

Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg-Essen

Aus dem Institut für Rechtsmedizin

Bedeutung von Mutationen im Gen *KCNQ1* bei Todesfällen im Wasser

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von
Iliana Tzimas
aus Neuss
2017

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. J. Buer

1. Gutachter: Frau Prof. Dr. rer. nat. M. Poetsch

2. Gutachter: Herr Univ.-Prof. Dr. med. T. Rassaf

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Dezember 2017

Tzimas, I., Bajanowski, T., Poetsch, M. (2016): The role of hereditary *KCNQ1* mutations in water-related death. *Int J Legal Med.* 130(2), 361-3

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	8
1.1	EPIDEMIOLOGIE/DEFINITION DES TODES IM WASSER	8
1.1.1	<i>Ertrinken</i>	8
1.1.2	<i>Suizide</i>	9
1.1.3	<i>Spättodesfälle</i>	9
1.1.4	<i>Plötzliche/unerklärte Todesfälle im Wasser</i>	10
1.2	ERTRINKEN: PATHOMECHANISMUS, DIAGNOSE, MORPHOLOGIE.....	11
1.3	PLÖTZLICHER HERZTOD	14
1.4	LONG-QT-SYNDROM.....	15
1.5	ZIELSETZUNG	18
2	MATERIAL UND METHODEN.....	19
2.1	PROBEN.....	19
2.2	HISTOLOGIE.....	19
2.2.1	<i>Material</i>	19
2.2.2	<i>Methode allgemein</i>	20
2.2.3	<i>Zuschnitt und Herstellung von Paraffinschnitten</i>	20
2.2.4	<i>Färbung mit Hämatoxylin-Eosin</i>	20
2.3	DNA-EXTRAKTION.....	21
2.3.1	<i>Material</i>	21
2.3.2	<i>Allgemeines Prinzip</i>	21
2.3.3	<i>Präparation der Blutprobe</i>	22
2.3.4	<i>Phenol-Chloroform-Extraktion</i>	22
2.3.5	<i>DNA-Mini-Kit</i>	23
2.3.6	<i>innuPrep</i>	23
2.4	DNA-AMPLIFIKATION MIT HILFE DER PCR.....	24
2.4.1	<i>Material</i>	24
2.4.2	<i>Prinzip der PCR</i>	24

2.4.3	<i>Laborprotokoll der Singleplex-PCRs</i>	25
2.5	GELELEKTROPHORESE	27
2.5.1	<i>Material</i>	28
2.5.2	<i>Prinzip</i>	29
2.5.3	<i>Durchführung</i>	29
2.6	AUFREINIGUNG DER PCR-PRODUKTE.....	30
2.6.1	<i>Material</i>	30
2.6.2	<i>Prinzip</i>	30
2.6.3	<i>Durchführung</i>	30
2.7	CYCLE-SEQUENZIER-PCR	31
2.7.1	<i>Material</i>	31
2.7.2	<i>Prinzip</i>	31
2.7.3	<i>Durchführung</i>	31
2.8	AUFREINIGUNG DER SEQUENZIER-PCR-PRODUKTE MITTELS INVITEK (MSB® SPIN PCRAPACE).....	32
2.8.1	<i>Material</i>	32
2.8.2	<i>Prinzip</i>	32
2.8.3	<i>Durchführung</i>	32
2.9	AUFTRENNUNG DER SEQUENZIER-PCR-PRODUKTE DURCH KAPILLARELEKTROPHORESE UND AUSWERTUNG	33
2.9.1	<i>Material</i>	33
2.9.2	<i>Prinzip</i>	33
2.9.3	<i>Durchführung</i>	33
3	ERGEBNISSE	34
3.1	AUS DEN AKTEN ERMITTELTE DATEN ZU DEN FÄLLEN	34
3.2	MAKROSKOPISCHE DIAGNOSE.....	35
3.2.1	<i>Ertrinken</i>	35
3.2.2	<i>Andere Todesursachen</i>	35

3.2.3	<i>Ungeklärte Todesursache</i>	36
3.2.4	<i>Spättod nach Beinaheertrinken</i>	37
3.3	HISTOLOGIE.....	39
3.4	ETABLIERUNG DER PCR-ASSAYS ZUR AMPLIFIKATION DER AUSGEWÄHLTEN EXONS VON <i>KCNQ1</i>	41
3.5	ERGEBNISSE DER DNA-SEQUENZIERUNG.....	44
4	DISKUSSION	45
4.1	PROBLEMATIK DER DIAGNOSE ERTRINKEN ALS TODESURSACHE	46
4.2	MORPHOLOGISCHE BEFUNDE BEIM ERTRINKEN.....	46
4.3	MORPHOLOGISCHE BEFUNDE BEI FÄLLEN VON BEINAHEERTRINKEN	48
4.4	AUSWAHL DER GENETISCHEN METHODEN.....	49
4.5	MOLEKULARGENETISCHE GRUNDLAGEN: GRÜNDE/ERKLÄRUNGEN DES PLÖTZLICHEN HERZTODES.....	50
4.6	ZUSAMMENHANG ZWISCHEN LQT1 UND ERTRINKEN	51
4.7	AKTUELLE STUDIENLAGE.....	53
4.8	MOLEKULARE AUTOPSIE ALS ERGÄNZUNG ZU KLASSISCHEN RECHTSMEDIZINISCHEN METHODEN	56
5	ZUSAMMENFASSUNG	60
6	LITERATUR	61
7	ANLAGEN	72
7.1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	72
7.2	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	74
7.3	TABELLENVERZEICHNIS	75
7.4	ERGEBNISTABELLEN.....	76
7.4.1	<i>Daten der untersuchten Fälle (Alter, Geschlecht, Fundort, Todesursache)</i>	76
7.4.2	<i>Makroskopische Ertrinkungsbefunde</i>	81
7.4.3	<i>Histologische Ertrinkungsbefunde</i>	89
7.4.4	<i>Alle Mutationen in den untersuchten Exons von KCNQ1</i>	90

8	DANKSAGUNG.....	99
9	LEBENS LAUF.....	

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie/Definition des Todes im Wasser

Wenn eine Person im Wasser verstirbt, kommt neben dem Ertrinken nahezu jede weitere Todesursache infrage, die sich auch außerhalb des Wassers ereignen kann. Hinzu kommen Personen, die infolge eines Ertrinkungsunfalles/Asphyxie im/unter Wasser einen Herz-Kreislaufstillstand erlitten haben und wiederbelebt werden konnten, dann allerdings zu einem späteren Zeitpunkt (im Krankenhaus) an den Folgen dieses sogenannten Beinaheertrinkens (oder Anertrinkens) gestorben sind [Keil, 2007].

1.1.1 *Ertrinken*

Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) zufolge stellt Ertrinken mit ca. 372.000 Fällen pro Jahr 0,7% aller Todesfälle weltweit dar, wobei Tötungsdelikte, Suizide, Überschwemmungs-/Flutkatastrophen und Schiffsunglücke nicht in der Statistik vorkommen, und belegt die dritte Stelle unter den akzidentellen Todesursachen. 90% der Fälle ereignen sich in Ländern mit niedrigem bis mittlerem Einkommen, in Europa ertrinken jährlich ca. 37.000 Menschen [WHO 2014]. Aus dem Bericht der Deutschen Lebensrettungsgesellschaft lässt sich entnehmen, dass in Deutschland 392 Personen im Jahr 2014 ertranken (78% der Fälle ereigneten sich in Binnengewässern, 14 Personen ertranken in Schwimmbädern, fünf in privaten Pools oder Teichen) [https://www.dlrg.de/fileadmin/user_upload/DLRG.de/Ueber_uns/Statistiken/Statistik_2014/PI_zur_PK_Ertrinken_2014.pdf]. Mit einer Inzidenz von 0,49 je 100.000 Einwohner belegt Deutschland damit einen internationalen Spitzenplatz. In Deutschland sind ältere Menschen im internationalen Vergleich häufiger betroffen, 54% der Todesfälle ereigneten sich jenseits des 50. Lebensjahres [Strunden et al., 2015]. Weltweit ist Ertrinken bei Kindern eine der häufigsten Todesursachen, in der Altersklasse fünf bis 14 Jahre die zweithäufigste, bei den 15- bis 29-jährigen die vierthäufigste Todesursache [WHO 2014]. Darüber hinaus sind das männliche Geschlecht (Männer ertrinken unabhängig vom Alter fünfmal so häufig wie Frauen) und ein geringer sozioökonomischer Status (in afrikanischen Ländern liegt die Rate 10- bis 13-mal höher als in England oder Deutschland) wichtige Risikofaktoren

[WHO 2014]. Einen zusätzlichen Risikofaktor stellt der Konsum von Alkohol (durch die Betroffenen und/oder durch ihre Aufsichtspersonen) im Zusammenhang mit dem Aufenthalt im oder am Wasser dar [Martyn, 2014].

1.1.2 *Suizide*

Suizide durch Ertrinken standen in den Jahren 2013 bis 2015 an zehnter Stelle der Statistik der Suizidmethoden in Deutschland [<https://de.statista.com/statistik/daten/studie/585/umfrage/selbstmordmethoden-in-deutschland-2006/>]. Wenn keine eindeutigen Hinweise wie Selbstfesselung, Abschiedsbriefe oder mündliche Ankündigungen vorhanden sind, kann die Differenzierung zwischen beabsichtigtem und unbeabsichtigtem Ertrinken schwer sein. Begleitende Verletzungen wie Pulsaderschnitte oder entsprechende Narben, ebenso wie das Anbringen von Gewichten oder der Nachweis von Drogen/Medikamenten, die eine Selbstrettung verhindern sollen, können ggf. hinweisend sein [Todt et al., 2014].

Neben suizidalem Ertrinken werden auch weitere Suizidmethoden im Wasser verübt, dies sind vor allem Stromtode, aber auch Pulsaderschnitte und Intoxikationen. Suizide im Wasser wurden von dieser Untersuchung allerdings ausgeschlossen.

1.1.3 *Spättodesfälle*

Wenn eine Person einen Ertrinkungsunfall überlebt, also gerettet wird oder zunächst wiederbelebt werden kann, so wird dieser Fall in dieser Studie als Beinaheertrinken [Keil, 2007] bezeichnet. Die Definition des Beinaheertrinkens wurde in den letzten Jahren diskutiert. Die ursprüngliche, über viele Jahre verwendete Definition legte eine mindestens 24-stündige Überlebenszeit nach Wiederbelebung zugrunde [van Beek und Branche, 2014]. In einer Konsensuskonferenz im Jahre 2002 wurde vorgeschlagen, diesen Begriff nicht länger zu verwenden, sondern an seiner Stelle die Bezeichnungen „Submersions-Verletzung“ bzw. „tödliches“ und „nicht tödliches“ Ertrinken zu benutzen [Falk und Escowitz, 2002; Mott und Latimer, 2016]. Diese Bezeichnungen sollen letztlich die Vergleichbarkeit empirischer Studien erleichtern, um so auch die Morbidität des Ertrinkens zu erfassen [van Beek und Branche, 2014].

Trotz intensivmedizinischer Behandlung versterben ca. 25% der Patienten, die nach einem Ertrinkungsunfall im Krankenhaus aufgenommen werden. Bei weiteren 6% entwickeln sich neurologische Dauerschäden [Weinstein und Krieger, 1996]. Bezüglich Spättodesfällen nach Beinaheertrinken existieren keine eindeutigen Zahlen, weil in vielen Länder nicht tödliche Ertrinkungsunfälle statistisch nicht erfasst werden. Hinzu kommen solche Fälle, in denen keinerlei Rettungs- oder Reanimationsversuche vorgenommen wurden oder den Patienten keine medizinische Hilfe zur Verfügung stand [WHO 2014; Idris et al. 2014]. In den Niederlanden wird angenommen, dass auf jedes ertrunkene Kind fünf stationär behandelte, überlebende Kinder und sechs Behandlungen in der Notaufnahme kommen. In Dänemark wird die Rate zwischen tödlichen und nicht tödlichen Fällen auf 1 (Mortalität): 0,5 (Morbidität): 134 (Überlebende ohne Spätfolgen) geschätzt [Moutafi und Petridou, 2014].

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Fällen wurden solche als „Spättodesfälle nach Beinaheertrinken“ definiert, bei denen eine zunächst erfolgreiche Wiederbelebung nach Beinaheertrinken beschrieben wurde. Eine zeitliche Einschränkung der Überlebenszeit wurde nicht vorgenommen, letztlich verstarben aber alle Fälle dieser Kategorie an den Folgen des Beinaheertrinkens oder den Komplikationen der nachfolgenden Behandlung.

1.1.4 Plötzliche/unerklärte Todesfälle im Wasser

Manche Todesfälle ereignen sich plötzlich, bei scheinbar gesunden und körperlich fitten Personen, die schwimmen können, und unter Bedingungen, die ebenfalls keine Erklärung für den Ertrinkungsfall darstellen können. Von ggf. anwesenden Zeugen werden keinerlei Rettungsversuche beschrieben. In einem der in dieser Arbeit untersuchten Fälle ertrank eine Frau im Babyplanschbecken eines Schwimmbades. Ackerman et al. untersuchten den Fall einer Frau, die beim „Bahnschwimmen“ im 1,0 m tiefen Pool eines Fitnessstudios leblos aufgefunden wurde und kurz darauf verstarb [1999]. Bei solchen Fällen letztendlich nicht geklärt werden kann, ob der Tod möglicherweise durch den Aufenthalt im Wasser begünstigt wurde.

1.2 Ertrinken: Pathomechanismus, Diagnose, Morphologie

Die Diagnose Ertrinken stellt seit jeher eine forensische Herausforderung dar und kann letztlich nur durch Ausschluss anderer Todesursachen gestellt werden. Prinzipiell kommen drei Mechanismen bei im Wasser verstorbenen Personen infrage: Ertrinken, atypisches Ertrinken (der sogenannte Badetod) oder Tod aus anderer, natürlicher oder nicht natürlicher Ursache, der sich nur zufällig im Wasser ereignet hat.

Bezüglich der Definition der Begriffe Ertrinken und Beinaheertrinken finden sich zahlreiche unterschiedliche Varianten [Idris et al., 2003]. In dieser Studie wird Ertrinken definiert nach Keil als Ersticken aufgrund einer Flüssigkeitsaspiration (Verlegen der Atemwege mit Wasser) [Keil, 2007]. Der Ertrinkungsvorgang kann nach Mueller in sechs Stadien [Mueller, 1975] unterteilt werden und soll drei bis fünf Minuten dauern [Keil, 2007; Brinkmann, 2003].

Gelangen die Atemöffnungen unter Wasser, wird zunächst aktiv der Atem angehalten. Gelangt Flüssigkeit in die Atemwege, kann außerdem ein Laryngospasmus ausgelöst werden. Durch forcierte Atmung gegen den Laryngospasmus kann sich primär ein Lungenödem entwickeln, so dass kein Gasaustausch mehr stattfinden kann und bei steigendem PaCO_2 (arterieller Kohlendioxid-Partialdruck als Anteil des Gesamtdruckes aller im Blut gelöster Gase) der PaO_2 (arterieller Sauerstoff-Partialdruck als Anteil des Gesamtdruckes aller im Blut gelöster Gase) sinkt. Durch zunehmende Dyspnoe und einen hyperkapnischen Reiz auf das Atemzentrum kommt es zu einer unwillkürlichen, tiefen Inhalation und Hyperventilation, wobei Flüssigkeit aspiriert wird. Der Laryngospasmus kann sich mit zunehmender zerebraler Hypoxie lösen, zum Teil bleibt er aber auch bestehen [Cantwell, 2014, Strunden et al., 2015; Keil, 2014; Gries, 2011].

Durch den steigenden PaCO_2 und fallenden PaO_2 kommt es zu Hypoxämie, Hyperkapnie und einer respiratorischen Azidose. Die Hypoxämie führt zunächst zur Ausschüttung von Katecholaminen, die vorübergehend Blutdruck und HFQ erhöhen, bis sich mit steigender Hypoxie Bradykardie und Hypotonie und schließlich pulslose elektrische Aktivität einstellen. Auch die zunehmende Azidose trägt zu einem wachsenden Arrhythmie-Risiko bei. Letztlich führt eine andauernde

Hypoxie des Gehirns zum Hirntod, gefolgt vom mechanischen Herzstillstand [Stunden et al., 2015, Keil, 2014].

Bei etwa 10 bis 15% aller Ertrinkungsfälle soll es sich um sogenanntes „atypisches Ertrinken“ handeln. Der Betroffene taucht plötzlich unter und verstirbt, ohne dass es zu dem oben beschriebenen Ablauf kommt. Ertrinkungsbefunde können daher völlig oder teilweise fehlen [Keil, 2014, Keil, 2007, Brinkmann 2003]. Verschiedene Mechanismen und Reflexe stehen im Verdacht hierbei beteiligt zu sein, darunter auch im Wasser ausgelöste vagale Reflexe. So geht man davon aus, dass sich der initiale Laryngospasmus bis zum hypoxisch bedingten Herzstillstand nicht löst und somit keine Flüssigkeit aspiriert werden kann [Cantwell, 2014]. Ob es, wie von einigen Autoren beschrieben, tatsächlich zum „trockenen Ertrinken“ kommen kann, bleibt bisher ungeklärt. In einer Studie von Luenetta et al. konnte jedoch gezeigt werden, dass in weniger als 2% der Fälle eine trockene Lunge vorliegt [Lunetta, 2014]. Laut Bernett & Haas soll es sich bei diesen Fällen am ehesten um einen natürlichen Tod handeln, der sich zufällig im Wasser ereignet hat [1984]. Brinkmann zählt zu den Badetodesfällen auch solche, die durch genetische Faktoren, z. B. LQTS prädisponiert sind [2003].

Es gibt eine Reihe von makroskopischen (Obduktions-)Befunden, denen mehr oder weniger großes diagnostisches Potential zugeordnet wird. Zu diesen gehören vor allem Veränderungen im Bereich der Atemorgane wie Bildung eines Schaumpilzes vor den Atemöffnungen bzw. schaumiger Inhalt in den Atemwegen, stark überblähte, trockene Lungen, die sich ggf. im Mediastinalraum berühren, und Verlust der Elastizität des Lungengewebes, wobei Eindrücke durch Finger oder Rippen bestehen bleiben (Emphysema aquosum), und sogenannte Paltauf'sche Flecken unter der Pleura visceralis. Des Weiteren beschrieben sind Verwässerung des Mageninhaltes und ggf. Dreischichtung bei Umfüllen in einen Glaszylinder (Wylder'sches Zeichen), Sehrt'sche Schleimhauteinrisse, vor allem am Mageneingang (durch Erbrechen beim Ertrinkungsvorgang verursacht), Flüssigkeit in den Keilbeinhöhlen (vor Eintritt der Fäulnis) [Brinkmann, 2003] und eine kleine, blutentspeicherte Milz. Keines dieser Zeichen ist jedoch für sich genommen oder in Kombination mit anderen geeignet, ein Ertrinken mit Sicherheit zu beweisen, und

selbst wenn eine Person sicher ertrunken ist, kann es sein, dass keine der genannten Veränderungen nachweisbar ist.

Histomorphologisch zeigt sich ein inkonstantes, akutes, zentrolobuläres Emphysem mit verschmälerten, teils eingerissenen Alveolarsepten (Gomorri: Gitterfaserzerstörung von Grad III bis IV nach Reh [1975] sind beweisend für ein Ertrinken) und einem Nebeneinander von hyperämischen und blutleeren Azini, laut Brinkmann das wichtigste vitale Zeichen der Ertrinkungslunge [2003].

Die Paltauf-Flecken bestehen histologisch aus einem erythrozytenreichen Zentrum und sind von einem verwaschen erscheinenden, hämolytischen Randbereich umgeben [Vennemann und Brinkmann, 2003]. Sie gelten als inkonstantes Zeichen. Brinkmann geht jedoch davon aus, dass sie zumeist vorhanden sind, aber häufig überlagert werden, z. B. von einer subpleuralen Anthrakose [2003].

Beim Beinaheertrinken kommt es durch das eingeatmete Wasser u. a. zur Veränderung des intraalveolären Surfactants, die Oberflächenspannung der Alveolarwand wird herabgesetzt, die Alveolen kollabieren und Atelektasen sowie schließlich pulmonale Shunts treten auf, also ein reduzierter Ventilations-Perfusions-Index. Die alveolokapilläre Membran wird durch die intraalveoläre Flüssigkeit geschädigt, ihre Permeabilität nimmt zu, was zu einem zusätzlichen Flüssigkeitseinstrom in die Alveolen führt. Hinzu tritt ein durch die hypoxische Schädigung verursachtes neurogenes Lungenödem. Infolge des Zusammentreffens der veränderten Surfactant-Wirkung und dem massiven kombinierten Lungenödem kommt es zum akuten Lungenversagen (ARDS) [Keil, 2014; Strunden et al., 2015; Cantwell, 2014]. Lungenentzündungen entwickeln sich relativ spät und selten (nur ca. 12% der Ertrinkungsopfer entwickeln initial eine Pneumonie) [Strunden et al., 2015]. In Abhängigkeit von dem Ertrinkungsmedium kommen ggf. Mikroorganismen (z. B. Pilze und Kieselalgen) als Auslöser infrage. Auch Sand, Algen, Erbrochenes usw. kann eingeatmet werden und zu Verschlüssen von Bronchien, Entzündungen und Abszessen führen. Bakterien und Pilze können die geschädigten Kapillarmembranen durchdringen und in andere Organsysteme eingespült werden, wo sie Infektionen auslösen können [Strunden et al., 2015]. Häufiger als Pneumonien kommen chemisch-toxische Pneumonitiden vor, vor allem

wenn die Ertrinkungsflüssigkeit Substanzen wie Chlor oder Reinigungsmittel enthalten hat. Letztlich stellen irreversible hypoxiebedingte Schäden des ZNS die wesentlichste Langzeitkonsequenz dar. Mindestens ein Drittel der Überlebenden erleiden moderate bis schwere neurologische Defizite, die die Lebenserwartung der Betroffenen einschränken können [Strunden et al., 2015]. Das Risiko einer Pneumonie steigt bei längerer maschineller Beatmung. Dabei wird eine ventilatorassoziierte Pneumonie häufig am 3. oder 4. Behandlungstag diagnostiziert, wenn das Lungenödem fast vollständig resorbiert wurde, aber radiologisch noch Infiltrate nachweisbar sind [Strunden et al., 2015].

1.3 Plötzlicher Herztod

Der sogenannte plötzliche Herztod (SCD) wird definiert als Tod, der innerhalb einer Stunde nach dem Auftreten von Symptomen einer kardialen Grunderkrankung eintritt, die bis zu diesem Zeitpunkt unbekannt war [Semsarian und Ingles, 2016]. Bis zu drei Millionen Menschen versterben weltweit jedes Jahr auf diese Weise, mehr als an jeder individuellen Tumorerkrankung und den meisten weiteren führenden Todesursachen [Semsarian und Ingles, 2016]. Ursächlich sind in den meisten Fällen tachykarde Herzrhythmusstörungen wie Kammerflimmern. Dahinter steht eine heterogene Verteilung der Repolarisation des Myokards, die auf strukturelle Veränderungen wie ischämische oder fibrosierte Myokardareale, auf angeborene Störungen wie z. B. Ionenkanalerkrankungen oder variable Faktoren wie Hormonschwankungen oder Medikamente zurückgeführt werden kann. Insbesondere bei jüngeren Patienten bis 40 Jahre stehen erbliche Erkrankungen im Vordergrund, z. B. nicht ischämische Kardiomyopathien [Semsarian und Ingles, 2016]. Strukturelle Schäden können mit hoher Wahrscheinlichkeit bei einer Obduktion oder nachfolgenden histologischen Untersuchungen gesehen werden. In ca. 40% der Fälle kann jedoch weder autopsisch noch histologisch oder toxikologisch eine Todesursache festgestellt werden, diese Fälle werden als plötzliche unerklärbare Todesfälle (SUD) bezeichnet [Semsarian und Ingles, 2016; Kurichian et al., 2015].

1.4 Long-QT-Syndrom

Das Long-QT-Syndrom gehört zu den Ionenkanalerkrankungen (Kanalopathien). Dabei handelt es sich um Veränderungen von Funktion und/oder Expression unterschiedlicher Ionenkanäle in Membranen von Muskel- oder Nervenzellen, die zu verschiedenen Funktionsveränderungen erregbarer Strukturen führen können. Man unterscheidet hereditäre und sekundäre Kanalopathien. In Genotyp-Phänotyp-Studien wurde gezeigt, dass sich die LQTS-Typen 1 bis 3 klinisch unterschiedlich präsentieren und verschiedene adrenerge Stimuli bei den Erkrankten eine Arrhythmie auslösen können. So treten rhythmogene Auffälligkeiten durch LQT1 am ehesten bei körperlicher Aktivität und am häufigsten beim Schwimmen auf [Bezzina et al., 2015; Schwartz et al., 2001].

Die Krankheit wird durch Mutationen im Gen *KVLQT1* hervorgerufen und betrifft den sogenannten I_{ks} -Kalium-Kanal der Kardiomyozyten, der für einen auswärts gerichteten Kaliumstrom verantwortlich ist. Eine Beeinträchtigung der Funktion des Kanals kann zu Störungen des Erregungsablaufes des kardialen Aktionspotentials und somit zu potentiell lebensbedrohlichen Herzrhythmusstörungen führen.

Das Aktionspotential (AP) des gesunden Herzens wird von den Schrittmacherzellen des Sinusknotens initiiert, daher wird der normale Herzrhythmus Sinusrhythmus genannt. Alle Abweichungen hiervon werden als Herzrhythmusstörungen (HRST) bezeichnet und nach unterschiedlichen Kriterien klassifiziert:

- nach der Herzfrequenz (HFQ) in einen zu langsamen (Bradykardie, <60 Schläge/Min.) oder zu schnellen Herzschlag (Tachykardie, >100 Schläge/Min. oder ≥ 3 aufeinanderfolgende QRS-Komplexe)
- nach dem Auftreten von Extrasystolen, also zusätzlichen Herzschlägen
- nach dem Ort der Entstehung (supraventrikulär im Vorhofmyokard oder ventrikulär im Ventrikelmyokard)
- nach Erregungsbildungs- oder -leitungs-Störungen [Eckardt et al., 2005]

Die initiale Depolarisation des Ventrikelmyokards, auch **Phase 0** genannt, wird durch einen schnellen Natrium-Einstrom ausgelöst. In **Phase 1** (geringe frühe Repolarisation) folgt dann eine teilweise Repolarisation durch einen Kalium-Aus- und gleichzeitigen Natrium-Einstrom. Die Plateau-Phase oder **Phase 2** wird durch

Aufrechterhaltung dieser beiden Ströme und einen zusätzlichen Kalzium-Einstrom bestimmt. In **Phase 3** werden die Zellen repolarisiert, indem der Kalzium-Einstrom gehemmt wird und ein verzögerter Kalium-Ausstrom einsetzt. Während dieser Phase ist die Leitfähigkeit gering und bereits kleinste Störungen können das Gleichgewicht zwischen Depolarisation und Repolarisation ins Wanken bringen. Auf zellulärer Ebene ist ein rhythmischer Wechsel zwischen offenen und geschlossenen Kalziumkanälen in den Membranen der individuellen Kardiomyozyten nötig, um die Pumpfunktion zu erhalten [Giudicessi und Ackermann, 2013; Zwermann, 2005].

Während der Phase 2 sind die Kardiomyozyten refraktär, das heißt, ein in dieser Phase eintreffender elektrischer Impuls kann kein erneutes Aktionspotential auslösen. Während Phase 3 sind jedoch mehr und mehr dieser Zellen wieder erregbar und reagieren auf einen elektrischen Impuls mit einem erneuten Aktionspotential. Daher wird diese Phase auch vulnerable Phase genannt.

Der repolarisierende Kaliumfluss in Phase 3 läuft über zahlreiche unterschiedliche Kanäle, wobei die zwei Subtypen des sogenannten verzögerten Gleichrichters dominieren. Dabei handelt es sich um den I_{Ks} - (slow = langsam aktivierend) und den I_{Kr} -Kaliumausstrom (rapid = schnell aktivierend) [Viskin, 1999]. Der Anteil der jeweiligen Kanäle an der Repolarisation variiert und der I_{Ks} steigt bei hohen Herzfrequenzen und unter sympathischem Einfluss erheblich an [Seeböhm, 2001].

Ein verminderter Nettoauswärtsstrom von Kalium in Phase 3 durch Beeinträchtigung der I_{Ks} führt zu einer verlängerten Repolarisation und gleichzeitigen Aktivierung von spannungsabhängigen Kalziumkanälen. Der daraus resultierende Nettoeinwärtsstrom von Kalzium kann dann wiederum eine frühe Nachdepolarisation (EAD) auslösen [Seel, 2011]. Aus der verlängerten Repolarisationsphase resultiert außerdem eine heterogene Verteilung von refraktären und wiedererregbaren Myozyten, auf die diese frühe Nachdepolarisation nun trifft und ein erneutes AP auslösen sowie einen Reentry-Mechanismus triggern kann. Dieser kann zu Torsade de Pointes (TdP), auch Spitzenumkehr- oder Schraubentachykardien genannt, führen [Nerbonne und Kass, 2005]. Im EKG stellen sich wechselnde, um die isoelektrische Linie undulierende QRS-Komplex-Vektoren mit nach fünf bis zehn Aktionen Torsionsbewegungen der R-Zacken um die Grundlinie dar (Abb. 1).

Abb. 1



Torsade de Pointes [verändert nach Seel, 2011]

TdP können spontan sistieren oder in Kammerflimmern degenerieren, weshalb sie potentiell lebensbedrohlich sind [Schuster und Trappe, 2001]. Gravierende Konsequenzen können Synkopen oder sogar der plötzliche Herztod (SCD) sein.

Von den Zellen des Sinusknotens aus wird der initiale depolarisierende elektrische Impuls über sogenannte gap-junctions (Zellkanäle) an die benachbarten Kardiomyozyten weitergeleitet und hierdurch die Kontraktion der Vorhöfe in Gang gesetzt. Diese wird im EKG als P-Welle abgebildet. Die Übertragung auf die Zellen des Ventrikelmyokards läuft über den AV-Knoten und die Purkinje-Zellen zunächst in die Herzspitze, breitet sich retrograd aus und führt zur Kontraktion der Ventrikel. Die Ventrikelkontraktion stellt im EKG den QRS-Komplex dar. Die folgende Repolarisation der Zellen bedingt die T-Welle [Giudicessi und Ackermann, 2013].

Die QT-Zeit stellt den Zeitraum vom Beginn der Q-Zacke bis zum Ende der T-Welle dar, also die Erregung, Kontraktion und Repolarisation des Kammermyokards. Die Dauer dieses Intervalls ist geschlechtsspezifisch und abhängig von der aktuellen Herzfrequenz. Veränderungen in den einzelnen Phasen des AP haben entsprechenden Einfluss auf die Länge des QT-Intervalls. Ausschlaggebend hierfür ist die Funktion der Ionenkanäle, deren Flüsse die Phasen des AP bestimmen. Ein zu geringer oder zu großer Durchfluss kann die Balance, in der sich das System befindet, stören.

Der I_{Ks} -Kalium-Kanal ist aus vier α -Untereinheiten aufgebaut, für die das Gen *KCNQ1* kodiert. Diese werden wiederum durch vier weitere Peptide, die β -Untereinheiten (Genprodukte von *KCNE1*), verbunden [Shattock und Tipton, 2012]. Die α -Untereinheiten bestehen jeweils aus sechs Regionen (S1 bis 6), wobei S1 bis 4 ein spannungssensibles Modul bilden und S5 bis 6 einen Teil der Kanalpore [Abbott, 2014].

Das LQT1 manifestiert sich zumeist im späten Kindesalter bzw. während der frühen Adoleszenz. Obwohl die Erkrankung autosomal vererbt wird, sind Frauen häufiger betroffen als Männer [Eckardt et al., 2005 B]. Die Diagnose wird klinisch mittels EKG gestellt. Die QT-Zeit beträgt normalerweise bis maximal 550 ms. Da sie frequenzabhängig ist, kann sie auch in % der Norm angegeben werden. Normalerweise beträgt sie 80 bis 120%. Die QT-Zeit entspricht dem QT_c-Intervall, wobei c der Korrekturfaktor für die HFQ ist. Sie kann nach der Bazett-Formel:

$$QT_c = \frac{QT \text{ (sec)}}{\sqrt{RR\text{-Intervall (sec)}}} \quad \text{berechnet werden.}$$

Der Normwert ist geschlechtsabhängig und beträgt für Männer 0,39 sec (+/-15%), für Frauen 0,44 (+/- 15%) [Schuster und Trappe, 2001].

Zu den Kanalkrankheiten zählen neben den Long-QT-Syndromen auch das Short-QT-Syndrom, das Brugada-Syndrom und die katecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie [Cerrone und Priori, 2011].

1.5 Zielsetzung

Die Feststellung einer eindeutigen Todesursache ist nicht zuletzt für die Hinterbliebenen ausgesprochen wichtig und umso wichtiger, je jünger der oder die Verstorbene war. Laut der Konsensus-Erklärung der Heart Rhythm Society (HRS) und der European Heart Rhythm Association (EHRA) wird empfohlen, bei SCD-Fällen, bei denen spezifische Trigger vorlagen, eine gezielte genetische Untersuchung auf Mutationen in bestimmten Genen durchzuführen. Zu den Triggermechanismen wird explizit auch Ertrinken gezählt und zu den Genen *KCNQ1*, das bereits mit Ertrinken assoziiert wurde [Ackermann et al., 2011].

Entsprechend war es Ziel dieser Arbeit, Mutationen oder Polymorphismen im Ionenkanalgen *KCNQ1* zu finden, die in Assoziation mit Ertrinken auftreten, um so zum einen ein weiteres diagnostisches Mittel zur Todesursachenermittlung bei Todesfällen im Wasser zu haben und zum anderen einer oder mehreren Mutationen eine mögliche Pathogenität zuzuordnen.

2 Material und Methoden

2.1 Proben

Die in dieser Studie analysierten Proben wurden durch Auswertung aller Sektionsprotokolle der im Institut für Rechtsmedizin Essen durchgeführten Sektionen der Jahre 2003 bis 2013 ausgewählt. Infrage kamen alle Fälle, in denen der Leichnam im Wasser aufgefunden wurde. Es handelte sich um insgesamt 103 männliche Verstorbene im Alter von 0,5 bis 90 Jahren (Durchschnitt 48,39 Jahre) und 72 Frauen zwischen 16 bis 96 Jahren (Durchschnitt 60,61 Jahre). Bei dem verwendeten Material handelte es sich um Blutstropfen (ca. 200 bis 500 µl), die bei Sektionen abgenommen und auf einen DNA-freien Träger, entweder Filterpapier oder Stoff, aufgebracht und anschließend getrocknet wurden. Diese Art der Probenasservierung wird standardmäßig bei jeder Obduktion im Institut für Rechtsmedizin Essen durchgeführt, sofern flüssiges Blut gefunden werden kann.

2.2 Histologie

2.2.1 *Material*

Einbettungskassetten	Thermo Fischer Scientific (Braunschweig, D)
Tissue-Clear®	Merck (Darmstadt, D)
Eukitt®	Merck
Eosin 1%ig in 70% Alkohol	Merck
Ethanol	Carl Roth (Karlsruhe, D)
Paraplast	Leica Biosystems (Mannheim, D)
Glasfärbeküvetten	Langenbrinck (Freiburg, D)
Objektträger/Deckgläser	Thermo Fischer Scientific
Schlittenmikrotom	Leica Biosystems
1 g Hämatoxylin	Merck
Natriumjodat	Merck
Chloralhydrat	Merck
Zitronensäure	Merck
Erythrosin	Merck

2.2.2 *Methode allgemein*

Im Rahmen von Obduktionen werden repräsentative Ausschnitte von inneren Organen entnommen und anschließend in 4%igem gepuffertem Formalin eingelegt. Ausgenommen hiervon sind Leichen, die bereits deutlich fäulnisverändert sind.

Von den formalinfixierten Geweben wurden histologische Präparate angefertigt und lichtmikroskopisch untersucht.

2.2.3 *Zuschnitt und Herstellung von Paraffinschnitten*

Hierbei werden Gewebeblöcke angefertigt, die eine Übersicht über die unterschiedlichen Strukturen eines Organs oder Gewebes ermöglichen. Bei den speziell untersuchten Lungenpräparaten wurde darauf geachtet, dass sowohl periphere Abschnitte mit Pleura enthalten waren als auch zentrale Anteile.

Nachdem die Gewebeblöcke zugeschnitten waren, wurden sie in Einbettungskassetten überführt und über mindestens eine Stunde in Leitungswasser gewaschen. Zur Entwässerung der Gewebeproben wurden diese durch eine aufsteigende Ethanolreihe gezogen (50%, 70%, 80%, 96%, 2 x absolutes Ethanol). Um das Ethanol durch Paraffin zu ersetzen und somit die Proben vollständig mit Paraffin zu durchziehen, wurden sie für je zwei Stunden in Tissue-Clear®, weiches und hartes Paraffin gegeben. Das Ausgießen erfolgte mit frischem, filtriertem Paraffin.

Auf einem Schlittenmikrotom wurden 3 µm dicke Schnitte angefertigt, die auf einem 40°C warmen Wasserbad gestreckt und danach manuell auf Glas-Objektträger gezogen wurden. Nach Trocknung der Objektträger wurden sie mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

2.2.4 *Färbung mit Hämatoxylin-Eosin*

Hierzu wurden diese für 5 min in Hämalaun gefärbt, danach für 10 min in Leitungswasser gebläut und die Reaktion anschließend in Aqua dest. gestoppt. Die Gegenfärbung mit Eosin schloss sich an, die ebenfalls mit Aqua dest. gestoppt wurde. Es folgte eine aufsteigende Alkoholreihe und die Eindeckung in Eukitt®.

2.3 DNA-Extraktion

2.3.1 *Material*

Filter: Vivaspin® 0,4 - 2 ml	Sartorius (Göttingen, D)
Membrane: Cellulosetriacetat	
Kanülen: BD Microlane 3™	Becton Dickinson and Company (Franklin Lakes, USA)
Wasserbad	Memmert (Schwabach, D)
Ethanol (100% / 70%)	Carl Roth
Proteinkinase K	Roche (Basel, CH)
Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol (Roti®-Phenol)	Carl Roth
Vortex	Cenci Instruments (Breda, NL)
Zentrifugen	VWR International (Darmstadt, D)
innuPrep DNA-mini-Kit	Analytik Jena (Jena, D.)

5-fach DNA Lysepuffer:

1 M Tris pH 0,8: 12,5 ml
1 M NaCl: 125 ml
0,5 M EDTA pH 8,0: 25 ml

ad 250 ml A. dest.

1-fach DNA-Lysepuffer:

5-f Lysepuffer: 200 ml
10% SDS: 200 ml

ad 1.000 ml A. dest.

2.3.2 *Allgemeines Prinzip*

Die DNA der kernhaltigen zellulären Bestandteile der Trockenblutprobe soll mittels einer Lyse freigesetzt werden. Dies geschieht durch Abbau der Proteine der Zell- und Kernmembranen. Im organischen Lösungsmittel werden die störenden Substanzen gebunden und anschließend ausgewaschen. Durch Filtration durch eine DNA-undurchlässige Membran wird die DNA gereinigt und konzentriert. Es wurden drei verschiedene Methoden zur DNA-Extraktion eingesetzt (Kap. 2.3.4, 2.3.5 und 2.3.6).

Die DNA-Lösung wurde anschließend im Kühlschrank für kurze Zeit oder direkt bei -20°C gelagert.

2.3.3 *Präparation der Blutprobe*

Zunächst wurde aus den Trägern mit den Blutstropfen jeweils ein Stück herausgeschnitten, die Größe richtete sich hierbei nach der Intensität der Blutdurchtränkung und lag bei etwa $1,0\text{ cm} \times 0,7\text{ cm}$. Die Ausschnitte wurden in zuvor mit der Fallnummer (pseudonymisiertes Verfahren) beschriftete Reaktionsgefäße gegeben.

Zur Sicherstellung der Reinheit der verwendeten Reagenzien wurde eine Negativkontrolle mit Reagenzien, aber ohne Trockenblutprobe erstellt und in gleicher Weise wie die Proben weiterverarbeitet.

2.3.4 *Phenol-Chloroform-Extraktion*

In jedes $1,5\text{ ml}$ Reaktionsgefäß wurden zu dem ausgeschnittenen Stück Filterpapier oder Stoff mit der Blutantragung $500\text{ }\mu\text{l}$ 1-fach Lysepuffer und $35\text{ }\mu\text{l}$ Proteinkinase K pipettiert und bei 56°C über Nacht im Wasserbad inkubiert.

Für die Extraktion im sogenannten „piggy back spin“ wurden die Reaktionsgefäße anschließend mit 70%igem Ethanol abgerieben, um eine Kontamination der Probe zu verhindern. Jedes Gefäß wurde dann am Boden mit einer Kanüle perforiert und auf ein weiteres Gefäß gesteckt. Durch eine Zentrifugation ($3\text{ min}/14.000\text{ U}/\text{min}$) sammelte sich das DNA-haltige Reaktionsgemisch im unteren Gefäß. Das obere Gefäß mit dem Träger wurde verworfen.

Die DNA-haltige Flüssigkeit wurde mit $600\text{ }\mu\text{l}$ Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol versetzt und gevortext. Nach einer weiteren Zentrifugation ($3\text{ min}/14.000\text{ U}/\text{min}$) bildeten sich zwei Phasen aus, wobei die obere, wässrige Phase die DNA enthielt. Diese wurde über eine weitere Zentrifugation für 10 bis 15 min bei $6.000\text{ U}/\text{min}$ mit Vivaspin-Filtern aufgereinigt.

Es folgten, je nach Grad der Verunreinigung, eine bis mehrere Waschungen mit je 2 ml Wasser und anschließender Zentrifugation für 15 bis 20 min bei $6.000\text{ U}/\text{min}$. Schließlich wurde das Filtersystem wieder auseinandergenommen. Die Verschlusskappe, die nun die DNA enthielt, wurde umgedreht und wieder auf den

unteren, zuvor entleerten Teil gesteckt. Durch erneute Zentrifugation (3 min/6.000 U/min) gelangte die aufgereinigte DNA-Lösung (20 bis 70 µl Flüssigkeit) aus dem Filter in den Auffangbehälter.

2.3.5 DNA-Mini-Kit

In jedes Reaktionsgefäß wurden 20 µl Proteinkinase K/QIA-Protease und 200 µl PBS/ATL-Puffer pipettiert, die Gefäße umgehend gevortext und dann über Nacht im Wasserbad bei 56°C inkubiert. Es schloss sich die Zugabe von 200 µl AL-Puffer (Bindungspuffer) und eine weitere Inkubation von zehn Minuten bei 70°C an. Anschließend erfolgte die Zentrifugation im piggy back spin (3 min/13.000 U/min). Das obere Gefäß mit dem Träger wurde verworfen, in das untere Gefäß wurden 400 µl Ethanol pipettiert, durch Vortexen wurde der Inhalt des Gefäßes gründlich gemischt und erneut zentrifugiert (1 min/8.000 U/min). 700 µl des Reaktionsgemisches wurden dann auf ein Spin Column pipettiert und abermals zentrifugiert (1 min/8.000 U/min). Das Filtrat wurde verworfen. Die Säulen wurden jeweils auf ein neues Gefäß gesteckt und der Rest des Reaktionsgemisches darauf gegeben. Nach einer weiteren Zentrifugation (1 min/8.000 U/min) wurde auch dieses Filtrat verworfen und ein neues Collection Tube unter die Säule gesteckt. Die Säulen wurden nun gewaschen, wozu zunächst 500 µl des AW1-Puffers darauf gegeben und zentrifugiert wurden (1 min/8.000 U/min). Nach der Zugabe von 500 µl des AW2-Puffers erfolgte eine weitere Zentrifugation (3 min/14.000 U/min). Blieben anschließend noch Pufferreste in der Säule sichtbar, wurden diese durch eine weitere Zentrifugation (1 min/14.000 U/min) entfernt. Die gewaschene, trockene Säule wurde wiederum auf ein sauberes Gefäß gesteckt und 150 µl AE-Puffer darauf pipettiert. Nach einer Inkubation von zwei Minuten folgte eine letzte Zentrifugation (1 min/8.000 U/min) und es ergab sich ein DNA-haltiges Endvolumen von 150 µl.

2.3.6 innuPrep

In jedes Reaktionsgefäß wurden zu dem ausgeschnittenen Stück Filterpapier oder Stoff mit der Blutantragung 25 µl Proteinkinase K und 400 µl Lysepuffer pipettiert. Das Gemisch wurde dann fünf Sekunden gevortext und über Nacht im Wasserbad bei 56°C inkubiert. Danach erfolgte die Zentrifugation im piggy back spin (3 min/13.000 U/min). Das obere Gefäß mit dem Träger wurde verworfen, in das

untere Gefäß wurden 400 µl Binding solution pipettiert, durch Vortexen wurde der Inhalt des Gefäßes gründlich gemischt und anschließend auf die vorher zusammengesetzte Spin-Filter/Receiver Tube gegeben. Nun wurde wiederum zentrifugiert (2 min/12.000 U/min). Das hierbei entstandene Filtrat wurde verworfen. 500 µl HS wurden auf den Spin-Filter pipettiert und das Gefäß erneut zentrifugiert (1 min/12.000 U/min). Auch dieses Filtrat wurde verworfen und ein neues Collection Tube unter den Spin-Filter gesteckt. Die an den Spin-Filter gebundene DNA wurde durch Zugabe von zweimal 750 µl Waschpuffer und anschließenden Zentrifugationen (1 min/12.000 U/min und danach 2 min/max U/min) gewaschen. Zur Elution der DNA wurde der Spin-Filter auf ein sauberes Gefäß gesteckt, 200 µl Elution Buffer darauf pipettiert und für eine Minute inkubiert. Nach einer letzten Zentrifugation (1 min/8.000 U/min) ergaben sich schließlich ca. 200 µl DNA-haltige Lösung.

2.4 DNA-Amplifikation mit Hilfe der PCR

2.4.1 *Material*

T1 bzw. T3 Thermocycler	Biometra (Göttingen, D)
Puffer ABI (10x)	Applied Biosystems (Darmstadt, D)
DMSO 10%	AppliChem (Darmstadt, D)
MgCl ₂	Applied Biosystems
AmpliTaq Gold	Applied Biosystems
dNTP-Mix (je dNTP 100 mM)	Promega (Mannheim, D)

2.4.2 *Prinzip der PCR*

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) dient der Amplifikation einer bestimmten DNA-Region. DNA liegt üblicherweise als Doppelstrang vor, wobei die beiden Einzelstrangmoleküle zwischen ihren komplementären Basen durch Wasserstoffbrücken verbunden sind. Diese Stränge müssen zunächst voneinander getrennt werden (Denaturierung), da die Einzelstränge als Vorlagen (Matrizen) für die Vervielfältigung dienen. Hierfür wird die DNA auf 92 bis 95°C erhitzt, wodurch sich die Wasserstoffbrücken lösen (Schmelzen). Kühlt die DNA wieder ab, lagern

sich die Einzelstränge wieder aneinander an (Annealing). Bei Vorliegen sogenannter Primer -bekannter DNA-Sequenzen, die den Abschnitt flankieren, der vervielfältigt werden soll- können sich auch diese an ihre komplementäre Region der DNA- ‚Matrize‘ anlagern. Die Annealingtemperatur und -dauer richtet sich nach der Schmelztemperatur der Primer und liegt zwischen 50 und 70°C. Durch den Zusatz von DMSO (Dimethylsulfoxid), welches sich an die Cytosinbasen bindet, kann die Bildung von Sekundärstrukturen der DNA (hairpin loops oder stem loops) verhindert werden. Nun kann die Polymerase am 3'-OH-Ende des jeweiligen Primers einen neuen komplementären DNA-Abschnitt in 3'-5'-Richtung synthetisieren (Elongation). Dieser Zyklus (Denaturierung-Annealing-Synthese) wird mehrfach wiederholt (20- bis 35-mal), so dass theoretisch Milliarden Kopien des DNA-Abschnittes vorliegen.

Die verwendete DNA-Polymerase muss hitzebeständig sein, damit sie den wiederholten Denaturierungsprozess übersteht. Die in der PCR verwendete Taq-Polymerase entstammt dem Bakterium *Thermus aquaticus*, das in heißen Quellen lebt. Entsprechend wird die Elongationsphase bei 72°C, dem Temperaturoptimum der Taq-Polymerase durchgeführt. Die AmpliTaq-Gold-Polymerase ist an sich eine enzymatisch inaktive Form, die während der ersten Denaturierungsphase aktiviert wird. Die Zugabe von MgCl₂, welches als Co-Faktor und Katalysator fungiert, führt zu einer erhöhten Produktivität der Taq-Polymerase. Eine zu hohe MgCl₂-Konzentration hat allerdings eine Einschränkung der Spezifität der Primer zur Folge.

2.4.3 Laborprotokoll der Singleplex-PCRs

Sämtliche ausgewählten Exons wurden einzeln in einem 12,5 µl-PCR-Ansatz amplifiziert. Die Primersequenzen (**Tab. 1**) wurden größtenteils der Literatur entnommen [Farrugia et al., 2012].

Tab. 1 Sequenzen und Annealingtemperaturen der verwendeten Primer

Exon	Primer forward	Reverse	Annealing Temp.
3	AAACAGGTTGCAGGGTCT GAAG	TCCTTCCTGGTCTGGAAA CCTG	52°C
3.1	AAACAGGTTGCAGGGTCT GAAG	ACGTACTCCGTCCCGAAG AA	55°C
3.2	ATCGTGCTGGTGGTGTCT T	TCCTTCCTGGTCTGGAAA CCT	58°C
5	AGCCCCACACCATCTCCTT	TCCGTCCTGTCCCAACC T	55°C
5.1	AGGGACACCCATGCCATC	TCGACGTGTAGCATCCTC A	55°C
5.2	ATCCGCTTCCTGCAGATCC T	TGTCCTAGTGTGGGCTGC TCT	58°C
6	AGCCCGACACTGTGTGTTT T	GCCTGGAAGTTCCGACT TA	55°C
7	TGGGTTTGGGTTAGGCAGT TG	AAGGAGCCAGGGAAAAC GCA	55°C
7.1	TTGGGTTAGGCAGTTGGC	AAAGACAGAGAAGCAGG AGGC	55°C
7.2	ATCGGCTATGGGGACAAG GT	AACGTAAGTGGGTCTGCT CA	58°C
8	GAGCCTCCTGTCCATTCCT T	GGCTGGATGCAACAATA ACA	52°C

Allerdings waren einige der Exons so groß, dass sie in der DNA von Fäulnisveränderten Leichen nicht amplifiziert werden konnten (siehe auch Etablierung der PCR, Kap. 3.4). Hier wurden die Exons geteilt und neue Primer mit dem Programm Primer 6 designt [http://www.primer-e.com/primer6_updates.htm]. Beispielhaft sind der PCR-Ansatz in Tabelle 2 und das PCR-Programm in Tabelle 3 beschrieben.

Tab. 2 Allgemeiner PCR-Ansatz

H ₂ O:	5,65 µl
Puffer ABI (10 x):	1-fach
MgCl ₂	Siehe Tab. 10, Kapitel 3.4
dNTP-Mix	200 µmol je dNTP
Primer a (1: 10 verdünnt)	0,40 µmol (Sequenzen siehe Tab. 1)
Primer b (1: 10 verdünnt)	0,40 µmol
DMSO (10%)	1%
AmpliTaq Gold	1 Unit
DNA-Einsatz	0,5 - 1 ng
	12,5 µl Gesamtvolumen

Tab. 3 PCR-Programm

Anzahl Zyklen	Dauer	Temperatur
1	8 min Aktivierung der AmpliTaq Gold	94°C
30	30 sec Denaturierung	96°C
	1 min Annealing	52 - 58°C Siehe Tab. 10, Kapitel 3.4
	2 min Elongation	72°C
1	30 min abschließende Elongation	72°C
	∞	4°C

2.5 Gelelektrophorese

Zur Überprüfung der Größe der PCR-Produkte wurden diese mittels Gelelektrophorese auf Agarose-Gelen (3%) aufgetrennt.

2.5.1 Material

Agarose: my budget universal Agarose	Bio-Budget (Krefeld, D)
Tris	Merck
Borsäure	AppliChem
Farbstoff: peqGREEN	Peqlab (Darmstadt, D)
Glycerol anhydrous (5% Glycerin-Wasser-Lösung)	AppliChem
Orange G	Carl Roth
Titriplex III	Merck
UVsolo Ts	Biometra

Für 80 ml (Biometra Compact XS/S)

Agarose	2,4 g
TBE (1 x)	80 ml
peqGREEN	2 µl

Ladepuffer

Glycerol	0,6 ml
Orange G	7 mg
Ad 1 ml A. dest.	

Probenvorbereitung

DNA PCR-Produkt	3 µl
Ladepuffer	2 µl

Für 165 ml (M)

Agarose	4,9 g
TBE (1 x)	165 ml
peqGREEN	4 µl

Laufpuffer TBE (10 x) Stocksolution

Tris Base (1 M)	121,1 g
Borsäure (1 M)	61,8 g
EDTA (0,02 M)	7,4 g (8,6 ml)

→ Laufpuffer TBE (1 x)

1:10 verdünnt

EDTA

Titriplex III
Ad 700 ml A. dest.
pH einstellen mit NaOH 37%
Ad 1000 ml A. dest.

2.5.2 Prinzip

Die DNA ist bei neutralem pH-Wert negativ geladen und wandert somit im elektrischen Feld zum positiven Pol. Acrylamid- bzw. Agarosegele bilden dichte Netze, durch deren Maschen die DNA-Moleküle wandern. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Moleküle im Gel ist abhängig von ihrer Größe, der Dichte des verwendeten Gels und der angelegten Spannung. Zur Sichtbarmachung der DNA wird dem Gel ein Farbstoff (peqGREEN) zugesetzt. Er lagert sich der DNA zwischen den Basen an und leuchtet unter UV-Licht grün.

2.5.3 Durchführung

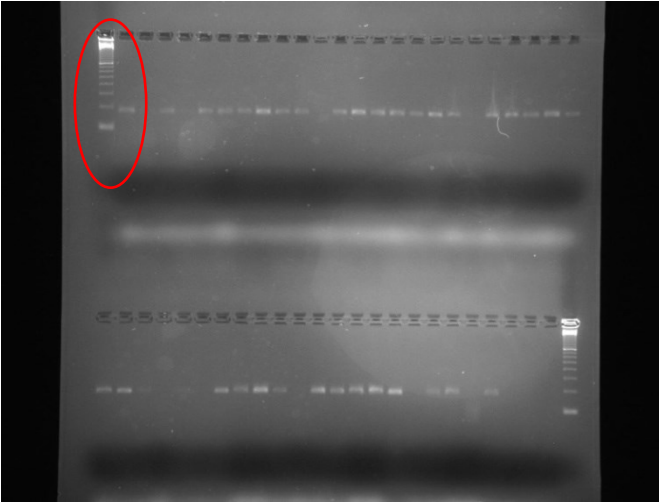
Die benötigten Mengen Agarose und TBE (1 x) werden abgewogen, in ein Becherglas (500 ml) gegeben und in der Mikrowelle erwärmt. Um die Lösung durch Rühren von Luftblasen zu befreien, wird dieser Vorgang immer wieder unterbrochen. Nachdem die homogene Lösung auf etwa 55°C abgekühlt ist, kann der Farbstoff peqGREEN zugegeben werden. Die Lösung wird in die Gelkammer gefüllt und eventuell entstandene Luftblasen werden abermals entfernt. Nun werden ein oder mehrere Kämme in die Kammer eingesetzt. Nachdem das Gel auspolymerisiert ist, wird es mitsamt dem Schlitten in der Elektrophoresekammer platziert und die Kämme werden entfernt. In die Kammer wird nun 1 x TBE-Puffer eingefüllt, bis das Gel bedeckt ist und auch die Taschen gefüllt sind. Die Proben werden mit dem Ladepuffer vermischt. Hierzu werden jeweils 3 µl des PCR-Produktes und 2 µl des Ladepuffers in ein Eppendorfgesäß pipettiert und das Gemisch gevortext. Anschließend werden die Proben in die Taschen pipettiert, wobei die Reihen jeweils von Leitern flankiert werden. Nun musste das Gel für etwa 30 bis 40 Minuten (je nach Größe) laufen.

Programm für die Elektrophorese: Gel Größe M: Programm 1 (100 mA, 17 W, 90 V); XS/S: Programm 3 (200 mA, 12 W, 85 V).

Das Gel wurde im Geldokumentationsgerät (UVsolo Ts) unter UV-Licht betrachtet und manuell ausgewertet, indem die Größe der DNA-Fragmente im Vergleich zur Leiter (in Abbildung 2 rot markiert) bestimmt und überprüft wurde. Darüber hinaus konnte durch einen Abgleich der Intensität der Banden mit denen der Leiter (in rot

markiert) ein Eindruck über die entstandene DNA-Menge und damit den erforderlichen Einsatz für die Cycle-Sequenzier-PCR gewonnen werden.

Abb. 2



Agarosegel

Darstellung der Gelelektrophorese, Leiter rot markiert

2.6 Aufreinigung der PCR-Produkte

2.6.1 *Material*

PCR Trio Thermoblock	Biometra
Exo I® Exonuklease 20 U/μl	Fermentas (St. Leon-Rot, D.)
FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase 1 U/μl	Fermentas

2.6.2 *Prinzip*

Das PCR-Produkt wird für die weiteren Sequenzierungsschritte gereinigt. Mithilfe der Enzyme Exonuklease und Phosphatase werden die DNA-Moleküle von Überhängen und Phosphatgruppen an den Enden befreit. Dadurch werden Primer und überschüssige Nukleotide abgebaut.

2.6.3 *Durchführung*

In das originale PCR-Reaktionsgefäß mit dem gesamten PCR-Produkt wurden jeweils 0,5 μl Exonuklease und 1 μl FastAP pipettiert. Zur Aufreinigung wurde das Gemisch zunächst bei 37°C über 15 Minuten inkubiert und anschließend, zur Inaktivierung des Enzyms, weitere 15 Minuten bei 80°C inkubiert.

2.7 Cycle-Sequenzier-PCR

2.7.1 *Material*

PCR: FlexCycler	Analytik Jena
Big BigDye™ Ready reaction Mix (RR) (aus dem BigDye™ Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit)	Applied Biosystems
Magic Dye	Red Rabbit (Luckenwald, D)

2.7.2 *Prinzip*

Die Sequenzierung ist eine Methode, um die Basen- bzw. Nukleotidabfolge eines DNA-Moleküls zu bestimmen. Die verwendete Methode nach Sanger ermöglicht dies, indem neue DNA-Fragmente synthetisiert werden, deren Länge stark variiert. Im Prinzip wird eine PCR durchgeführt, bei der nur ein Primer und ein dNTP-Gemisch mit einem geringen Anteil an fluoreszenzmarkierten ddNTPs aller vier Basen zugesetzt wird. Nach Denaturierung des DNA-Stranges und Anlagerung des Primers wird DNA synthetisiert, durch den zufälligen Einbau eines ddNTPs statt eines dNTPs erfolgt jedoch ein Kettenabbruch (ddNTPs besitzen an ihrem 3'-Ende statt der -OH-Gruppe ein -H, es kann somit kein weiteres Nukleotid angeknüpft werden). Auf diese Weise entsteht ein Gemisch, in dem unterschiedlich lange DNA-Moleküle vorliegen, die alle denselben Anfang (den Primer) besitzen und in denen jedes Nukleotid der Sequenz als 3'-Ende vorkommt.

2.7.3 *Durchführung*

Der Ansatz der Sequenzier-PCR (10 µl Gesamtmenge) besteht aus 1 µl RR und 1 µl Magic Dye, der mittels der Gelelektrophorese ermittelten Menge der aufgereinigten DNA (0,5 bis 3 µl), dem Primer und H₂O. Das PCR-Programm wurde entsprechend den Herstellervorgaben programmiert (Tabelle 4) (BigDye™ Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit, User Guide, Revision B, 20.04.2016).

Tab. 4 PCR-Programm

Anzahl Zyklen	Dauer	Temperatur
1	1 min	96°C
25	10 sec	96°C
	5 sec	50°C
	4 min	60°C
	∞	4°C

2.8 Aufreinigung der Sequenzier-PCR-Produkte mittels Invitek (MSB® Spin PCRapace)

2.8.1 *Material*

Zentrifuge: VWR Galaxy 16 DH VWR (Langenfeld, D)

Kit: Invitek (MSB® Spin PCRapace) Stratec molecular (Berlin, D)

2.8.2 *Prinzip*

Die Produkte der Sequenzier-PCR müssen von Salzen, Enzymen, überschüssigen DNA-Fragmenten und anderem gereinigt werden. Hierfür wird eine Membran-Absorptionstechnik angewendet, wobei die DNA-Fragmente selektiv an die Oberfläche des verwendeten Spin-Filters binden und die ungewünschten Kontaminationen ausgewaschen werden können. Anschließend kann das gereinigte PCR-Produkt mittels des Elutions-Puffers von der Membran gelöst werden.

2.8.3 *Durchführung*

Das Produkt der Sequenzier-PCR wird zusammen mit 500 µl Binding-Puffer in ein Reaktionsgefäß pipettiert und gevortext. Das Gemisch wird danach auf den Filter gegeben und zentrifugiert (3 min/12.000 U/min), das Filtrat wird verworfen. Der Filter wird auf ein neues Gefäß gesetzt und 12 µl Elution-Puffer dazu pipettiert. Nach Inkubation für fünf Minuten kann erneut zentrifugiert werden (1 min/10.000 U/min). Nun befindet sich das gereinigte Produkt im Receiver-Gefäß.

2.9 Auftrennung der Sequenzier-PCR-Produkte durch Kapillarelektrophorese und Auswertung

2.9.1 *Material*

Analyzer: ABI Prism 310 Genetic Analyzer Applied Biosystems

Reaktionsgefäße: Genetic Analyzer

0,5 ml Sample Tube Applied Biosystems

Kapillarlänge 50 cm, □ 50 µm

POP-4 Polymer ABI

2.9.2 *Prinzip*

Die Probe wird mittels elektronischer Injektion in eine mit einem Polymer gefüllte Kapillare (Länge 50 cm) eingeleitet. Die Probeneinleitung erfolgt am Ende der Kathode, das Detektionsfenster befindet sich kurz vor der Anode. Eine gekoppelte Heizvorrichtung sorgt für eine konstante Temperatur von 50°C. Beim Wandern des Polymers durch das elektrische Feld in der Kapillare werden die DNA-Fragmente nach ihrer Länge aufgetrennt, dabei können Längenunterschiede von einer Base erkannt werden. Kurze DNA-Fragmente wandern schneller als lange und passieren in entsprechender Abfolge das Detektionsfenster. Dort werden sie durch einen Argon-Ionen-Laser angestrahlt, die an sie gebundenen Fluoreszenzfarbstoffe werden angeregt und emittieren Elektronen. Diese Farbsignale werden spektrographisch aufgetrennt und über eine hochauflösende CCD-Kamera (Charge-Coupled Device Sensor) aufgezeichnet. Mit Hilfe der Auswertesoftware (Sequencing Analysis Software, Vers. 5.2) werden die detektierten Emissionspeaks in eine Sequenzabfolge übersetzt (Basecalling).

2.9.3 *Durchführung*

Für die kapillarelektrophoretische Auftrennung wurde immer das gesamte aufgereinigte Produkt der Cycle-Sequenzier-PCR in ein Sample Tube pipettiert. Dabei musste die Mindestmenge im Sample Tube 12 µl betragen, sonst wurde mit Wasser entsprechend aufgefüllt. Die Gefäße wurden mit Septen verschlossen, wobei vorher sämtliche Luftblasen entfernt wurden, und mit Hilfe eines Trays im ABI 310

Genetic Analyzer platziert. Im Rahmen eines Laufs konnten bis zu 48 Proben ausgewertet werden. Die Auftrennung lief bei folgenden Parametern:

- Temperatur 50°C
- Injektionszeit 60 sec
- Injektionsspannung 2.0 kV
- Laufspannung 15 kV
- Laufzeit 20 min

Programm: Sequencing Analysis Software, Version 5.2

Die Auswertung der als Papiausdruck vorliegenden Sequenzen erfolgte manuell durch zwei Prüfer, indem die ermittelten Basenabfolgen mit den publizierten Sequenzen (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/211904133>, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NM_181798.1) verglichen wurden.

3 Ergebnisse

3.1 Aus den Akten ermittelte Daten zu den Fällen

In dieser Studie wurden insgesamt 198 Fälle von im Wasser verstorbenen Personen einbezogen. Die Auffindeorte wurden in vier Kategorien unterteilt: offenes Gewässer (Fluss, Bach, See, Teich, Tümpel, Kanal, Meer), Pool (privates oder öffentliches Schwimmbad), andere (Jauchegrube, Sickergrube, Klärwerk) und Badewanne (Ausführliche Tabelle Nr. 7.4.1 im Anhang).

Tab. 5 Geschlecht, Alter, Todesursache, Auffindeort (Zusammenfassung Tab. 7.4.1)

	Gewässer n = 80	Pool n = 10	andere² n = 5	Badewanne n = 80
Geschlecht m:w	56:24	6:4	3:2	38:42
Alter	2 - 90	4,1 - 83	20 - 74	0,5 - 96
Durchschnitt	Ø: 53,9	Ø: 53,6	Ø: 51,6	Ø: 54,0
Todesursache Ertrinken	62	3	3	28
Spättod nach Beinaheertrinken	4	7	1	3
andere ¹	1		1	20
ungeklärt	24			37

1: gesicherte Todesursache, z. B. Myokardinfarkt, intrakranielle Blutung

2: Sickergrube, Jauchegrube, Klärwerk

In einem Fall von Beinaheertrinken waren keinerlei Informationen über den Auffinde- bzw. Unfallort vorhanden.

Die vorliegenden Informationen erlaubten es nicht in jedem Fall, den Grund für den Aufenthalt im Wasser (Sport, Freizeit, Unfall ...) zu eruieren, daher konnten hier keine weiteren Unterscheidungen getroffen werden. Auch lagen keine Informationen vor, ob oder wie gut die Verstorbenen schwimmen konnten oder ob Herzrhythmusstörungen oder andere vorbestehende Krankheitssymptome (wie z. B. Synkopen) bekannt waren.

3.2 Makroskopische Diagnose

3.2.1 *Ertrinken*

Bei sämtlichen Fällen, für die Ertrinken als Todesursache festgelegt wurde, waren zumindest drei der beschriebenen makroskopischen Kriterien vorhanden (Tabelle 7.4.2 im Anhang), wobei fast alle ein sogenanntes Emphysema aquosum aufwiesen.

Tab. 6 Vorkommen von makroskopischen Ertrinkungsbefunden (Zusammenfassung Tab. 7.4.2)

Makroskopisches Kriterium	Anzahl an Fällen (gesamt: 94)
Schaumpilz	36 (33,84%)
Paltauf-Flecken	67 (62,89%)
Emphysema aquosum	90 (84,6%)
Flüssigkeit in den Keilbeinhöhlen	16 (15,04%)
kleine, blasse Milz	12 (11,28%)
Dreischichtung des Mageninhaltes	45 (42,3%)
weniger als drei Kriterien gleichzeitig	28 (26,32%)

Für zwei Fälle (S90 und S100) wurden keinerlei Angaben bezüglich dieser diagnostischen Kriterien im Obduktionsprotokoll gemacht. Da hier zudem kein genetisches Material vorhanden war, wurden diese Fälle aus der Studie ausgeschlossen.

3.2.2 *Andere Todesursachen*

In 21 Fällen wurden andere eindeutige Todesursachen diagnostiziert (zusammengefasst in Tabelle 7).

Tab. 7 Andere Todesursachen

Todesursache	Anzahl
Erkrankungen des kardiovaskulären Systems	9
Suizide: Stromtod Hypovolämischer Schock nach Halsschnitt CO-Intoxikation	4
Sonstige nicht natürliche Ursachen: Intoxikation Unterkühlung subdurales Hämatom nach neurochirurgischer Operation	4
Rupturiertes Hirnbasisaneurysma	2
Bronchialkarzinom	1
Großhirnabszess	1

Erkrankungen des kardiovaskulären Systems:

Todesfälle mit kardialer Ursache stellten in diesem Subkollektiv mit neun Fällen die größte Gruppe dar. Hierbei handelt es sich auch unabhängig vom Tod im Wasser um die statistisch häufigsten Todesursachen, wobei Durchblutungsstörungen des Herzens, Koronare Herzerkrankung und Myokardinfarkt, gefolgt von der Herzinsuffizienz

[www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Todesursachen.html] an der Spitze stehen.

3.2.3 Ungeklärte Todesursache

Können im Rahmen der Obduktion keine Befunde gesichert werden, die eine eindeutige Diagnose erlauben, handelt es sich um eine ungeklärte Todesursache. Hier liegt dem Versterben entweder ein Geschehen zugrunde, dem kein eindeutiges morphologisches Korrelat zuzuordnen ist, oder die Befunde sind aufgrund von

Fäulnisveränderungen nicht mehr vorhanden oder können nicht mehr interpretiert werden, etwa durch Verfärbung und Konsistenzveränderungen der Gewebe.

Von den insgesamt 198 im Wasser gefundenen Leichen wiesen 68 fortgeschrittene Veränderungen auf. Unter den 61 Fällen mit ungeklärter Todesursache waren 41 fäulnisverändert (67%).

3.2.4 Spättod nach Beinaheertrinken

In diese Studie wurden 16 Spättodesfälle nach Beinaheertrinken einbezogen. Sie stellen die altersmäßig jüngste Gruppe dar (1,5 bis 65 Jahre). Für die Fälle in dieser Gruppe lagen nur vereinzelt Informationen bezüglich der Begleitumstände des Beinaheertrinkens vor. Standen diesbezüglich Informationen zur Verfügung, dann solche, denen zufolge das Beinaheertrinken scheinbar unvermittelt eingetreten ist („ging unter wie ein Stein“, „ging plötzlich unter“ ...).

Die Überlebenszeiten dieser Menschen betragen zwischen zwei Stunden und 30 Tagen. Bei jenen Opfern, die verhältnismäßig schnell verstarben, fanden sich als führende Befunde – dem Vorgang des Ertrinkens entsprechend – hypoxiebedingte Hirnschäden in Verbindung mit Hirnödemen. Bei den nur wenige Stunden nach dem Ereignis verstorbenen Personen sind in zwei Fällen noch Ertrinkungsbefunde (Paltauf'sche Flecken und Emphysema aquosum) beschrieben worden. Vor allem infolge invasiver und längerfristiger maschineller Beatmung entwickelten sich bei den Personen, die länger als einen Tag überlebten, Pneumonien (in keinem Fall näher klassifiziert). Hinzu kamen Lungenödem, Schock und Multiorganversagen bzw. Atemnotsyndrom (ARDS).

Tab. 8 Todesursachen und Überlebenszeit nach Beinaheertrinken

Fall	Todesursache laut Totenschein	Todesursache autoptisch	Überlebenszeit
S12	nicht bekannt	hypoxischer Hirnschaden	Stunden
S15	nicht bekannt	hypoxischer Hirnschaden, Pneumonie, Schockorgane	8 Tage
S20	nicht bekannt	hypoxischer Hirnschaden	Stunden

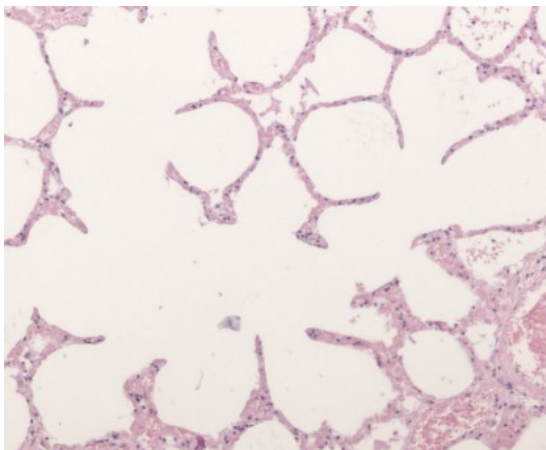
Fall	Todesursache laut Totenschein	Todesursache autoptisch	Überlebenszeit
S40	Multiorganversagen mit kardiogenem Schock bei V.a. Sepsis	Multiorganversagen, Schock	1 Tag
S47	Badewasseraspiration mit Aspirationspneumonie beidseits, im Verlauf nach Extubation Hypoxämie, Asystolie, CPR, hiernach toxischer Hirnschaden mit ausgeprägtem Hirnödem	hypoxischer Hirnschaden, Pneumonie	24 Tage
S57	nicht bekannt	hypoxischer Hirnschaden, Pneumonie	30 Tage
S59	nicht bekannt	hypoxischer Hirnschaden	1 Tag
S66	ARDS nach Ertrinkungsunfall	hypoxischer Hirnschaden, Pneumonie	2 Tage
S68	nicht bekannt	Lungenödem, Hirnödem	2 Stunden
S70	hypoxischer Hirnschaden nach Ertrinkungsunfall	hypoxischer Hirnschaden, Pneumonie	6 Tage
S82	hypoxischer Hirnschaden, Ertrinkungsunfall	Multiorganversagen, Schockorgane, hypoxischer Hirnschaden, Pneumonie	18 Tage
S83	Tod durch Ertrinken, Reanimation zunächst erfolgt, dann Übergang ins Multiorganversagen	Multiorganversagen, Lungenödem, Hirnödem	am selben Tag verstorben
S146	nicht bekannt	Zustand nach Sauerstoffunterversorgung nach Beinaheertrinken	12 Tage
S174	Kreislaufstillstand, Elektrolytverschiebung, Lungenödem, Ertrinkungsursache Süßwasser	hypoxischer Hirnschaden	Stunden
S196	Pneumonie, hypoxischer Hirnschaden nach Ertrinken	hypoxischer Hirnschaden, Pneumonie	23 Tage

Fall	Todesursache laut Totenschein	Todesursache autoptisch	Überlebenszeit
S209	pneumogene Sepsis mit Multiorganversagen und ausgeprägtem Hirnödem nach Reanimation mit ROSC	Lungenembolie, Multiorganversagen, Nierenhydrops, hypoxischer Hirnschaden, Pneumonie	5 Tage

3.3 Histologie

In 36 Fällen lagen histologische Präparate zur Untersuchung vor, darunter 24 x Ertrinken, 5 x ungeklärt, 3 x andere (Verbluten, akuter Myokardinfarkt, Stromtod) und 3 x Spättod. Die Lungenpräparate (durchschnittlich drei Schnitte) aller vorliegenden Fälle wurden bezüglich zuvor festgelegter Kriterien, die ein Ertrinken als Todesursache nahelegen [Metje, 2009], untersucht (siehe auch Abb. 3 - 5) und die Ergebnisse (vorhanden/nicht vorhanden) in der folgenden Tabelle vermerkt (Ausführliche Tabelle Nr. 7.4.3 im Anhang).

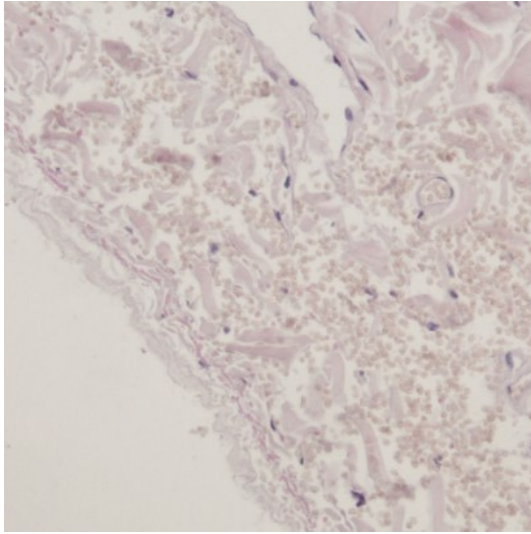
Abb. 3



Lungenemphysem

Färbung: HE, 50-fache Vergrößerung

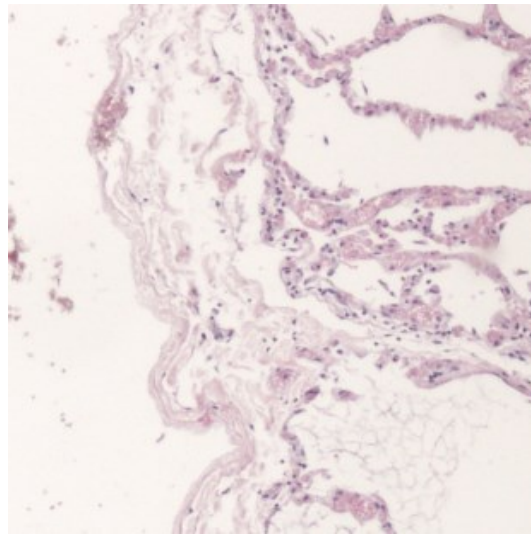
Abb. 4



Paltaufflecken

Färbung: HE, 160-fache Vergrößerung

Abb. 5



Pleuraemphysem

Färbung: HE, 100-fache Vergrößerung

Tab. 9 Histologische Ertrinkungsbefunde

	E n = 24	S n = 3	A n = 4	U n = 5
septales Ödem	1	5	1	2
Zerreiungshöhlen/ akutes Emphysem	10		1	1
alveoläres Ödem	4		2	4
hämorrhagisches Ödem		1	2	
alveoläre Hämorrhagien	6	1	3	1
Detritus in den Alveolen	3			1
Hyperämie der Pleura	3		1	1
Pleura- hämorrhagien	3			
Pleuraemphysem	5		1	1
septale Infiltration				1

E: Ertrinken, S: Spättode, A: andere Todesursachen, U: ungeklärte Todesursache

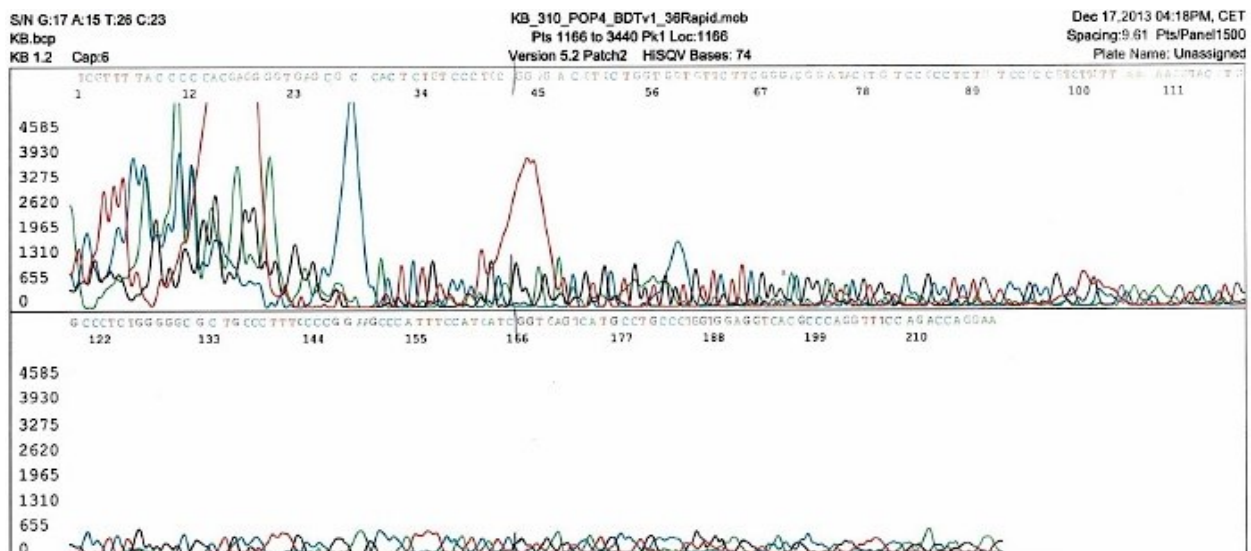
3.4 Etablierung der PCR-Assays zur Amplifikation der ausgewählten Exons von *KCNQ1*

Für die Exons 6 und 8 (Abb. 9 und 11) konnten unter Anwendung der errechneten Schmelztemperaturen und ohne zusätzlichen Einsatz von MgCl₂ (lediglich die im verwendeten Puffer enthaltene Menge von 1,5 mM) zufriedenstellende Ergebnisse in den meisten Proben erzielt werden.

Die Amplifikation der Exons 3, 5 und 7 (Abb. 7, 8 und 10) gestaltete sich hingegen schwieriger. Mit den von Farrugia et al. [2012] publizierten Primern konnten hier selbst nach mehrfacher Wiederholung nur 37, 40 und 23 Proben respektive erfolgreich amplifiziert werden, wobei diese meist nicht in voller Länge vorlagen. Weder eine Veränderung der MgCl₂-Konzentration noch der Annealingtemperatur führten zu wesentlich besseren Ergebnissen. Selbst wenn die Annealingtemperatur z. B. für Exon 3 auf unter 50°C gesenkt wurde, ließen sich nur in maximal 30 Proben PCR-Produkte erzielen. Letztendlich wurden daher für diese drei Exons neue Primer mit dem Programm Primer3 (<http://primer3.ut.ee/>) designt, so dass die Exons in zwei sich überlappenden Teilbereichen amplifiziert und sequenziert werden konnten.

Abb.

6



Abgebrochene Sequenzierung

Abb. 7

125521 ttctcagggt gtccttcagc ggaggctcca gcatggctgg gttc aaacaq qttgcagggt
125581 ctgaagccac tcaaggccga gctgcctgc agtgagcgtc ccactctgtc cctgcaggag
125641 atcgtgctgg tgggttctt cgggacggag tacgtgggcc gcctctggtc cgccggctgc
125701 cgcagcaagt acgtgggcct ctggggcggt ctgcgctttg cccggaagcc catttccatc
125761 atcggtgagt catgcctgcc ctgtggaggt cagcccagg tttccagacc aggaaggacc
125821 cccacctcat gaccctacc agatggagtc ccctaaggac tggggaacct caaggccagc

Exon 3, Primer 3.1

rot unterstrichen: publizierte Primer

Abb. 7.1

125521 ttctcagggt gtccttcagc ggaggctcca gcatggctgg gttcaaacag gttgcagggt
125581 ctgaagccac tcaaggccga gctgcctgc agtgagcgtc ccactctgtc cctgcaggag
125641 atcgtgctgg tgggttctt cgggacggag tacgtgggcc gcctctggtc cgccggctgc
125701 cgcagcaagt acgtgggcct ctggggcggt ctgcgctttg cccggaagcc catttccatc
125761 atcggtgagt catgcctgcc ctgtggaggt cagccc agg tttccagacc aggaaggacccc
125821 cccacctcat gaccctacc agatggagtc ccctaaggac tggggaacct caaggccagc

Exon 3, Primer 3.2

rot unterstrichen: publizierte Primer

Abb. 8

126901 cccagagtgg acgcctggga ggggcagggg caggacacc catgccatcg gccagcccta
126961 ggcccggcgt gaacagctga gccagcctg gctccctcag ccccacacca tctccttcgc
127021 aggggcatcc gcttctctgca gatcc tgagg atgctacacg tcgaccgcca gggaggcacc
127081 tggaggctcc tgggctccgt ggtcttcac caccgccagg tgggtggccc gggttagggg
127141 tgcggggccc aggttgggga caggacggag ggagcagagc agcccacact aggacagctt
127201 gagatgcgct gaggccccgg gggccgggtg gtgcctgggc gcaggggtac ctgaacgggg
127261 cccaggatct cagagcaagc ccaagcttga gccagcctg gatgctccac cccagcctgg
127321 tgccagtgac cctggcctgc caggctgatg gtgtgctcac ctctctctga gctgggggca
127381 aatgaagaca gaaagtcaga aatgaaaaac ccaggcaaat caaggaccgc gtcaaggcag
127441 ggccaccaga ctccctccc agggctgcac tcagatgggt tcaggctgca ctggcccctg

Exon 5, Primer 5.1

rot unterstrichen: publizierte Primer

Abb. 8.1

126901 cccagagtgg acgcctggga ggggcagggg caggacacc catgccatcg gccagcccta
126961 ggcccggcgt gaacagctga gccagcctg gctccctcag ccccacacca tctccttcgc
127021 aggggcatcc gcttctctgca gatcctgagg atgctacacg tcgaccgcca gggaggcacc
127081 tggaggctcc tgggctccgt ggtcttcac caccgccagg tgggtggccc gggttagggg
127141 tgcggggccc aggttgggga caggacggag ggagcagagc agcccacact aggacagctt
127201 gagatgcgct gaggccccgg gggccgggtg gtgcctgggc gcaggggtac ctgaacgggg
127261 cccaggatct cagagcaagc ccaagcttga gccagcctg gatgctccac cccagcctgg
127321 tgccagtgac cctggcctgc caggctgatg gtgtgctcac ctctctctga gctgggggca
127381 aatgaagaca gaaagtcaga aatgaaaaac ccaggcaaat caaggaccgc gtcaaggcag
127441 ggccaccaga ctccctccc agggctgcac tcagatgggt tcaggctgca ctggcccctg

Exon 5, Primer 5.2

rot unterstrichen: publizierte Primer

Abb. 9

127801 ggaggctccc agcctgcggt tcttggagcc cgacactgtg tgttttctgg cctaggagct
127861 gataaccacc ctgtacatcg gcttctctggg cctcatcttc tctctgtact ttgtgtacct
127921 ggctgagaag gacgcggtga acgagtcagg ccgcgtggag ttcggcagct acgcagatgc
127981 gctgtggtgg ggggtgg taa gtcggaaact tccaggcatg gggacagggg cagctcaggc
128041 tgaggagtgg gcaggacatc tgggcaactg tgtcttgaga ctctgggcct tggcaggggc
128101 ttctcacctg cacgctcaca ggctctgtc cacaaacctg tgcttgagc cgctggcaca

Exon 6

Abb. 10

```
138361 cagagtgggtg ggttttgggtt aggcagttgg c cctcccag gctccagtc catccgtggc
138421 tgaccactgt cctctccct gcaggtcaca gtcaccacca tcggtatgg ggacaaggtg
138481 ccccagacgt gggtcgggaa gaccatc gcc tctgcttct ctgtctttgc catctccttc
138541 tttgcgctcc cagcggtagg tgccccgtgg gtgcgttttc cctggctcct tggacagctg
138601 gggtcctggg gtggctgcac gccctccct gtgagcagac ccacttacgt t cagaaccaa
138661 gagggtgctt cccttctaga aggtgctata ctccagagcc ccacctgccc tccttggggc
```

Exon 7

gelb: Primer 7.1, blau: Primer 7.2, rot unterstrichen: publizierte Primer

Abb. 11

```
139921 ctgggacacat acagatggac cagcccactt ggccccaga atggtccttg ggaatgggtt
139981 agagcggctg cagccctgcc ccatgggact gggccccttg ctggataaga ctgggggat
140041 aagttctgcc cccatgctg gcccaggaca ggcaggctgg gcccgaggtg ggacttgggg
140101 gggcttccag cactgacct acctggcctt cccacaacgg tgaccggtaa ccacgtcctg
140161 aggetgcacc cagctggcag tggcctgtgt ggacgg gagc ctccctgtcca ttccttccca
140221 ggggattctt ggctcggggg ttgccctgaa ggtgcagcag aagcagagggc agaagcactt
140281 caaccggcag atcccggcgg cagcctcact cattcaggtg cggtgctgc aaggccctgg
140341 tcaactgtcat tttggctact t gttattggtg catccagccc tcacggccac ctgtcagaac
140401 catcattggc cctgcatca gcttggctgg cctgtggggc atactctgct tgtggaagcc
140461 ttggctgctg tggatgatgg gtgagcacgg ggcattggag cctgtcttcc tccaaagctg
140521 ctcccatcaa gggccatgcc ctgtgggctg gagaggaggc acggccgtgg ccatgccagg
140581 agtggacgtg gttggctctg aggtccctt gtgctcccat tctccctccc actgcacaac
140641 aacctgaggg ctgagctctg gagtgggggtg gccagggtgat tgtccccaaag ggaggtagga
```

Exon 8

Die Auftrennung der Exons alleine erbrachte jedoch noch nicht die erwünschten Ergebnisse, so dass die Parameter Temperatur und $MgCl_2$ -Konzentration ebenfalls angepasst werden mussten.

Die errechnete Schmelztemperatur der Primer für den Abschnitt 3.1 lag bei $55^\circ C$, entsprechend wurde für die Etablierung der neuen Primer mit einer Annealingtemperatur von $55^\circ C$ und einer $MgCl_2$ -Konzentration von 1,5 mM (entsprechend der Konzentration im verwendeten Puffer) begonnen. Diese Bedingungen führten jedoch nur in 20 Proben zu einem Ergebnis. Mit der Anpassung der Annealingtemperatur auf $52^\circ C$ und der Erhöhung der $MgCl_2$ -Konzentration auf 1,9 mM konnte schließlich ein Großteil der Proben erfolgreich auch in diesem DNA-Abschnitt sequenziert werden.

Für den Abschnitt 3.2 lag die errechnete Schmelztemperatur der Primer bei $58^\circ C$, bei dieser Temperatur und ohne eine Erhöhung der $MgCl_2$ -Konzentration konnten weiterhin nur wenige Proben (17) amplifiziert werden. Nach Absenken der Annealingtemperatur auf $52^\circ C$ und bei einer $MgCl_2$ -Konzentration von 1,9 mM konnten insgesamt 130 Proben sequenziert werden.

Analog wurde mit den übrigen Teilabschnitten der Exons 5 (5.1 und 5.2) und 7 (7.1 und 7.2) verfahren. Dabei stellte sich heraus, dass die errechnete Annealingtemperatur für die Abschnitte 5.1 und 5.2 von 55°C und der Einsatz von 1,9 mM MgCl₂-Konzentration zur Sequenzierung der meisten Proben führte. Dasselbe galt für die Abschnitte 7.1 und 7.2, ebenfalls bei der errechneten Temperatur von 55°C und einem MgCl₂-Einsatz von 1,9 mM.

Die verwendete Menge an MgCl₂ und die Annealingtemperaturen sind in Tab. 10 zusammengefasst.

Tab. 10 Annealingtemperaturen und MgCl₂-Konzentrationen

Exon	Annealingtemperatur	MgCl ₂ -Konzentration
3.1	52°C	1,9 mM
3.2	52°C	1,9 mM
5.1	55°C	1,9 mM
5.2	55°C	1,9 mM
6	55°C	1,5 mM ¹
7.1	55°C	1,9 mM
7.2	55°C	1,9 mM
8	52°C	1,5 mM ¹

¹entsprechend der Konzentration im verwendeten Puffer

3.5 Ergebnisse der DNA-Sequenzierung

Nach der Teilung der Exons 3, 5 und 7 und unter den oben beschriebenen Bedingungen konnten schließlich ein Großteil der Proben erfolgreich amplifiziert und sequenziert werden. In Tab. 11 ist die Anzahl der vollständig erhaltenen Sequenzen der jeweiligen Exons dargestellt.

Tab. 11 Anzahl der vollständig sequenzierten Exons

Exon	vollständige Sequenz erhalten
3	130
5	125
6	157
7	145
8	168

Allerdings konnte in keinem der sequenzierten Exons und Exon-Intron-Boundaries in irgendeiner der untersuchten Proben eine Abweichung zu der publizierten Sequenz gefunden werden, d. h. es kamen weder bekannte Mutationen oder Polymorphismen noch neue Mutationen zur Darstellung.

4 Diskussion

Diese Studie war Teil eines Projektes, das die Bedeutung von Ionenkanalgenen und anderen mit Herzrhythmusstörungen assoziierten Genen beim Versterben im Wasser untersuchen sollte. Fragestellung dieser Teil-Studie war, ob bei im Wasser Verstorbenen ein Long-QT-Syndrom Typ 1 eine ursächliche Rolle spielen könnte. Dazu sollte analysiert werden, ob sich definierte Mutationen, die bei Patienten mit dieser Erkrankung in bestimmten Exons des Gens *KCNQ1* beschrieben worden sind, auch in der DNA von im Wasser Verstorbenen nachweisen lassen. Sollte diese Frage positiv beantwortet werden, könnte im Rahmen einer molekularen Autopsie die gezielte Analyse dieser definierten DNA-Abschnitte Aufschluss über die Todesumstände oder den Grund des Ertrinkens bei den Opfern geben. Die Bedeutung von Veränderungen in diesem Gen könnte so insgesamt besser verstanden werden.

Die molekulare Autopsie soll neben der Feststellung der Todesursache auch dazu dienen, Verwandte des Betroffenen zu schützen. Direkte Angehörige sollten ebenfalls auf beim Verstorbenen nachgewiesene Mutationen hin untersucht werden, wobei klinische Untersuchungen und Kontrollen begleitend durchgeführt werden

sollten. Schließlich können speziell im Fall des LQT1 Präventionsmaßnahmen und Verhaltensregeln dazu beitragen, das Ertrinkungsrisiko für diese Angehörigen zu mindern.

4.1 Problematik der Diagnose Ertrinken als Todesursache

Wie bereits beschrieben stellt eine zweifelsfreie Klärung der Todesursache bei aus dem Wasser geborgenen Leichen eine Herausforderung dar. In einer Studie aus dem Jahr 2002 [Lunetta et al.] an 1.590 im Wasser aufgefundenen Verstorbenen war bei 60% der Fälle eine eindeutige Diagnose nicht möglich. Die Beschaffenheit der makromorphologischen und histopathologischen Diagnosekriterien (sie sind nicht immer oder zum Teil nur vorübergehend vorhanden) und die Tatsache, dass viele Leichen bei Auffindung bereits fäulnisverändert sind, erlauben häufig nur eine Ausschlussdiagnose unter Einbeziehung äußerer Umstände und zusätzlicher, polizeilicher Ermittlungsergebnisse [Keil, 2007]. Hinzu kommt, dass selbst bei einer sicheren Diagnose des Ertrinkens der Grund für das Ertrinken (Manner of Death/ICD-Code → Suizid, Tötung, Unfall, Folge einer grundlegenden Erkrankung) häufig weiterhin offen bleibt.

Wenn scheinbar gesunde Menschen ohne erkennbaren Grund ertrinken, kann das auf eine Vielzahl von Faktoren zurückgeführt werden, darunter Intoxikationen mit Alkohol oder Drogen, (unbekannte) Grunderkrankungen wie z. B. Epilepsie oder auch sehr junges Alter [Ahlm et al., 2013; Rácz et al., 2015; Chang et al., 2014, Satoh et al., 2013; Claesson et al., 2013]. Wenn diese Umstände ausgeschlossen werden können und der Betroffene zudem als guter Schwimmer galt, wird der Todesfall als unerklärter (Ertrinkungs-)Fall bezeichnet.

4.2 Morphologische Befunde beim Ertrinken

Es gibt sechs, bereits in Kapitel 1.2 beschriebene makroskopische Befunde, die bei im Wasser Verstorbenen aus pathophysiologischer Sicht für Ertrinken (Ersticken im flüssigen Medium) sprechen (Emphysema aquosum; Schaumpilz; kleine, blutenspeicherte Milz; Flüssigkeit in den Keilbeinhöhlen; Paltauf-Flecken; Wasser im Magen/Dreischichtung des Mageninhalts). Keiner dieser Befunde ist jedoch für

ein Ertrinken pathognomonisch oder beweisend, da sie zum einen nicht in jedem Fall vorkommen und zum anderen auch andere Ursachen haben können.

So kann ein Schaumpilz auch bei einem Lungenödem aus kardialer Ursache oder durch eine Intoxikation entstehen. Darüber hinaus ist er in der Regel nur kurze Zeit vorhanden und kann ausgewaschen oder abgewischt sein oder nach der Bergung eintrocknen. Ein Emphysema aquosum kann als chronisches Emphysem maskiert sein oder durch pleurale Verwachsungen verhindert werden.

Die am ehesten mit dem Ertrinken assoziierten Befunde sind dennoch der Schaumpilz und das Emphysema aquosum. In der oben erwähnten Studie an 1.590 aus dem Wasser geborgenen Leichen stellten Lunetta und Kollegen [2002] fest, dass Schaumpilze in 17,3%, schaumiges Sekret in den Atemwegen in 46,5% und ein Emphysema aquosum in 42,1% der Fälle vorhanden waren. Dennoch war im Vergleich zu den Kontrollen jeder Befund für sich genommen nicht spezifisch für das Ertrinken. Lediglich die Kombination aus Schaumpilz und Emphysema aquosum zeigte sich ausschließlich bei den Ertrinkungsfällen, war jedoch nur in 11,1% aller Fälle vorhanden. Von den 94 in dieser Studie untersuchten Ertrunkenen wiesen 90 (84,6%) ein Emphysema aquosum und 36 (33,4%) einen Schaumpilz und ein Emphysema aquosum auf.

Bezüglich des Eindringens von Wasser in die Keilbeinhöhlen existieren unterschiedliche Studienergebnisse. Bohnert et al. haben im Rahmen einer Untersuchung von 60 Ertrunkenen bei 92% Wasser in den Keilbeinhöhlen gefunden (1 bis 4 ml), aber auch in 52 von 167 Kontrollen (Fälle aus dem übrigen Obduktionsgut, bei denen andere Todesursachen als ein Ertrinken vorlagen), hier jedoch in geringerer Menge [Bohnert et al., 2002]. Demgegenüber hat Hottmar in 75% von 387 Fällen bei Ertrunkenen Flüssigkeit entdeckt und nur in einem Fall von 50 Kontrollen [Hottmar, 1996]. Im Vergleich dazu fand sich dieser Befund in dieser Studie deutlich seltener (16 Fälle, 15,04%). Insgesamt ist dieser Befund als eher unsicher zu werten, da Wasser theoretisch auch nach dem Tod in die Höhlen gelangen kann, insbesondere bei längerer Wasserliegezeit.

Haffner und Kollegen fanden bei 42 Ertrinkungsfällen im Vergleich zu 42 Kontrollen, die infolge anderer Asphyxieformen starben, signifikant geringere Milzgewichte

[Haffner et al., 1994]. Laut Reh findet sich in 30% der Ertrinkungsfälle eine kleine, entspeicherte Milz [Reh, 1970]. Auch diese Ergebnisse konnten hier nicht bestätigt werden, da nur zwölf Fälle (11,28%) eine blutentspeicherte Milz aufwiesen.

Insgesamt sind die beim Ertrinken zu erwartenden histologischen Befunde unspezifisch und variabel, außerdem abhängig von der Dauer des Ertrinkungsvorganges und der Lage des Körpers im Wasser. Sie können zudem maskiert sein, z. B. durch Reanimationsversuche und vorbestehende körperliche Veränderungen, wie auch im Rahmen von Obduktion und histologischer Untersuchung der 96 Fälle dieser Studie gezeigt werden konnte.

4.3 Morphologische Befunde bei Fällen von Beinaheertrinken

Es fanden sich den grundlegenden Verletzungen (Water related injury) entsprechende Befunde, vor allem hypoxische Hirnschädigung und Hirnödeme, Lungenödeme und Pneumonien. Sauerstoffmangel führt nach mehr als drei Minuten Dauer zu progredienter Schädigung des zentralen Nervensystems (ZNS). Bis zu dieser Zeit ist eine völlige Wiederherstellung der Funktion des ZNS nach Rettung und Reanimation möglich. Im Zeitfenster zwischen vier bis sechs Minuten kommt es zu zunehmender und letztlich irreversibler Schädigung vor allem des zentralen Nervensystems, auch wenn die Wiederherstellung eines suffizienten Kreislaufs gelingen sollte [Warner und Knape, 2014].

Es gibt keine eindeutigen Daten bezüglich der Zeit, die ein Ertrinkungsopfer maximal unter Wasser verbringen kann, um anschließend erfolgreich wiederbelebt zu werden. Es ist jedoch davon auszugehen, dass unter normothermen Bedingungen eine erfolgreiche Reanimation innerhalb der ersten drei Minuten Hypoxiezeit gelingt und dass nach einer Submersionszeit von fünf Minuten oder länger mit bleibenden Schäden zu rechnen ist [Lunetta und Modell, 2005]. Die Überlebenszeit des Gehirngewebes unter hypoxischen Bedingungen kann durch eine erniedrigte Gewebetemperatur deutlich hinausgezögert werden. Dieser Schutzmechanismus kann bei der Immersion in kaltem Wasser dem Betroffenen zugute kommen. Durch eine Abkühlung nimmt die metabolische Aktivität des Gehirngewebes deutlich ab und so kann die Überlebenszeit bei einer Abkühlung um 7°C nahezu verdoppelt werden [Tipton und Golden, 2014].

Auch alle übrigen Organe können durch den Sauerstoffmangel geschädigt werden, insbesondere kann es zu akutem Nieren- oder Leberversagen kommen. Außerdem werden gastrointestinale Schäden und disseminierte intravasale Gerinnung beschrieben [Lunetta und Modell, 2005].

Durch direkte Schädigung des Lungengewebes durch das Ertrinkungsmedium kann es noch bis zu zwölf Stunden nach dem Ereignis zu einem Lungenödem und folgenden akuten Respirationsstörungen (ARDS) kommen. Durch die Aspiration von Ertrinkungsflüssigkeit und ggf. Mageninhalt (bei der Reanimation) können Pneumonien hervorgerufen werden, ebenso können diese nosokomial bei längerer Bettlägerigkeit während des Krankenhausaufenthaltes entstehen [Idris et al., 2003].

4.4 Auswahl der genetischen Methoden

Das Long-QT-Syndrom wurde zunächst als monogenetische Erkrankung angesehen. Erst mit der Zeit zeigte sich, dass es eine inkomplette Penetranz aufweist. Bei etwa 50% der Patienten mit nachgewiesenen Mutationen zeigen sich lebenslang keine klinischen Symptome. Dabei kann ein und dieselbe Mutation bei einem Individuum zu einer deutlichen klinischen Symptomatik führen, bei einem anderen wiederum findet sich keine Verlängerung der QT-Zeit. Bei 10% der Untersuchten wurden mehr als eine Mutation gefunden, was zu einer intensiveren Ausprägung der klinischen Symptome führte. Das Long-QT-Syndrom ist also nicht einer oder wenigen speziellen Mutationen zuzuschreiben. Vielmehr scheinen mehrere genetische Faktoren und Umwelteinflüssen eine Rolle zu spielen [Mizusawa et al., 2014].

Bisher wurden insgesamt 183 Mutationen, zumeist Punktmutationen, im Gen *KCNQ1* beschrieben, wobei einige häufiger gefunden wurden und andere wiederum nur vereinzelt vorkamen (Tabelle 7.4.4 im Anhang). Es zeigte sich zudem, dass in Screening-Untersuchungen, die größeren Abschnitten von LQTS-Genen galten, immer wieder bis dato unbekannte Mutationen gefunden werden konnten [Kapplinger et al., 2009, Napolitano et al., 2005]. Dies führte für die hier vorliegende Studie zu der Entscheidung, nicht gezielt nach einzelnen Mutationen zu suchen, sondern längere Abschnitte vollständig zu sequenzieren.

Eine Sequenzierung des gesamten Gens *KCNQ1* wäre mit der bereits degradierten DNA der zahlreichen Fäulnisfälle, die sich im Untersuchungskollektiv befanden, und

der aufgrund der Asservierungsmethode (getrocknete Blutstropfen) geringen DNA-Menge nicht durchführbar gewesen. Da sich sowohl die größte Anzahl an verschiedenen Mutationen als auch die am häufigsten auftretenden Mutationen in den Exons 3, 5, 6, 7 und 8 konzentrieren (Tabelle 7.4.4 im Anhang), wurde die Analyse auf diese Exons beschränkt.

Die Cycle-Sequenzieretechnik mit Hilfe des kommerziellen BigDye-Terminator Kits wurde ausgewählt, weil sich auf diese Weise über die PCR amplifizierte DNA-Abschnitte zwischen 100 und 600 bp einfach analysieren lassen.

4.5 Molekulargenetische Grundlagen: Gründe/Erklärungen des plötzlichen Herztodes

Die Inzidenz des plötzlichen Herztodes bei unter 40-Jährigen beträgt ca. 3/100.000/Jahr [Beckmann et al., 2011]. Durch Autopsie, sorgfältige Anamneseerhebung (Familienanamnese, klinische Vorbefunde etc.) und molekulargenetische Untersuchungen können bei mehr als der Hälfte dieser Fälle Arrhythmiesyndrome diagnostiziert werden. Dabei weisen etwa 70% primäre Arrhythmiesyndrome wie LQTS und 30% strukturelle arrhythmogene Erkrankungen, z. B. Gefügestörungen der Herzmuskulatur auf [Beckmann et al., 2011]. Zudem kann bei plötzlichen ungeklärten Todesfällen und bei Fällen des plötzlichen Kindstodes (SIDS) durch Analysen der bekannten Kanalgene in bis zu 35% der Fälle eine Todesursache ermittelt werden [Ackermann et al., 2011].

Zu den hereditären, primären Arrhythmiesyndromen gehören neben dem LQTS auch das Brugada-Syndrom, die katecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie (CPVT) und das Short-QT-Syndrom [Beckmann et al., 2011]. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt sind 15 verschiedene LQT-Syndrome bekannt, die respektive mit Typ 1-15 bezeichnet werden. Jedes LQTS wird auf Mutationen in einem bestimmten Gen zurückgeführt. Dabei handelt es sich überwiegend um Gene, die für Ionenkanäle oder Teile dieser codieren. Allerdings gibt es mehrere Ausnahmen von dieser Regel, von denen exemplarisch hier LQT4 beschrieben werden soll. Dieser Erkrankung liegen Mutationen im Gen *ANK2*, das für Ankyrin-B oder Ankyrin-2 codiert, zugrunde. Das Genprodukt ist ein Protein, welches u. a. in Kardiomyozyten vorkommt und hier z. B. für die Lokalisation von

Ionenaustauschern und Ionenkanälen in der Zellmembran zuständig ist [Mohler et al., 2003].

Ca. 90% der positiven LQTS-Fälle können auf eine von drei Hauptformen (LQT1 - 3) zurückgeführt werden. LQT1 wird wie bereits beschrieben verursacht durch Mutationen in *KCNQ1*, LQT2 entsteht durch Mutationen im Gen *KCNH2*, welches für den Kv11.1 Kaliumkanal kodiert. Bei Patienten, die unter LQT3 leiden, ist das Gen *SCN5A* betroffen, das für den Nav1.5 Natriumkanal kodiert [Ackermann et al., 2011; Zimetbaum und Josephson, 2015].

Für LQT 10 - 13 werden überhaupt nur jeweils ein bis drei Fälle beschrieben und die übrigen Typen werden bei maximal 1% aller erkrankten Individuen gefunden [Alders und Christiaans, 2015].

Todesfälle im Wasser, insbesondere solche, bei denen die eigentliche Todesursache nicht festgestellt werden kann, aber auch Ertrinkungsfälle ohne ersichtliche Ursache können analog zu plötzlichen Todesfällen an Land ebenfalls zu den Kategorien plötzlicher Herztod oder unerklärter Tod gezählt werden. Somit sollte auch bei diesen Fällen mit einer ähnlich hohen Rate an primären Arrhythmiesyndromen zu rechnen sein. Da LQTS zum einen die häufigsten hereditären Arrhythmiesyndrome mit einer Prävalenz von 1:2.000 Personen zählt [Spoonamore und Ware, 2016], das LQT1 wiederum das häufigste LQTS ist und zudem die Besonderheit des Triggerfaktors Schwimmen besteht, war es wahrscheinlich, in dem in dieser Studie untersuchten Kollektiv Patienten mit Mutationen zu finden.

4.6 Zusammenhang zwischen LQT1 und Ertrinken

Eine Erklärung für den Zusammenhang zwischen Schwimmen und dem LQT1 liefert die Besonderheit des Mediums. Die körperliche Betätigung im Wasser ist schon aufgrund der veränderten Lage des Körpers und des Druckes, den das Wasser auf die Hautoberfläche ausübt, nicht mit anderen Ausdauersportarten wie Joggen zu vergleichen, hinzu kann absichtlich angehaltener Atem kommen. Die sogenannte Tauch-Reaktion (auch Tauch-Reflex genannt) wird scheinbar durch Aktivierung der Kälterezeptoren im Gesicht, absichtliches Atemanhalten und Druck des Wassers auf die Extremitäten (was zu einer Zentralisation des Kreislaufes führt) ausgelöst und bewirkt eine Aktivierung des Parasympathikus.

Beim Eintauchen ins Wasser findet in der Regel ein Temperaturwechsel im Sinne einer abrupten Abkühlung statt. Hierdurch wird zusätzlich der Cold-Shock-Response (Kälteschock) ausgelöst [Shattock und Tipton, 2012]. Diese beiden Reaktionen führen gleichzeitig zur Aktivierung des parasympathischen und des sympathischen Nervensystems. Der Parasympathikus löst eine Bradykardie, der Sympathikus eine Tachykardie aus, das Zusammentreffen dieser gegensätzlichen Reaktionen wird als autonomer Konflikt bezeichnet [Choi et al., 2004; Kenny und Martin, 2011; Tester et al., 2005; Tester et al., 2011]. Untersuchungen an Kindern haben gezeigt, dass schon alleine das Eintauchen des Gesichtes in kaltes Wasser eine QT-Verlängerung bewirken kann [Yoshinaga et al., 1999; Ishikawa et al., 1992]. Individuelle Unterschiede wie Wassertemperatur und Bekleidungsschichten können die Intensität der Reaktionen beeinflussen [Shattock und Tipton, 2012]. Dieser Mechanismus war bei den in der Badewanne aufgefundenen Personen somit nicht zu vermuten, weshalb diese Gruppe ursprünglich als Kontrollgruppe vorgesehen war. Infrage kamen hier hingegen solche Fälle, die sich in Schwimmbädern oder freien Gewässern ereignet hatten. In wenigen Ausnahmen lagen hier ausführlichere Beschreibungen des Hergangs in den vorhandenen Aufzeichnungen vor. So beschrieb in einem Fall ein Anwesender, dass der Betroffene in das flache Gewässer (Ruhr) zur Abkühlung gewatet war und plötzlich unterging. Derartige Einzelfälle waren zuvor auch von anderen Autoren, die schließlich positive Ergebnisse erzielen konnten, beschrieben worden [Ackermann und Porter, 1998; Ackermann et al., 1999; Ott et al., 2002].

Wenn aufgrund sympathischer Innervation/Aktivierung die Herzfrequenz ansteigt, wird das QT-Intervall initial verlängert, aber kurz darauf, bei gesunden Personen, gegenüber dem Ausgangswert verkürzt. Diese Verkürzung erfordert eine Aktivierung der I_{Ks} -Kanäle, die durch Mutationen in *KCNQ1* beeinträchtigt sein können [Silva und Rudy, 2005; Crotti et al., 2012; Morita et al., 2008]. Ein spezieller Effekt der Mutationen auf den multimeren Kaliumkanal konnte bisher nicht beschrieben werden. Es ist sowohl denkbar, dass defekte Peptide mit nicht defekten Peptiden zusammengeschlossen werden können als auch, dass dieser Zusammenschluss verhindert wird. Es wäre auch möglich, dass die defekten Untereinheiten nicht regulär innerhalb der Zelle an ihren Bestimmungsort in der

Zellmembran transportiert werden können. So oder so kann ein Funktionsverlust der Kanäle entstehen, der den Ionenfluss über den Kanal um bis zu 50% verringert [Schwartz et al., 2012]. Letzten Endes kommt es statt zu einer Verkürzung zu einer Verlängerung des QT-Intervalls und damit verbunden zu einer erhöhten Gefahr der Entwicklung von Torsade-de-Pointes-Tachykardien, Synkopen und Herzstillständen.

4.7 Aktuelle Studienlage

Ein Zusammenhang zwischen Schwimmen und dem LQTS wird schon länger vermutet [Choi et al. 2004; Lazar et al., 2013]. Basierend auf dieser Annahme wurden Untersuchungen der Kanalgene in einzelnen Fällen durchgeführt, in denen es zu scheinbar unerklärbaren Ertrinkungsunfällen bzw. Beinaheertrinken gekommen war. Bei drei Patienten fanden sich Mutationen in *KCNQ1* [Ackermann und Porter, 1998; Ackermann et al., 1999; Ott et al., 2002]: zunächst bei einer jungen Frau, die nach Beinaheertrinken verstorben war, dann bei einem zehn Jahre alten Jungen, der beim Schwimmen eine TdP-Tachykardie entwickelt hatte und defibrilliert werden musste, und schließlich bei einer 32 Jahre alten Frau, die einen Cardioverter-Defibrillator wegen eines bekannten LQT1 implantiert hatte und beim Schwimmen eine Synkope mit Kammerflimmern erlitt, wodurch der Defibrillator auslöste. Bei dem Jungen stellte sich zudem heraus, dass auch weitere Familienmitglieder von derselben Mutation betroffen waren. Schließlich wurde von mehreren Studiengruppen nachgewiesen, dass Zwischenfälle, die sich beim Schwimmen ereigneten, mit Mutationen im Gen *KCNQ1* vergesellschaftet sind und damit möglicherweise durch diese erklärt werden können [Choi et al., 2004; Moss et al., 1999]. Nach Lazar und Kollegen sind 2/3 aller unerklärten Ertrinkungsfälle auf ein LQT1 zurückzuführen. Dies gilt insbesondere in Fällen, bei denen ausgeprägte klinische Symptome des LQT1 vorliegen (z. B. verlängertes QT-Intervall im EKG, stattgehabte Synkopen) [Lazar et al., 2013].

Neben der in Kapitel 4.7 erwähnten Studie von Lunetta und Kollegen [2003] existieren noch weitere, die den Zusammenhang zwischen LQT1 und Ertrinken an einem größeren Fallkollektiv untersucht haben.

Bei 388 Patienten, bei denen ein Screening auf LQTS-Mutationen durchgeführt wurde, konnte anamnestisch in 43 Fällen ein Beinaheertrinken oder ein Ertrinken

oder Beinaheertrinken bei einem direkten Verwandten (zusätzlich 6 Fälle) ermittelt werden. Bei allen Patienten wurden die Gene für die LQTS Typ 1, 2, 3, 5 und 6 sowie das Gen *KCNJ2* komplett auf Mutationen analysiert sowie zusätzlich 18 mit der Erkrankung CPVT1 assoziierte Exons im Gen *RyR2*. Dabei fanden sich insgesamt 28 Fälle von LQT1, zwei Fälle von LQT2 und neun Fälle von CPVT1 [Choi et al., 2004].

Die Studiengruppe um Albertella untersuchte retrospektiv Daten von zehn Patienten und deren direkten Verwandten, bei denen infolge eines kardialen Ereignisses im Wasser ein Screening auf LQTS durchgeführt wurde. Dies führte bei allen Patienten zur Diagnose eines LQTS und in neun Fällen wurde zudem eine familiäre Mutation in *KCNQ1* festgestellt [Albertella et al., 2010].

Ackermann und Kollegen untersuchten die Fälle von 35 Patienten mit bekanntem LQTS. Dabei stellte sich heraus, dass sich in sechs Fällen entweder bei dem Patienten oder bei einem Familienmitglied ein Ertrinken oder Beinaheertrinken ereignet hatte. Bei diesen wurde dann eine Sequenzierung des gesamten Gens *KCNQ1* durchgeführt und in allen sechs Fällen Mutationen festgestellt (3 Deletionen, 2 donor-splice-site-Mutationen und 1 Missense-Mutation) [Ackermann et al., 1999 B].

Die größten Studien (mehrere hundert Probanden) wurden im Rahmen klinischer Untersuchungen mit symptomatischen Patienten, die von ihren behandelnden Ärzten für eine genetische Untersuchung vorgeschlagen wurden, durchgeführt. Neben klinischen Untersuchungen erfolgte im Vorfeld auch eine detaillierte Anamnese inklusive einer Familienanamnese. Die Untersuchungen beinhalteten zum Teil zusätzlich direkte Verwandte, auch wenn diese klinisch symptomfrei waren [Kapplinger et al., 2009; Schwartz et al., 2009; Ackermann et al., 2007].

Die Inzidenz des hereditären LQTS konnte früher nur geschätzt werden. Erst mit einer 2009 durchgeführten prospektiven Studie stellte sich heraus, dass die angenommenen Zahlen offenbar zu niedrig waren. Die Prävalenz liegt demnach bei 1:2.000 Individuen, wobei stumme Mutationsträger (ohne Symptome) nicht erfasst wurden [Schwartz et al., 2009].

Im Gen *KCNQ1* wurden bisher von unterschiedlichen Autoren insgesamt 268 Mutationen beschrieben. 183 davon gruppieren sich in den Exons 3 und 5 bis 8 (in Exon 3: 50, Exon 5: 19, Exon 6: 51, Exon 7: 30 und Exon 8: 33 Mutationen, Beispiel

siehe Abb. 12). Sie bilden hier sogenannte Cluster (Tabelle 7.4.4 im Anhang). In einer einzigen Studie an 2.500 symptomatischen Patienten wiesen ca. 16% mindestens eine Mutation in *KCNQ1* auf. 258 der Mutationen (55%) fanden sich in den besagten Exons [Kapplinger et al., 2009].

In der bereits erwähnten Studie von Schwartz et al. wurden rund 45.000 scheinbar gesunde Neugeborene einem EKG-Screening unterzogen. Bei 0,48% der Kinder zeigten sich signifikante (>470 ms) QT-Verlängerungen, woraufhin genetische Untersuchung bei 96% der betroffenen Kinder durchgeführt wurden. 43% dieser Kinder wiesen krankheitsassoziierte Mutationen auf [2009].

Im Hinblick auf die beschriebene Häufigkeit des LQTS (1:2.000 Individuen [Schwartz et al., 2009]) und unter Berücksichtigung der Tatsache, dass nicht nur unterschiedliche Gene, sondern auch innerhalb dieser Gene zahlreiche verschiedene Mutationen bis dato beschrieben wurden, ist das negative Ergebnis dieser Studie letztlich nicht vollkommen unerwartet. Es konnten zwar in einzelnen Untersuchungen bei Todesfällen im Wasser Mutationen in *KCNQ1* gefunden werden [Ackermann und Porter, 1998; Ackermann et al., 1999; Ott et al., 2002], so dass ein Mutationsscreening bei im Wasser Verstorbenen sinnvoll war. Allerdings können diese Ergebnisse eventuell auch Zufallsbefunde darstellen, die bisher nicht reproduziert werden konnten.

So führten Lunetta und Kollegen im Rahmen einer finnischen Studie eine gezielte Suche nach zwei sogenannten founder mutations in den Genen *KCNQ1* und *KCNH2* bei 165 im Wasser aufgefundenen Leichen durch. Obwohl diese spezifische Mutation in *KCNQ1* in Finnland bei 30% der klinisch diagnostizierten Patienten mit LQTS gefunden wurde und Finnland außerdem eine besonders hohe Rate an Ertrinkungsfällen aufweist, konnte sie bei keinem der Fälle nachgewiesen werden. Die Forscher fanden nur bei einem Individuum die entsprechende Mutation in *KCNH2* [Lunetta et al., 2003].

Die höchsten Mutationsraten sind bis dato in Studien erhoben worden, in denen Personen mit (klinisch) diagnostiziertem LQTS nach entsprechender Anamnese gezielt auf LQT1 untersucht wurden [Ackermann et al., 1999 B; Choi et al., 2004]. Vor diesem Hintergrund ist das dieser Studie zugrundeliegende Untersuchungskollektiv,

bei dem nicht die Möglichkeit bestand, relevante klinische Daten zu erheben, letztendlich zu klein, so dass das negative Ergebnis dem der Untersuchung von Schwartz et al. entspricht [2009].

Abb. 12



Ausschnitt aus Exon 3 mit eingezeichneten Mutationen

4.8 Molekulare Autopsie als Ergänzung zu klassischen rechtsmedizinischen Methoden

Zur Ermittlung der Todesursache stehen der Rechtsmedizin morphologische Methoden zur Verfügung (Autopsie und histopathologische Untersuchungen). Ergänzend können chemisch-toxikologische Analysen durchgeführt werden. Nicht jede Todesursache kann jedoch hierdurch festgestellt werden. Das liegt zum einen daran, dass manche Störungen nach Eintritt des Todes nicht mehr vorhanden (also nicht mit einem morphologischen Korrelat verbunden) sind. Hierzu zählen z. B. epileptische Anfälle (auslösende Foci können oft nur durch EEG-Untersuchungen festgestellt werden) oder Herzrhythmusstörungen (bei morphologisch gesundem Herzen oder basierend z. B. auf Elektrolytstörungen). Zum anderen können aber auch normale postmortale Veränderungen am Leichnam (Hämolyse, postmortale Elektrolytverschiebung u. a.) und vor allem Fäulnis wichtige Hinweise vernichten, die für eine Diagnose nötig wären.

Eine zusätzliche Möglichkeit zur Feststellung oder Eingrenzung der Todesursache ist die sogenannte molekulare Autopsie. Dafür werden aktuell vor allem ganze Gene oder bestimmte Exons sequenziert oder die Analyse einzelner bekannter Basenaustausche (single nucleotide polymorphism (SNP) oder Mutationen) mit Hilfe von Minisequencing-Assays durchgeführt. Eine neuere Entwicklung stellt das sogenannte MPS (multiple parallel sequencing) dar [Semsarian und Ingles, 2016], das zurzeit noch weitgehend auf größere Zentren beschränkt ist, da diese Methode sehr teuer ist und die erforderlichen Geräte nicht zur Standardausstattung in der

forensischen Genetik gehören. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass eine große Anzahl von Genen (bis hin zum gesamten Genom) gleichzeitig sequenziert werden kann. Die Herausforderung bei MPS liegt jedoch darin, die gefundenen Mutationen oder Varianten letztendlich zu interpretieren [Lahrouchi et al., 2016].

Bereits seit über zehn Jahren werden postmortale molekulargenetische Untersuchungen bei Fällen des plötzlichen Herztodes durchgeführt. Dabei wurden ursprünglich die drei Haupt-LQTS-Gene (*KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*) und *RYR2* durch direkte Sequenzierung untersucht. Der Erfolg lag dabei bei zwischen 0 und 35% positiver Mutationsnachweise [Review bei Semsarian und Ingles, 2016]. In der bereits erwähnten Experten-Konsens-Erklärung der HRS und der EHRA wird empfohlen, Material für eine DNA-Analyse bei jedem plötzlichen, ungeklärten Todesfall oder SIDS-Fall zu asservieren [Ackermann et al., 2011]. Bei negativen Autopsieergebnissen sollte eine DNA-Analyse in Erwägung gezogen werden, bei Hinweisen auf eine klinische Diagnose von LQTS oder CPVT (z. B. spezifische Trigger-Situationen wie Ertrinken) wird die Durchführung der Analyse eindeutig empfohlen. Im Falle eines positiven Mutationsnachweises wird zusätzlich eine mutationsspezifische Untersuchung direkter Verwandter angeraten [Ackermann et al., 2011].

Ein weiteres Beispiel für den sinnvollen Einsatz der molekularen Autopsie ist die Epilepsie, da es sich hierbei um eine potentiell todesursächliche Erkrankung handelt, die postmortal meist nicht zu diagnostizieren ist. Die molekulargenetische Analyse von Ionenkanalgenen kann hier hilfreich sein, da kardial bedingte Synkopen mit epileptischen Anfällen verwechselt werden können [Goldmann et al., 2016]. Ein Zusammenhang zwischen Epilepsie (mit pathologischem EEG) und LQTS besteht darin, dass beide Erkrankungen auf nicht richtig funktionierender Erregbarkeit von Zellen (Neuronen oder Myozyten) basieren [Anderson et al., 2013; Goldmann et al., 2016; Zamorano-Leon et al., 2012; Tiron et al. 2015, Becker et al. 2010]. Die meisten bis dato identifizierten epilepsieassoziierten Gene kodieren für Ionenkanäle, deren Untereinheiten oder mit ihnen assoziierten Proteinen [Becker et al., 2010].

Eine molekulare Autopsie wird bei Ertrinkungsfällen unklarer Ursache von mehreren Autoren empfohlen [Ackermann et al., 2011; Tester et al., 2011]. Allerdings zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass in Ertrinkungsfällen die Analyse des

einzelnen Genes *KCNQ1* nicht ausreicht, um eindeutige Hinweise auf die Todesursache zu bekommen. Neben Genen und Polymorphismen die mit Herzrhythmusstörungen assoziiert werden müssen auch solche, die für strukturelle Herzerkrankungen, insbesondere Kardiomyopathien, verantwortlich sind, untersucht werden.

Offenbar ist nicht alleine *KCNQ1* mit Todesfällen beim Schwimmen oder im Wasser assoziiert. So konnten Choi et al. und Tester et al. in den von ihnen auf Mutationen in fünf mit LQTS assoziierten Ionenkanalgenen und *RyR1* untersuchten Fällen unerklärten Ertrinkens (388 und zwei Fälle respektive) Mutationen in *RyR2* nachweisen. Beide gehen nach den Untersuchungen davon aus, dass auch dieses Gen für eine Reihe von unerklärten Ertrinkungs- und Beinaheertrinkungsfällen verantwortlich sein kann [Choi et al., 2004; Tester et al., 2005]. Mutationen in *RyR2* lösen die catecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie (CPVT) aus [Laitinen et al., 2001; Sumitomo, 2016]. Ein Zusammenhang zwischen Ertrinken und CPVT1 kann darin liegen, dass Betroffene ebenso wie LQTS-Patienten auf spezifische Trigger (Emotionen, Anstrengung) mit vermehrter Katecholaminausschüttung reagieren [Choi et al., 2004; Tester et al., 2005]. In einer Studie an 35 Ertrunkenen wurden die häufigsten LQTS-Gene und das Gen, das für CPVT1 codiert (*RyR2*), untersucht. Bei den 28 Personen, die während des Schwimmens ertranken, wurden acht Mutationen festgestellt, davon sechs in *RyR2*. In den sieben Fällen, die in der Badewanne ertranken, wurden keine Mutationen in den untersuchten Genen gefunden [Tester et al., 2011].

Eine Erweiterung der Asservierung von Probematerial, um die Durchführung weiterführender Untersuchungen zu ermöglichen, sollte darüber hinaus standardmäßig erfolgen. Die Experten-Konsens-Erklärung der Heart Rhythm Society (HRS) und der European Heart Rhythm Association (EHRA) beinhaltet diesbezüglich die Empfehlung, dass auch gefrorenes Gewebe (Leber, Herz, Milz) verwendet werden kann [Ackermann et al., 2011].

Das Ziel genetischer Untersuchungen ist es letztlich, Veränderungen der DNA nachzuweisen und im gegebenen Kontext (Todesumstände, Trigger-Situationen) zu interpretieren. Hierdurch können vor allem Angehörige, aber auch andere Personen geschützt werden, indem sie auf die entsprechenden Veränderungen untersucht und

über Vorsichtsmaßnahmen und Verhaltensregeln informiert werden [Semsarian und Ingles, 2016].

5 Zusammenfassung

Bei im Wasser gefundenen Leichen ist eine zweifelsfreie Diagnose der Todesursache oft nur schwer oder gar nicht möglich. Selbst wenn ein Ertrinken sicher festgestellt werden kann, bleibt der Grund dafür häufig ungeklärt.

Todesfälle im Wasser, inklusive sicherer Ertrinkungsfälle ohne eine ersichtliche Ursache, können ebenso wie plötzliche Todesfälle an Land den Kategorien „plötzlicher Herztod“ oder „plötzlicher unerklärter Tod“ zugeordnet werden. Daher kann davon ausgegangen werden, dass auch die Raten an primären Arrhythmiesyndromen (inklusive dem Long-QT-Syndrom(LQTS)) im Wasser und an Land ähnlich hoch sind.

Ziel der vorliegenden Studie war es, bei im Wasser gefundenen Leichen Mutationen oder Polymorphismen im Ionenkanalgen *KCNQ1* zu finden, die mit dem Long-QT-Syndrom Typ 1 assoziiert werden. So sollte zum einen die molekulare Autopsie mit gezielter Suche nach diesen Veränderungen als weiteres diagnostisches Mittel bei Todesfällen im Wasser etabliert werden und zum anderen den nachweisbaren Mutationen eine mögliche Pathogenität zugeordnet werden.

Es wurden Trockenblutproben von 198 im Wasser verstorbenen Personen auf Mutationen in fünf Exons von *KCNQ1*, in denen Mutationscluster beschrieben wurden, mittels Sequenzierungs-Polymerase-Kettenreaktion untersucht. Zur Bestätigung der Sektionsdiagnose „Ertrinken“ wurde, wenn möglich eine histologische Untersuchung des Lungengewebes durchgeführt.

Obwohl LQTS zu den häufigsten hereditären Arrhythmiesyndromen zählt, das LQT1 wiederum das häufigste LQTS ist und Schwimmen zudem ein Triggerfaktor für das LQT1 ist, konnte keine Mutation im untersuchten Kollektiv in den analysierten Exons gefunden werden.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass in Ertrinkungsfällen die Analyse des einzelnen Genes *KCNQ1* nicht ausreicht, um eindeutige Hinweise auf die Todesursache zu bekommen. Das LQT1 weist eine inkomplette Penetranz auf und ist nicht auf eine oder wenige spezielle Mutationen zurückzuführen. Offenbar spielen mehrere genetische Faktoren und Umwelteinflüssen eine Rolle.

6 Literatur

1	Abbott, G.W. (2014) Review Article Biology of the KCNQ1 Potassium Channel. <i>New Journal of Science</i> Volume 2014, Article ID 237431, 26 pages
2	Ackerman, M.J., Schroeder, J.J., Berry, R., Schaid, D.J., Porter, C.J., Michels, V.V., Thibodeau, S. N. (1998) A novel mutation in KVLQT1 is the molecular basis of inherited long QT syndrome in a near-drowning patient's family. <i>Pediatr Res.</i> <u>44</u> , 148-53.
3	Ackerman MJ, Porter CJ. (1998) Identification of a family with inherited long QT syndrome after a pediatric near-drowning. <i>Pediatrics.</i> <u>101</u> , 306-8.
4	Ackerman, M.J., Tester, D.J., Porter, C.J., Edwards, W.D. (1999): Molecular Diagnosis of the Inherited Long-QT Syndrome in a Woman Who Died after Near-Drowning <i>N. Engl. J. Med.</i> <u>341</u> , 1121-5.
5	Ackerman, M.J., Tester, D.J., Porter, C.J. (1999) Swimming a gene specific arrhythmogenic trigger for inherited long QT syndrome <i>Mayo Clin. Proc.</i> <u>74</u> , 1088-94.
6	Ackerman, M.J., Kaufman, E.S., Hofman, N., Seth, R., Kamakura, S., Miyamoto, Y., Goldenberg, I., Andrews, M.L., McNitt, S. (2007) Clinical aspects of type-1 long-QT syndrome by location, coding type, and biophysical function of mutations involving the KCNQ1 gene. <i>Circulation.</i> <u>115</u> , 2481-9.
7	Ackermann, M.J., Priori, S.G., Willems, S., Berul, C., Brugada, R., Calkins, H., Camm, A.J., Ellinor, P.T., Gollob, M., Hamilton, R., Hershberger, R.E., Judge, D.P., Le Marec, H., McKenna, W.J., Schulze-Bahr, E., Semarian, C., Towbin, J.A., Watkins, H., Wilde, A., Wolpert, C., Zipes, D.P. (2011) HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). <i>Heart Rhythm.</i> <u>8</u> , 1308-39.
8 ^(T)	AHA2001 meeting abs. American heart association annual meeting 2001
9	Ahlm, K., Saveman, B.I., Björnstig, U. (2013) Drowning deaths in Sweden with emphasis on the presence of alcohol and drugs - a retrospective study, 1992-2009. <i>BMC Public Health</i> <u>13</u> , 216.
10 ^(T)	Aizawa, Y., Ueda, K., Wu, L.M., Inagaki, N., Hayashi, T., Takahashi, M., Ohta, M., Kawano, S., Hirano, Y., Yasunami, M., Aizawa, Y., Kimura, A., Hiraoka, M. (2004) Truncated KCNQ1 mutant, A178fs/105, forms hetero-multimer channel with wild-type causing a dominant-negative suppression due to trafficking defect. <i>FEBS Lett.</i> <u>574</u> , 145-50.
11	Albertella, L., Crawford, J., Skinner, J.R. (2010) Presentatin and outcome of water-related events in children with long QT syndrome. <i>Arch. Dis. Child</i> <u>96</u> , 704-7.
12	Alders, M., Christiaans, I. (2015) Long QT Syndrome GeneReviews® Initial Posting: February 20, 2003; Last Update: June 18, 2015. [Internet]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1129/
13	Anderson, J.H., Bos, J.M., Cascino, G.D., Ackerman, M.J. (2014) Prevalence and spectrum of electroencephalogram-identified epileptiform activity among patients with long QT syndrome. <i>Heart Rhythm.</i> <u>11</u> , 53-7.
14 ^(T)	Arnestad, M., Crotti, L., Rognum, T.O., Insolia, R., Pedrazzini, M., Ferrandi, C., Vege, A., Wang, D.W., Rhodes, T.E., George, A.L. Jr., Schwartz, P.J. (2007)

	Prevalence of long-QT syndrome gene variants in sudden infant death syndrome. <i>Circulation</i> . <u>115</u> , 361-7.
15	Barsheshet, A., Goldenberg, I., O-Uchi, J., Moss, A.J., Jons, C., Shimizu, W., Wilde, A.A., McNitt, S., Peterson, D.R., Zareba, W., Robinson, J.L., Ackerman, M.J., Cypress, M., Gray, D.A., Hofman, N., Kanters, J.K., Kaufman, E.S., Platonov, P.G., Qi, M., Towbin, J.A., Vincent, G.M., Lopes, C.M. (2012) Mutations in cytoplasmic loops of the KCNQ1 channel and the risk of life-threatening events: implications for mutation-specific response to β -blocker therapy in type 1 long-QT syndrome. <i>Circulation</i> <u>125</u> , 1988-96
16	Becker, F., Weber Y.G., Lerche, H. (2010) Genetik fokaler Epilepsien. <i>Epileptologie</i> . <u>27</u> , 10-18.
17	Beckmann, B-M., Pfeuffer, A., Käab, S. (2011) Erbliche Herzrhythmusstörungen: Diagnostik, Therapie und Prävention. <i>Dtsch. Ärztebl. Int.</i> <u>108</u> , 623-34.
18	van Beek, E., Branche, C. (2014): Definition of Drowning: A Progress Report. <i>In: Bierens, J.J.L.M. (Ed.): Drowning Prevention, Rescue, Treatment. 2. Ed. S. 85-90. Heidelberg, New York, Dordrecht (usw.): Springer-Verlag.</i>
19 ^(T)	Beery, T.A., Dymont, M., Shooner, K., Knilans, T.K., Benson, D.W. (2003) A candidate locus approach identifies a long QT syndrome gene mutation. <i>Biol Res Nurs</i> . <u>5</u> , 97-104.
20	Bernett, P., Haas, W. (1984) Ertrinken, Badetod und andere Zwischenfälle beim Schwimmsport. <i>Fortschr Med</i> <u>102</u> , 752-754.
21 ^(T)	Berthet, M., Denjoy, I., Donger, C., Demay, L., Hammoude, H., Klug, D., Schulze-Bahr, E., Richard, P., Funke, H., Schwartz, K., Coumel, P., Hainque, B., Guicheney, P. (1999) C-terminal HERG mutations: the role of hypokalemia and a KCNQ1-associated mutation in cardiac event occurrence. <i>Circulation</i> . <u>99</u> , 1464-70.
22	Bezzina C.R., Lahrouchi N., Priori S.G. (2015) Genetics of sudden cardiac death. <i>Circ. Res.</i> <u>116</u> , 1919-36.
23	Bhuiyan, Z.A., Al-Shahrani, S., Al-Aama, J., Wilde, A.A., Momenah, T.S. (2013) Congenital Long QT Syndrome: An Update and Present Perspective in Saudi Arabia. <i>Front Pediatr</i> . <u>20</u> , 39.
24	Bierens, J.J.L.M. (2014): Drowning Prevention Rescue Treatment. 2. Ed. Heidelberg, New York, Dordrecht, London Springer-Verlag.
25	Bohnert, M., Ropohl, D., Pollak, S. (2002) Forensic medicine significance of the fluid content of the sphenoid sinuses. <i>Arch Kriminol</i> <u>209</u> , 158-64.
26	Brinkmann, B. (2003) Tod im Wasser. <i>In: Brinkmann, B., Madea, B., (Eds.) Handbuch gerichtliche Medizin, Bd. I. Berlin, Heidelberg, New York: 797-818.</i>
27	Cantwell, G.P. (2014): Drowning. <i>Medscape Reference</i>
28	Cerrone M, Priori SG. Genetics of sudden death: focus on inherited channelopathies. <i>Eur Heart J</i> <u>32</u> , 2109-18.
29	Chang, C.Y., Lu, T.H., Cheng, T.J. (2014) Trends in reporting injury as a cause of death among people with epilepsy in the U.S., 1981-2010. <i>Seizure</i> <u>23</u> , 836-43.
30 ^(T)	Chen, S., Zhang, L., Bryant, R.M., Vincent, G.M., Flippin, M., Lee, J.C., Brown, E., Zimmerman, F., Rozich, R., Szafranski, P., Oberti, C., Sterba, R., Marangi, D., Tchou, P.J., Chung, M.K., Wang, Q. (2003) KCNQ1 mutations in patients with a family history of lethal cardiac arrhythmias and sudden death. <i>Clin</i>

	Genet. <u>63</u> , 273-82.
31	Choi, G., Kopplin, L.J., Tester, D.J., Will, M.L., Haglund, C.M., Ackermann, M.J. (2004) Spectrum and frequency of cardiac channel defects in swimming-triggered arrhythmia syndromes. <i>Circulation</i> <u>110</u> , 2119-24
32 ^(T)	Chouabe, C., Neyroud, N., Guicheney, P., Lazdunski, M., Romey, G., Barhanin, J. (1997) Properties of KvLQT1 K ⁺ channel mutations in Romano-Ward and Jervell and Lange-Nielsen inherited cardiac arrhythmias. <i>EMBO J.</i> <u>16</u> , 5472-479.
33 ^(T)	Chouabe, C., Neyroud, N., Richard, P., Denjoy, I., Hainque, B., Romey, G., Drici, M.D., Guicheney, P., Barhanin, J. (2000) Novel mutations in KvLQT1 that affect I _{ks} activation through interactions with I _{ks} . <i>Cardiovasc Res.</i> <u>45</u> , 971-80.
34	Claesson, A., Druid, H., Lindqvist, J., Herlitz, J. (2013) Cardiac disease and probable intent after drowning. <i>Am. J. Emerg. Med.</i> <u>31</u> , 1073-77.
35	Crotti, L., Spazzolini, C., Porretta, A.P., Dagradi, F., Taravelli, E., Petracci, B., Vicentini, A., Pedrazzini, M., La Rovere, M.T., Vanoli, E., Goosen, A., Heradien, M., Brink, P.A., George, A.L., Schwartz, P.J. (2012) Vagal reflexes following exercise stress test: a simple clinical tool for gene-specific risk stratification in the long QT syndrome. <i>J. Am. Coll. Cardiol.</i> <u>60</u> , 2515-24.
36 ^(T)	de Jager, T., Corbett, C. H., Badenhorst, J.C., Brink, P. A., Corfield, V.A. (1996) Evidence of a long QT founder gene with varying phenotypic expression in South African families. <i>J Med Genet.</i> <u>33</u> , 567-73.
37 ^(T)	Denjoy, I., Lupoglazoff, J.M., Donger, C., Berthet, M., Richard, P., Neyroud, N., Villain, E., Lucet, V., Coumel, P., Guicheney, P. (1999) Congenital long QT syndrome. The value of genetics in prognostic evaluation. <i>Arch Mal Coeur Vaiss.</i> <u>92</u> , 557-63.
38 ^(T)	Deschênes, D., Acharfi, S., Pouliot, V., Hegele, R., Krahn, A., Daleau, P., Chahine, M. (2003) Biophysical characteristics of a new mutation on the KCNQ1 potassium channel (L251P) causing long QT syndrome. <i>Can J Physiol Pharmacol.</i> <u>81</u> , 129-34.
39 ^(T)	Donger, C., Denjoy, I., Berthet, M., Neyroud, N., Cruaud, C., Bennaceur, M., Chivoret, G., Schwartz, K., Coumel, P., Guicheney, P. (1997) KVLQT1 C-terminal missense mutation causes a forme fruste long-QT syndrome. <i>Circulation.</i> <u>96</u> , 2778-81.
40	Eckardt, L., Borggreffe, M., Breithardt, G. (2005): Herzhirhythmusstörungen. In: Greten, H. (Ed.): Innere Medizin Verstehen - Lernen - Anwenden. S.: 55-60. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
41	Eckardt, L., Borggreffe, M., Breithardt, G. (2005): Herzhirhythmusstörungen. In: Greten, H. (Ed.): Innere Medizin Verstehen - Lernen - Anwenden. S.: 91-2. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
42	Ellinger, K., Osswald, P.M., Genzwürker H. (2007): Kursbuch Notfallmedizin orientiert am bundeseinheitlichen Curriculum Zusatzbezeichnung Notfallmedizin. Köln, Deutscher Ärzte-Verlag.
43	Falk, J.L., Escowitz H.E. (2002): Submersion injuries in children and adults. <i>Semin. Respir. Crit. Care Med.</i> <u>23</u> , 47-55.
44	Farrugia, A., Keyser, C., Ludes, B. (2012) Detection of genetic variation in KCNQ1 gene by high-resolution melting analysis in a prospective-based series of postmortem negative sudden death: comparison of results obtained in fresh

	frozen and formalin-fixed paraffin-embedded tissues. <i>Int. J. Legal Med.</i> <u>126</u> , 649-57.
45 ^(T)	Franqueza, L., Lin, M., Shen, J., Splawski, I., Keating, M.T., Sanguinetti, M.C. (1999) Long QT syndrome-associated mutations in the S4-S5 linker of KvLQT1 potassium channels modify gating and interaction with minK subunits. <i>J Biol Chem.</i> <u>274</u> , 21063-70.
46	Giudicessi, J.R., Ackerman, M.J. (2013) Genotype- and phenotype-guided management of congenital long QT syndrome. <i>Curr Probl Cardiol.</i> <u>38</u> , 417-55
47	Goldman, A.M., Behr, E.R., Semsarian, C., Bagnall, R.D., Sisodiya, S., Cooper, P.N. (2016) Sudden unexpected death in epilepsy genetics: Molecular diagnostics and prevention. <i>Epilepsia.</i> <u>57</u> , 17-25.
48 ^(T)	Gouas, L., Bellocq, C., Berthet, M., Potet, F., Demolombe, S., Forhan, A., Lescasse, R., Simon, F., Balkau, B., Denjoy, I., Hainque, B., Baró, I., Guicheney, P.; D.E.S.I.R. Study Group (2004) New KCNQ1 mutations leading to haploinsufficiency in a general population; Defective trafficking of a KvLQT1 mutant. <i>Cardiovasc Res.</i> <u>63</u> , 60-8.
49	Gries, A. (2001) Notfallmanagement bei Beinahe-Ertrinken und akzidenteller Hypothermie. <i>Anaesthesist</i> <u>50</u> , 887-901
50	Haffner, H.T., Graw, M., Erdelkamp, J. (1994) Spleen findings in drowning. <i>Forensic Sci Int.</i> <u>66</u> , 95-104.
51	Hansen, J., Lesnikova, I., Funder, A.M., Banner, J. (2014) DNA and RNA analysis of blood and muscle from bodies with variable postmortem intervals. <i>Forensic Sci Med Pathol.</i> <u>10</u> , 322-8.
52	Hottmar, P. (1996) Detection of fluid in paranasal sinuses as a possible diagnostic sign of death by drowning. <i>Arch Kriminol.</i> <u>198</u> , 89-94.
53	Writing Group: Idris, A.H., Berg, R.A., Bierens, J., Bossaert, L., Branche, C.M., Gabrielli, A., Graves, S.A., Handley, A.J., Hoelle, R., Morley, P.T., Papa, L., Pepe, P.E., Quan, L., Szpilman, D., Wigginton, J.G., Modell, J.H., Other Contributors, Atkins, D., Gay, M., Kloeck W., Timerman, S. (2003): Recommended Guidelines for Uniform Reporting of Data From Drowning. <i>Circulation.</i> <u>108</u> , 2565-74.
54	Idris, A.H., Berg, R.A., Bierens, J. et al. (2003) Recommended guidelines for uniform reporting of data from drowning: the "Utstein style." <i>Circulation</i> <u>108</u> , 2565-74.
55	Idris, A. Bierens, J., Wigginton, J., Pepe, P., Gabrielli, A., Handley, A., Modell, J. (2014): Recommended Guidelines for Uniform Reporting of Data from Drowning: The Utstein Style. <i>In: Bierens, J.J.L.M. (Ed.): Drowning Prevention, Rescue, Treatment.</i> 2. Ed. S. 757-66. Heidelberg, New York, Dodrecht (usw.): Springer-Verlag.
56	Ishikawa, H., Matsushima, M., Nagashima, M., Osuga, A. (1992) Screening of children with arrhythmias for arrhythmia development during diving and swimming: face immersion as a substitute for diving and exercise stress testing as a substitute for swimming. <i>Jpn. Circ. J.</i> <u>56</u> , 881-90.
57 ^(T)	Itoh, T., Tanaka, T., Nagai, R., Kikuchi, K., Ogawa, S., Okada, S., Yamagata, S., Yano, K., Yazaki, Y., Nakamura, Y. (1998) Genomic organization and mutational analysis of KVLQT1, a gene responsible for familial long QT syndrome. <i>Hum Genet.</i> <u>103</u> , 290-4.
58	Itoh, T., Tanaka, T., Nagai, R., Kamiya, T., Sawayama, T., Nakayama, T.,

	Tomoike, H., Sakurada, H., Yazaki, Y., Nakamura, Y. (1998) Genomic organization and mutational analysis of HERG, a gene responsible for familial long QT syndrome. <i>Hum Genet.</i> <u>102</u> , 435-9.
59 ^(T)	Jongbloed, R.J., Wilde, A. A., Geelen, J.L., Doevendans, P., Schaap, C., Van Langen, I., van Tintelen, J.P., Cobben, J.M., Beaufort-Krol, B.C., Geraedts, J.P., Smeets, H.J. (1999) Novel KCNQ1 and HERG missense mutations in Dutch long-QT families. <i>Hum Mutat.</i> <u>13</u> , 301-10.
60 ^(T)	Jongbloed, R., Marcelis, C., Velter, C., Doevendans, P., Geraedts, J., Smeets, H. (2002) DHPLC analysis of potassium ion channel genes in congenital long QT syndrome. <i>Hum Mutat.</i> <u>20</u> , 382-91.
61 ^(T)	Kanovsky, J., Novotny, T., Kadlecova, J., Gaillyova, R. (2010) A new homozygous mutation of the KCNQ1 gene associated with both Romano-Ward and incomplete Jervell Lange-Nielsen syndromes in two sisters. <i>Heart Rhythm.</i> <u>7</u> , 531-3.
62 ^(T)	Kanters, J.K., Fanoë, S., Larsen, L.A., Bloch, Thomsen, P.E., Toft, E., Christiansen, M. (2004) T wave morphology analysis distinguishes between KvLQT1 and HERG mutations in long QT syndrome. <i>Heart Rhythm.</i> <u>1</u> , 285-92.
63	Kapplinger, J.D., Tester, D.J., Salibury B.A., Carr, J.L., Harris-Kerr, C., Pollevick, G.D., Wilde A.A.M., Ackermann, M.J. (2009) Spectrum and prevalence of mutations from the first 2,500 consecutive unrelated patients referred for the FAMILLION® long QT syndrome genetic test. <i>Heart Rhythm.</i> <u>6</u> , 1297-1303.
64	Keil W. (2007): Tod im Wasser. <i>In: Madea B. (Ed.): Praxis Rechtsmedizin.</i> S. 169-174. Heidelberg, Springer Medizin Verlag.
65	Keil, W. (2014) Asphyxiation. <i>In: Madea, B. (Ed.): Handbook of Forensic Medicine.</i> S. 367-410. West Sussex, Wiley Blackwell.
66	Kenny, D., Martin, R. (2011) Drowning and sudden cardiac death. <i>Arch. Dis. Child</i> <u>96</u> , 5-8.
67 ^(T)	Ko, Y.L., Tai, D.Y., Chen, S.A., Lee-Chen, G.J., Chu, C.H., Lin, M.W. (2001) Linkage and mutation analysis in two Taiwanese families with long QT syndrome. <i>J Formos Med Assoc.</i> <u>100</u> , 767-71.
68 ^(T)	Kobori, A., Sarai, N., Shimizu, W., Nakamura, Y., Murakami, Y., Makiyama, T., Ohno, S., Takenaka, K., Ninomiya, T., Fujiwara, Y., Matsuoka, S., Takano, M., Noma, A., Kita, T., Horie, M.J. (2004) Additional gene variants reduce effectiveness of beta-blockers in the LQT1 form of long QT syndrome. <i>J Cardiovasc Electrophysiol.</i> <u>15</u> , 190-9.
69 ^(T)	Kubota, T., Shimizu, W., Kamakura, S., Horie, M. (2000) Hypokalemia-induced long QT syndrome with an underlying novel missense mutation in S4-S5 linker of KCNQ1. <i>J Cardiovasc Electrophysiol.</i> <u>11</u> , 1048-54.
70	Kurichian, V.P., Sumner, G.L., Mitchell, L.B. (2015) Sudden Cardiac Death. <i>Cur. Probl. Cardiol.</i> <u>40</u> , 133-200.
71	Lahrouchi, N., Behr, E.R., Bezzina, C.R. Next-Generation Sequencing in Post-mortem Genetic Testing of Young Sudden Cardiac Death Cases. <i>Front Cardiovasc Med.</i> <u>3</u> , 13.
72	Laitinen, P.J., Brown, K.M., Piippo, K., Swan, H., Devaney, J.M., Brahmabhatt, B., Donarum, E.A., Marino, M., Tiso, N., Viitasalo, M., Toivonen, L., Stephan, D.A., Kontula, K. (2001) Mutations of the cardiac ryanodine receptor (RyR2)

	gene in familial polymorphic ventricular tachycardia. <i>Circulation</i> . <u>103</u> , 485-90.
73 ^(T)	Larsen, L.A., Christiansen, M., Vuust, J., Andersen, P.S. (1999) High-throughput single-strand conformation polymorphism analysis by automated capillary electrophoresis: robust multiplex analysis and pattern-based identification of allelic variants. <i>Hum Mutat</i> . <u>13</u> , 318-27.
74	Lazar, J.M., Khanna, N., Chesler, R., Saliccioli L. (2013) Swimming and the heart. <i>Int. J., Cardiol.</i> , <u>168</u> , 19-26
75 ^(T)	Li, H., Chen, Q., Moss, A.J., Robinson, J., Goytia, V., Perry, J.C., Vincent, G.M., Priori, S.G., Lehmann, M.H., Denfiels, S.W., Duff, D., Kaine, S., Shimizu, W., Schwartz, P.J., Wang, Q., Towbin, J.A. (1998) New mutations in the KVLQT1 potassium channel that cause long-QT syndrome. <i>Circulation</i> . <u>97</u> , 1264-9.
76	Li, Y., Du, W., Zhao, R., Hu, J., Li, H., Han, R., Yue, Q., Wu, R., Li, W., Zhao, J. (2017) New insights into epigenetic modifications in heart failure. <i>Front Biosci (Landmark Ed)</i> <u>22</u> , 230-47.
77 ^(T)	Liang, L., Du, Z.D., Cai, L.L., Wu, J.X., Zheng, T., Qi, T.X. (2003) A novel KCNQ1 mutation in Chinese with congenital long QT syndrome. <i>Zhonghua Er Ke Za Zhi</i> . <u>41</u> , 724-7.
78 ^(T)	Liu, W., Yang, J., Hu, D., Kang, C., Li, C., Zhang, S., Li, P., Chen, Z., Qin, X., Ying, K., Li Y., Li Y., Li, Z., Cheng, X., Li, L., Qi, Y., Chen, S., Wang, Q. (2002) KCNQ1 and KCNH2 mutations associated with long QT syndrome in a Chinese population. <i>Hum Mutat</i> . <u>20</u> , 475-6.
79	Lunetta, P., Penttila, A., Sajantila, A. (2002) Circumstances and macropathologic findings in 1590 consecutive cases of bodies found in water. <i>Am. J. Forensic Med. Pathol.</i> <u>23</u> , 371-6
80	Lunetta, P., Levo, A., Laitinen, P. J., Fodstad, H., Kontul, K., Sajantila, A. (2003) Molecular screening of selected long QT syndrome (LQTS) mutations in 165 consecutive bodies found in water. <i>Int. J. Legal Med.</i> <u>117</u> , 115-7.
81	Lunetta, P., Modell, J.H. (2005): Macroscopical, microscopical and laboratory findings in drowning victims. <i>In: Tsokos, M. (Ed.) A comprehensive review. Forensic pathological reviews, Vol. 3, Totowa NJ: Humana Press inc.</i>
82	Lunetta, P. (2014) Drowning. <i>In: Madea, B. (Ed.): Handbook of Forensic Medicine. S. 411-26. West Sussex, Wiley Blackwell.</i>
83 ^(T)	Lupoglazoff, J.M., Denjoy, I., Villain, E., Fressart, V., Simon, F., Bozio, A., Berthet, M., Benammar, N., Hainque, B., Guicheney, P. (2004) Long QT syndrome in neonates: conduction disorders associated with HERG mutations and sinus bradycardia with KCNQ1 mutations. <i>J Am Coll Cardiol</i> . <u>43</u> , 826-30.
84	Marjamaa A ¹ , Salomaa V, Newton-Cheh C, Porthan K, Reunanen A, Karanko H, Jula A, Lahermo P, Väänänen H, Toivonen L, Swan H, Viitasalo M, Nieminen MS, Peltonen L, Oikarinen L, Palotie A, Kontula K. (2009) High prevalence of four long QT syndrome founder mutations in the Finnish population. <i>Ann Med</i> . <u>41</u> , 234-40.
85 ^(T)	Márquez, M.F., Ramos-Kuri, M., Hernández-Pacheco, G., Estrada, J., Fabregat, J.R., Pérez-Vielma, N., Gómez-Flores, J., González-Hermosillo, A., Cárdena, M., Vargas-Alarcón, G. (2006) KCNQ 1 (KvLQT1) missense mutation causing congenital long QT syndrome (Jervell-Lange-Nielsen) in a Mexican family. <i>Arch Cardiol Mex</i> . <u>76</u> , 257-62.
86	Martyn, M. (2014): The Global Burden of Drowning. <i>In: Bierens, J.J.L.M. (Ed.): Drowning Prevention, Rescue, Treatment. 2. Ed. S. 91-94. Heidelberg, New</i>

	York, Dodrecht (usw.): Springer.
87	Metje A. (2009) Histopathologie der Ertrinkungslunge beim Menschen Dissertation Universität Münster.
88	Mizusawa, Y., Horie, M., Wilde A.A.M. (2014) Genetic and clinical advances in congenital long QT syndrome. <i>Circ. J.</i> <u>78</u> , 2827–33.
89 ^(T)	Millat, G., Chevalier, P., Restier-Miron, L., Da Costa, A., Bouvagnet, P., Kugener, B., Fayol, L., González Armengod, C., Oddou, B., Chanavat, V., Froidefond, E., Perraudin, R., Rousson, R., Rodriguez-Lafrasse, C. (2006) Spectrum of pathogenic mutations and associated polymorphisms in a cohort of 44 unrelated patients with long QT syndrome. <i>Clin Genet.</i> <u>70</u> , 214–27.
90 ^(T)	Mohammad-Panah, R., Demolombe, S., Neyroud, N., Guicheney, P., Kyndt, F., van den Hoff, M., Baró, I., Escande, D. (1999) Mutations in a dominant-negative isoform correlate with phenotype in inherited cardiac arrhythmias. <i>Am J Hum Genet.</i> <u>64</u> , 1015–23.
91	Mohler, P.J., Schott, J.J., Gramolini, A.O., Dilly, K.W., Guatimosim, S., duBell, W.H., Song, L.S., Haurogné, K., Kyndt, F., Ali, M.E., Rogers, T.B., Lederer, W.J., Escande, D., Le Marec, H., Bennett, V. (2003) Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death. <i>Nature.</i> <u>421</u> , 634–9.
92	Morita, H., Wu, J., Zipes, D.P. (2008) The QT syndromes: long and short. <i>Lancet</i> <u>372</u> , 750–63.
93	Moutafi, A., Petridou, E. (2014): The Burden of Drowning: Issues in Selected Countries - Europe. In: Bierens, J.J.L.M. (Ed.): Drowning Prevention, Rescue, Treatment. 2. Ed. S. 101-6. Heidelberg, New York, Dodrecht (usw.): Springer.
94	Moss, A.J., Robinson, J.L., Gessmann, L., Gillespie, R., Zareba, W., Schwartz, P.J., Vincent, G.M., Benhorin, J., Heilbron, E.L., Towbin, J.A., Priori, S.G., Napolitano, C., Zhang, L., Medina, A., Andrews, M.L., Timothy, K. (1999) Comparison of clinical and genetic variables of cardiac events associated with loud noise versus swimming among subjects with the long QT syndrome. <i>Am. J. Cardiol.</i> <u>84</u> , 876–9.
95	Mott, T.F., Latimer, K.M. (2016): Prevention and Treatment of Drowning. <i>Am. Fam. Physician.</i> <u>93</u> , 576–82.
96	Mueller B. (1975): Ertrinken und Veränderungen an Wasserleichen. In: Gerichtliche Medizin. Berlin/ Heidelberg/New York, 1975: 469–93.
97 ^(T)	Mullally, J., Goldenberg, I., Moss, A.J., Lopes, C.M., Ackerman, M.J., Zareba, W., McNitt, S., Robinson, J.L., Benhorin, J., Kaufman, E.S., Towbin, J.A., Barsheshet, A. (2013) Risk of life threatening cardiac events among patients with long QT syndrome and multiple mutations. <i>Heart Rhythm.</i> <u>10</u> , 378–82.
98 ^(T)	Napolitano, C., Schwartz, P.J., Brown, A.M., Ronchetti, E., Bianchi, L., Pinnavaia, A., Acquaro, G., Priori, S.G. (2000) Evidence for a cardiac ion channel mutation underlying drug-induced QT prolongation and life-threatening arrhythmias. <i>J Cardiovasc Electrophysiol.</i> <u>11</u> , 691–6.
99	Napolitano, C., Priori, S.G., Schwartz, P.J., Bloise, R., Ronchetti, E., Nastoli, J., Botelli, G., Cerrone, M., Leonardo, S. (2005) Genetic Testing in the long QT syndrome: development and validation of an efficient approach to genotyping in clinical practice. <i>JAMA</i> <u>294</u> , 2975–80.
100 ^(T)	Neyroud, N., Tesson, F., Denjoy, I., Leibovici, M., Donger, C., Barhanin, J., Fauré, S., Gary, F., Coumel, P., Petit, C., Schwartz, K., Guicheney, P. (1997) A

	novel mutation in the potassium channel gene KVLQT1 causes the Jervell and Lange-Nielsen cardioauditory syndrome. <i>Nat Genet.</i> <u>15</u> , 186-9.
101 (^T)	Neyroud, N., Richard, P., Vignier, N., Donger, C., Denjoy, I., Demay, L., Shkolnikova, M., Pesce, R., Chevalier, P., Hainique, B., Coumel, P., Schwartz, K., Guicheney, P. (1999) Genomic organization of the KCNQ1 K ⁺ channel gene and identification of C-terminal mutations in the long-QT syndrome. <i>Circ. Res.</i> <u>84</u> , 290-7.
102	Ott, P., Marcus, F.I., Moss, A.J. (2002) Ventricular fibrillation during swimming in a patient with long-QT syndrome. <i>Circulation</i> <u>106</u> , 521-2.
103 (^T)	Paulussen, A., Matthijs, G., Gewillig, M., Verhasselt, P., Cohen, N., Aerssens, J. (2003) Mutation analysis in congenital Long QT Syndrome--a case with missense mutations in KCNQ1 and SCN5A. <i>Genet Test.</i> <u>7</u> , 57-61.
104	Piippo, K., Swan, H., Pasternack, M., Chapman, H., Paavonen, K., Viitasalo, M., Toivonen, L., Kontula, K. (2001) A founder mutation of the potassium channel KCNQ1 in long QT syndrome: implications for estimation of disease prevalence and molecular diagnostics. <i>J Am Coll Cardiol.</i> <u>37</u> , 562-8.
105 (^T)	Priori, S.G., Schwartz, P.J., Napolitano, C., Bianchi, L., Dennis, A., De Fusco, M., Brown, A.M., Casari, G. (1998) A recessive variant of the Romano-Ward long-QT syndrome? <i>Circulation.</i> <u>97</u> , 2420-5.
106 (^T)	Priori, S.G., Napolitano, C., Schwartz, P.J. (1999) Low penetrance in the long-QT syndrome: clinical impact. <i>Circulation.</i> <u>99</u> , 529-33.
107	Rácz, E., Könczöl, F., Mészáros, H., Kozma, Z., Mayer, M., Porpáczy, Z., Poór, V. S., Sipos, K. (2015) Drowning-related fatalities during a 5-year period (2008-2012) in South-West Hungary - A retrospective study. <i>J. Forensic Leg. Med.</i> <u>31</u> , 7-11.
108	Reh H. (1970) Diagnostik des Ertrinkungstodes und Bestimmung der Wasserzeit. Mikael Triltsch Verlag, Düsseldorf.
109 (^T)	Russell, M.W., Dick, M., Collins, F.S., Brody, L.C. (1996) KVLQT1 mutations in three families with familial or sporadic long QT syndrome. <i>Hum Mol Genet.</i> <u>5</u> , 1319-24.
110 (^T)	Saarinen, K., Swan, H., Kainulainen, K., Toivonen, L., Viitasalo, M., Kontula, K. (1998) Molecular genetics of the long QT syndrome: two novel mutations of the KVLQT1 gene and phenotypic expression of the mutant gene in a large kindred. <i>Hum Mutat.</i> <u>11</u> , 158-165.
111	Satoh, F., Osawa, M., Hasegawa, I., Seto, Y., Tsuboi, A. (2013) "Dead in hot bathtub" phenomenon: accidental drowning or natural disease? <i>Am. J. Forensic. Med. Pathol.</i> <u>34</u> , 164-8.
112	Schuster, H.P., Trappe, H.J. (2001): EKG-Kurs für Isabel. 3. erw. Auflage S. 86-9.
113	Schwartz, P.J., Priori, S.G., Spazzolini, C., Moss, A.J., Vincent, G.M., Napolitano, C., et al. (2001) Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias. <i>Circulation</i> <u>103</u> , 89-95.
114	Schwartz, P.J. (2006) The congenital long QT syndromes from genotype to phenotype: clinical implications. <i>J Intern Med.</i> <u>259</u> , 39-47.
115	Schwartz, P.J., Stramba-Badiale, M., Crotti, L., Pedrazzini, M., Besana, A., Bosi, G., Gabbarini, F., Goulene, K., Insolia, R., Mannarino, S., Mosca, F., Nespoli, L., Rimini, A., Rosati, E., Salice, P., Spazzolini, C. (2009) Prevalence of the

	congenital long-QT syndrome. <i>Circulation</i> . <u>120</u> ,1761-67.
116	Schwartz, P.J., Crotti, L., Insolia, R. (2012) Long-QT syndrome: from genetics to management. <i>Circ. Arrhythm. Electrophysiol.</i> <u>5</u> , 868-77.
117	Seeböhm, F.A. (2003): Untersuchung der spannungsabhängigen Kaliumkanäle KCNQ1 und I _{Ks} unter dem Einfluss des Chromanols 293B und die Bedeutung des I _{Ks} bei Arrhythmien. Dissertation Johann Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt am Main.
118	Seel. D. (2011) Torsade de Pointes: Prävalenz von Risikofaktoren. Dissertation Medizinische Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin.
119	Semsarian C., Ingles J. (2016) Molecular autopsy in victims of inherited arrhythmias. <i>J. Arrhythm.</i> <u>32</u> , 359-5.
120	Shalaby, F.Y., Levesque, P.C., Yang, W.P., Little, W.A., Conder, M.L., Jenkins-West, T., Blannar, M.A. (1997) Dominant-negative KvLQT1 mutations underlie the LQT1 form of long QT syndrome. <i>Circulation</i> . <u>96</u> , 1733-6.
121	Shattock, M.J., Tipton, M.J. (2012) Autonomic conflict: a different way to die during cold water immersion? <i>J Physiol</i> . <u>590</u> , 3219-30.
122	Silva, J., Rudy, Y. (2005) Subunit interaction determines I _{ks} participation in cardiac repolarization and repolarization reserve. <i>Circulation</i> <u>112</u> , 1384-91.
123	SoRelle R (2000) Genetic Drowning Trigger. <i>Circulation</i> <u>101</u> , E36.
124	Splawski, I., Timothy, K.W., Vincent, G.M., Atkinson, D.L., Keating, M.T. (1997) Molecular basis of the long-QT syndrome associated with deafness. <i>N Engl J Med</i> . <u>336</u> , 1562-7.
125	Splawski, I., Shen, J., Timothy, K.W., Vincent, G.M., Lehmann, M.H., Keating, M.T. (1998) Genomic structure of three long QT syndrome genes: KVLQT1, HERG and KCNE1. <i>Genomics</i> . <u>51</u> , 86-97.
126	Splawski, I., Shen, J., Timothy, K.W., Lehmann, M.H., Priori, S., Robinson, J.L., Moss, A.J., Schwartz, P.J., Towbin, J.A., Vincent, G.M., Keating, M.T. (2000) Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes. KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2. <i>Circulation</i> . <u>102</u> , 1178-85.
127	Struijk, J.J., Kanters, J.K., Andersen, M.P., Hardahl, T., Graff, C., Christiansen, M., Toft, E. (2006) Classification of the long-QT syndrome based on discriminant analysis of T-wave morphology. <i>Med Biol Eng Comput</i> . <u>44</u> , 543-9.
128	Strunden, M.S., Tank S., Kerner T. (2015) Update Ertrinkungsunfall – Präklinische und klinische Therapiestrategien. <i>Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther</i> . <u>50</u> , 462-469.
129	Sumitomo, N. (2016) Current topics in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. <i>J. Arrhythm.</i> <u>32</u> , 344-51.
130	Tanaka, T., Nagai, R., Tomoike, H., Takana, S., Yano, K., Yabuta, K., Haneda, N., Nakano, O., Shibata, A., Sawayama, T., Kasai, H., Yazaki, Y., Nakamura, Y. (1997) Four novel KVLQT1 and four novel HERG mutations in familial long-QT syndrome. <i>Circulation</i> . <u>95</u> , 565-567.
131	Tester D.J., Kopplin, L.J., Creighton, W., Burke, A.P., Ackerman, M.J. (2005) Pathogenesis of unexplained drowning: new insights from a molecular autopsy. <i>Mayo Clin. Proc</i> . <u>80</u> , 596-600.
132	Tester, D.J., Will, M.L., Haglund, C.M., Ackerman, M.J. (2005) Compendium of cardiac channel mutations in 541 consecutive unrelated patients referred for long QT syndrome genetic testing. <i>Heart Rhythm</i> . <u>2</u> , 507-17.

133	Tester, D.J., Medeiros-Domingo, A., Will, M.L., Ackermann, M.J. (2011) Unexplained drownings and the cardiac channelopathies: A molecular autopsy series. <i>Mayo Clin. Proc.</i> <u>86</u> , 941-7.
134	Tipton, D., Golden, F. (2014): The Physiology of Cooling in Water. <i>In</i> : Bierens, J.J.L.M. (Ed.): <i>Drowning Prevention, Rescue, Treatment</i> . 2. Ed. S. 843-48. Heidelberg, New York, Dodrecht (usw.): Springer-Verlag.
135	Tiron. C., Campuzano, O., Pérez-Serra, A., Mademont, I., Coll, M., Allegue, C., Iglesias, A., Partemi, S., Striano, P., Oliva, A., Brugada, R. (2015) Further evidence of the association between LQT syndrome and epilepsy in a family with KCNQ1 pathogenic variant. <i>Seizure</i> . <u>25</u> , 65-7.
136	Todt, M., Ast, F., Wolff-Maras, R.M., Roesler, B., Germerott, T. (2014) Suicide by drowning, A forensic challenge. <i>Forensic Sci. int.</i> <u>240</u> , e22-e24
137 (T)	Tranebjaerg, L., Bathen, J., Tyson, J., Bitner-Glindzicz, M. (1999) Jervell and Lange-Nielsen syndrome: a Norwegian perspective. <i>Am J Med Genet.</i> <u>89</u> , 137-46.
138 (T)	Tyson, J., Tranebjaerg, L., Bellman, S., Wren, C., Taylor, J.F., Bathen, J., Sørland, S.J., Lund, O., Malcolm, S., Pembrey, M., Bhattacharya, S., Bitner-Glindzicz, M. (1997) IKs and KvLQT1: mutation in either of the two subunits of the slow component of the delayed rectifier potassium channel can cause Jervell and Lange-Nielsen syndrome. <i>Hum Mol Genet.</i> <u>6</u> , 2179-85.
139 (T)	van den Berg, M.H., Wilde, A.A., Robles de Medina, E.O., Meyer, H., Geelen, J.L, Jongbloed, R.J., Wellens, H.J., Geraedts, J.P. (1997) The long QT syndrome: a novel missense mutation in the S6 region of the KVLQT1 gene. <i>Hum Genet.</i> <u>100</u> , 356-61.
140 (T)	Van Langen, I.M., Birnie, E., Alders, M., Jongbloed, R.J., Le Marec, H., Wilde, A.A. (2003) The use of genotype-phenotype correlations in mutation analysis for the long QT syndrome. <i>J Med Genet.</i> <u>40</u> , 141-5.
141	Vennemann, B., Brinkmann, B. (2003): Der Tod im Wasser. <i>Rechtsmed.</i> <u>13</u> , 201-15.
142	Viskin S. (1999) Long QT syndromes and torsades de pointes. <i>Lancet</i> <u>354</u> , 1625-1633.
143 (T)	Wang, Q., Curran, M.E., Splawski, I., Burn, T.C., Millholland, J.M., VanRaay, T.J., Shen, J., Timothy, K.W., Vincent, G.M., de Jager, T., Schwartz, P.J., Toubin, J.A., Moss, A.J., Atkinson, D.L., Landes, G.M., Connors, T.D., Keating, M.T. (1996) Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias. <i>Nat Genet.</i> <u>12</u> , 17-23.
144	Warner, D., Knape, J. (2014): Introduction (to Part VIII: Brain Resuscitation in the Drowning Victim). <i>In</i> : Bierens, J.J.L.M. (Ed.): <i>Drowning Prevention, Rescue, Treatment</i> . 2. Ed. S. 775-6. Heidelberg, New York, Dodrecht (usw.): Springer-Verlag.
145 (T)	Wei, J., Fish, F.A., Myerburg, R.J., Roden, D.M., George, A.L. Jr (2000) Novel KCNQ1 mutations associated with recessive and dominant congenital long QT syndromes: evidence for variable hearing phenotype associated with R518X. <i>Hum Mutat.</i> <u>15</u> , 387-8.
146	Weinstein, M.D., Krieger, B.P. (1996): Near-drowning: epidemiology, pathophysiology and initial treatment. <i>J. Emerg. Med.</i> <u>14</u> , 461-7.
147	WHO (2014) Drowning Fact sheet N°347 Update Nov. 2014 http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs347/en/

148 ([†])	Wollnik, B., Schroeder, B.C., Kubisch, C., Esperer, H.D., Wieacker, P., Jentsch, T.J. (1997) Pathophysiological mechanisms of dominant and recessive KVLQT1 K ⁺ channel mutations found in inherited cardiac arrhythmias. <i>Hum Mol Genet.</i> <u>6</u> , 1943–9.
149 ([†])	Yamaguchi M, Shimizu M, Ino H, Terai H, Hayashi K, Mabuchi H, Hoshi N, Higashida H (2003) Clinical and electrophysiological characterization of a novel mutation (F193L) in the KCNQ1 gene associated with long QT syndrome. <i>Clin Sci (Lond).</i> <u>104</u> , 377–82.
150	Yoshinaga M., Kamimura J., Fukushige T., et al. (1999) Face immersion in cold water induces prolongation of the QT interval and T-wave changes in children with nonfamilial long QT syndrome. <i>Am. J. Cardiol.</i> <u>83</u> , 1494–7.
151	Zamorano-León, J.J., Yañez, R., Jaime, G., Rodriguez-Sierra, P., Calatrava-Ledrado, L., Alvarez-Granada, R.R., Mateos-Cáceres, P.J., Macaya, C., López-Farré, A.J. (2012) KCNH2 gene mutation: a potential link between epilepsy and long QT-2 syndrome. <i>J Neurogenet.</i> <u>26</u> , 382–6.
152 ([†])	Zehelein J, Thomas D, Khalil M, Wimmer AB, Koenen M, Licka M, Wu K, Kiehn J, Brockmeier K, Kreye VA, Karle CA, Katus HA, Ulmer HE, Schoels W (2004) Identification and characterisation of a novel KCNQ1 mutation in a family with Romano-Ward syndrome. <i>Biochim Biophys Acta.</i> <u>1690</u> , 185–92.
153	Zimetbaum, P.J., Josephson, M.E. (2015) Genetics of congenital and acquired long QT syndrome. http://www.uptodate.com/contents/genetics-of-congenital-and-acquired-long-qt-syndrome
154	Zwermann, L.A. (2005) Kardiale „Delayed Rectifier“ Kaliumkanäle: Bedeutung in humanem Myokard, Speziesunterschiede, transmurale Verteilung und Regulation bei Herzinsuffizienz. Dissertation Ludwig-Maximilians-Universität zu München.

([†]): Literatur die ausschließlich zur Erstellung der Tabelle 7.4.4 verwendet wurden

7 Anlagen

7.1 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	
Ad	zu
AP	Aktionspotential
Aqua dest.	Aqua destillata
ARDS	Acute respiratory distress syndrome/ Atemnotsyndrom
AV-Knoten	Atrioventrikularknoten
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CCD-Kamera	Charge-Coupled Device Sensor
CO-Intoxikation	Kohlenmonoxidintoxikation
CPVT	katecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie
d. h..	das heißt
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleic acid
dNTP	Desoxynucleotide
ddNTP	Didesoxyribonucleosidtriphosphat
EAD	early after depolarisation/ frühe Nachdepolarisation
EEG	Elektroencephalogramm
EHRA	European Heart Rhythm Association
EKG	Elektrokardiogramm
etc.	et cetera
Exon	kodierender DNA-Anteil
g	Gramm
ggf.	gegebenenfalls
H ₂ O	Wasser
H ₂ O _{dest}	destilliertes Wasser

HFQ	Herzfrequenz
HRS	Heart Rhythm Society
HRST	Herzrhythmusstörungen
ICD	International classification of disease/Internationale Klassifikation der Krankheiten
<i>KCNE1</i>	potassium voltage-gated channel subfamily E regulatory subunit 1
<i>KCNH2</i>	potassium voltage-gated channel subfamily H member 2
<i>KCNQ1</i>	potassium voltage-gated channel subfamily Q member 1
KHK	koronare Herzkrankheit
I_{Kr}	schnell (rapid) aktivierender delayed rectifier Kaliumauswärtsstrom
I_{Ks}	langsam (slow) aktivierender delayed rectifier Kaliumauswärtsstrom
kV	Kilovolt
LQT1	Long-QT-Syndrom Typ 1
LQTS	Long-QT-Syndrom
M	Mol
mA	Milliampere
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
μl	Mikroliter
mM	Millimol
μmol	Mikromol
μm	Mikrometer
MPS	multiple parallel sequencing
ms	Millisekunde
NaOH	Natronlauge
PaCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck im arteriellen Blut
PaO ₂	Sauerstoffpartialdruck im arteriellen Blut

PCR	polymerase chain reaction
QRS-Komplex	Kammerkomplex/Gruppe von Ausschlägen im EKG
SCD	Sudden cardiac death /plötzlicher Herztod
sec	Sekunde
SIDS	sudden infant death syndrome/plötzlicher Kindstod
SNP	single nucleotide polymorphism
SUD	sudden unexplained death/plötzlicher unerklärbarer Todesfall
TdP	Torsade de Pointes
u. a.	unter anderem
U/min	Umdrehungen pro Minute
U/μl	Unit pro Mikroliter
usw.	und so weiter
V	Volt
V. a.	Verdacht auf
W	Watt
WHO	World Health Organisation/Weltgesundheitsorganisation
z. B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung	Titel
Abb. 1	Torsade de Pointes
Abb. 2	Agarosegel
Abb. 3	Lungenemphysem
Abb. 4	Paltaufleck
Abb. 5	Pleuraemphysem
Abb. 6	Abgebrochene Sequenz
Abb. 7	Exon 3, Primer 3.1
Abb. 7.1	Exon 3, Primer 3.2

Abbildung	Titel
Abb. 8	Exon 5, Primer 5.1
Abb. 8.1	Exon 5, Primer 5.2
Abb. 9	Exon 6
Abb. 10	Exon 7
Abb. 11	Exon 8
Abb. 12	Ausschnitt aus Exon 3 mit eingezeichneter Mutation

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle	Titel
Tab. 1	Sequenzen und Annealingtemperaturen der verwendeten Primer
Tab. 2	Allgemeiner PCR-Ansatz
Tab. 3	PCR-Programm
Tab. 4	PCR-Programm
Tab. 5	Geschlecht, Alter, Todesursache und Auffindeort (Zusammenfassung der Tabelle 7.4.1)
Tab. 6	Vorkommen von makroskopischen Ertrinkungsbefunden (Zusammenfassung der Tabelle 7.4.2)
Tab. 7	Andere Todesursachen
Tab. 8	Todesursachen und Überlebenszeit nach Beinaheertrinken
Tab. 9	Histologische Ertrinkungsbefunde
Tab. 10	Annealingtemperaturen und MgCl ₂ -Konzentrationen
Tab. 11	Anzahl der vollständig sequenzierten Exons

7.4 Ergebnistabellen

7.4.1 *Daten der untersuchten Fälle (Alter, Geschlecht, Fundort, Todesursache)*

S-Nummer	Todesursache	Fundort	Alter in Jahren	Geschlecht
S001	E	Jauchegrube	74	w
S002	E	G	60	m
S003	A	B	63	m
S004	A	B	72	m
S005	E	B	44	w
S006	E	P	4,11	m
S007	E	G	77	m
S008	E	B	84	w
S009	E	G	37	m
S010	U	G	25	m
S011	U	B	58	m
S012	S	P	13	m
S013	E	B	26	m
S014	E	G	28	m
S015	S	P	15	m
S016	E	B	87	w
S017	E	G	37	m
S018	E	Sickergrube	65	m
S019	E	G	27	m
S020	S	G	23	w
S021	U	B	36	m
S022	E	B	39	m
S023	E	G	56	m
S025	U	B	1,1	m
S026	U	B	55	w
S027	E	G	50	w
S028	E	G	54	m
S029	E	G	70	w
S030	E	B	91	w
S031	E	G	2	m
S032	E	B	85	w
S033	E	B	68	m
S034	U	B	78	w
S035	A	B	71	m
S036	E	B	91	w
S037	E	G	66	w
S038	E	B	0,5	m
S039	E	G	51	m
S040	S	B	16	w
S041	E	G	41	m

S-Nummer	Todesursache	Fundort	Alter in Jahren	Geschlecht
S042	E	G	72	w
S043	U	G	46	m
S044	U	B	34	w
S045	E	G	29	w
S046	U	B	54	w
S047	S	B	36	m
S048	E	B	47	m
S049	E	G	72	w
S050	E	G	75	w
S051	E	G	71	w
S053	U	B	71	w
S054	A	B	37	w
S055	E	G	19	m
S056	E	B	16	w
S057	S	P	7	m
S058	U	B	47	w
S059	S	P	40	w
S060	U	B	70	w
S061	E	B	58	w
S062	A	B	44	m
S063	E	G	40	w
S064	E	G	82	w
S065	E	B	51	m
S066	S	P	5	m
S067	E	P	66	w
S068	S	G	31	m
S069	E	G	76	m
S070	S	?	32	w
S071	E	G	56	w
S072	A	B	70	m
S073	E	B	78	w
S074	E	B	36	w
S075	A	B	44	w
S076	U	B	39	w
S077	E	G	42	w
S079	U	B	?	m
S080	E	G	75	m
S081	E	G	82	m
S082	S	P	28	m
S083	S	B	1,5	m
S090	E	G	37	m
S091	E	Klärwerk	20	m
S092	A	B	55	m
S093	A	B	49	m

S-Nummer	Todesursache	Fundort	Alter in Jahren	Geschlecht
S094	A	B	75	w
S095	U	B	61	m
S096	E	G	28	m
S097	U	B	33	m
S098	U	G	44	m
S100	E	G	44	m
S101	U	G	?	m
S102	?	?	34	w
S103	U	B	61	m
S104	U	G	90	m
S105	U	B	50	m
S106	U	B	21	m
S107	U	G	80	w
S108	E	G	76	w
S109	E	B	50	w
S110	U	B	41	w
S111	U	G	50	m
S112	U	B	45	w
S113	E	B	54	w
S114	U	B	80	w
S115	U	B	61	m
S116	U	B	65	m
S117	U	G	46	m
S118	A	B	56	m
S119	E	G	46	w
S120	U	B	87	m
S121	U	G	56	m
S122	U	B	96	w
S123	U	G	?	m
S124	E	G	63	m
S125	U	G	76	m
S127	E	G	75	w
S128	U	B	72	w
S129	E	G	30	m
S130	U	G	78	m
S131	U	G	32	w
S132	U	B	67	m
S133	E	G	77	m
S134	U	B	52	m
S135	U	G	68	m
S136	U	G	65	m
S137	U	B	61	m
S138	E	B	43	m
S139	U	B	?	w

S-Nummer	Todesursache	Fundort	Alter in Jahren	Geschlecht
S140	E	G	70	m
S141	E	G	26	m
S142	A	B	44	w
S143	U	B	29	w
S144	A	B	64	m
S145	E	G	51	w
S146	S	G	5	m
S147	E	G	81	m
S148	A	B	77	w
S149	E	G	34	m
S150	E	G	75	w
S151	E	G	?	m
S152	E	G	50	m
S153	A	B	68	w
S154	E	B	26	m
S155	E	G	45	m
S156	A	B	87	w
S157	E	G	25	m
S158	A	B	40	w
S159	E	P	83	w
S160	U	B	78	m
S161	U	B	90	w
S162	U	B	54	w
S163	E	B	71	w
S164	A	B	77	w
S165	A	B	48	m
S166	U	G	81	m
S167	U	G	?	w
S168	E	G	?	m
S169	U	G	55	m
S170	U	G	?	w
S171	U	G	72	m
S172	U	G	70	m
S173	U	B	62	m
S174	S	G	17	m
S175	E	B	57	m
S176	E	G	68	m
S177	U	G	81	m
S178	E	B	66	w
S179	E	B	52	w
S180	A	G	47	w
S181	E	G	56	m
S182	E	G	75	w
S183	E	G	83	m

S-Nummer	Todesursache	Fundort	Alter in Jahren	Geschlecht
S184	E	G	43	m
S185	A	B	29	m
S186	U	B	23	m
S187	E	B	73	w
S188	E	G	78	m
S189	U	G	53	m
S190	E	G	35	m
S191	U	B	84	w
S192	E	G	87	w
S196	S	Meer	65	m
S197	E	G	77	w
S198	U	B	76	m
S199	E	B	70	w
S201	E	G	77	m
S202	E	G	19	m
S203	E	G	74	w
S204	E	G	77	m
S205	E	G	74	m
S206	E	G	61	m
S207	E	B	70	w
S208	E	B	87	w
S209	S	P	36	w
S210	U	G	30	m

E: Ertrinken, S: Spättode, A: andere Todesursachen, U: ungeklärte Todesursache, G: Gewässer, B: Badewanne, P: Schwimmbad

7.4.2 Makroskopische Ertrinkungsbefunde

Ertrunkene

Fall-Nr.	1	2	5	6	7	8	9	13	14	16	17	18	19	22	23	27	28	29	30	31	32	33	34	36	37	38	
Fundort (B, G, P, A)	A	G	B	P	G	B	G	B	G	B	G	A	G	B	G	G	G	G	B	G	B	B	B	B	B	G	B
Fäulnis																											
Schaumpilz	X	X	X	X			X			X		X	X	X	X	X				X			X		X		
Paltauf- Flecken	X	X	X	X	X	X	X	X	X				X	X			X	X	X	X	X		X	X	X	X	X
Emphysema aquosum	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Flüssigkeit in KBH	X	X						X	X																		
kleine, blasse Milz	X	X									X											X	X				
Drei- schichtung Magen- inhalt	X	X	X		X					X	X		X				X	X				X		X			

B: Badewanne, G: Gewässer, P: Schwimmbad, A: andere; KBH: Keilbeinhöhlen

Fall-Nr.	39	41	42	45	48	49	50	51	55	56	61	63	64	65	67	69	71	73	74	77	80	81	90	
Fundort (B, G, P, A)	G	G	G	G	B	G	G	G	G	B	B	B	G	B	P	G	G	B	B	G	G	G	G	
Fäulnis																X							X	
Schaumpilz		X		X					X	X	X		X				X	X	X	X				
Paltauf- Flecken	X	X	X	X	X		X	X	X	X		X	X	X	X	X	X		X	X		X		
Emphysema aquosum	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Flüssigkeit in KBH													X		X							X		
kleine, blasse Milz							X													X				
Drei- schichtung Magen- inhalt	X		X			X	X				X	X	X	X	X	X					X			

B: Badewanne, G: Gewässer, P: Schwimmbad, A: andere; KBH: Keilbeinhöhlen

Fall-Nr.	91	96	100	102	108	113	119	124	127	129	133	147	149	150	151	152	154	155	157	159	163	168
Fundort (B, G, P, A)	A	G	G	?	G	B	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	B	G	G	P	B	G
Fäulnis	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X		X					X				
Schaumpilz				X							X				X		X				X	
Paltauf- Flecken				X				X	X	X	X	X		X	X		X		X	X	X	
Emphysema aquosum	X	X		X	X		X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Flüssigkeit in KBH	X																					
kleine, blasse Milz		X						X														X
Drei- schichtung Mageninhalt	X				X	X	X	X				X	X	X	X	X			X			

B: Badewanne, G: Gewässer, P: Schwimmbad, A: andere; KBH: Keilbeinhöhlen

Fall-Nr.	172	175	176	178	179	181	182	183	184	187	188	190	192	197	199	201	202	203	204	205	206	207	208
Fundort (B, G, P, A)	G	B	G	B	B	G	G	G	G	B	G	G	G	G	B	G	G	G	G	G	G	B	B
Fäulnis	X																						
Schaumpilz							X									X		X	X	X		X	X
Paltauf-Flecken	X		X	X	X	X	X		X	X		X	X	X	X	X		X	X			X	X
Emphysema aquosum	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Flüssigkeit in KBH	X								X		X	X	X		X		X		X				
kleine, blasse Milz	X				X										X								
Dreischichtung Mageninhalt			X	X			X	X	X		X				X		X		X		X	X	X

B: Badewanne, G: Gewässer, P: Schwimmbad, A: andere; KBH: Keilbeinhöhlen

Andere Todesursachen

Fall-Nr.	3	4	35	54	62	72	75	92	93	94	118	142	144	148	158	164	165	185
Fundort (B, G, P, A)	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
Fäulnis								X		X	X						X	
Schaumpilz																		
Paltauf-Flecken																		
Emphysema aquosum																		
Flüssigkeit in KBH																		
kleine, blasse Milz																		
Dreischichtung Mageninhalt																		

B: Badewanne, G: Gewässer, P: Schwimmbad, A: andere; KBH: Keilbeinhöhlen

Ungeklärte Todesursache

Fall-Nr.	10	11	21	25	26	43	44	46	53	58	60	76	79	95	97	98	101	103	104	105	106	107
Fundort (B, G, P, A)	G	B	B	B	B	G	B	B	B	B	B	B	B	B	B	G	G	B	G	B	B	G
Fäulnis	X					X				X				X	X	X	X	X	X	X	X	X
Schaumpilz																						
Paltauf-Flecken						X																
Emphysema aquosum						X				X												
Flüssigkeit in KBH																						
kleine, blasse Milz																						
Dreischichtung Mageninhalt																						X

B: Badewanne, G: Gewässer, P: Schwimmbad, A: andere; KBH: Keilbeinhöhlen

Fall-Nr.	109	110	111	112	114	115	116	117	120	121	122	123	125	128	130	131	132	134	135	136	137	139
Fundort (B, G, P, A)	B	B	G	B	B	B	B	G	B	G	B	G	G	B	G	G	B	B	G	G	B	B
Fäulnis	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Schaumpilz																						
Paltauf- Flecken									X													
Emphysema aquosum													X									
Flüssigkeit in KBH																						
kleine, blasse Milz																						
Drei- schichtung Mageninhalt													X									

B: Badewanne, G: Gewässer, P: Schwimmbad, A: andere; KBH: Keilbeinhöhlen

Fall-Nr.	143	153	156	160	161	162	166	167	169	171	173	177	180	186	189	191	198	210
Fundort (B, G, P, A)	B	B	B	B	B	B	G	G	G	G	B	G	X	B	G	B	B	G
Fäulnis	X		X				X	X	X	X			X					X
Schaumpilz																		
Paltauf-Flecken																		
Emphysema aquosum																		
Flüssigkeit in KBH																		
kleine, blasse Milz																		
Dreischichtung Mageninhalt							X			X								

B: Badewanne, G: Gewässer, P: Schwimmbad, A: andere; KBH: Keilbeinhöhlen

7.4.3 Histologische Ertrinkungsbefunde

Fall-Nr.	S83	S76	S75	S72	S70	S67	S64	S62	S60	S54	S52	S50	S49	S48	S61	S168	S74	S45	S81	S44
septales Ödem	X					X		X					X	x					X	
Zerreiungshhlen			X								X		X		X	X	X			
alveoläres Ödem		X	X	X					X		X								X	X
hämorrhagisches Ödem	X	X						X												
alveoläre Hämorrhagien				X	X			X	X	X							X			
Detritus in den Alveolen		X													X					
Hyperämie der Pleura				X					x											
Pleurahmorrhagien																	X			
Pleuraemphysem		X								x				x						
septale Infiltration (Lymph/Gran)																				

7.4.4 Alle Mutationen in den untersuchten Exons von KCNQ1

Nucleotide Change	Coding Effect	Exon	Study	No. of Patients in	
				[Kapplinger et al. 2009]	[Barsheshet et al. 2012]
G478A	E160K	3	[Splawski et al., 2000, Barsheshet et al., 2012]		12
A479T	E160V	3	[Kapplinger et al. 2009]	1	
G484A	V162M	3	[Kapplinger et al. 2009]	1	
488delT	V162fs+73X	3	[Kapplinger et al. 2009, Choi et al., 2004]	1	
del500-502	F167W/ delG168	3	[Wang et al. 1996]		
G502A	G168R	3	[Splawski et al., 2000, Kapplinger et al. 2009, Donger et al. 1997, Jongbloed et al., 2002, Beery et al., 2003, van Langen et al. 2003, Márquez et al., 2006, Splawski et al., 1998, Mullally et al., 2013]	15	
G502C	G168R	3	[Kapplinger et al. 2009, Barsheshet et al., 2012]	4	67
504delG	168delG	3	[Kapplinger et al. 2009, Wei et al., 2000]	1	
C513G	Y171X	3	[Piippo et al., 2001, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	1	7
G514A	V172M	3	[Kapplinger et al. 2009]	2	
T518A	V173D	3	[Piippo et al., 2001]		
C520T	R174C	3	[Kapplinger et al. 2009, Donger et al. 1997, Mullally et al., 2013]	1	1
G521A	R174H	3	[Splawski et al., 2000, Kapplinger et al. 2009, Denjoy et al., 1999, Lupoglazoff et al., 2004, Barsheshet et al., 2012]	1	2
G521C	R174P	3	[Napolitano et al., 2005]		
524-534dup	L175fsX	3	[Lupoglazoff et al., 2004]		
524_534delTCT GGTCCGCC	R174fs+105X	3	[Kapplinger et al. 2009]	1	
G532A	A178T	3	[Kapplinger et al. 2009, Tanaka et al., 1997, Barsheshet et al., 2012]	1	1
del 532ff	A178sf+105X	3	[Aizawa et al., 2004]		
G532C	A178P	3	[Wang et al. 1996, Shalaby et al., 1997, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]		5
G535A	G179S	3	[Splawski et al., 2000, Kapplinger et al. 2009, Mullally et al., 2013]	2	

Nucleotide Change	Coding Effect	Exon	Study	No. of Patients	
				[Kaplinger et al. 2009]	[Barsheshet et al. 2012]
A551C	Y184S	3	[Splawski et al., 2000, Jongbloed et al., 1999]		
n.p.	G186R	3	[Mullally et al. 2013]		
G565A	G189R	3	[Wang et al. 1996, Jongbloed et al., 1999, Barsheshet et al., 2012]		4
insG567-568	G189fs/94	3	[Splawski et al., 1997]		
G569A	R190Q	3	[Donger et al. 1997, Splawski et al., 1998, Barsheshet et al., 2012]		4
n.p.	R190W	3	[Mullally et al., 2013]		
del572-576	L191fs/90	3	[Tyson et al., 1997, Ackermann et al., 1999, Mullally et al., 2013]		
n.p.	L191fs+90X	3	[Mullally et al., 2013]		
G542A	R192H	3	[Millat et al., 2006]		
T550C	Y184H	3	[Kaplinger et al. 2009]	1	
A551C	Y184S	3	[Splawski et al., 2000, van Langen et al. 2003, Jongbloed et al., 1999, Barsheshet et al., 2012]		18
G556C	G186R	3	[Kaplinger et al. 2009]	1	
562delt	W188	3	[Millat et al., 2006]		
G564A	W188X	3	[Kaplinger et al. 2009]	1	
insG567	G189	3	[Splawski et al., 1997]		
	G189E	3	[Barsheshet et al., 2012]		2
G565A	G189R	3	[Wang et al. 1996, Jongbloed et al., 1999]		
C568T	R190W	3	[Napolitano et al., 2005, Barsheshet et al., 2012]		1
G569T	R190L	3	[Kaplinger et al. 2009, Kanovsky et al., 2010]	1	
G569A	R190Q	3	[Kaplinger et al. 2009, Wang et al. 1996, Donger et al. 1997, Chouabe et al., 2000]	3	
T572C	L191P	3	[Liu et al., 2002]		
572-576del	L191fs281X	3	[Choi et al., 2004, Tyson et al., 1997, Tranebjaerg et al., 1999]		
573-577del	L191fs+90X [2]	3	[Kaplinger et al. 2009, Tyson et al., 1997, Barsheshet et al., 2012]	4	8
G575C	R192P	3	[Napolitano et al., 2005]		
n.p.	F193L	3	[Yamaguchi et al., 2003]		
G580C	A194P	3	[Splawski et al., 2000]		

Nucleotide Change	Coding Effect	Exon	Study	No. of Patients	
				[Kaplinger et al. 2009]	[Barsheshet et al. 2012]
C583T	R195W	3	[Kaplinger et al. 2009]	2	
584del	R195fs+41X	3	[Napolitano et al., 2005]		
585delG	R195fs+40X	3	[Kaplinger et al. 2009, Barsheshet et al., 2012]]	4	2
A592G	I198V	3	[Kaplinger et al. 2009]	1	
T595G	S199A	3	[Kaplinger et al. 2009]	1	
R555C	S225L		Barsheshet et al., 2012		15
C691T	R231C	5	[Kaplinger et al. 2009, Lupoglazoff et al., 2004]	1	
G692A	R231H	5	[Kaplinger et al. 2009, Napolitano et al., 2005]	1	
T704A	I235N	5	[Kaplinger et al. 2009, Choi et al., 2004]	2	
		5	Barsheshet et al., 2012]		1
T716C	L239P	5	[Napolitano et al., 2005]		
T722G	V241G	5	[Kaplinger et al. 2009]	1	
G724A	D242N	5	[Itoh et al., 1998, Barsheshet et al., 2012]	4	3
n.p.	D242Y	5	[Mullally et a., 2013, Barsheshet et al., 2012]		1
n.p.	D242E	5	[AHA2001]		
727delC	D242fs+19X	5	[Kaplinger et al. 2009]	1	
C727T	R243C	5	[Splawski et al., 2000, Kaplinger et al. 2009, Choi et al., 2004, AHA2001, Kobori et al., 2004, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	1	13
G728A	R243H	5	[Saarinen et al., 1998, Mohammad-Panah et al., 1999]		
G728C	R243P	5	[Millat et al., 2006]		
	R243S	5	[Barsheshet et al., 2012]		1
T742C	W248R	5	[Splawski et al., 2000, Franqueza et al., 1999]		
T749A	L250H	5	[Itoh et al., 1998, Itoh et al., 1998 (b)]		
T752C	L251P	5	[Deschênes et al., 2003]		

Nucleotide Change	Coding Effect	Exon	Study	No. of Patients	
				[Kaplinger et al. 2009]	[Barsheshet et al. 2012]
G760A	V254M	5	[Splawski et al., 2000, Kapplinger et al. 2009, Choi et al., 2004, Wang et al. 1996, Donger et al. 1997, Paulussen et al., 2003, Struijk et al., 2006, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	10	62
G760T	V254L		[Napolitano et al., 2005]		
760-768del	254-256delVVF		[Tester et al., 2005]		
C772A	H258N		[Napolitano et al., 2005]		
A773G	H258R		[Napolitano et al., 2005]		
G776A	R259H		[Millat et al., 2006]		
G776T	R259L		[Kapplinger et al. 2009, Choi et al., 2004, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	1	5
776_780dupCC ACC	H258fs+5X		[Kapplinger et al. 2009]	1	
C775T	R259C		[Kapplinger et al. 2009, Jongbloed et al., 2002, van Langen et al. 2003, Kubota et al., 2000, Barsheshet et al., 2012]	5	3
G781A	E261K	6	[Donger et al. 1997]		
G781C	E261Q	6	[Kapplinger et al. 2009]	1	
G781T	E261X	6	[Kapplinger et al. 2009]	1	
G783C	E261D	6	[Tranebjaerg et al., 1999, Kubota et al., 2000]		
C784G	L262V	6	[Kapplinger et al. 2009, Napolitano et al., 2005]	1	
796delC	T265fs+22X	6	[Kapplinger et al. 2009, Napolitano et al., 2005]	3	
T797C	L266P	6	[Splawski et al., 2000, Kapplinger et al. 2009, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	30	24
T803G	I268S	6	[Kapplinger et al. 2009]	1	
G805A	G269S	6	[Kapplinger et al. 2009, Choi et al., 2004, Ackermann et al., 1999, Ackerman et al., 1999 (b), Chen et al., 2003, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	10	41
G806A	G269D	6	[Splawski et al., 2000, Kapplinger et al. 2009, Choi et al., 2004, Donger et al. 1997, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	4	24
G815A	G272D	6	[Kapplinger et al. 2009, Napolitano et al., 2005]	1	

Nucleotide Change	Coding Effect	Exon	Study	No. of Patients	
				[Kaplinger et al. 2009]	[Barsheshet et al. 2012]
C817T	L273F	6	[Splawski et al., 2000, Kapplinger et al. 2009, Wang et al. 1996, Shalaby et al., 1997, Struijk et al., 2006, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	7	10
T818G	L273R	6	[Tester et al., 2005]		
A820G	I274V	6	[Kapplinger et al. 2009, Arnestad et al., 2007, Barsheshet et al., 2012]	1	1
T824C	F275S	6	[Liu et al., 2002]		
826-828delTCC	276delS	6	[Gouas et al., 2004]		
828-830del	S277del	6	[Napolitano et al., 2005]		
T829C	S277P	6	[Kapplinger et al. 2009]	1	
C830G	S277W	6	[Napolitano et al., 2005]		
C830T	S277L	6	[Kapplinger et al. 2009, Liu et al., 2002, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	2	8
T832C	Y278H	6	[Choi et al., 2004, Mullally et al., 2013]		5
T839A	V280E	6	[Kapplinger et al. 2009, Napolitano et al., 2005]	1	
T839C	V280A	6	[Neyroud et al., 1997]		
A842G	Y281C	6	[Kapplinger et al. 2009, Priori et al., 1999, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	1	4
T845C	L282P	6	[Kapplinger et al. 2009]	1	
C848G	A283G	6	[Kapplinger et al. 2009]	2	
	E284K	6	[Barsheshet et al., 2012]		2
C860A	A287E	6	[Piippo et al., 2001]		
862_880delGTG AACGAGTCA GGCCGCG	A287fs+59X	6	[Kapplinger et al. 2009, Mullally et al., 2013]	2	1
G868A	E290K	6	[Tester et al., 2005]		
G873A	G292D	6	[Kapplinger et al. 2009, van Langen et al. 2003, Barsheshet et al., 2012]	1	3

Nucleotide Change	Coding Effect	Exon	Study	No. of Patients	
				[Kaplinger et al. 2009]	[Barsheshet et al. 2012]
G875A	G292D	6	[Kaplinger et al. 2009]		
C877T	R293C	6	[Kaplinger et al. 2009]	4	
G878C	R293C	6	[Choi et al., 2004]		
	F296S	6	[Barsheshet et al., 2012]		2
G898A	A300T	6	[Neyroud et al., 1997]		
G904A	A302T	6	[Piippo et al., 2001]		
C905T	A302V	6	[Kaplinger et al. 2009, Choi et al., 2004, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	1	3
C905A	A302E	6	[Kaplinger et al. 2009]	1	
T908C	L303P	6	[Kaplinger et al. 2009]	1	
T910C	W304R	6	[Tester et al., 2005, Mullally et al., 2013]		
S566F	W305C	6	[Barsheshet et al., 2012]		3
G914C	W305S	6	[Kaplinger et al. 2009, Neyroud et al., 1997, Chouabe et al., 1997, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	1	16
T913C	W305R	6	[Kaplinger et al. 2009]	1	
G914A	W305X	6	[Kaplinger et al. 2009, Chen et al., 2003]	1	
G916A	G306R	6	[Kaplinger et al. 2009, Wang et al. 1996]	1	
G916C	G306R	6	[Kaplinger et al. 2009, Barsheshet et al., 2012]	1	2
G917T	G306V	6	[Liu et al., 2002]		
T923A	V308D	7	[Napolitano et al., 2005]		
C926G	T309R	7	[Donger et al. 1997]		
C926T	T309I	7	[Ko et al., 2001]		
G928A	V310I	7	[Splawski et al., 2000, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]		2
C932T	T311I	7	[Saarinen et al., 1998]		
C935T	T312I	7	[Splawski et al., 2000, Kaplinger et al. 2009, Choi et al., 2004, Wang et al. 1996, Shalaby et al., 1997, Barsheshet et al., 2012]	2	17
C939G	I313M	7	[Tanaka et al., 1997]		

Nucleotide Change	Coding Effect	Exon	Study	No. of Patients	
				[Kapplinger et al. 2009]	[Barsheshet et al. 2012]
G940A	G314S	7	[Kapplinger et al. 2009, Splawski et al., 1998, Donger et al. 1997, Wollnik et al., 1997, Aizawa et al., 2004, Jongbloed et al., 1999, Itoh et al., 1998, Barsheshet et al., 2012]	7	19
G940T	G314C	7	[Kapplinger et al. 2009, Chen et al., 2003]	1	
G940C	G314R	7	[Tester et al., 2005]		
G941A	G314D	7	[Choi et al., 2004, 8 van Langen et al. 2003]		
A944C	Y315S	7	[Donger et al. 1997, 19 Jongbloed et al., 1999, Barsheshet et al., 2012]		1
A944G	Y315C	7	[Kapplinger et al. 2009, Choi et al., 2004, Splawski et al., 1998, Priori et al., 1999, Chen et al., 2003, Napolitano et al., 2000, Barsheshet et al., 2012]	4	10
G946C	G316R	7	[Jongbloed et al., 2002]		
G947A	G316E	7	[Napolitano et al., 2005]		
G947T	G316V	7	[Kapplinger et al. 2009]	1	
G949A	D317N	7	[Saarinen et al., 1998, Chen et al., 2003, Wollnik et al., 1997]		
n.p.	D317G	7	[Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]		5
G954C	K318N	7	[Splawski et al., 1998]		
C958G	P320A	7	[Donger et al. 1997]		
	P320H	7	Barsheshet et al., 2012]		1
C958T	P320S	7	[Kapplinger et al. 2009]	1	
A964G	T322A	7	[Kapplinger et al. 2009, Choi et al., 2004]	2	
C965T	T322M	7	[Kapplinger et al. 2009, Napolitano et al., 2005, Barsheshet et al., 2012]	4	2
G973A	G325R	7	[Splawski et al., 2000, Kapplinger et al. 2009, Donger et al. 1997, Lupoglazoff et al., 2004, Tanaka et al., 1997, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	6	8
del1015-1017	339delF	7	[Ackermann et al., 1998]		
T1016A	F339Y	7	[Kapplinger et al. 2009]	1	
del1017-1019	delF340	7	[Splawski et al., 2000, Kapplinger et al. 2009, Ackermann et al., 1998, Barsheshet et al., 2012]	1	9

Nucleotide Change	Coding Effect	Exon	Study	No. of Patients	
				[Kaplinger et al. 2009]	[Barsheshet et al. 2012]
C1022A	A341E	7	[Splawski et al., 2000, Kaplinger et al. 2009, Wang et al. 1996, Chen et al., 2003, Bethet et al., 1999, Barsheshet et al., 2012]	4	10
C1022T	A341V	7	[Splawski et al., 2000, Kaplinger et al. 2009, Wang et al. 1996, Donger et al. 1997, Jongbloed et al., 2002, Li et al., 1998, Russell et al., 1996, deJager et al., 1996, Kobori et al., 2004, Mullally et al., 2013 Barsheshet et al., 2012]	8	22
C1022G	A341G	7	[Kaplinger et al. 2009]	1	
C1024T	L342F	7	[Kaplinger et al. 2009, Donger et al. 1997]	2	
C1027T	P343S	7	[Choi et al., 2004, Zehelein et al., 2004, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]		1
C1028T	P343L	7	[Kaplinger et al. 2009, Napolitano et al., 2005]	1	
C1028G	P343R	7	[Napolitano et al., 2005]		
	A344A/sp	7	[Barsheshet et al., 2012]		41
C1031T	A344V	7	[Kaplinger et al. 2009, Choi et al., 2004, Donger et al. 1997, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	1	18
C1031A	A344E	7	[Donger et al. 1997]		
G1033C	G345R	8	[van den Berg et al., 1997]		
G1034A	G345E	8	[Wang et al. 1996]		
T1045C	S349P	8	[Napolitano et al., 2005]		
C1046G	S349W	8	[Splawski et al., 2000, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]		15
n.p.	S349X	8	[Kanters et al., 2004, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]		6
C1046A	S349X	8	[Kaplinger et al. 2009]	1	
G1048C	G350R	8	[Napolitano et al., 2005]		
G1048A	G350R	8	[Kaplinger et al. 2009]	1	
T1052C	F351S	8	[Kaplinger et al. 2009, Napolitano et al., 2005]	1	
T1058C	L353P	8	[Splawski et al., 1998, Barsheshet et al., 2012]		4
A1061G	K354R	8	[Kaplinger et al. 2009]	1	
C1066T	Q356X	8	[Splawski et al., 2000, Kaplinger et al. 2009]	1	
1066-1071del	356-357del	8	[Kanters et al., 2004]		

Nucleotide Change	Coding Effect	Exon	Study	No. of Patients	
				[Kapplinger et al. 2009]	[Barsheshet et al. 2012]
1067-1072del	356-357del	8	[Piippo et al., 2001]		
A1070G	Q357R	8	[Chen et al., 2003]		
	Q357H		[Barsheshet et al., 2012]		3
C1075T	Q359X	8	[Kapplinger et al. 2009]	4	
G1079C	R360T	8	[Napolitano et al., 2005]		
G1079T	R360M	8	[Kapplinger et al. 2009]	2	
A1085G	K362R	8	[Kapplinger et al. 2009, Tester et al., 2005]	5	
	H363N		[Barsheshet et al., 2012]		17
A1093C	N365H	8	[2 Kapplinger et al. 2009]	1	
C1096T	R366W	8	[Kapplinger et al. 2009, Choi et al., 2004, Splawski et al., 1998, Larsen et al., 1999, Mullally et al., 2013, Barsheshet et al., 2012]	8	15
G1097A	R366Q	8	[Splawski et al., 2000, Kapplinger et al. 2009]	1	
G1097C	R366P	8	[Tanaka et al., 1997]		
G1111A	A371T	8	[Donger et al. 1997]		
C1115A	A372D	8	[Napolitano et al., 2005]		
T1117C	S373P	8	[Jongbloed et al., 1999, Barsheshet et al., 2012]		8
T 1121 A	L374H	8	[Kapplinger et al. 2009]	1	

ins = Insertion; del = Deletion; sp = letzte nicht betroffene Aminosäure vor der voraussichtlichen splice-Mutation; fs = letzte Aminosäure, die von einem Frameshift nicht betroffen ist (Nummer nach fs = Anzahl Aminosäuren vor Beendigung); dup = duplications; n.p. = keine Information durch den Autor

Frameshiftmutationen sind (z. B.) wie folgt gekennzeichnet: R174fs+105X, R174 = letzte regulär codierte Aminosäure, auf die ein Frameshift (fs) folgt, wodurch 105 Aminosäuren falsch codiert wurden und ein vorzeitiges Stop-Codon (X) folgt. SAR = subunit assembly region.

8 Danksagung

*Der Erfolg hat viele Väter, der Misserfolg höchstens einen amtlich bestellten Vormund.
Herbert Henry Asquith (1852-1928), brit. Politiker u. Premier 1908-16*

Prof. Dr. rer. nat Micaela Poetsch, ich danke Dir für Deine Geduld, deine Hilfe und Unterstützung, Deinen Stil (und Sarkasmus), Deinen Ehrgeiz und nicht zuletzt für Deine Freundschaft.

Prof. Dr. med. Thomas Bajanowski möchte ich danken für die Idee zu dem Thema und natürlich für die Bereitstellung der Ressourcen des Instituts und die Möglichkeit, meine Arbeitszeit für die Fertigstellung der Arbeit zu nutzen.
Erfolg beruht auf der Duldsamkeit der Anderen. David Gerhards

Mein besonderer Dank gilt Birgit Perrey und Heike Schäfer dafür, dass sie mich angeleitet und eingearbeitet und tatkräftig mit angepackt haben. *Es gibt hunderte von Menschen, die dir sagen, dass du es nicht schaffst. Es gibt nur einige wenige, die dir zeigen, wie du es schaffst. Wadim Korsch*

Außerdem danke ich den Praktikantinnen und Praktikanten der DNA-Abteilung, die mir geduldig und fleißig zig Arbeitsgänge abgenommen haben. Ohne Euch stünde ich heute noch im Labor!

Besonders herzlich möchte ich auch meinen Kollegen Dr. med. Andreas Freislederer, Dr. med Kurt Trübner und Janine Helmus dafür danken, dass sie in den Zeiten, in denen ich mich mit der Promotion beschäftigt habe, für mich mitgearbeitet haben.

Liebe Eva, tausend Dank für deine Geduld und Mühe mit der Korrektur, vor allem mit meiner kreativen Kommasetzung.

Steffi Fortmann fürs Schönmachen der Arbeit, fürs Mitleiden, Mitfiebern und Händchenhalten.

Mein liebster Bernd, Dir danke ich für einfach alles!

Es ist der Reiz des Lebens, dass man nicht alles für selbstverständlich hält, sondern noch bereit ist, sich zu wundern. Lorient

