fall	verletzte Haut		Kontrolle	
	Extrazelluläre Matrix	Epidermis	Extrazelluläre Matrix	Epidermis
3	0	0	0	0
5	0	0	0	0
10	0	0	0	0
17	0	0	0	0
20	2	0	0	0
22	2	0	0	0
23	1	0	0	0
25	0	0	0	0
26	0	0	0	0
27	0	0	0	0
35	2	0	0	0
36	1	0	0	0
37	0	0	0	0
38	2	0	2	0
39	2	0	1	0
40	2	0	0	0
41	2	0	2	0
43	0	0	2	0
45	2	0	2	0
46	0	0	0	0
47	0	0	0	0
48	0	0	0	0
49	2	0	2	0



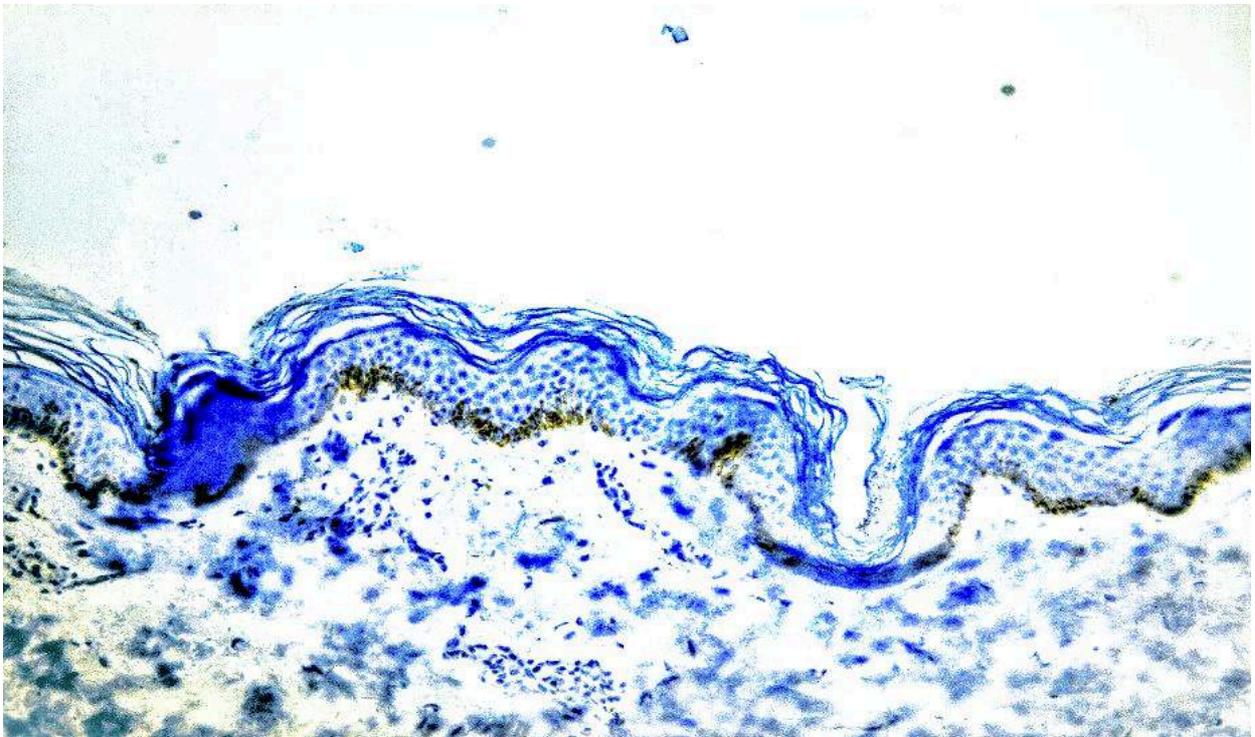
**Abb. 39:** Ergebnisse Fibronectin; 0 = keine Expression; 1 = schwach positiv (Expression bei 400-facher Vergrößerung); 2 = stark positiv (Expression bei 200-facher Vergrößerung).



**Abb. 40:** Studienkollektiv, Fibronectin, Schussverletzung, Extrazelluläre Matrix = 2; Epidermis = 0.



**Abb. 41:** Studienkollektiv, Fibronectin, Schnittverletzung, Extrazelluläre Matrix = 2; Epidermis = 0.



**Abb. 42:** Kontrollkollektiv, Fibronectin, Strangulation, Epidermis = 0; Extrazelluläre Matrix = 0.

### 3.9 Kasuistiken der Aqp3-Expression

#### 3.9.1 Kasuistik 1

Ein 27 Jahre alter Mann wurde im Keller seiner Wohnung erhängt aufgefunden. Um den Hals befand sich eintourig ein Hanfseil mit einem Henkersknoten. Seine Füße haben den Boden nicht mehr berührt.

Bei der Sektion konnten Befunde festgestellt werden, die charakteristisch für den Tod durch Erhängen sind. Die Haut am Hals wies eine ca. 23 cm lange und 3 cm breite und honiggelb vertrocknete Strangfurche auf. Die Strangfurche ging vom linken Kieferwinkel aus und verlief oberhalb des Kehlkopfes über die rechte Halsseite. Das Strangwerkzeug passte zu der Strangfurche. Außerdem zeigten sich Stauungsblutungen in den Augenbindehäuten und der Mundschleimhaut, sogenannte Simonsche-Blutungen im Lendenwirbelsäulenbereich (Einblutungen in die Zwischenwirbelscheiben) und ein Bruch des Zungenbeins.

Die Todesursache entspricht einem atypischen Erhängen. Zeichen einer strangulationsfremden Gewalteinwirkung fehlten, wodurch von einem Erhängen in suizidaler Absicht ausgegangen wird.



**Abb. 43:** Strangulationsmarke.

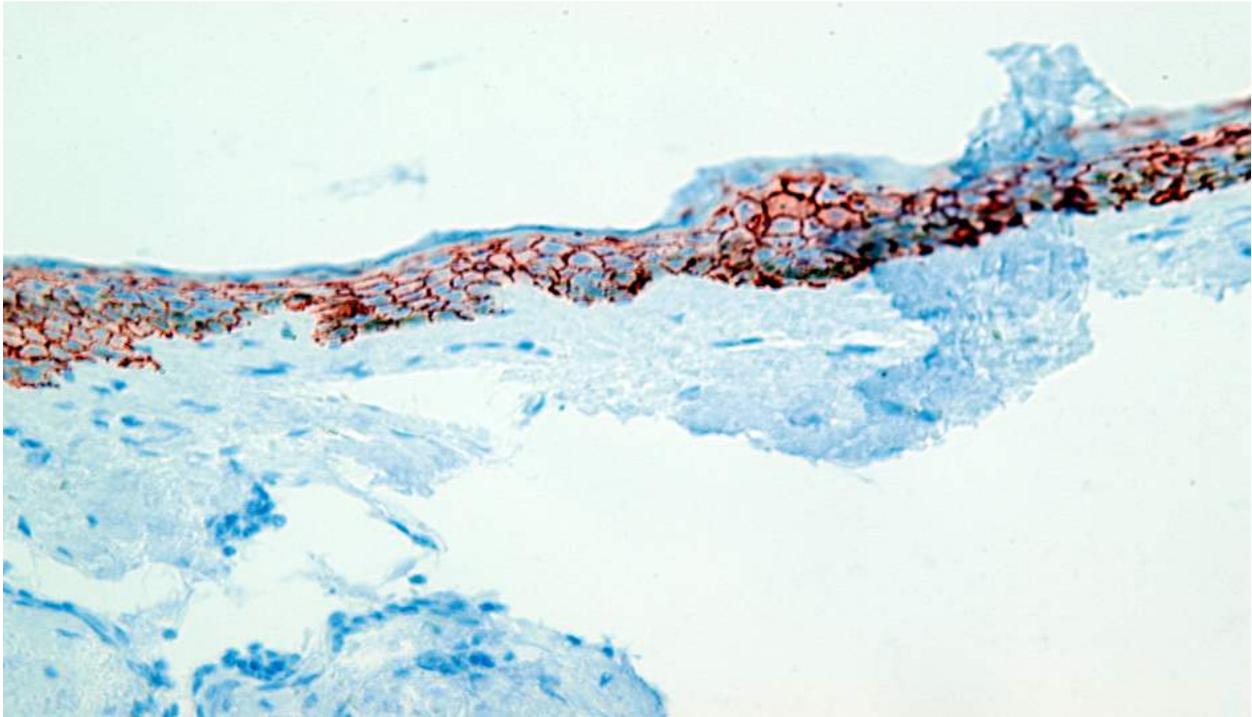


**Abb. 44:** Strangulationsmarke.



**Abb. 45:** Strangulationswerkzeug.

Die immunhistochemische Untersuchung der verletzten Haut im Bereich der Strangfurche zeigte eine verstärkte epidermale Expression von Aqp3.



**Abb. 46:** Studienkollektiv, Aqp3, Strangulation, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung.

### 3.9.2 Kasuistik 2

Der 40 Jahre alte Mann brach nach einem Schusswechsel mit der Polizei im Wohnzimmer seiner Wohnung zusammen und der Tod wurde vom hinzugerufenen Notarzt festgestellt. Zuvor war die Polizei von den Nachbarn gerufen worden, die merkwürdige Geräusche aus der Wohnung gehört hatten. Die Polizei fand die Frau und die Tochter des Mannes leblos im Schlafzimmer der Wohnung. Die Frau wies zahlreiche letale Stichverletzungen auf. Die Tochter wurde mit einem Nylonseil erdrosselt. Der Mann, der sich zunächst im Badezimmer eingesperrt hatte, griff die Polizeibeamten mit einem Messer an und es kam zum Schusswaffeneinsatz. Es wurden insgesamt fünf Schüsse abgegeben, von denen drei Schüsse den Mann trafen.

Bei der Sektion zeigten sich die multiplen Fernschussverletzungen. Im Bereich des rechten unteren Bauchquadranten befand sich ein Steckschuss, der zu Verletzungen zweier Dünndarmschlingen, der linken inneren Beckenarterie und zur Zertrümmerung des

Kreuzbeins führte. Darüber hinaus lagen zwei Durchschüsse im rechten Oberschenkel vor, die zu keiner Verletzung großer Beingefäße führten.

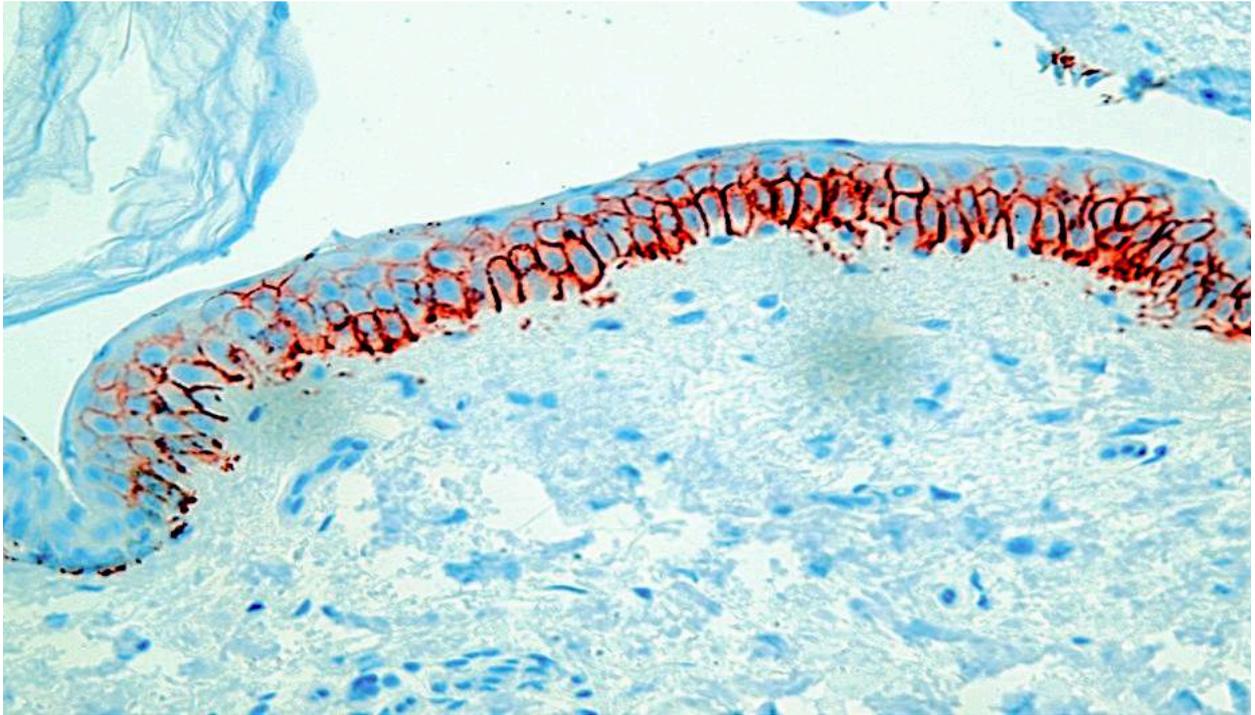
Neben den Schussverletzungen, die aus dem Schusswechsel mit der Polizei resultieren, wies der Leichnam zahlreiche Schnittverletzungen auf. Zum einen fanden sich halbkreisförmige Schnittverletzungen an der Peniswurzel mit fast vollständiger Abtrennung des Penis, zum anderen multiple, parallel verlaufende und oberflächliche Schnittverletzungen an Ober- und Unterarm, am rechten Oberschenkel und an beiden Halsseiten.

Hinsichtlich der Todesursache müssen sowohl die Schnittverletzungen, die zu einem Verbluten nach Außen führten, als auch die Bauchschussverletzung, die zu inneren Blutungen führte, in Betracht gezogen werden. Aufgrund dessen kann von einem kombinierten Geschehen gesprochen werden, wobei als Todesursache die selbst beigebrachten Schnittverletzungen als überwiegend interpretiert werden müssen.

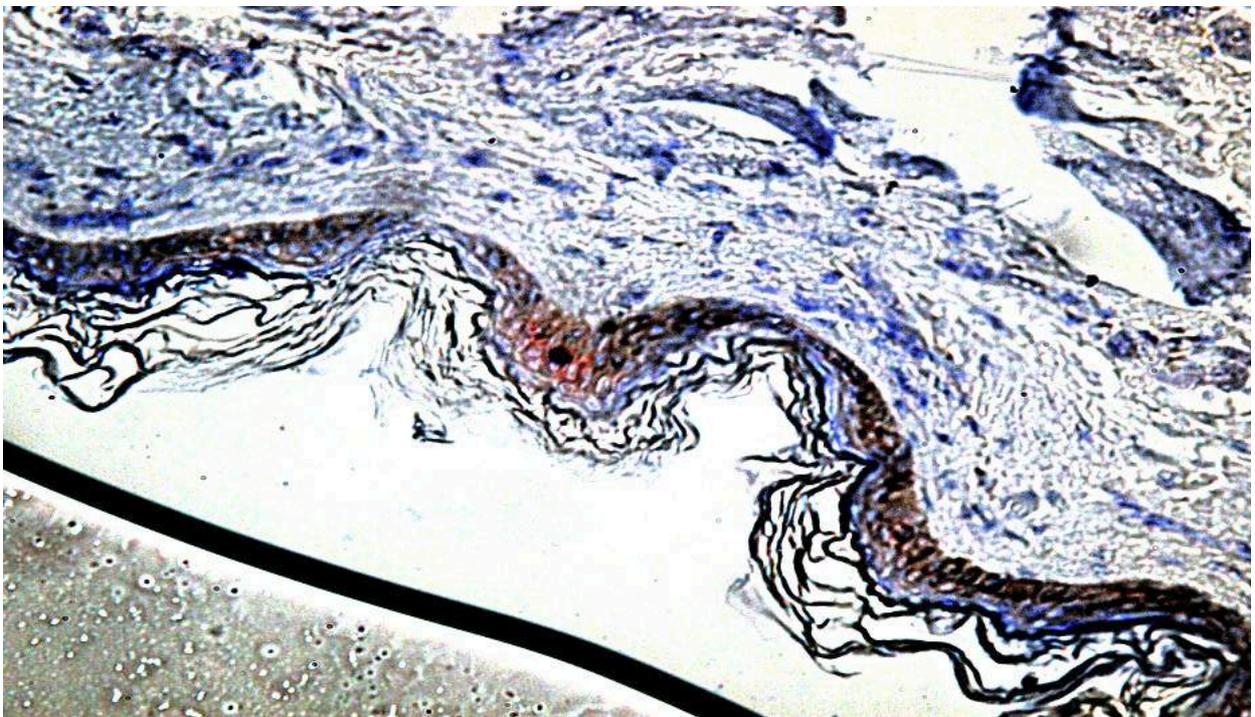
Die immunhistochemische Untersuchung der verletzten Haut im Bereich der Schussverletzung zeigte eine verstärkte epidermale Expression von Aqp3.



**Abb. 47:** Oberschenkelausschuss.



**Abb. 48:** Studienkollektiv, Aqp3, Schussverletzung, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung.



**Abb. 49:** Kontrollkollektiv, Aqp3, Schussverletzung, keine relative Aqp3-Expression der Epidermis, 400-fache Vergrößerung.

### 3.9.3 Kasuistik 3

Eine 39-jährige Frau wurde in einer Blutlache in ihrer Wohnung leblos aufgefunden. Zuvor soll es eine Streiterei mit dem Ehemann gegeben haben, wobei auch ein Messer zum Einsatz gekommen sein soll.

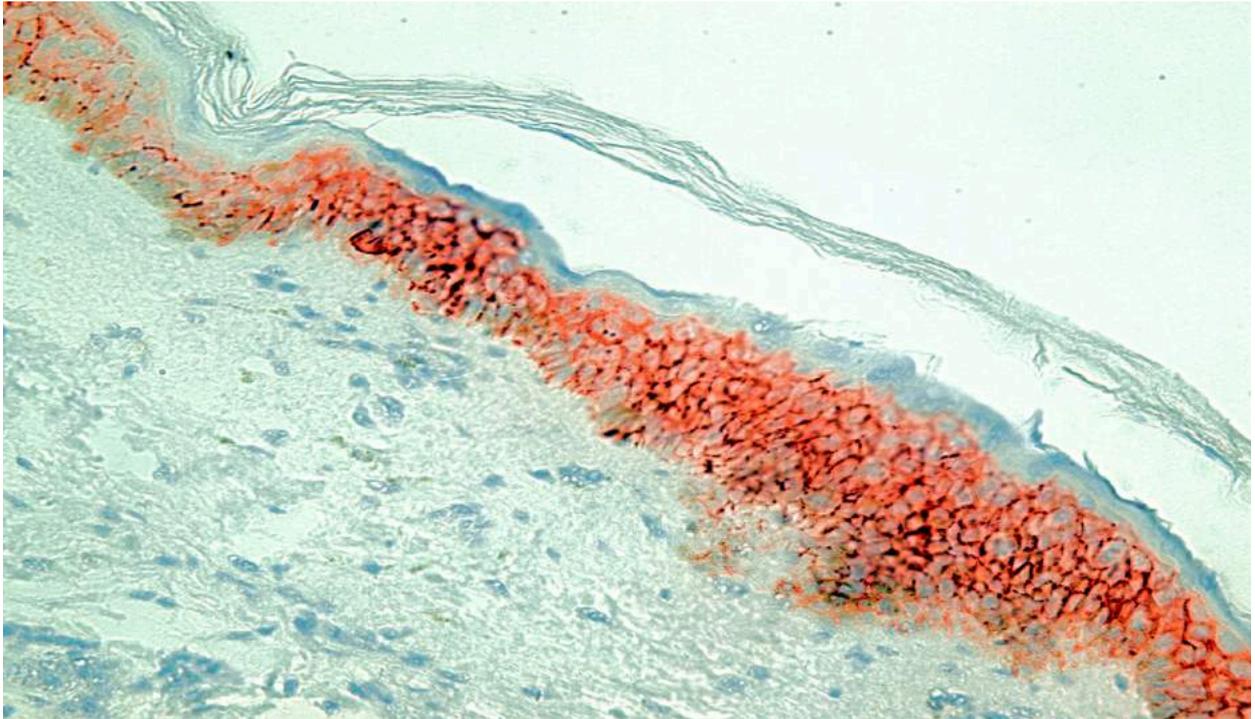
Bei der Sektion zeigten sich zahlreiche Zeichen scharfer Gewalt. Die Frau wies mehrfache feinere Schnittverletzungen der behaarten Kopfhaut im Bereich des Haaransatzes auf. Außerdem befand sich eine steckende Messerspitze in der linken Scheitelregion. Die linke Ohrmuschel mit darstellbarem Wundkanal war in Richtung des Hals inkomplett abgetrennt.

Eine weitere Stichwunde war über dem linken Schlüsselbein mit einer Durchtrennung der ersten Rippe links lokalisiert. Die linke Brusthöhle war eröffnet und die linke Lungenschlagader durchtrennt. Diese Verletzung führte zu einer massiven Blutung und zusätzlich zu der großen Blutlache am Fundort befanden sich ca. 700 ml flüssiges Blut in der linken Brusthöhle.

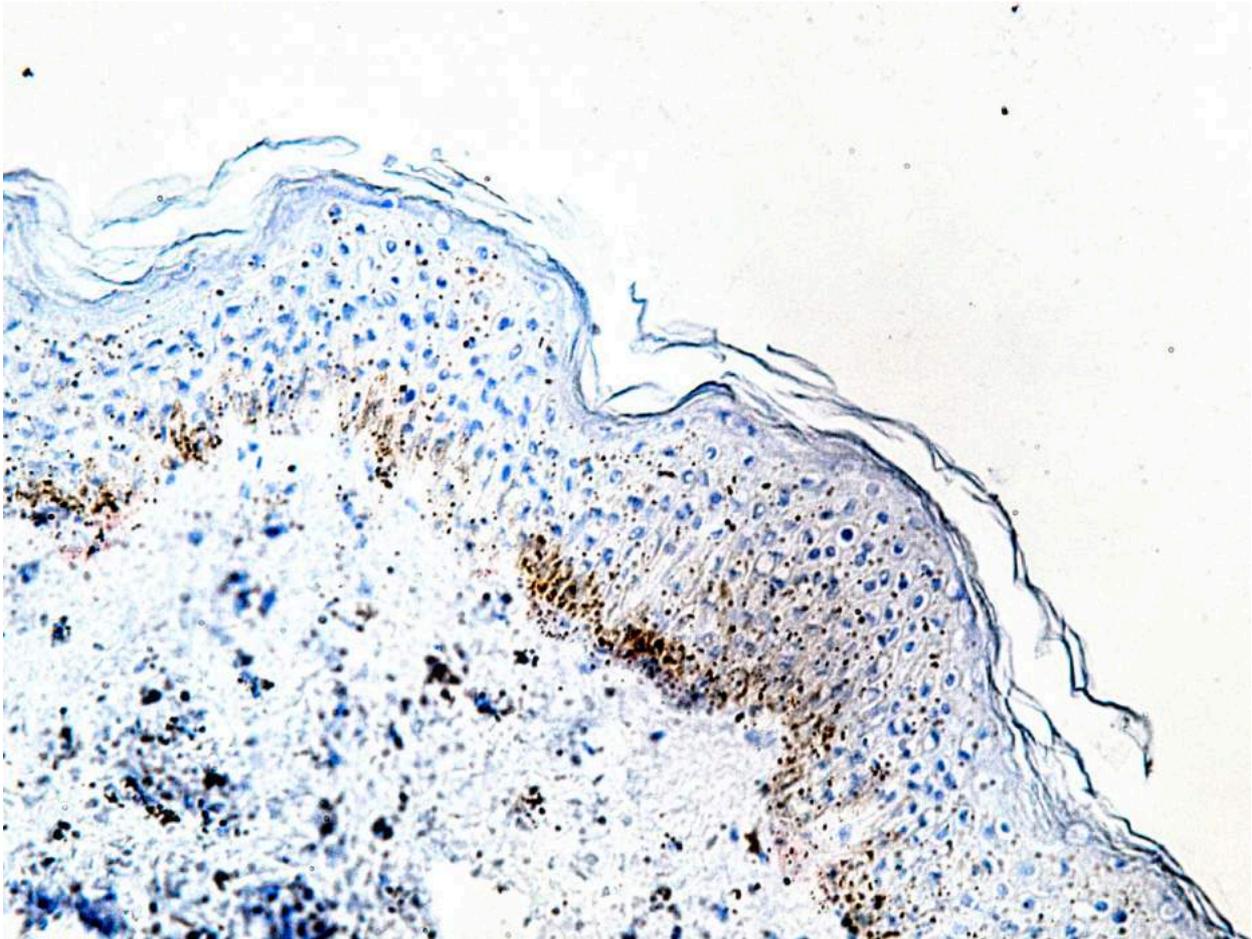
Es lagen mehrfache glattrandige Schnittverletzungen insbesondere an den Beugeseiten des zweiten bis fünften Finger links und solitär am rechten Kleinfinger vor, die als Abwehrverletzungen eingeordnet werden können.



**Abb. 50:** Schnittverletzung.



**Abb. 51:** Studienkollektiv, Aqp3, Schnittverletzung, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung.



**Abb. 52:** Kontrollkollektiv, Aqp3, Schnittverletzung, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 0 %, 400-fache Vergrößerung.

## **4. Diskussion**

### **4.1 Allgemein**

In der forensischen Diagnostik spielt die Bestimmung der Wundvitalität eine große Rolle. Der Rechtsmediziner muss zum einen Aussagen über den Zusammenhang von Wunden und der Todesursache machen. Zum anderen stellt sich die Frage, ob die Verletzungen antemortem oder postmortem zustande gekommen sind. Vitale Reaktionen setzen ein noch funktionierendes Organsystem voraus und somit bedeutet Vitalität, dass die Verletzung vor Eintritt des Todes eingetreten ist (Kondo und Ishida 2010; Madea et al. 2014). Im Rahmen dieser Dissertation wurde durch immunhistochemische Untersuchungen herausgearbeitet, dass Aqp3 ein möglicher Vitalitätsmarker bei jeglicher Art der Verletzung sein kann. Die anderen Proteine können nicht oder nur sehr eingeschränkt dafür herangezogen werden.

### **4.2 Hitzeschockproteine**

Die Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchung der Hsp27, 60 und 70 zeigten, dass es sich um keine verlässlichen Vitalitätsmarker zum Nachweis von stattgefundener Gewalteinwirkung handelt. Sowohl bei Hsp60 als auch bei Hsp70 war die Expression in der Epidermis und in den Blutgefäßen der Dermis gering.

Vor allem die fehlende Hsp70-Expression steht im Kontrast zu bisherigen Ergebnissen aus Studien von Holland et al (1993) und Trautinger et al. (1993). Diese Studien postulieren eine Anwesenheit von Hsp72, als Mitglied der Hsp70-Familie. Holland et al. (1993) fand eine vermehrte Hsp72-Expression in Fällen mit Kälteeinwirkung heraus. In der Studie von Trautinger et al. (1993) wurde eine Hsp72-Expression sowohl unter stressfreien als auch unter stressinduzierten Bedingungen nachgewiesen. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen jedoch sowohl bei der intakten Haut als auch bei der verletzten Haut keine Expression. Hsp60 und Hsp70 können daher nicht als Vitalitätsmarker verwendet werden.

In dieser Studie wies Hsp27 zwar eine Expression in der Epidermis auf. Im Studienkollektiv lag die relative Expression bei 60,55% und im Kontrollkollektiv bei 73,60%. Es ist aber zu berücksichtigen, dass dies eine andere Ursache haben kann. Eine

Studie von Sur et al. (2008) fand nämlich heraus, dass eine Herunterregulation von Hsp27 zu einer vermehrten Freisetzung von Entzündungsmediatoren, wie Prostaglandinen, führt. Dadurch kommt Hsp27 eine tragende Bedeutung hinsichtlich des Schutzes der Haut zu. Bezogen auf diese Studie ist es daher möglich, dass es aufgrund der mechanischen und thermischen Gewalteinwirkung zu einer Herunterregulation des Proteins gekommen ist, um Reparaturvorgänge in Gang zu setzen und zu beschleunigen. Dies kann der Grund für die Expression von Hsp27 im Studienkollektiv sein.

Grund für die Hsp27-Expression von 73,60% im Kontrollkollektiv kann sein, dass Hsp27 bereits unter normalen Bedingungen in der Epidermis vorliegt. Hsp27 färbt sich schnell in der Haut an und deshalb wurde die Haut auch als Organ bei der Positivkontrolle verwendet. Auch wenn in dieser Studie eine Expression von Hsp27 nachgewiesen wurde, kann auch Hsp27 aufgrund der beschriebenen Effekte kein verlässlicher Vitalitätsmarker sein.

### **4.3 Fibronektin**

Das Ergebnis dieser Studie zeigt, dass Fibronektin keinen verlässlichen Vitalitätsmarker darstellt. Die Ergebnisse der Fibronektinexpression sind mit den Ergebnissen von Ortiz-Rey et al. (2002) und Capatina et al. (2013) vergleichbar. Das Studienkollektiv von Ortiz-Rey et al. (2002) setzte sich aus 58 Wunden zusammen und war größer als das Studienkollektiv dieser Studie. Die Fibronektinexpression bei Ortiz-Rey betrug bei den vitalen Wunden 39,4%, in dieser Studie konnte in 11 von 23 Fällen (47,83%) eine Expression detektiert werden. Es gibt mögliche Erklärungen für diese geringe Expression des Fibronektins.

Ortiz-Rey et al. (2002) postuliert einen wichtigen Aspekt für eine fehlende Expression. In der Studie von Ortiz-Rey et al. (2002) kam es in 9 von 10 Fällen mit einem Wundalter von 2-4h und verspäteter Fixierung zu keiner Expression des Proteins. Dieser Aspekt muss auch bei dieser Studie in Betracht gezogen werden. Es ist leider unklar, wann genau die Fixierung der in dieser Studie verwendeten Präparate stattgefunden hat. Die verstrichene Zeit zwischen Probeentnahme und Fixierung der Präparate ist nicht bekannt. Somit können keine sicheren Rückschlüsse daraus gezogen werden. Allein der Zeitfaktor kann den möglichen Nachweis einer Expression verhindert haben.

Ein weiterer Punkt kann aus der Studie von Betz et al. abgeleitet werden. In der Studie von Betz et al. (1992) konnte Fibronektin im Bereich des Wundgebietes bei Fällen mit kurzer Überlebenszeit dargestellt werden. In der hier vorgenommenen Untersuchung fand sich Fibronektin diffus in der extrazellulären Matrix und zeigte keine Areale mit stark ausgeprägten Bereichen. Dies kann schon allein damit begründet werden, dass die Hautproben an der verletzten Stelle nicht zwingend mit dem ursprünglichen Wundrand entnommen wurden.

Die Studie von Fieguth et al. (2003) zeigen einen weiteren Aspekt auf. Fieguth et al. (2003) beschrieben eine fehlende Expression von Fibronektin in Fällen mit unmittelbarer Todesfolge und eine vorhandene Expression in Wunden mit einem Alter von 20 Minuten. Dies spiegelt sich in diesem Studienkollektiv aber nicht wider. In Fällen mit Expression von Fibronektin zeigte sich in drei Fällen eine sehr kurze Agoniedauer, in drei Fällen eine kurze Agoniedauer und in fünf Fällen eine lange Agoniedauer. Das Studienkollektiv bestand nicht aus Fällen mit sehr langer Agoniedauer, das heißt mit einer Agoniedauer von mehreren Tagen. Es zeigt sich, dass die Agoniedauer Einfluss auf die Expression von Fibronektin nimmt. Aufgrund dessen sollten weitere Studien mit Fällen von längerer Agoniedauer durchgeführt werden. Letztendlich bleibt es dabei, dass die Verwendung von Fibronektin aufgrund der oben beschriebenen Punkte als Vitalitätsmarker stark eingeschränkt ist.

#### **4.4 Aquaporin 1**

Aqp1 ist als Vitalitätsmarker nicht geeignet, weil sich eine Expression sowohl bei verletzter als auch intakter Haut zeigte. In dieser Studie färbte Aqp 1 in der Dermis der verletzten Haut 1,32 Aqp1-positive Blutgefäße pro Gesichtsfeld. In der Kontrollgruppe lag die Anzahl der positiv gefärbten Blutgefäße bei 0,74 Blutgefäßen pro Gesichtsfeld. Die gleiche Anfärbung um die dermalen Kapillaren zeigte sich auch bei Agren et al. (2003) in Experimenten an der Haut von Ratten. Bei der Studie von Agren et al. (2003) hatte sich gezeigt, dass aufgrund der geringeren Kapillardichte im höheren Alter, die Expression dort verringert ist.

Wenn diese Ergebnisse der Aqp1-Expression mit den Erkenntnissen von Ishida et al. (2018a) verglichen werden, zeigt sich bei Ishida et al. eine wesentlich höhere Aqp1-Expression der Blutgefäße. Ein Grund hierfür könnte eine unterschiedliche Dichte von Blutgefäßen sein, die von der Lokalisation der Haut abhängig ist. Sowohl bei Ishida et al. als auch in dieser Studie konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Aqp1-positiv gefärbten Blutgefäßen der verletzten und der intakten Haut nachgewiesen werden. Sowohl in der verletzten als auch in der intakten Haut färbten sich die dermalen Blutgefäße an. Deshalb eignet sich Aqp1 nicht als Vitalitätsmarker.

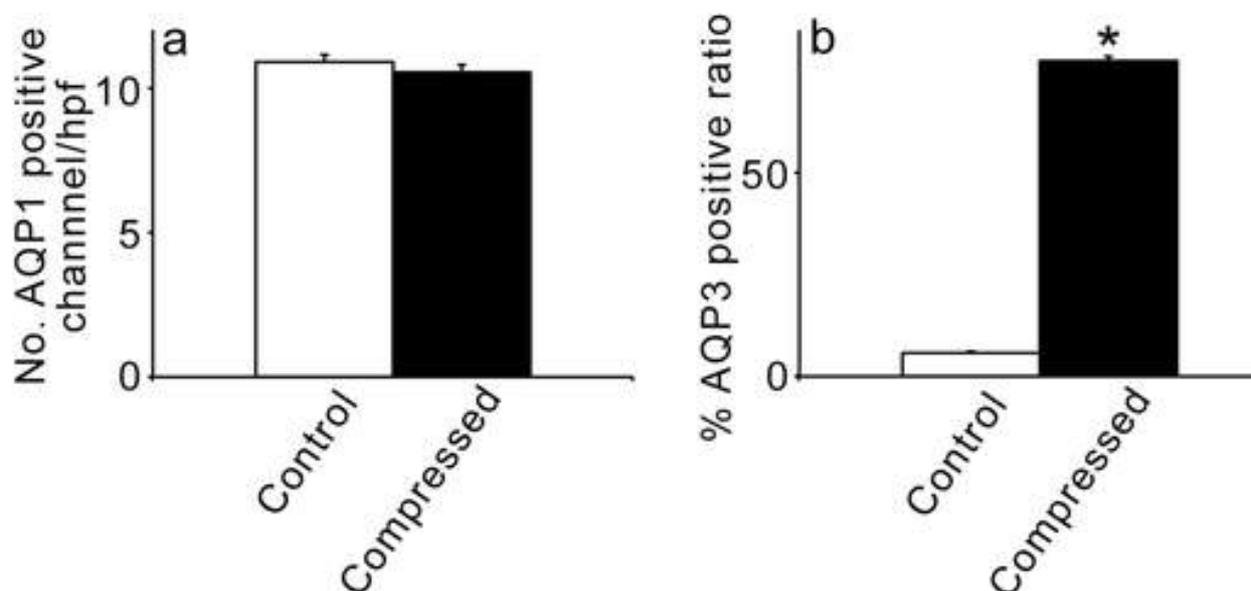
#### **4.5 Aquaporin 3**

Aqp3 erwies sich in dieser Studie als ein möglicher Vitalitätsmarker. Das Ergebnis der Aqp3-Expression ist vergleichbar mit der Studie von Sugiyama et al. (2001), denn auch dort konnte man eine Aqp3-Expression in den Keratinozyten der Epidermis nachweisen. In der Studie von Sugiyama et al. (2003) zeigte sich, dass durch Erhöhung des osmotischen Drucks die Expression von Aqp3 in den Keratinozyten ansteigt. Auch in dieser Studie färbte sich Aqp3 in den Keratinozyten an. Die Aqp3-Expression betrug 70,48 % im Studienkollektiv und 42,98 % im Kontrollkollektiv.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung hinsichtlich der Aqp3-Expression sind ebenfalls mit den Ergebnissen der Studie von Ishida et al. (2018a) und Prangenberg et al. (2021) vergleichbar. Es wurden die gleiche Färbemethode und die gleiche Auswertung der Ergebnisse verwendet. Sowohl diese Studie als auch die Studie von Ishida et al. zeigten eine Aqp3-Expression der Keratinozyten in der Gruppe mit der verletzten Haut nach Strangulation (Ishida et al. 2018a). Im Vergleich zu dieser Studie kam es bei Ishida et al. in der Kontrollgruppe mit der intakten Haut zu keiner starken Expression des Proteins. Obwohl in dieser Studie im Kontrollkollektiv eine Expression vorlag, kann Aqp3 als ein möglicher Vitalitätsmarker beschrieben werden.

$P < 0,05$  wird als signifikant angenommen und somit lassen sich die Ergebnisse von Ishida et al. (2018a) mit  $p = 0,01$  als signifikant beschreiben. Mit  $p = 0,001$  lässt sich das Ergebnis der Aqp3-Expression dieser Studie von 70,48% als signifikant beschreiben.

Da Aqp3 als Vitalitätsmarker eingestuft wird, wurden innerhalb dieser Studie die Expressionen bezogen auf weitere Aspekte untersucht.



**Abb. 53:** Ergebnisse der Untersuchungen von Ishida et al. (2018a) **a** Aqp1-Expression **b** Aqp3-Expression.

#### 4.6 Aqp3-Expression in Bezug auf die Art der Verletzung

Die Arbeitsgruppe von Ishida et al. untersuchte 35 Erhängungsfälle und 21 Strangulationsfälle auf die Aqp3-Expression (Ishida et al. 2018a) und konnte einen Zusammenhang zur Aqp3-Expression feststellen. Auch in dieser Studie konnte neben dem Ergebnis, dass Aqp3 ein Vitalitätsmarker ist, eine mittlere Korrelation zur Art der Verletzung herausgefunden werden. Im Vergleich zu Ishida et al. (2018a) wurden neben der Strangulation das Kollektiv um folgende Verletzungen ausgeweitet: Exkoration, Hautvertrocknung, Kälteerythem, Quetsch-Risswunde, Schnitt und Schuss. Das Ergebnis dieser Studie zeigt, dass Aqp3 mit seiner Expression nur eine mittlere Korrelation zur Art der Verletzung aufweist und somit unabhängig von der Art der Verletzung ist. Mit einem  $p=0,35$  ist die Korrelation nicht signifikant, was jedoch mit einem größeren Studienkollektiv verbessert werden könnte.

#### 4.7 Aqp3-Expression in Bezug auf die Agoniedauer

In der Studie von Ishida et al. (2018b) konnte ein Zusammenhang zwischen dem Wundalter und der Aqp3-Expression festgestellt werden. Zunächst war die Expression des Proteins bei einem Wundalter von weniger als einem Tag schwach ausgebildet. Bei

einem Wundalter von vier bis 14 Tagen war die Aqp3-Expression verstärkt exprimiert und bei einem Wundalter von 17 bis 21 Tagen reduziert. In dieser Studie zeigte die Aqp3-Expression eine geringe Korrelation zu der jeweiligen Agoniedauer. Hierbei muss erwähnt werden, dass die Agoniedauer in einem Fall im Bereich von Sekunden, in zehn Fällen im Bereich von Minuten und in zehn Fällen im Bereich von Stunden lag. Die verstärkte Expressierung, die Ishida et al. (2018b) bei einem Wundalter von vier bis 14 Tagen postuliert, konnte in dieser Studie aufgrund fehlender Fälle mit diesem Wundalter nicht untersucht werden. Aufgrund dessen sind weitere Studien in diesem Bereich mit Fällen einer längeren Agoniedauer notwendig, um weitere Aussagen zum Einfluss der Agoniedauer treffen zu können.

#### **4.8 Aqp3-Expression in Bezug auf das maximale postmortale Intervall bis zur Obduktion**

In dieser Studie ergab sich eine geringe nicht signifikante Korrelation zwischen der Aqp3-Expression und der Länge des postmortalen Intervalls. Das postmortale Intervall bezog sich in diesem Studienkollektiv auf Fälle mit einem Intervall von weniger als einem Tag und einem Intervall bis zu 19 Tagen. Aufgrund der geringen Korrelation lässt sich die Annahme von Ishida et al. (2018a) zur Bedeutung der Intervalllänge nicht bestätigen. Ishida et al (2018a) verwendete deshalb Fälle mit einem postmortalen Intervall von maximal drei Tagen, um unspezifische Hintergrundverfärbungen zu vermeiden (Kondo et al. 2002, Hayashi T 2004). In der hier vorgenommenen Untersuchung wurde wegen der geringen Korrelation zwischen Expression und der postmortalen Intervalllänge diese Begrenzung nicht vorgenommen.

#### **4.9 Limitationen der Studie**

Bei den immunhistochemischen Untersuchungen traten die folgenden Limitationen auf. Als Kontrollkollektiv wurde die intakte Bauchhaut des Studienkollektivs verwendet. Nicht in allen Fällen war bekannt, an welcher Körperstelle die verletzte Haut entnommen wurde. Bei dem Aqp3-Kollektiv war in 19 von 21 Fällen die Lokalisation der entnommenen verletzten Hautprobe bekannt. In diesen Fällen lagen die verletzte Haut und die Kontrollhaut weit auseinander. In zwei der 21 Fälle lagen mehrere Verletzungen der Haut vor, doch sie waren alle nicht im Bereich der entnommenen Kontrollhaut lokalisiert.

Es sollte in Betracht gezogen werden, dass es zu einer erhöhten Expression in der Kontrollhaut kommen kann, wenn die Distanz zur verletzten Haut nicht groß genug ist. Wie Grellner et al. (1998) in einer Studie hervorhoben, sind die unterschiedlichen Reaktionsmuster der Proteine noch nicht abschließend geklärt. Durch den passiven Flüssigkeitsaustausch durch verletzte Blutgefäße kann es zu einer Infiltration des umliegenden Gewebes kommen. Dies könnte ein möglicher Erklärungsansatz für die erhöhte Expression in manchen Fällen im Kontrollkollektiv sein.

Außerdem muss auch in Betracht gezogen werden, dass nicht sichtbare Gewalteinwirkungen der Kontrollhaut vorliegen könnten, was zu einer veränderten Expression führen könnte.

Ishida et al. (2018a) benutzt als Primärantikörper bei Aqp1 einen rabbit anti-Aqp1 Antikörper und bei Aqp3 den goat anti-Aqp3 Antikörper. Dies deckt sich nicht mit den hier verwendeten Primärantikörpern aus Tabelle 6, weshalb dies als mögliche Limitation in Betracht gezogen werden sollte. In dieser Studie wurde bei Aqp1 ein monoklonaler Maus-Antikörper und bei Aqp3 ein polyklonaler Kaninchen-Antikörper benutzt.

Ebenso müssen bei der Interpretation der Studienergebnisse Probleme der immunhistochemischen Färbung berücksichtigt werden. In beiden untersuchten Kollektiven (Studienkollektiv und Kontrollkollektiv) stellte die Fragilität der Hautproben einen limitierenden Faktor dar. Sowohl das Zuschneiden der Gewebeproben am Mikrotom als auch der spätere Färbeprozess gestalteten sich teilweise aufgrund der Fragilität der Haut als schwierig. Die Fragilität der Haut führte dazu, dass sich Teile der Epidermis häufig ablösten und nicht erhalten werden konnten. Aufgrund dessen setzen sich die Proteine aus unterschiedlich vielen Fällen zusammen.

Ein weiterer Aspekt ist die in dieser Arbeit verwendete Auswertungsmethode. Die hier verwendete Methode ist als semiquantitativ einzuordnen, da die Beurteilung der Expression auf der Subjektivität des Untersuchers beruht. Zur Vertiefung der Erkenntnisse wäre ein quantitatives Auswertungsverfahren des gesamten Objektträgers anzustreben.

Ein weiterer limitierender Faktor der Studie stellt die hier vorliegende kleine Stichprobe dar. Mit einer größeren Fallanzahl könnten weitere wichtige Erkenntnisse gewonnen werden. Eine Hinzunahme von Fällen mit längerer Agoniedauer wäre von Interesse, um diese mit den Ergebnissen von Ishida et al. (2018b) vergleichen zu können. Ishida et al. (2018b) beschreibt eine verstärkte Expression bei einem Wundalter von vier bis 14 Tagen, die aufgrund fehlender Proben in diesem Kollektiv nicht abgedeckt werden können. Ergänzend könnten Studien mit weiteren Fällen durchgeführt werden, bei denen der Zeitpunkt der Fixierung der Präparate dokumentiert wird. Dies konnte in dieser Studie rückwirkend nicht eruiert werden.

#### **4.10 Ausblick**

Für weitere Studien in diesem Gebiet könnte es von großem Interesse sein, ob eine Korrelation zwischen der Höhe der Expression der Vitalitätsmarker und der Stärke der Gewalteinwirkung besteht. Es könnte ein mittlerer Zusammenhang zwischen den unterschiedlichen Arten der Verletzung gefunden werden. Aber durch genauere Analyse der einzelnen Verletzungsarten könnte die Intensität der Gewalteinwirkung ermittelt werden. Beispielsweise könnte die Kraftintensität, die zu einer Quetsch-Risswunde geführt hat, näher differenziert werden. Eine Quetsch-Risswunde durch einen Sturz aus großer Höhe bedeutet eine größere Krafteinwirkung auf die Haut, verglichen mit einem Sturz aus dem Stand.

Außerdem ist die Bestimmung des Wundalters in der forensischen Diagnostik ein elementarer Bestandteil. Das Wundalter beschreibt das Intervall zwischen Eintritt der Verletzung und dem Eintritt des Todes. Vor allem in Fällen von Tötungsdelikten, Körperverletzungen mit Todesfolge oder anfangs überlebten Unfällen ist es wichtig, den genauen Zeitpunkt der Verletzungen festzulegen, um somit weitere Rückschlüsse auf das Geschehen machen zu können.

In dieser Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Agoniedauer und der Aqp3-Expression festgestellt werden. Da in den meisten Fällen eine kurze Agoniedauer vorlag, wäre es für die Zukunft von Interesse weitere Studien mit Hautproben verschiedener Verletzungsarten durchzuführen, in denen auch Fälle mit längerer Agoniedauer berücksichtigt werden.

Zur Vervollständigung sollten zudem bestätigte postmortal entstandene Verletzungen zum Kollektiv hinzugefügt werden. Durch Hinzunahme von Fällen mit postmortalen Verletzungen wie durch Vegetationen oder Tierfraß könnten Rückschlüsse daraus gezogen werden, ob postmortale Verletzungen eine Veränderung der Aqp3-Expression bewirken und somit von antemortalen Verletzungen unterschieden werden können.

## 5. Zusammenfassung

Die Bestimmung der Vitalität von Wunden ist ein wichtiger Aspekt in der forensischen Diagnostik. Es ist wichtig, verschiedene Art von verletzter Haut zu identifizieren und mit der Todesursache in Verbindung zu setzen. Ziel dieser Dissertation war durch immunhistochemische Untersuchungen herauszustellen, ob die untersuchten Proteine bei jeglicher mechanischen und thermischen Gewalteinwirkung im Bereich der verletzten Haut verstärkt exprimiert werden und somit als Vitalitätsmarker in Frage kommen. Es wurden Hsp27, 60, 70, Fibronektin, Aqp1 und 3 immunhistochemisch untersucht.

Hierfür wurden sowohl die verletzte Haut als auch die intakte Bauchhaut als Kontrolle von insgesamt 51 Fällen näher betrachtet. Es lagen folgende Arten von Verletzungen vor: Biss, Brandwunde, Exkoration, Hautvertrocknung, Kälteerythem, Quetsch-Risswunde, Schnittverletzung, Schussverletzung und Strangulation.

Im Anschluss an die immunhistochemische Färbung erfolgte eine semiquantitative Auswertung in Anlehnung an Ishida et al. (2018a). Es wurden sowohl zehn Gesichtsfelder der Epidermis, als auch der Dermis nach dem Zufallsprinzip ausgewählt. Beim Betrachten der Epidermis wurde das Verhältnis von angefärbten Keratinozyten zu den dargestellten Keratinozyten prozentual angegeben. In der Dermis wurden die positiv gefärbten Blutgefäße gezählt.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass Aqp3 als Vitalitätsmarker verwendet werden kann, denn Aqp3 färbt sich zu 70,48 % in der Epidermis der verletzten Haut an. Im Kontrollkollektiv lag die Expression der Keratinozyten bei 42,98 %. Es konnte ein geringer nicht signifikanter Zusammenhang der Aqp3-Expression hinsichtlich des Alters, des Geschlechts, des BMIs, des postmortalen Intervalls und der Agoniedauer des Studienkollektivs gefunden werden. Im Hinblick auf die Art der Verletzung konnte eine mittlere nicht signifikante Relation zu der Aqp3-Expression festgestellt werden. Die anderen untersuchten Proteine wiesen keine signifikante Expression auf und können nicht als Vitalitätsmarker angesehen werden.

Zusammenfassend eignet sich Aqp3 als Vitalitätsmarker bei mechanischer und thermischer Gewalteinwirkung bei der Expression der Keratinozyten in der Epidermis. Für weitere Aussagen hinsichtlich der Korrelation zu bestimmten Parametern des Studienkollektivs ist eine größere Stichprobe notwendig. Für weitere Studien in diesem Gebiet könnte es von großem Interesse sein, ob die Stärke der Gewalteinwirkung mit der Höhe der Expression der Vitalitätsmarker korreliert. Darüber hinaus könnten Fällen mit einer längeren Agoniedauer untersucht werden, um somit im weiteren Verlauf zu schauen, ob die Expression davon abhängig ist.

## 6. Anhang

### 6.1 Färbeprotokoll der immunhistochemischen Färbung

- Entparaffinierung:
- Xylol (20 Minuten)
  - Absteigende Ethanolreihe (2 x 100 %, 2 x 96 %, 2 x 70 %, 2 x 50 %)
  - Spülen in TRIS-Puffer (1:10 verdünnt)
- Vorbehandlung:
- Kochen des Gewebes in Citratpuffer mit pH 6,0 (Fibronektin, pH 9,0) für 30 Minuten bei 600 Watt in der Mikrowelle
  - 20 Minuten abkühlen lassen
  - Spülen in TRIS-Puffer
- LSAB-Methode:
- Schweineserum (1:5 in TRIS-Puffer verdünnt) auftropfen
  - 20 Minuten warten
  - Schweineserum abkippen
  - Erstantikörper (verdünnt in Antibody Diluent von Dako) auftropfen
  - Deckglas auflegen
  - Inkubation über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank
  - Spülen in frischem TRIS-Puffer
  - Objektträger um den Schnitt herum abwischen
  - Spezifischen Zweitantikörper (LSAB-Kit Flasche Nr.1) auftropfen
  - Deckglas auflegen
  - 30 Minuten bei Raumtemperatur warten
  - Spülen in frischem TRIS-Puffer
  - Blockingreagenz von Dako zum Abblocken der endogenen Peroxidase auftropfen
  - 5 Minuten warten
  - 2 x Spülen in frischem TRIS-Puffer
  - AB-Komplex (LSAB-Kit Flasche Nr. 2) auftropfen
  - Deckglas auflegen
  - 30 Minuten warten

- Spülen in frischem TRIS-Puffer
- Expression des Antigen-Antikörper-Komplexes mit AEC-Substrat
- ständige Mikroskopkontrolle bis zum optimalen Färbereignis
- Stoppen der Färbung durch Spülen in Aqua dest.

EnVision:

- Auftropfen von Peroxidase-Block-Lösung
- 20 Minuten warten
- 2x Spülen in frischem TRIS-Puffer
- Erstantikörper (verdünnt in Antibody Diluent von Dako) auftropfen
- Deckglas auflegen
- Inkubation über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank
- Spülen in TRIS-Puffer
- Auftropfen des Polymer-Systems (DAKO), Zweitantikörper
- Inkubation bei 37 °C in feuchter Kammer für mindestens 1 Stunde
- Spülen in frischem TRIS-Puffer

Kernfärbung:

- Anfärben der Kerne mit Hämalaun nach Meyer für 15 Sekunden
- Bläuen zum Stabilisieren der Kerne: Spülen in Leitungswasser
- Eindecken mit Aquatex®

## 7. Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b> schematischer Aufbau der Haut. (Dorethy S 2020) .....	12
<b>Abb. 2:</b> Verbrennungsgrade und betroffene Hautschichten: Verbrennung I. Grades epidermal, Verbrennung II. Grades dermal, Verbrennung III. Grades transdermal, Verbrennung IV. Grades Subkutis (aus Madea 2007).....	14
<b>Abb. 3:</b> Exkoration mit abgehobenen Epithelschüppchen; mit Genehmigung von Zollinger 2020 .....	15
<b>Abb. 4:</b> Morphologische Kriterien einer Kontinuitätsdurchtrennung der Haut durch stumpfe Gewalt; mit Genehmigung von Prof. Dirnhofer .....	16
<b>Abb. 5:</b> Lokalisationen selbstbeigebrachter Verletzungen (aus Madea und Dettmeyer 2007). .....	17
<b>Abb. 6:</b> typisches und atypisches Erhängen nach Ponsold 1967, gezeichnet von Anna Blumberg .....	20
<b>Abb. 7:</b> Sanduhrenmodel, Struktur der Aquaporine (nach Jung et al. 1994).....	26
<b>Abb. 8:</b> Mechanismus der Immunhistochemie (nach Genecopoeia 2018).....	34
<b>Abb. 9:</b> Studienkollektiv, Aqp3, Quetsch-Risswunde, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung. ....	46
<b>Abb. 10:</b> Studienkollektiv, Aqp3, Hautvertrocknung, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 50 %, 400-fache Vergrößerung. ....	47
<b>Abb. 11:</b> Studienkollektiv, Aqp1, Schnittverletzung, Anzahl Aqp1-positiver Blutgefäße: 3, 400-fache Vergrößerung. ....	47
<b>Abb. 13:</b> Studienkollektiv, HE-Färbung, Quetsch-Risswunde, 400-fache Vergrößerung. ....	48
<b>Abb. 14:</b> durchschnittliche relative Hsp27-Expression pro Gesichtsfeld der Epidermis, Studienkollektiv.....	53
<b>Abb. 15:</b> Studienkollektiv, Hsp27, Schussverletzung, relative Hsp27-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung. ....	53
<b>Abb. 16:</b> Anzahl durchschnittlich gefärbter Hsp27-Blutgefäße pro Gesichtsfeld in der Dermis, Studienkollektiv. ....	54
<b>Abb. 17:</b> Studienkollektiv, Hsp27, Hautvertrocknung, Anzahl Hsp27-positiver Blutgefäße: 4, 400-fache Vergrößerung. ....	54

<b>Abb. 18:</b> durchschnittliche relative Hsp60-Expression pro Gesichtsfeld der Epidermis, Studienkollektiv.....	55
<b>Abb. 19:</b> Studienkollektiv, Hsp60, Exkoration, relative Hsp60-Expression der Epidermis: 0 %, 400-fache Vergrößerung. ....	56
<b>Abb. 20:</b> durchschnittliche Anzahl Hsp60-gefärbter Blutgefäße pro Gesichtsfeld in der Dermis, Studienkollektiv. ....	56
<b>Abb. 21:</b> durchschnittliche relative Hsp70-Expression pro Gesichtsfeld der Epidermis, Studienkollektiv.....	57
<b>Abb. 22:</b> Studienkollektiv, Hsp70, Hautvertrocknung, keine Expression der Epidermis oder der Blutgefäße in der Dermis, 400-fache Vergrößerung. ....	58
<b>Abb. 23:</b> Studienkollektiv, HE-Färbung, Hautvertrocknung, 400-fache Vergrößerung. ...	58
<b>Abb. 24:</b> Studienkollektiv, Hsp70, Quetsch-Risswunde, keine Expression der Epidermis oder der Blutgefäße in der Dermis, 400-fache Vergrößerung. ....	59
<b>Abb. 25:</b> durchschnittliche Anzahl Aqp1-gefärbter Blutgefäße pro Gesichtsfeld in der Dermis, Studienkollektiv. ....	60
<b>Abb. 26:</b> Studienkollektiv, Aqp1, Hautvertrocknung, Anzahl Aqp1-positiver Blutgefäße: 12, 400-fache Vergrößerung. ....	60
<b>Abb. 27:</b> Studienkollektiv, Aqp1, Hautvertrocknung, Anzahl Aqp1-positiver Blutgefäße: 5, 400-fache Vergrößerung. ....	61
<b>Abb. 28:</b> durchschnittliche relative Aqp3-Expression der Epidermis pro Gesichtsfeld, Studienkollektiv.....	65
<b>Abb. 29:</b> Studienkollektiv, Aqp3, Exkoration, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung. ....	66
<b>Abb. 30:</b> Studienkollektiv, Aqp3, Schussverletzung, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung. ....	66
<b>Abb. 31:</b> Studienkollektiv, HE-Färbung, Schussverletzung, 400-fache Vergrößerung. ...	67
<b>Abb. 32:</b> Studienkollektiv, Aqp3, Kälteerythem, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100%, 400-fache Vergrößerung. ....	67
<b>Abb. 33:</b> durchschnittliche Anzahl Aqp3-gefärbter Blutgefäße pro Gesichtsfeld in der Dermis, Studienkollektiv. ....	68
<b>Abb. 34:</b> Zusammenhang zwischen dem Alter und der Aqp3-Expression. ....	70
<b>Abb. 35:</b> Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und der Aqp3-Expression.....	70

<b>Abb. 36:</b> Zusammenhang zwischen dem BMI und der Aqp3-Expression. ....	71
<b>Abb. 37:</b> Zusammenhang zwischen der Art der Verletzung und der Aqp3-Expression..	72
<b>Abb. 38:</b> Zusammenhang zwischen dem maximalen postmortalen Intervall und der Aqp3-Expression. ....	73
<b>Abb. 39:</b> Ergebnisse Fibronektin; 0 = keine Expression; 1 = schwach positiv (Expression bei 400-facher Vergrößerung); 2 = stark positiv (Expression bei 200-facher Vergrößerung). ....	75
<b>Abb. 40:</b> Studienkollektiv, Fibronektin, Schussverletzung, Extrazelluläre Matrix = 2; Epidermis = 0.....	75
<b>Abb. 41:</b> Studienkollektiv, Fibronektin, Schnittverletzung, Extrazelluläre Matrix = 2; Epidermis = 0.....	76
<b>Abb. 42:</b> Kontrollkollektiv, Fibronektin, Strangulation, Epidermis = 0; Extrazelluläre Matrix = 0.....	76
<b>Abb. 43:</b> Strangulationsmarke. ....	77
<b>Abb. 44:</b> Strangulationsmarke. ....	78
<b>Abb. 45:</b> Strangulationswerkzeug.....	78
<b>Abb. 46:</b> Studienkollektiv, Aqp3, Strangulation, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung. ....	79
<b>Abb. 47:</b> Oberschenkelausschuss. ....	80
<b>Abb. 48:</b> Studienkollektiv, Aqp3, Schussverletzung, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung. ....	81
<b>Abb. 49:</b> Kontrollkollektiv, Aqp3, Schussverletzung, keine relative Aqp3-Expression der Epidermis, 400-fache Vergrößerung. ....	81
<b>Abb. 50:</b> Schnittverletzung.....	82
<b>Abb. 51:</b> Studienkollektiv, Aqp3, Schnittverletzung, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 100 %, 400-fache Vergrößerung. ....	83
<b>Abb. 52:</b> Kontrollkollektiv, Aqp3, Schnittverletzung, relative Aqp3-Expression der Epidermis: 0 %, 400-fache Vergrößerung. ....	84
<b>Abb. 53:</b> Ergebnisse der Untersuchungen von Ishida et al. (2018a) <b>a</b> Aqp1-Expression <b>b</b> Aqp3-Expression. ....	89

## 8. Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 1:</b> Merkmale selbst- und fremdbeigebrachter Verletzungen (Madea et al. 2012)...18	
<b>Tab. 2:</b> Übersicht über die Familien der Hitzeschockproteine (nach Madden et al. 2008). .....	22
<b>Tab. 3:</b> Zusammenfassung der Studien Betz et al. (1992), Fieguth et al. (2003), Fechner et al. (1993), Grellner et al. (1998), Capatina et al. (2013), Ortiz-Rey et al. (2002), Legaz et al. (2018). ....	32
<b>Tab. 4:</b> Übersicht über das Studienkollektiv.....	36
<b>Tab. 5:</b> detaillierte Zusammensetzung des Studienkollektivs. ....	37
<b>Tab. 6:</b> verwendete Antikörper der einzelnen Proteine.....	44
<b>Tab. 7:</b> Positivkontrollen der einzelnen Proteine.....	44
<b>Tab. 8:</b> : Übersicht der mikroskopischen Auswertung der einzelnen Proteine mit Angabe des Mittelwertes der relativen Epidermisexpression, der Standardabweichung und der Signifikanz des t-Tests in der Epidermis. ....	51
<b>Tab. 9:</b> Übersicht der mikroskopischen Auswertung der einzelnen Proteine mit Angabe des Mittelwertes der durchschnittlichen Anzahl an Blutgefäßen pro Gesichtsfeld, der Standardabweichung und der Signifikanz des t-Tests in der Dermis.....	52
<b>Tab. 10:</b> detaillierte Zusammensetzung des Aqp3-Studienkollektivs.....	62
<b>Tab. 11:</b> Korrelation zur Aqp3-Expression nach Pearson, Spearman und Eta.....	69
<b>Tab. 12:</b> Ergebnisse Fibronektin; 0 = keine Expression; 1 = schwach positiv (Expression bei 400-facher Vergrößerung); 2 = stark positiv (Expression bei 200-facher Vergrößerung). ....	74

## 9. Literaturverzeichnis

Adelson L. Homicide by cervical compression and by drowning "Asphyxial Deaths". In: Thomas C, Hrsg. The Pathology of Homicide, Springfield; 1974: 521–575

Agashe VR, Hartl FU. Roles of molecular chaperones in cytoplasmic protein folding. *Semin Cell Dev Biol* 2000; 11: 15-25

Agre P. Aquaporin Water Channels (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition* 2004

Agren J, Zelenin S, Hakansson M, Eklof A.C., Aperia A., Neisum L.N., Nielsen S., Sedin G. Transepidermal water loss in developing rats: role of aquaporins in the immature skin. *Pediatr. Res.* 2003; 53: 558-565

Alitalo K, Hovi T, Vaheri A. Fibronectin is produced by human macrophages. *J. Exp. Med.* 1980: 1779-1791

Bollag W, Aitkens L, White J, Hyndman K. Aquaporin-3 in the epidermis: more than deep. *Am J Physiol Cell* 2020; 318 (6):C1144-C1153

Beck FX, Neuhofer W, Müller E. Molecular chaperones in the kidney: distribution, putative roles and regulation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 279: F203-F215

Betz P, Nerlich A, Wilske J, Tübel J, Wiest I, Penning R, Eisenmenger W. Immunohistochemical localization of fibronectin as a tool for the age determination of human skin wounds. *Int J Leg Med* 1992; 105: 21-26

Betz P, Nerlich A, Wilske J, Tübel J, Penning R, Eisenmenger W. The immunohistochemical localization of alpha1-antichymotrypsin and fibronectin and its meaning for the determination of the vitality of human skin wounds. *Int J Leg Med* 1993; 105: 223–227

Capatina C, Ceaușu M, Hostiuc S. Usefulness of fibronectin and P-selectin as markers for vital reaction in uncontrolled conditions. *Rom J Leg Med* 2013; 21: 281-282

Ciocca DR, Oesterreich S, Chamness GC, McGuire WL, Fuqua SA. Biological and clinical implications of heat shock. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1558-1570

Coons AH. Studies on antibody production: a method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. *J of Exp Med* 1955; 102: 49-60

Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. *Experimental Biology and Medicine* 1941; 47: 200-202

Craig E. The heat shock response. *Crit Rev Biochem* 1985; 18: 239-280

Daugaard M, Rohde M, Jäättelä M. The heat shock protein 70 family: highly homologous proteins with overlapping and distinct functions. *FEBS Lett* 2007; 581: 3702-3710

Deutsche Krebsgesellschaft. 2018. <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/hautkrebs/der-aufbau-der-haut.html> (Zugriffsdatum: 24.08.2018)

Doberentz E, Hagemeyer L, Madea B. Cable tie used for suicidal ligature strangulation-A case report. *Archiv für Kriminologie* 2009; 224: 17-25

Doberentz E, Gennepfer L, Böker D, Lignitz E, Madea B. Expression of heat shock proteins (Hsp) 27 and 70 in various organ systems in cases of death due to fire. *Int J Leg Med* 2014; 128: 967-978

Doberentz E, Gennepfer L, Wagner R, Madea B. Expression times for hsp27 and hsp70 as an indicator of thermal stress during death due to fire. *Int J Leg Med* 2017; 131: 1707-171

Doberentz E. Histologischer und immunhistochemischer Nachweis prämortaler hypo- und hyperthormaler Temperatureinflüsse. Habilitationsschrift Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 2017

Doreth SP 2020

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Structure\\_of\\_mammalian\\_skin\\_and\\_the\\_layers\\_typically\\_present\\_in\\_parchment.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Structure_of_mammalian_skin_and_the_layers_typically_present_in_parchment.png)

Eckert RL, Rorke EA. Molecular Biology of Keratinocyte Differentiation. Environ Health Perspect 1989; 80: 109-116

Eckert RL, Welter JF. Epidermal keratinocytes-genes and their regulation. Cell Death Differ 1996; 3: 373-383

Fechner G, Bajanowski T, Brinkmann B. Immunohistochemical alterations after muscle trauma. Int J Leg Med 1993: 1437-1596

Feder ME, Hofmann GE. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. Annu Rev Physiol 1999; 61: 243-282

Feige U, Polla BS. Heat shock proteins: the hsp70 family. Experientia 1994; 50: 979-986

Fieguth A, Feldbrügge H, Gerich T, Kleemann WJ, Tröger HD. The time-dependent expression of fibronectin, MRP8, MRP14 and defensin in surgically treated human skin wounds." Forensic Sci Int 2003; 131: 156-161

Frigeri A, Gropper MA, Umenishi F, Kawashima M, Brown D, Verkman AS. Localization of MIWC and GLIP water channel homologs in neuromuscular, epithelial and glandular tissues. J Cell Sci 1995; 108: 2993-3002

Fuchs E, Srikala R. Getting under the skin of epidermal morphogenesis. Nat Rev Genet

2002; 3: 199-209

Führung S. Der plötzliche Säuglingstod, Immunhistochemische Untersuchung der Expression von Hitzeschockproteinen 27 und 70 in verschiedenen Organsystemen. 2017

GeneCopoeia. 2018. <http://www.genecopoeia.com/wp-content/uploads/2014/10/Histology+brochure.pdf> (Zugriffsdatum: 24.08.2018)

Georgopoulos C, Welch CJ. "Role of the major heat shock proteins as molecular chaperones." *Annu Rev Cell Biol* 1993; 9: 601–634

Gordon I, Shaphiro HA, Berson SD. Death usually initiated by hypoxic hypoxia or anoxic anoxia. In: *Forensic medicine-a guide to principles*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1988: 95-127

Grellner W, Dimmeler S, Madea B. Immunohistochemical detection of fibronectin in postmortem incised wounds of porcine skin. *Forensic Sci Int* 1998; 97: 109-116

Grinnell F, Billingham RE, Burgess L. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. *J Invest Dermatol* 1981; 76: 181-189

Guo L, Chen H, Li Y, Zhou Q, Sui Y. An aquaporin 3-notch1 axis in keratinocyte differentiation and inflammation. *PLoS ONE* 2013

Hacettepe University Faculty of Medicine. 2018. <https://histologydrawings.blogspot.com/2014/01/skin.html> (Zugriffsdatum 24.08.2018)

Hara-Chikuma M, Verkman AS. Aquaporin-3 functions as a glycerol transporter in mammalian skin. *Biol Cell* 2005; 97: 479-486

Hara-Chikuma M, Verkman AS. Aquaporin-3 facilitates epidermal cell migration and proliferation during wound healing. *J Mol Med* 2008a; 86: 221-231

Hara-Chikuma M, Verkman AS. Roles of aquaporin-3 in the epidermis. *J Invest Dermatol* 2008b; 128: 2145–2151

Haslbeck M, Braun N, Stromer T, Richter B, Model N, Weinkauff S, Buchner J. Hsp42 is the general small heat shock protein in the cytosol of *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J* 2004; 23: 638-649

Haslbeck M, Franzmann T, Weinfurter D, Buchner J. Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins. *Nat Struct Mol Biol* 2005; 12: 842-846

Hayashi T, Ishida Y, Kimura A, Takayasu T, Eisenmenger W, Kondo T. Forensic application of VEGF expression to skin wound age determination. *Int J Legal Med* 2004; 118: 320-325

Hendrick JP, Hartl FU. Molecular chaperone functions of heat-shock proteins. *Annu Rev Biochem* 1993; 62: 349-384

Holland DB, Roberts SG, Wood EJ, Cunliffe WJ. Cold shock induces the synthesis of stress proteins in human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 196-199

Hörmann H. Fibronectin-Mediator between cells and connective tissue. *Klinische Wochenschrift*. 1982; 60: 1265-1277

Ishida Y, Nosaka M, Shimada E, Hata S, Yamamoto H, Hashizume Y, Kimura F, Kondo T. Forensic application of epidermal AQP3 expression to determination of wound vitality in human compressed neck skin. *Int J Leg Med* 2018a; 132: 1375-1380

Ishida Y, Nosaka M, Shimada E, Hata S, Yamamoto H, Hashizume Y, Kimura F, Kondo T. Immunohistochemical analysis on aquaporin-1 and aquaporin-3 in skin wounds from the aspects of wound age determination. *Int J Leg Med* 2018b; 132: 237-242.

Jaffee EA, Mosher DF. Synthesis of fibronectin by cultured human endothelial cells. *J Exp Med* 1978; 147: 1779-179

Jee H. Size dependent classification of heat shock proteins: a mini-review. *J Exerc Rehabil* 2016; 12: 255-259

Jung JS, Prestin GM, Smith BL, Guggino WB, Agre P. Molecular structure of the water channel through aquaporin CHIP. The hourglass model. *J Biol Chem* 1994; 20: 14648-14654

Jolly C, Morimoto RI. Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. *J Nati Cancer Inst* 2000; 92: 1564-1572

Jonak C, Klosner G, and Trautinger F. Heat shock proteins in the skin. *International Journal of Cosmetic Science* 2006; 28: 233-309

Kato K, Adachi S, Matsushima-Nishiwaki R, Minamitani C, Natsume H, Katagiri Y, Hirose Y, Mizutani J, Tokuda H, Kozawa O, Otsuka T. Regulation by heat shock protein 27 of osteocalcin synthesis in osteoblasts. *Endocrinology* 2011; 152: 1872-1882

Katschinski DM. On heat and cells and proteins. *News Physiol Sci* 2004; 19: 11-15

Kondo T, Tanaka J, Ishida Y, Mori R, Takayasu T, Ohshima T. Ubiquitin expression in skin wounds and its application to forensic wound age determination. *Int J Legal Med* 2002; 116: 267-272

Kondo T, Ishida Y. *Molecular Pathology of Wound Healing*. *For Sci Int* 2010; 203: 93-98

Korany MM, Ahmed M, Rashed LA, Saleh MA. Downregulation of aquaporin 3 in bullous pemphigoid patients. *Arch Dermatol Res* 2019; 311(2):93-97

Laplante F, Moulin V, Auger F, Landry J, Li H, Morrow G, Tanguay RM, Germain L.

Expression of heat shock proteins in mouse skin during wound healing. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 1998; 46: 1291-1301

Laskey RA, Honda BM, Mills AD, Finch JT. Nucleosomes are assembled by an acidic protein which binds histones and transfers them to DNA. *Nature* 1978; 275: 416-420

Legaz I, Pérez-Cárceles M.D, Gimenez M, Martínez-Díaz F, Osuna E, Luna A. Immunohistochemistry as a tool to characterize human skin wounds of hanging marks. *Rom J Leg Med* 2018; 26: 354-358

Lindquist S. The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet* 1988; 22: 631-677

Liu K, Agre P. Aquaporin water channels. In: *Encyclopedia of Biological Chemistry: Second Edition*, Hrsg. Elsevier. 2013: 120-126

Löffler G, Petrides P. Adhäsive Glykoproteine. In: Heinrich P, Matthias M, Graeve L, Hrsg. *Biochemie und Pathobiochemie*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer, 1997: 747

Lüllmann-Rauch R, Paulsen F. *Taschenlehrbuch Histologie*. Stuttgart: Thieme, 2003: 550-559

Rassow J, Hauser K, Netzker R, Deutzmann R. *Duale Reihe Biochemie*. Stuttgart: Thieme, 2012: 467-469

Madden LA, Sandström ME, Lovell RJ, McNaughton L. Inducible heat shock protein 70 and its role in preconditioning and exercise. *Amino Acids* 2008; 34: 511–516.

Madea B, Dettmeyer R, Mußhoff F. *Basiswissen Rechtsmedizin*. Heidelberg: Springer, 2007

Madea B, Mußhoff F, Tag B. *Praxis Rechtsmedizin*. Bern: Verlag Hans Huber, 2012

Madea B, Grellner W, Kondo T. Vital reactions and wound age estimation. In: Madea B. Handbook of Forensic Medicine. Wiley, 2014a

Madea B, Pollak S, Thierauf A, Meissner C, Oechmichen M, Leth P. Mechanical trauma and classification of wounds. In: Madea B. Handbook of Forensic Medicine. Wiley, 2014b  
Madea B. Rechtsmedizin-Befunderhebung, Rekonstruktion, Begutachtung. Berlin: Springer, 2015

Marchini G, Stabi B, Kankes K, Lonne-Rahm S, Ostergaard M, Nielsen S. AQP1 and AQP3, psoriasin and nitric oxide synthases 1-3 are inflammatory mediators in erythema toxicum neonatorum. *Pediatr Dermatol* 2003; 20: 377-384

Mathew A, Mathur SK, Morimoto RI. Heat shock response and protein degradation: regulation of HSF2 by the ubiquitin-proteasome pathway. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 5091-5098

Matsuzaki T, Suzuki T, Koyama H, Tamaka S, Takata K. Water channel protein AQP3 is present in epithelia exposed to the environment of possible water loss. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 1999; 47: 1275-1286

Mehlen P, Arrigo AP. The serum - induced phosphorylation of mammalian hsp27 correlates with changes in its intracellular localization and levels of oligomerization. *Eur J Biochem* 1994; 221: 327-334

Moll I. *Duale Reihe Dermatologie*. Stuttgart: Thieme, 2016

Montagna W, Kligman A, Carlisle K. *Atlas of normal human skin*. New York: Springer, 1992: 3-5

Morimoto RI. Cells in stress: transcriptional activation of heat shock genes. *Science* 1993; 259: 1409-1410

Mosher DF. Assembly of fibronectin into extracellular matrix. *Curr Opin Struct Biol* 1993;

3: 214-222

Mouw JK, Ou G, Weaver VM. Extracellular matrix assembly: a multiscale deconstruction. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15: 771-785

O'Shaughnessy RF, Christiano AM. Inherited disorders of the skin in human and mouse: from development to differentiation. *Int J Dev Biol*. 2004; 48: 171-179

Orsós F. Die vitalen Reaktionen und ihre gerichtsmedizinische Bedeutung. *Beiträge Pathologische Anatomie* 1935; 95: 162-237

Ortiz-Rey JA, Suarez-Peparanda JM, Da Silva EA, Munoz JI, San Miguel-Fragile P, De la Fuente-Buceta A, Concheiro-Carro L. Immunohistochemical detection of fibronectin and tenascin in incised human skin injuries. *For Sci Int* 2002; 126: 118-122

Pankov R, Yamada KM. Fibronectin at a glance. *J Cell Sci* 2002; 115: 3861-3863

Parsell DA, Lindquist S. The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins *Annu Rev Genet* 1993; 27: 437-496

Pollard TD, Earnshaw WC. *Cell Biology*. Philadelphia: Saunders-Elsevier, 2007: 92

Ponsold A, *Lehrbuch der Gerichtlichen Medizin*. Thieme Verlag, Stuttgart, 3. Auflage 1967

Potts JR, Jennifer R, Campbell ID. Fibronectin structure and assembly. *Curr Opin Cell Biol* 1994; 6: 648-655

Prangenberg J, Doberentz E, Witte AL, Madea B. Aquaporin 1 and 3 as local vitality markers in mechanical and thermal skin injuries. *International Journal of Legal Medicine* 2021

Quan S, Bardwell CA. Chaperone discovery. *Bioessays* 2012; 973-981

Ramos-Vara JA. Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet Pathol* 2005; 42: 405-426

Rassner G. *Dermatologie Lehrbuch und Atlas*. München: Elsevier, 1978: 5-9

Repeh, LA, Fitzgerald TJ, Furcht LT. Fibronectin involvement in granulation tissue and wound healing in rabbits. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 1982; 30: 351-358

Ritossa F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in drosophila. *Experientia* 1962; 18: 571-573

Rojek A, Praetorius J, Frokiaer J, Nielsen S, Fenton RA. A current view of the mammalian aquaglyceroporins. *Annu Rev of Physiol* 2008; 70: 301-327

Ruoslathi E, Vaheri A. Novel human serum protein from fibroblast plasma membrane. *Nature* 1974; 248: 789-791

Ruoslahti E, Pierschbacher M, Engvall E, Oldberg A, Hayman EG. Molecular and biological interactions of fibronectin. *J Invest Dermatol*. 1982; 79: 65-68

Ruoslahti E. Fibronectin and its Receptors. *Annu Rev of Biochem* 1988; 57: 375-413

Sebastian R, Chau E, Fillmore P, Matthews J, Price LA, Sidhaye V, Milner S. Epidermal aquaporin-3 is increased in the cutaneous burn wound. *Burns* 2015; 41: 843-847

Sorger PK. Heat shock factor and the heat shock response. *Cell* 1991; 65: 363-366

Sougrat R, Morand M, Gondran C, Barré P, Gobin R, Bonte F, Dumas M, Verbavatz JM. Functional expression of AQP3 in human skin epidermis and reconstructed epidermis. *J Invest Dematol* 2002; 118: 678-685

Sugiyama Y, Ota Y, Hara M, Inoue S. Osmotic stress up-regulates aquaporin-3 gene expression in cultured human keratinocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 2001; 1522: 82-88

Sur R, Lyte PA, Southall MD. Hsp27 regulates pro-inflammatory mediator release in keratinocytes by modulating NF- $\kappa$ B signaling. *J Invest Dermatol* 2008; 128:1116-1122

Tamkun JW, Hynes RO. Plasma fibronectin is synthesized and secreted by hepatocytes. *J Biol Chem* 1983; 258: 4641-4647

Tradtrantip L, Tajima M, Li L, Verkman AS. Aquaporin water channels in transepithelial fluid transport. *J Med Invest* 2009; 56: 179-184

Trautinger F, Trautinger I, Kindas-Mügge I, Metze D, Luger TA. Human keratinocytes in vivo and in vitro constitutively express the 72-KD heat shock protein. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 334-338

Trautinger F, Trautinger I, Kindas-Mügge I, Metze D, Luger TA. Expression of the 27 KDa heat shock protein in human epidermis and in epidermal neoplasms: An immunohistological study. *British Journal of Dermatology* 1995; 133: 194-202

Verkman AS. Aquaporin water channels and endothelial cell function. *J Anat* 2002; 200: 617-627

Verkman AS. Dissecting the roles of aquaporins in renal pathophysiology using transgenic mice. *Semin Nephrol* 2008; 28: 217-226

Verkman AS, Ratelade J, Rossi A, Zhang H, Tradtrantip L. Aquaporin-4: orthogonal array assembly, CNS functions, and role in neuromyelitis optica. *Acta Pharmacol Sin* 2011; 32: 702-710

Verkman AS. Aquaporins in clinical medicine. *Annu Rev Med* 2012; 63: 303-316

Walter S, Buchner J. Molecular chaperones-cellular machines for protein folding. *Angew Chem Int Ed* 2002; 41: 1098-1113

Walz T, Hirai T, Murata K, Heymann JB, Mitsuoka K, Fujiyoshi Y, Smith BL, Agre P, Engel A. The three-dimensional structure of aquaporin-1. *Nature* 1997; 387: 624

Wang X, Chen M, Zhou J, Zhang X. HSP27, 70 and 90, anti-apoptotic proteins, in clinical cancer therapy (Review). *Int J Oncol* 2014; 45: 18-30

Welch WJ, Feramisco JR. Nuclear and nucleolar localization of the 72,000-Dalton heat shock protein in heat-shocked mammalian cells. *J Biol Chem* 1984; 259: 4501-4513

Welch WJ. Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins and implications for medicine and disease. *Physiol Rev* 1992; 72: 1063-1081

White ES, Baralle FE, Muro AF. New insights into form and function of fibronectin splice variants. *J Pathol* 2008; 216: 1-14

Zollinger U. Skriptum Rechtsmedizin der Universitäten Bern und Luzern, erweiterte 13. Auflage, 2020

## 10. Danksagung

Mein besonderer Dank für die sehr gute Betreuung und die stets hilfreiche konstruktive Zusammenarbeit gilt dem Direktor des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Bonn, Herrn Prof. Dr. med. Madea.

Frau Priv. - Doz. Dr. Elke Doberentz, Herrn Dr. Philipp Markwerth und Julian Geile für die stets gute Betreuung und Beratung, die mir wichtige Impuls gegeben haben.

Herrn Dirk Böker, für die freundliche und geduldige Unterstützung bei der Arbeit in der Immunhistochemie.

Herrn Christian Mohr für die Hilfe bei all den technischen Fragen. Außerdem danke ich den Präparatorinnen des Instituts.

Frau Anna Blumberg für das Zeichnen einer Abbildung.

Insbesondere gilt mein Dank meinen Eltern, Beate Witte und Dr. Andreas Witte, die mir immer beigestanden haben und mich motiviert haben. Meinem Bruder Jan-Philipp Witte, der während des gesamten Studiums und der Dissertation stets ein offenes Ohr für mich hatte und mir mit seiner konstruktiven Kritik geholfen hat. Und natürlich Matthias Frangenberg für die unermüdliche Unterstützung, die aufbauenden Worte und den Zuspruch.

Vielen Dank an die Korrektoren!