

Aus dem Bereich der Medizinischen Biometrie, Epidemiologie und  
Medizinischen Informatik

Direktor: Univ. – Prof. Dr. Stefan Wagenpfeil

Klinische Medizin

Der Medizinischen Fakultät

Der Universität des Saarlandes

# **Metaanalyse und systematisches Review zur genetischen Prädisposition bei verlängertem QT-Intervall unter Verwendung von Polymorphismen**

---

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin an der  
Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes

2018

Vorgelegt von

Krier Pol,

geboren am 22.07.1994 in Luxemburg

Tag der Promotion:

Dekan:

Prof. Dr. M. D. Menger

Erster Berichterstatter:

Prof. Dr. S. Wagenpfeil

Zweiter Berichterstatter:

---

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>THEORETISCHE AUFARBEITUNG DES LONG QT SYNDROM .....</b>	<b>2</b>
2.1	cLQTS vs. aLQTS.....	2
2.2	Polymorphismus vs. Mutation.....	2
2.3	Diagnosekriterien .....	3
2.3.1	EKG-Veränderungen .....	3
2.3.2	Klinische Symptome .....	5
2.3.3	Familiengeschichte.....	5
2.3.4	Schwartz-Score.....	6
2.4	Therapie.....	8
2.4.1	Antiadrenerge Therapie.....	8
2.4.2	Andere Therapieverfahren.....	9
2.5	Phänotypische Formen des LQTS .....	9
2.5.1	Romano-Ward-Syndrom & Jervell-Lange-Nielson-Syndrom.....	9
2.5.2	Anderson-Tawil-Syndrom & Timothy-Syndrom .....	10
2.6	Genotypische Formen des LQTS.....	11
2.6.1	KCNQ1 & KCNE1.....	12
2.6.2	KCNH2 & KCNE2 .....	13
2.6.3	SCN5A & SCN4B .....	13
2.6.4	Seltene Formen.....	13
2.7	Risikostratifizierung .....	13
<b>3</b>	<b>DARSTELLUNG DER UNTERSUCHUNG .....</b>	<b>16</b>
3.1	Fragestellung und Ziel der Arbeit.....	16
3.2	Untersuchungsmethodik .....	17
3.2.1	Literaturrecherche .....	17
3.2.2	Ausschlusskriterien.....	19
3.3	Statistik.....	19
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>22</b>
4.1	Datengewinnung.....	22

---

<b>4.2</b>	<b>Untersuchung des Mutationsspektrums von LQTS-Patienten .....</b>	<b>23</b>
<b>4.3</b>	<b>Benigne von pathogenen Genvarianten unterscheiden .....</b>	<b>28</b>
<b>4.3.1</b>	<b>Neue Mutationen einordnen .....</b>	<b>28</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Mutationen entlarven .....</b>	<b>30</b>
<b>4.4</b>	<b>Gründermutationen und deren Einfluss auf das QTc.....</b>	<b>31</b>
<b>4.4.1</b>	<b>Südafrikanische Gründermutation .....</b>	<b>32</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Finnische Gründermutationen .....</b>	<b>38</b>
<b>4.4.3</b>	<b>Schwedische Gründermutationen .....</b>	<b>44</b>
<b>4.5</b>	<b>Häufige Polymorphismen .....</b>	<b>46</b>
<b>4.5.1</b>	<b>KCNE1 – D85N – Polymorphismus .....</b>	<b>47</b>
<b>4.5.2</b>	<b>KCNQ1 – G643S – Polymorphismus .....</b>	<b>55</b>
<b>4.5.3</b>	<b>KCNE2 – T8A – Polymorphismus .....</b>	<b>57</b>
<b>4.5.4</b>	<b>KCNH2 – K897T – Polymorphismus .....</b>	<b>59</b>
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>69</b>
<b>5.1</b>	<b>Einschränkungen.....</b>	<b>77</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK .....</b>	<b>79</b>
<b>7</b>	<b>ENGLISH SUMMARY .....</b>	<b>80</b>
<b>8</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>81</b>
<b>9</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>86</b>
<b>10</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>94</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Klassifikation von LQTS-Typen anhand der T-Wellen Morphologie im EKG: LQTS1 (a), LQTS2 (b), LQTS3 (c) – nach Vyas et al. (2016).....	4
Abbildung 2: Erstellung des Scores zur Wahrscheinlichkeitsberechnung des LQTS – nach Schwartz & Crotti (2011).....	7
Abbildung 3: A) Kaplan-Meier-Kurven für event-freies Überleben im Vergleich von JLNS vs. RWS (LQTS1, LQTS2 & LQTS3) B) Kaplan-Meier-Kurven für event-freies Überleben in JLNS Patienten mit Mutationen in KCNQ1 und KCNE1 – nach Crotti et al. (2008).....	10
Abbildung 4: Karyogramm mit Loci der einzelnen LQTS-auslösenden Gene – modifiziert nach [Klinefelter syndrome]. (o.D.) Abgerufen von <a href="https://ghr.nlm.nih.gov/condition/klinefelter-syndrome">https://ghr.nlm.nih.gov/condition/klinefelter-syndrome</a> .....	12
Abbildung 5: Kaplan-Meier-Kurven zum event-freien Überleben der 580 LQTS-Patienten, eingeteilt in 4 Quartile (1. Quartil: $\leq 446$ ms; 2. Quartil: 447-468ms; 3. Quartil: 469-498ms; 4. Quartil: $\geq 499$ ms) – nach Priori et al. (2003) .....	14
Abbildung 6: Risikostratifizierung von LQTS-Patienten für ein kardiales Ereignis vor dem 40. Lebensjahr und vor $\beta$ -Blockertherapie – nach Priori et al. (2003) .....	15
Abbildung 7: Flussdiagramm der eingeschlossenen/ausgeschlossenen Studien .....	23
Abbildung 8: Zeitlicher Verlauf der Detektionsraten mit linearer Regression .....	25
Abbildung 9: Zeitlicher Verlauf des Anteils neuer Mutationen mit linearer Regression .....	26
Abbildung 10: Verteilung der Mutationsträger nach Symptomen, HF & QTc – nach Brink et al. (2005).....	34
Abbildung 11: Links: Kumulatives event-freies Überleben bei A341V-Trägern im Vergleich zu LQTS1-Mutationsträgern <sup>i</sup> . Rechts: Kumulatives event-freies Überleben bei Frauen mit QTc >500ms und A341V im Vergleich zu QTc >500ms und LQTS1-Mutation <sup>i</sup> ( <sup>i</sup> Daten für LQTS1-Mutation aus Priori et al. 2003) – nach Brink et al. (2005) .....	35
Abbildung 12: Nicht-adjustierte Kaplan-Meier-Kurven zum event-freien Überleben der SA-A341V & Non-SA-A341V-Populationen (vor $\beta$ -Blocker-Therapie) – nach Crotti et al. (2007).....	36
Abbildung 13: Metaanalyse zur Auswirkung von KCNQ1-A341V auf das QTc.....	38
Abbildung 14: Geographische Verteilung der vier finnischen Gründermutationen. Jeder Punkt steht für den Geburtsort eines Mutationsträgers der zwischen 1890 und 1925 geboren wurde. – nach Fodstad et al. (2004).....	39
Abbildung 15: Kaplan-Meier-Kurven zum event-freien Überleben von LQTS-Probanden mit finnischer Gründermutation und non-FF – nach Koponen et al. (2015) .....	42
Abbildung 16: Metaanalyse zur Auswirkung von KCNQ1-FinA auf das QTc.....	43
Abbildung 17: Metaanalyse zur Auswirkung von HERG-FinB auf das QTc.....	44
Abbildung 18: Geographische Darstellung des Ursprungs der beiden schwedischen Gründermutationen (Y111C & R518X) – nach Winbo et al. (2014) .....	45
Abbildung 19: Metaanalyse zur Prävalenz des KCNE1-D85N Polymorphismus in der LQTS-Population .....	50
Abbildung 20: Metaanalyse zur Prävalenz des KCNE1-D85N Polymorphismus in der Kontrollpopulation .....	51
Abbildung 21: Funnel Plots zu den Proportion-Metaanalysen für die Prävalenz des D85N-Polymorphismus in der LQTS-Population (links) und in der Kontrollpopulation (rechts) 51	

---

Abbildung 22: Metaanalyse zur Auswirkung von KCNE1-D85N auf das QTc (Angabe als QTc-Differenz/minor Allel) .....	52
Abbildung 23: Funnel plot zur Summary-Metaanalyse der Auswirkung des D85N-Polymorphismus auf das QTc .....	53
Abbildung 24: Proportion-Metaanalyse zur Sensitivitätsanalyse der Kontrollpopulation beim KCNE1-D85N Polymorphismus .....	54
Abbildung 25: Summary-Metaanalyse zur Sensitivitätsanalyse der Auswirkung von KCNE1-D85N auf das QTc .....	55
Abbildung 26: Metaanalyse zur Auswirkung von KCNQ1-G643S auf das QTc .....	57
Abbildung 27: Metaanalyse zur Prävalenz des KCNE2-T8A Polymorphismus in der LQTS-Population .....	58
Abbildung 28: Metaanalyse zur Prävalenz des KCNE2-T8A Polymorphismus in der Kontrollpopulation .....	59
Abbildung 29: Metaanalyse zur Prävalenz des KCNH2-K897T Polymorphismus in der LQTS-Population .....	63
Abbildung 30: Metaanalyse zur Prävalenz des KCNH2-K897T Polymorphismus in der Kontrollpopulation .....	64
Abbildung 31: Funnel plots zu den Proportion-Metaanalysen für die Prävalenz des K897T-Polymorphismus in der LQTS-Population (links) und in der Kontrollpopulation (rechts) .....	64
Abbildung 32: Metaanalyse zur Auswirkung von KCNH2-K897T auf das QTc (Homozygote WT vs. Heterozygote Pb) .....	66
Abbildung 33: Metaanalyse zur Auswirkung von KCNH2-K897T auf das QTc (Homozygote WT vs. Homozygote MT) .....	66
Abbildung 34: Metaanalyse zur Auswirkung von KCNH2-K897T auf das QTc (Heterozygote Pb vs. Homozygote MT) .....	67
Abbildung 35: Proportion-Metaanalyse zur Sensitivitätsanalyse der Kontrollpopulation beim KCNH2-K897T-Polymorphismus .....	68

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gene, deren Loci, Krankheitsname und Prozentsatz der dem jeweiligen Gen zugeschriebenen LQTS-Fälle – modifiziert nach Alders & Christiaans (2015); Tester & Ackerman (2014) .....	11
Tabelle 2: Literaturrecherche in ‚Pubmed‘ mit Angabe der Suchbegriffe, der Anzahl an Studien und dem Datum der letzten Recherche .....	18
Tabelle 3: Zusammenfassung von Populationsscreening-Studien (2000-2016) bei LQTS-Verdachtsfällen mit Berechnung des Mittelwertes und des 95% Konfidenzintervalls. * [Westenskow, Splawski, Timothy, Keating & Sanguinetti (2004)].....	27
Tabelle 4: Klinische Charakteristika der Studienpopulationen und Vergleich beider Gruppen – nach Crotti et al. (2007) .....	36
Tabelle 5: Beschreibung der gesamten A341V-Population (SA & non-SA) und Vergleich mit einer LQTS1-nicht-A341V-Population – nach Crotti et al. (2007) .....	37
Tabelle 6: Spektrum der finnischen LQTS-Mutationen – nach Fodstad et al. (2004) .....	40
Tabelle 7: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNQ1-A341V auf das QTc.....	81
Tabelle 8: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNQ1-FinA auf das QTc.....	81
Tabelle 9: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von HERG-FinB auf das QTc.....	81
Tabelle 10: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNE1-D85N Prävalenz in der LQTS-Population .....	81
Tabelle 11: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNE1-D85N Prävalenz in der Kontrollpopulation.....	82
Tabelle 12: Daten zur ‚Summary‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNE1-D85N auf das QTc .....	82
Tabelle 13: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNQ1-G643S auf das QTc .....	82
Tabelle 14: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNE2-T8A Prävalenz in der LQTS-Population .....	82
Tabelle 15: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNE2-T8A Prävalenz in der Kontrollpopulation.....	83
Tabelle 16: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNH2-K897T Prävalenz in der LQTS-Population .....	83
Tabelle 17: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNH2-K897T Prävalenz in der Kontrollpopulation.....	83
Tabelle 18: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNH2-K897T auf das QTc (Homozygote WT vs. Heterozygote Pb) .....	83
Tabelle 19: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNH2-K897T auf das QTc (Homozygote WT vs. Homozygote MT) .....	84
Tabelle 20: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNH2-K897T auf das QTc (Heterozygote Pb vs. Homozygote MT) .....	84
Tabelle 21: Angaben zum HWE der einzelnen Untersuchungen .....	84

## Abkürzungsverzeichnis

ACA	Aborted cardiac arrest
aLQTS	acquired LQTS
bpm	beats per minute
CA	cardiac arrest
cLQTS	congenital LQTS
cNBD	cyclic Nucleotide Binding Domain
EKG	Elektrokardiogramm
EPV	Estimated Predictive Value
ESP	Exome Sequencing Project
FF	Finnish-Founder (=Finnische Gründermutation)
FHS	Framingham Heart Study
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
HF	Herzfrequenz
ICD	Implantierbarer Kardioverter – Defibrillator
IDL	Inter-Domäne-Linkers
IKr	Heterodimer bestehend aus HERG & MIRP
IKs	Heterodimer bestehend aus KvLQT1 & MinK
JLNS/JLN	Jervell-Lange-Nielson-Syndrom
KI	Konfidenzintervall
LCSD	Left cardiac sympathetic denervation
LQTS	Long QT Syndrom
MAF	Minor Allele Frequency
ms	Millisekunden
MT	Mutationsträger
n	Anzahl
Non-FF	Nicht-Finnische Gründermutation
Non-SA	Nicht-Südafrikanisch

---

NS	Nicht-Signifikant
PAS/PAC	regulatorische Gendomäne
Pb	Probanden
PCR	Polymerase Chain Reaction
QTc	korrigiertes QT-Intervall
QTcmax	maximales QTc-Intervall
refSNP	reference Single-Nucleotide- Polymorphism
RR	R-Zacken-Abstand im EKG
RWS	Romano-Ward-Syndrom
SA	Südafrikanisch
SAD	Subunits Assembly Domain
SCD	Sudden cardiac death
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TdP	Torsade de pointes
TWA	T-Wellen alternans
WT	Wildtypallel-Träger

## 1 Einleitung

Das Long QT Syndrom (LQTS) ist eine seltene, erbliche Erkrankung des Herzens, die auf einer Funktionsstörung verschiedener Ionenkanäle beruht. Durch die Dysfunktion dieser Kanäle kommt es insbesondere zu Störungen der kardialen Repolarisation (Tester & Ackerman, 2014). Die Erkrankung wurde erstmals 1957 in einer norwegischen Familie von Jervell und Lange-Nielson beschrieben.

Die Prävalenz des LQTS liegt aktuellen Schätzungen zufolge bei 1 zu 2000 (Schwartz et al., 2009) bis 1 zu 2500 Lebendgeburten (Crotti, Celano, Dagradi & Schwartz, 2008).

Diese elektrophysiologische Funktionsstörung der Kardiomyozyten drückt sich durch Veränderungen im Ruhe-EKG sowie durch klinische Symptome aus, die als Teil des Schwartz-Score zur Wahrscheinlichkeitsberechnung des LQTS dienen. Dies zeigt sich in einer Verlängerung des QT-Intervalls, was zu Herzrhythmusstörungen wie z.B. Kammertachykardien und Synkopen führen kann (Alders & Christiaans, 2015).

Bei dieser Erkrankung handelt es sich um eine polygenetische Erkrankung, die durch über 1000 pathogene Mutationen in 15 bis jetzt identifizierten Genen hervorgerufen werden kann (Alders & Christiaans, 2015).

Die Erkrankung konnte in allen Ethnien nachgewiesen werden, jedoch mit erheblichen Unterschieden was Frequenz und Art der auslösenden Genvarianten betrifft (Fodstad et al., 2004).

So sind neben Mutationen und Polymorphismen, die das LQTS auslösen, auch noch Genvarianten bekannt, die den Phänotyp der Patienten unbeeinflusst lassen.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung der Datenlage bezüglich der Genvarianten, welche bis dato als potentielle Einflussfaktoren auf das angeborene LQTS postuliert wurden. So besteht die Möglichkeit, Aussagen über die Wahrscheinlichkeit der Beeinflussung des Phänotyps in Bezug auf das LQTS zu treffen. Dazu werden einerseits Veränderungen des QT-Intervalls sowie die Prävalenz der Genvarianten in Fall- und Kontrollpopulationen herangezogen.

## 2 Theoretische Aufarbeitung des Long QT Syndrom

### 2.1 cLQTS vs. aLQTS

Das angeborene ‚congenital‘ LQTS (cLQTS) wird vom erworbenen ‚acquired‘ LQTS (aLQTS) unterschieden. Das cLQTS, welches durch unterschiedliche Genmutationen verursacht wird, zeigt bereits im Ruhe-EKG ein verlängertes QT-Intervall und die Patienten können jederzeit symptomatisch werden. Im Gegensatz dazu sind die EKG-Veränderungen beim aLQTS unter Normalbedingungen nicht sichtbar. Das aLQTS wird erst durch verschiedene Kofaktoren phänotypisch sichtbar, wobei davon ausgegangen wird, dass auch für diese Vulnerabilität Genpolymorphismen verantwortlich sind, die unter physiologischen Bedingungen jedoch subklinisch sind. Die auslösenden Faktoren sind sehr häufig Medikamente (z.B. Antiarrhythmika) oder aber auch organische Herzerkrankungen und metabolische Störungen wie Hypokaliämie oder Hypomagnesiämie. Erst dann zeigen sich im EKG die typischen Veränderungen und auch klinische Symptome (Camm et al., 2000).

### 2.2 Polymorphismus vs. Mutation

In der gängigen Literatur werden Genvarianten, die von der Norm abweichen, nach der Häufigkeit ihres Auftretens unterschieden. So werden Genvarianten, welche in weniger als 1% einer Population vorkommen als Mutation bezeichnet, während bei einer Häufigkeit von über 1% von einem Polymorphismus gesprochen wird. Daraus kann nicht auf die phänotypische Veränderung, die diese Genvariation auslöst, geschlossen werden. Jedoch wird häufig fälschlich angenommen, dass Mutationen mit negativen Auswirkungen auf den klinischen Phänotyp einhergehen, während Polymorphismen den klinischen Phänotyp weniger beeinflussen sollen.

Abhängig von der betrachteten Population kann aus einem Polymorphismus eine Mutation werden und umgekehrt, je nachdem wie häufig die Genvariante in der jeweiligen Population ist, beziehungsweise wie die Population definiert wurde. (Karki, Pandya, Elston & Ferlini, 2015).

Dieses Problem der uneinheitlichen Definitionen wollten Richards et al. (2015) lösen, indem sie beide Begriffe durch den Begriff ‚gene variant‘ ersetz-

ten. Somit wird das Problem der fälschlichen Wertung umgangen und auch die vorschnelle Interpretation der Häufigkeit einer Genvariante wird damit vermieden.

In der folgenden Arbeit werden aufgrund der Tatsache, dass es sich um eine retrospektive Untersuchung handelt, dennoch die Begriffe ‚Mutation‘ und ‚Polymorphismus‘ verwendet, da somit die Primärliteratur besser wiedergegeben werden kann. Jedoch sei darauf hingewiesen, dass in dieser Arbeit den beiden Begriffen weder eine wertende (pathogen/benigne) noch quantifizierende Bedeutung (Häufigkeit) zugeordnet werden soll. Dies scheint hier die sinnvollste Anwendung, da verschiedene Populationen unterschiedlicher Ethnien miteinander verglichen werden sollen.

## 2.3 Diagnosekriterien

### 2.3.1 EKG-Veränderungen

Das LQTS zeigt im EKG typische Veränderungen, welche durch das geschulte Auge im Ruhe-EKG erkannt werden können. Anhand der EKG-Befunde alleine kann die Diagnose des LQTS allerdings nicht gestellt oder ausgeschlossen werden. Bei grenzwärtigen EKG-Befunden können Belastungs-EKGs, medikamentöse Provokationstests (z.B. mit Epinephrin) oder auch Umlagerungsversuche hilfreich sein (Alders & Christiaans, 2015).

Patienten mit LQTS zeigen eine verlängerte ventrikuläre Repolarisation, die sich in einem verlängerten korrigierten QT-Intervall (QTc) ausdrückt. Das QTc wird klassischerweise mittels QT-Intervall und R-Zacken-Abstand nach Bazett bestimmt:  $QTc = QT/\sqrt{RR}$  (Kawataki, Kashima, Toda & Tanaka, 1984).

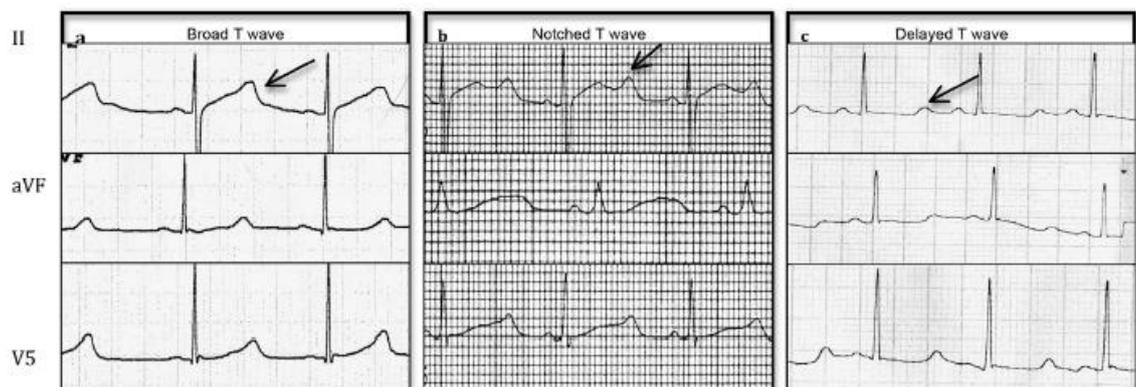
Das QTc ist allerdings weder sehr sensitiv, noch spezifisch für das LQTS: Priori et al. (2003) und Goldenberg et al. (2011) konnten zeigen, dass 36% der Patienten, die eine Mutation im KCNQ1-Gen (LQTS1) hatten, ein QTc hatten, welches im Normbereich lag. Für Mutationen in KCNH2 (LQTS2) lag dieser Wert bei 19% und für Mutationen in SCN5A (LQTS3) bei 10%. Auf der anderen Seite gibt es Faktoren, die das QT-Intervall, unabhängig vom genetisch bedingten LQTS, verlängern können, wie z.B. strukturelle Herzerkrankungen, Medikamenteneinnahme oder auch neurologische Erkrankungen (Alders & Christiaans, 2015).

Bei Männern werden QTc-Längen von  $>440\text{ms}$ , bei Frauen  $>460\text{ms}$  als pathologisch angesehen, wobei die Inzidenz von kardiologischen Ereignissen mit der Dauer des QTc steigt (Crotti et al., 2008).

Weiterhin konnte von Schwartz, Periti und Mallani (1975) gezeigt werden, dass der Anstieg der Herzfrequenz bei den LQTS-Patienten geringer ist als in der Normalbevölkerung und Pausen im Sinusrhythmus von über 1,2s häufiger vorkommen.

Nicht nur die Dauer der Repolarisation ist verändert, sondern auch deren Art, was sich in einer Veränderung der T-Wellen-Morphologie ausdrückt. Es zeigen sich häufig biphasische T-Wellen oder auch sog. notched („eingekerbte“) T-Wellen in den präkordialen Ableitungen (Crotti et al., 2008).

Laut Vyas et al. (2016) kann von der Morphologie der T-Wellen auf das mutierte Gen als Ursache für das LQTS geschlossen werden, da diese jeweils spezifische Veränderungen der Kammerrepolarisation zeigen (*Abbildung 1*).



*Abbildung 1: Klassifikation von LQTS-Typen anhand der T-Wellen Morphologie im EKG: LQTS1 (a), LQTS2 (b), LQTS3 (c) – nach Vyas et al. (2016)*

Das T-Wellen alternans (TWA) ist eine Veränderung der T-Welle von einem Herzschlag zum nächsten in der Amplitude oder in der Polarisation. Dies tritt selten in Ruhe aber häufig in emotionalen oder physischen Stresssituationen als Zeichen einer erhöhten elektrischen Instabilität des Myokards auf und kann als Vorbote einer Herzrhythmusstörung gedeutet werden (Crotti et al., 2008).

Klassischerweise handelt es sich bei den Herzrhythmusstörungen beim LQTS um ventrikuläre Tachyarrhythmien vom ‚Torsade de pointes‘ (TdP) - Typ, die aufgrund ihrer EKG-Morphologie im deutschsprachigen Raum auch ‚Spit-

zenumkehrtachykardie‘ oder ‚Schraubentachykardie‘ genannt werden. Dabei handelt es sich um eine meist selbstlimitierende Herzrhythmusstörung, die jedoch in Kammerflimmern übergehen kann, und dann zum plötzlichen Herztod, oder aber, falls der Patient rechtzeitig defibrilliert wird, zum Aborted Cardiac Arrest (ACA) führen kann. Somit handelt es sich bei der TdP-Tachykardie um eine potentiell lebensbedrohliche Situation (Alders & Christiaans, 2015).

### **2.3.2 Klinische Symptome**

Rund die Hälfte der unbehandelten LQTS-Patienten zeigt klinische Symptome, klassischerweise Synkopen, welche abrupt und ohne Vorwarnung während einer TdP-Tachykardie auftreten. Die Abwesenheit von Warnsymptomen (Pre-synkope, Aura) und auch von postsynkopalen Symptomen hilft bei der Einordnung der Ätiologie der Synkope. Jedoch kann sich das LQTS auch mit dem Erstsymptom eines Kammerflimmerns manifestieren, was die Wichtigkeit der frühen Diagnose unterstreicht (Alders & Christiaans, 2015).

Obwohl die Symptome vom Kleinkindalter bis ins hohe Alter vorkommen können, zeigt sich eine Anhäufung von der Präpubertät bis in die 3. Lebensdekade. Nach dem 40. Lebensjahr werden die klinischen Symptome sehr selten (Alders & Christiaans, 2015).

Die kardiologischen Ereignisse können durch bestimmte Trigger ausgelöst werden, wobei die Trigger vom vorliegenden Genotyp abhängen können. Während beim LQTS1 die Symptome meist durch physische Belastung (v.a. Schwimmen) ausgelöst werden, werden die Symptome beim LQTS2 vor allem durch psychischen Stress und akustische Reize ausgelöst. Beim LQTS3 hingegen treten die Symptome meist während des Schlafens auf (Alders & Christiaans, 2015).

### **2.3.3 Familiengeschichte**

Da es sich um eine erbliche Erkrankung handelt, ist auch die Familiengeschichte von großer Relevanz, wobei die Penetranz der Erkrankung laut Schwartz & Crotti (2011) je nach Mutation variiert. Aufgrund der Vielzahl an Mutationen in den verschiedenen Genen kann die Untersuchung der Familiengeschichte die Kosten und den Aufwand reduzieren, wenn bereits ein Patient

genotypisiert wurde. So müssen die restlichen Familienmitglieder primär nur auf die bereits identifizierte Mutation untersucht werden und nicht alle verdächtigen Gene komplett sequenziert werden.

#### **2.3.4 Schwartz-Score**

Der Schwartz-Score ist ein Score, der zur Berechnung der Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines LQTS benutzt wird. Der Score wurde 1993 von Schwartz, Moss, Vincent und Crampton erstellt und im Jahre 2011 von Schwartz & Crotti aktualisiert. Er basiert auf den Daten des Ruhe-EKGs, der Klinik und der Familiengeschichte. Diese drei Kategorien haben einzelne Unterpunkte, denen jeweils eine Punktzahl zugerechnet wird (siehe *Abbildung 2*). Es wurde eine hohe Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen der Erkrankung bei  $\geq 3,5$  Punkten, eine intermediäre Wahrscheinlichkeit bei 1,5 bis 3 Punkten und eine niedrige Wahrscheinlichkeit bei  $\leq 1$  Punkt postuliert.

1993–2011 LQTS Diagnostic Criteria	
	Points
Electrocardiographic findings #	
A QTc*	
≥480 ms	3
460–479 ms	2
450–459 ms (in males)	1
B QTc* 4 <sup>th</sup> minute of recovery from exercise stress test ≥480 ms	1
C Torsade de pointes*	2
D T wave alternans	1
E Notched T wave in 3 leads	1
F Low heart rate for age@	0.5
Clinical history	
A Syncope*	
With stress	2
Without stress	1
B Congenital deafness	0.5
Family history	
A Family members with definite LQTS\$	1
B Unexplained sudden cardiac death below age 30 among immediate family members\$	0.5
#In the absence of medications or disorders known to affect these electrocardiographic features.	
*QTc calculated by Bazett's formula where $QTc = QT / \sqrt{RR}$ .	
*Mutually exclusive.	
@Resting heart rate below the 2 <sup>nd</sup> percentile for age.	
\$The same family member cannot be counted in A and B.	
SCORE: ≤1 point: low probability of LQTS.	
1.5 to 3 points: intermediate probability of LQTS.	
≥3.5 points high probability.	

Abbildung 2: Erstellung des Scores zur Wahrscheinlichkeitsberechnung des LQTS – nach Schwartz & Crotti (2011)

Laut Priori et al. (2013) kann die Diagnose ‚Long QT Syndrom‘ gestellt werden, wenn eines oder mehrere der folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Ein Score  $\geq 3,5$  in Abwesenheit einer anderen Ursache für eine QT-Verlängerung.
- Ein  $QTc \geq 500ms$  in wiederholten EKGs in Abwesenheit einer anderen Ursache für eine QT-Verlängerung.
- Nachweis einer eindeutig pathogenen Mutation in einem der das LQTS auslösenden Gene.

## 2.4 Therapie

Das Ziel der Therapie ist die Abwesenheit aller Symptome, wobei die Synkope als häufigstes Symptom am besten zu quantifizieren ist. Jedoch ist auch die Prävention von lebensbedrohlichen Herzrhythmusstörungen von entscheidender Wichtigkeit.

### 2.4.1 Antiadrenerge Therapie

Aufgrund der Tatsache, dass die lebensbedrohlichen Herzereignisse meist durch einen Überschuss an sympathischer Aktivität entstehen, besteht die Haupttherapie in der Blockade des Sympathikus mittels  $\beta$ -Blockern in erster Instanz oder mittels LCSD (linkskardiale sympathische Denervation) (Crotti et al., 2008).

$\beta$ -Blocker stellen die Therapie der 1. Wahl bei symptomatischen LQTS-Patienten, jedoch auch bei asymptomatischen Patienten mit verlängertem QTc und bei Patienten mit normalem QTc mit identifizierter Mutation, dar (Alders & Christiaans, 2015).

Klassischerweise wurde Propranolol verabreicht, was aber aufgrund der unpraktischen Halbwertszeit und der Kontraindikation für Patienten mit Asthma und Diabetes vermehrt durch Nadolol ersetzt wird. Die Effektivität der Therapie hängt stark von dem betroffenen Gen ab: Beim LQTS1 liegt der Anteil an Patienten unter  $\beta$ -Blockertherapie mit schweren Herzereignissen (ACA, CA, SCD) bei 1%, beim LQTS2 liegt dieser bereits bei 6-7%, während der Anteil beim LQTS3 10-15% beträgt. So kann man erkennen, dass  $\beta$ -Blocker beim LQTS1 sehr effektiv sind, beim LQTS2 mittelmäßig wirksam und beim LQTS3 eine eher begrenzte Effektivität aufweisen (Crotti et al., 2008).

Die zweite Therapieoption ist die LCSD, die vor allem beim Nicht-Ansprechen der  $\beta$ -Blockertherapie (sog. ‚hoch-Risikogruppe‘) eingesetzt wird. Es werden die ersten vier thorakalen sympathischen Ganglien mittels einer kleinen Inzision in der linken Subklavikularregion entnommen. Dadurch können in der hoch-Risikogruppe die Herzereignisse um 91% gesenkt werden und es kann auch eine Verkürzung des QTc erzielt werden (Crotti et al., 2008).

## 2.4.2 Andere Therapieverfahren

Implantierbare Defibrillatoren (ICD) sind als Therapieoption bei Patienten mit stattgefundenem Herzstillstand und bei symptomatischen Patienten trotz  $\beta$ -Blockertherapie und LCSD zu erwägen (Crotti et al., 2008).

Wichtig ist neben der Therapie auch die Compliance: regelmäßige Medikamenteneinnahme und das Vermeiden QTc verlängernder Medikamente sowie die sorgfältige Korrektur von Elektrolytstörungen bei Diarrhö, Erbrechen oder metabolischen Störungen sind essentiell um den Erfolg der Therapie zu garantieren (Priori et al., (2013).

## 2.5 Phänotypische Formen des LQTS

Die zwei bekanntesten Formen des LQTS sind das Romano-Ward-Syndrom (RWS) und das Jervell-Lange-Nielson-Syndrom (JLNS).

### 2.5.1 Romano-Ward-Syndrom & Jervell-Lange-Nielson-Syndrom

Die erste definitive Diagnose des angeborenen LQTS wurde im Jahre 1957 von Jervell und Lange-Nielson gestellt. Dabei handelte es sich um eine norwegische Familie, in der vier von zehn Kindern taub waren und mehrfach Synkopen erlitten. Bei drastisch verlängertem QTc starben drei der Kinder vor dem 10. Lebensjahr. Dieser Phänotyp wurde nach den beiden Erstbeschreibern Jervell und Lange-Nielson benannt.

Das JLNS wird autosomal rezessiv durch Mutationen in den Genen KCNQ1 (90% der Fälle) und KCNE1 (10% der Fälle) vererbt, welche beide für einen Teil des IKs-Kanals kodieren. Durch den rezessiven Vererbungstyp lässt sich eine biallelische pathogene Variante in einem der beiden Gene nachweisen. Außer dem kardialen Phänotyp weisen diese Patienten noch eine angeborene beidseitige Taubheit sowie häufig eine Eisenmangelanämie auf (Tranebjærg, Samson & Green, 2002).

Im Jahre 1963 und 1964 beschrieben Romano, Gemme und Pongiglione beziehungsweise Ward einen ähnlichen Phänotyp mit plötzlichem Herztod, der wie die kardialen Ereignisse beim JLNS durch körperliches Training sowie Emotionen ausgelöst wurde, sich jedoch durch die Abwesenheit der Taubheit unterschied (Vincent, 2002).

Das RWS ist dadurch gekennzeichnet, dass es bei einer autosomal-dominanten Vererbung einen rein kardiologischen Phänotyp aufweist. Die Vererbung erfolgt durch Mutationen in den Genen, die für das Auslösen von LQTS 1-3, LQTS 5-6, sowie LQTS 9-15 verantwortlich sind (siehe *Tabelle 1*) (Alders & Christiaans, 2015).

Insgesamt ist die Symptomatik (mit einigen Ausnahmen) im JLNS deutlich schwerwiegender als bei den verschiedenen Formen des RWS: Beim JLNS haben 90% der Erkrankten Herzereignisse und 50% werden bereits vor dem 3. Lebensjahr symptomatisch (Crotti et al., 2008). Laut Tranebjærg et al. (2002) ist das QTc meist auf Werte >500ms verlängert, was dazu führt, dass über die Hälfte der Patienten vor dem 15. Lebensjahr verstirbt. Es konnte jedoch von Schwartz et al. (2006) gezeigt werden, dass das event-freie Überleben von JLNS Patienten mit KCNE1 Mutationen deutlich länger ist als das von KCNQ1 Patienten.

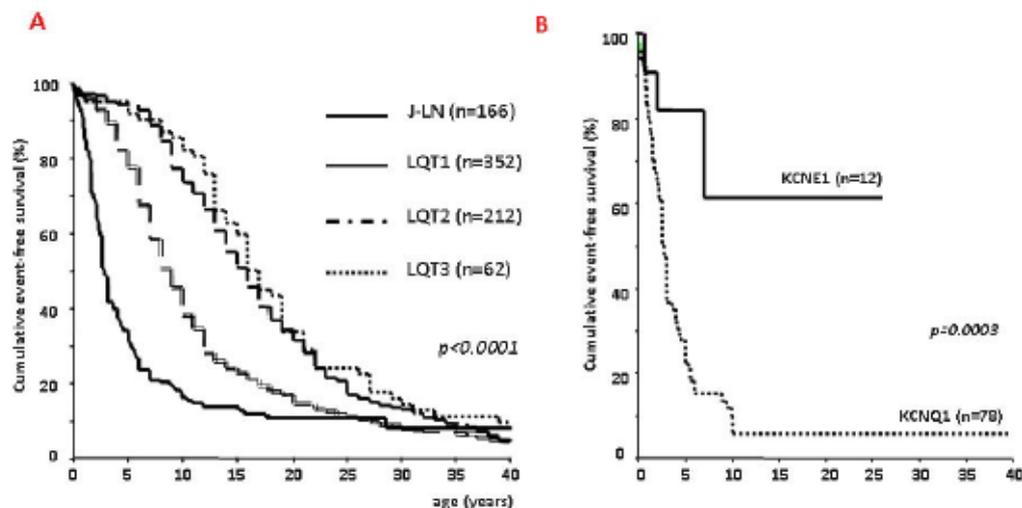


Abbildung 3: A) Kaplan-Meier-Kurven für event-freies Überleben im Vergleich von JLNS vs. RWS (LQTS1, LQTS2 & LQTS3) B) Kaplan-Meier-Kurven für event-freies Überleben in JLNS Patienten mit Mutationen in KCNQ1 und KCNE1 – nach Crotti et al. (2008)

## 2.5.2 Anderson-Tawil-Syndrom & Timothy-Syndrom

Weniger bekannt als das RWS und das JLNS ist das Anderson-Tawil-Syndrom (LQTS7), das zusätzlich zum kardialen Phänotyp noch eine faszielle Dysmorphie sowie eine Muskelschwäche induziert. Auch das Timothy-Syndrom (LQTS8) zeigt zusätzliche nicht-kardiale Symptome: Dysmorphie der Hände

und Füße, des Gesichtes und Entwicklungsstörungen des Nervensystems (Alders & Christiaans, 2015).

## 2.6 Genotypische Formen des LQTS

Nachdem im Jahre 1995 von Curran et al. das KCNH2-Gen und von Wang et al. das SCN5A-Gen als ersten beiden Gene mit LQTS-verursachenden Mutationen gefunden wurden, wurde 1996 von Wang et al. das KCNQ1-Gen als drittes wichtiges Gen entdeckt. Bis zum Jahre 2015 (Alders & Christiaans) wurden pathogene Mutationen in 15 Genen nachgewiesen, die ein LQTS auslösen können. Bei rund 80% der LQTS-Patienten können Mutationen in diesen Genen nachgewiesen werden. Es zeigen sich jedoch erhebliche Unterschiede in der Prävalenz von Mutationen in den verschiedenen Genen: Während drei Gene (KCNQ1, KCNH2, SCN5A) für die überwiegende Mehrzahl der Fälle verantwortlich gemacht werden können, sind Mutationen in den übrigen zwölf Genen selten der Auslöser des LQTS.

Alle bis 2015 gefundenen pathogenen Genvarianten, die das QTc beeinflussen, sind in diesen 15 Genen gefunden worden (siehe *Tabelle 1*). Die einzelnen Loci dieser Gene sind in *Abbildung 4* dargestellt, wobei die Farbangaben in *Tabelle 1* die Farbkodierung von *Abbildung 4* widerspiegeln.

*Tabelle 1: Gene, deren Loci, Krankheitsname und Prozentsatz der dem jeweiligen Gen zugeschriebenen LQTS-Fälle – modifiziert nach Alders & Christiaans (2015); Tester & Ackerman (2014)*

Gen	Chromosom/ Locus	Krankheitsname	Prozentsatz der zuge- schriebenen LQTS-Fälle
KCNQ1	11p15.5-p15.4	LQTS1 (orange)	30-35%
KCNH2	7q36.1	LQTS2 (rot)	25-30%
SCN5A	3p22.2	LQTS3 (dunkelblau)	5-10%
ANK2	4q25-q26	LQTS4 (braun)	<1%
KCNE1	21q22.12	LQTS5 (hellgrün)	<1%
KCNE2	21q22.11	LQTS6 (hellgrün)	<1%
KCNJ2	17q24.3	LQTS7 (hellblau)	<1%
CACNA1C	12p13.33	LQTS8 (gelb)	<1%
CAV3	3p25.3	LQTS9 (türkis)	<1%

SCN4B	11q23.3	LQTS10 (grün)	Selten (2 Fälle)
AKAP9	7q21.2	LQTS11 (rosa)	Selten (1 Fall)
SNTA1	20q11.21	LQTS12 (beige)	Selten (3 Fälle)
KCNJ5	11q24.3	LQTS13 (schwarz)	Selten (2 Fälle)
CALM1	14q32.11	LQTS14 (dunkelrot)	<1%
CALM2	2p21	LQTS15 (violett)	<1%

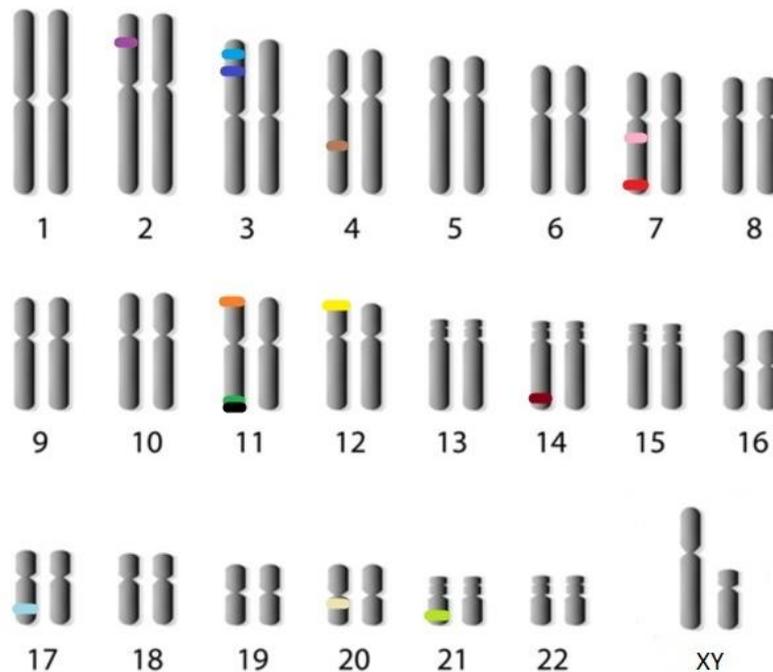


Abbildung 4: Karyogramm mit Loci der einzelnen LQTS-auslösenden Gene – modifiziert nach [Klinefelter syndrome]. (o.D.) Abgerufen von <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/klinefelter-syndrome>

### 2.6.1 KCNQ1 & KCNE1

Laut Alders & Christiaans (2015) wurden im KCNQ1-Gen über 500 pathogene Mutationen gefunden. Das Gen kodiert für die  $\alpha$ -Untereinheit des spannungsabhängigen Kaliumkanals (KvLQT1), die zusammen mit der  $\beta$ -Untereinheit (MinK) den IKs-Kanal bildet. Die  $\beta$ -Untereinheit wird durch das KCNE1-Gen kodiert, wo bis jetzt 36 pathogene Mutationen bekannt sind.

Die Funktion des IKs-Kanals wird durch diese Mutationen beeinträchtigt, wodurch der langsame Kalium-Einwärtsstrom verringert wird.

### **2.6.2 KCNH2 & KCNE2**

Das KCNH2-Gen kodiert für die  $\alpha$ -Untereinheit (HERG) eines spannungsabhängigen Kaliumkanals, die zusammen mit der von KCNE2 kodierten  $\beta$ -Untereinheit (MIRP) den IKr-Kanal bildet. Im KCNH2-Gen wurden über 700, im KCNE2 20 pathogene Mutationen gefunden.

Der IKr-Kanal, dessen Ionenfluss durch die Mutationen reduziert ist, ist für den schnellen Kalium-Einwärtsstrom verantwortlich (Alders & Christiaans, 2015).

### **2.6.3 SCN5A & SCN4B**

SCN5A und SCN4B kodieren jeweils für die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Untereinheit eines kardialen Natriumkanals. Die pathogenen Mutationen (für SCN5A über 200, für SCN4B 2) in SCN5A und SCN4B führen durch eine Funktionszunahme des Kanals zu einem verstärkten Natriumeinstrom in die Zelle (Alders & Christiaans, 2015).

### **2.6.4 Seltene Formen**

Die restlichen Gene sind sehr selten für das LQTS verantwortlich, die Funktionen ihrer kodierten Proteine sind vielfältig: CACNA1c kodiert für die  $\alpha$ 1-Untereinheit des L-Typ Calciumkanals; CAV3 kodiert für ein Gerüstprotein der kardialen Caveolae; AKAP9 ist in den Phosphorylierungsprozess unter anderem von Natriumkanälen involviert; SNTA1 kodiert für ein Gerüstprotein, das die Funktion der Natriumkanäle kontrolliert; KCNJ5 kodiert eine Untereinheit eines kardialen Kaliumkanals; CALM1 und CALM2 regulieren Calciumkanäle vom L-Typ (Alders & Christiaans, 2015).

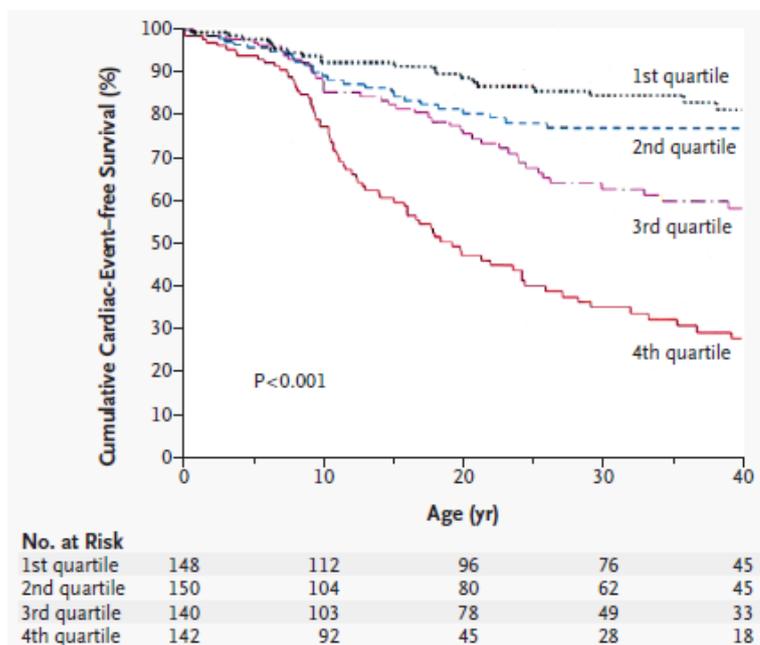
## **2.7 Risikostratifizierung**

Priori et al. zeigten 2003 in einer Studie mit 647 Patienten, dass die Bestimmung des Genotyps nicht nur für die Diagnosestellung wichtig ist, sondern auch einen großen Einfluss auf die Symptomatik der Patienten hat. So konnte gezeigt werden, dass die Patienten mit Mutationen in KCNQ1 weniger häufig symptomatisch sind (30%) als Patienten mit Mutationen in KCNH2 (46%) oder SCN5A (42%). Auch die Inzidenz von CA/SCD ist bei KCNQ1 (10%) geringer als bei KCNH2 (20%) und SCN5A (16,5%).

Die von Sauer et al. (2007) bestimmten Werte des QTc zeigen auch signifikante Unterschiede ( $p < 0,01$ ) bezüglich der Dauer des QT-Intervalls: KCNQ1 Mutationsträger haben ein kürzeres QTc ( $485 \pm 49$ ms) als Träger von KCNH2-Mutationen ( $492 \pm 52$ ms), die Träger von Mutationen in SCN5A ( $506 \pm 46$ ms) haben das längste QTc.

Priori et al. (2003) zeigten, dass bei männlichen Patienten die Symptome signifikant früher auftreten als bei den Frauen:  $13 \pm 9$  Jahre vs.  $20 \pm 14$  Jahre ( $p < 0,001$ ). Weiterhin war das männliche Geschlecht ein Risikofaktor für Symptome in SCN5A und das weibliche Geschlecht ein Risikofaktor für Symptome in KCNH2.

Das QTc stellt laut Priori et al. (2003) einen signifikanten Risikofaktor für kardiale Ereignisse dar: Wie in *Abbildung 5* dargestellt, führt ein längeres QTc zu einem geringeren event-freien Überleben. Auch Sauer et al. (2007) zeigten, dass die Dauer des QTc signifikant mit den kardialen Ereignissen korreliert: je länger das QTc, desto höher ist das Risiko für kardiale Ereignisse.



*Abbildung 5: Kaplan-Meier-Kurven zum event-freien Überleben der 580 LQTS-Patienten, eingeteilt in 4 Quartile (1. Quartil:  $\leq 446$ ms; 2. Quartil: 447-468ms; 3. Quartil: 469-498ms; 4. Quartil:  $\geq 499$ ms) – nach Priori et al. (2003)*

Zusammenfassend wird von Priori et al. (2003) ein Schema zur Risikostratifizierung der einzelnen Patienten auf der Basis von QTc, Genlocus und Geschlecht vorgeschlagen, wobei nach dem Risiko für ein erstes kardiales Ereignis vor dem 40. Lebensjahr und vor Therapie eingeteilt wird (Abbildung 6).

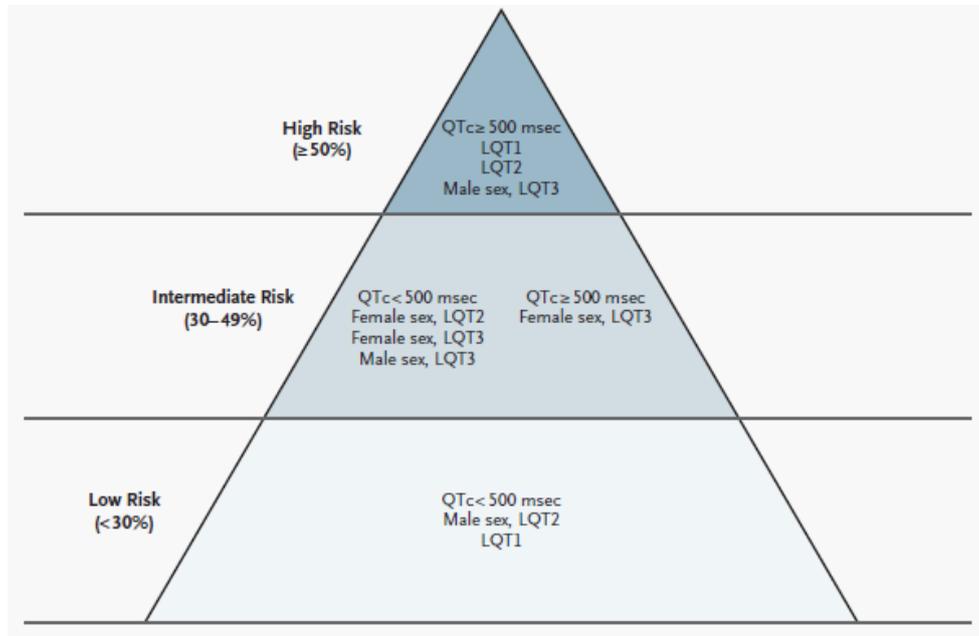


Abbildung 6: Risikostratifizierung von LQTS-Patienten für ein kardiales Ereignis vor dem 40. Lebensjahr und vor  $\beta$ -Blockertherapie – nach Priori et al. (2003)

## 3 Darstellung der Untersuchung

### 3.1 Fragestellung und Ziel der Arbeit

Das QT-Intervall, welches im Rahmen des LQTS pathologisch verlängert ist, beruht auf einer komplexen Interaktion der verschiedenen Ionenkanäle sowie von Proteinen der Signaltransduktion und Gerüstproteinen der Kardiomyozyten. Durch Mutationen in den Genen, die für das jeweilige Protein kodieren, kann deren Funktion verändert werden (Tester & Ackerman, 2014).

Aufgrund der Vielzahl der bis dato gefundenen Mutationen und Polymorphismen (über 1000 in 15 verschiedenen Genen) ist das Datenvolumen bezüglich dieser Erkrankung sehr groß, und für die klinischen Mediziner schwer zu überblicken (Alders & Christiaans, 2015).

Ein weiteres Problem stellt die Vielzahl an neuen Mutationen dar, die laut Kapplinger et al. im Jahr 2009 mehr als die Hälfte der gefundenen Mutationen ausmachten. Dies unterstreicht die Wichtigkeit, neue Mutation nach ihrer Pathogenität einordnen zu können: krankheitsauslösende Mutationen müssen von benignen Mutationen (sog. background genetic noise) ohne Krankheitswert unterschieden werden. Diese Unterscheidung wird im besten Fall mittels heterologer Expressionsstudien zur Untersuchung der Proteinfunktion durchgeführt. Dies wurde allerdings bei weniger als 25% der Mutationen in den drei wichtigsten Genen KCNQ1, KCNH2 und SCN5A durchgeführt, weshalb Populationsstudien zur Pathogenitätsuntersuchung der Mutationen herangezogen werden müssen. Dabei ist nicht nur die Prävalenz von Mutationen in verschiedenen Gruppen (LQTS/Kontrollgruppe) von Wichtigkeit, sondern auch die Art und Lokalisation der Mutation, da diese bereits häufig eine Auskunft über die potentielle Pathogenität geben können (Kapa et al., 2009).

Eine Vielzahl von Genvarianten, welche einen Einfluss auf das LQTS haben, zeigen aufgrund des Vererbungsmusters unterschiedliche Prävalenzen in verschiedenen Ethnien, weshalb auch die geographische Verteilung bei der Untersuchung berücksichtigt werden muss (Crotti et al., 2008). Deshalb sind Populationen, wie z.B. die Bevölkerung Finnlands, die lange Zeit isoliert waren, von besonderer Bedeutung, da diese ein besonderes Mutationsspektrum aufzeigen (Fodstad et al., 2004).

Mit dem Ziel, diese Probleme aufzuklären, wird in der folgenden Arbeit der Schwerpunkt auf folgende Themen gelegt:

- Die Aufschlüsselung des Mutationsspektrums der LQTS-Patienten nach ihrem Genotyp, den Mutationstypen und der Lokalisation der Mutation.
- Die Häufigkeit von neuen, vorher noch nicht identifizierten Mutationen und deren Einordnung nach Pathogenität.
- Der Einfluss der Ethnie und sogenannter Gründermutationen auf das genetische Profil der Bevölkerung.
- Die Bedeutung und klinische Relevanz häufiger Polymorphismen.

## 3.2 Untersuchungsmethodik

Mit dem Ziel einer kompletten und repräsentativen Literaturübersicht über die Thematik des Einflusses von Genpolymorphismen auf das Long QT Syndrom wurden ein systematisches Review und eine Metaanalyse als geeignet angesehen.

Als systematische Übersichtsarbeit („Review“) versteht man eine Arbeit, die nach Bestimmung von Ein- und Ausschlusskriterien alle relevanten Studien berücksichtigt und die Informationen systematisch extrahiert. Diese Resultate werden dann deskriptiv dargestellt und können unter Berücksichtigung von Studiendesign und Methodik miteinander verglichen werden.

Gleiche Bedingungen gelten für die Erstellung einer Metaanalyse, wobei diese jedoch darauf abzielt, die erhobenen Daten der einzelnen Studien mittels statistischer Methoden quantitativ zusammenzufassen (Ressing, Blettner & Klug, 2009).

### 3.2.1 Literaturrecherche

Die Literaturrecherche wurde im Onlineportal „Pubmed“ durchgeführt, wobei die eingegebenen Suchbegriffe mit dem letzten Datum der Recherche und der Anzahl der unter dem jeweiligen Suchbegriff erschienenen Studien in der *Tabelle 2* angegeben sind.

*Tabelle 2: Literaturrecherche in ‚Pubmed‘ mit Angabe der Suchbegriffe, der Anzahl an Studien und dem Datum der letzten Recherche*

Suchbegriff	Anzahl an Studien	Datum der letzten Recherche
SNP QTc LQTS	9	2/11/2017
genetic variants effect QT interval [Title/Abstract]	47	2/11/2017
mutation spectrum lqts	52	2/11/2017
LQTS common genotype population	21	2/11/2017
founder mutation long QT syndrome	42	1/11/2017
LQTS finnish	12	1/11/2017
Y111C	14	1/11/2017
R518X	14	1/11/2017
A341V	22	30/10/2017
D85N QT	13	28/10/2017
rs1805128	21	28/10/2017
253 Q>A	1	28/10/2017
K897T	39	25/10/2017
2690A>C	4	25/10/2017
rs1805123	8	25/10/2017
T8A	24	25/10/2017
22A>G	0	25/10/2017
rs2234916	5	25/10/2017
G643S	10	18/10/2017
1927G>A	2	18/10/2017
rs1800172	10	18/10/2017

Dabei ist die Literaturrecherche in zwei Etappen erfolgt. In der ersten Etappe wurde mittels allgemeiner Suchbegriffe, entsprechend den ersten fünf Einträgen in *Tabelle 2*, die Datenlage bezüglich des LQTS untersucht sowie geeignete Genvarianten, die häufiger untersucht wurden, ausgewählt. Im zweiten Schritt wurden dann nochmals selektiv Suchbegriffe zu diesen Genvarianten verwendet um eine größtmögliche Anzahl an Studien, die Daten dazu enthiel-

ten, aufzuspüren. Die Gesamtzahl der durch diese Suchkriterien gefundenen Studien beläuft sich auf 370.

### **3.2.2 Ausschlusskriterien**

Jegliche Studien, die nicht in englischer Sprache zugänglich waren, sowie solche, die sich nicht mit dem cLQTS und dessen Genetik befassten, wurden systematisch ausgeschlossen.

Weiterhin wurden Studien ausgeschlossen, die die Auswirkung von Medikamenten auf das QTc untersuchten, und solche, die sich mit dem aLQTS befassten.

Auch wurden Studien bezüglich des JLNS ausgeschlossen, da diese Patienten trotz einer ähnlichen Symptomatik ein anderes Vererbungsmuster aufweisen.

Aufgrund einer einschlägigen Genetik durch Vererbung der immergleichen Mutation wurden auch Familienuntersuchungen nicht berücksichtigt. Folglich wurden auch Reviews und Studien, die keine eigene Studienpopulation aufwiesen, ausgeschlossen sowie solche Studien, welche eine nicht-repräsentative Stichprobe untersuchten.

Da es sich um eine Untersuchung der Prävalenz und klinischen Auswirkung von Polymorphismen handelt, wurden ebenfalls Studien, die rein elektrophysiologische und biochemische Prozesse untersuchten, ausgeschlossen.

Für die Metaanalysen, die die Auswirkungen der Polymorphismen auf das QTc untersuchten, wurden EKG-Messungen bei Patienten unter  $\beta$ -Blocker-Therapie zusätzlich ausgeschlossen, da es dadurch zu Veränderungen des QTc kommen kann.

## **3.3 Statistik**

Als Rechenprogramm für die statistische Auswertung wurden das Microsoft Excel Programm (2016) sowie das StatsDirect Programm Version 3.1.8 benutzt, welche auch zur Verarbeitung der Daten und dem Erzeugen der Tabellen und Grafiken herangezogen wurden. Als Schreibprogramm wurde das Microsoft Word Programm (2016) verwendet.

Die Daten für die jeweiligen statistischen Analysen entstammen, soweit möglich, den Primärstudien, die somit im Literaturverzeichnis vorzufinden sind. Die Daten der erstellten Metaanalysen sind in Tabellenform im Anhang wie-

dergegeben, während die Ergebnisse der Metaanalysen mittels Forest plots dargestellt und im jeweiligen Kapitel abgebildet wurden.

Für die Metaanalysen, die fünf oder mehr Studien beinhalten, wurde ein Egger-Test durchgeführt, um einen möglichen Publication Bias zu identifizieren. Das Ergebnis wurde mittels Funnel plot visualisiert. War der p-Wert beim Egger-Test größer als 0,05, liegt kein signifikanter Hinweis auf Publication Bias vor. Bei den Metaanalysen mit weniger als fünf Studien wurde aufgrund der fehlenden Bedeutung dieser Untersuchung darauf verzichtet.

Bei der Untersuchung der häufigen Polymorphismen wurden für die Populationen, die als nicht-selektiert gelten können, also die Kontrollpopulationen, das Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) berechnet. Dies soll Hinweise darauf geben, ob die untersuchte Population auf die Grundgesamtheit übertragen werden kann. So wird das HWE klassischerweise bei einem  $p > 0,05$  im Chi<sup>2</sup>-Test als erfüllt angesehen. Hier gilt es jedoch zu erwähnen, dass in einigen Studien das HWE nicht angegeben war, und auch eine Berechnung nicht möglich war. Ebenso sahen andere Studien das HWE bei einem  $p > 0,01$  bereits als erfüllt an. Die Angaben zum HWE sind in tabellarischer Form im Anhang wiedergegeben (*Tabelle 21*).

Bei den Studien, die die Ergebnisse nach Geschlecht aufgetrennt haben, wurden diese zu einer Gruppe zusammengefasst. So wurde auch bei den Probanden verschiedener ethnischer Abstammung vorgegangen, welche zusammen als eine Studienpopulation subsumiert wurden. Dies beruht darauf, dass nicht ausreichend Daten für eine geschlechter-/ethnien-spezifische Untersuchung vorlagen.

Für die Metaanalysen wurde, wenn der p-Wert beim Cochran Q Test größer 0,05 war, das Fixed Effects Modell herangezogen. Bei einem p-Wert kleiner 0,05 wurde das Random Effects Modell verwendet.

Zur Berechnung der unterschiedlichen Prävalenzen der Polymorphismen für die LQTS-Gruppe sowie die Kontrollgruppe, wurden, wenn möglich, die absoluten Fallzahlen benutzt. Wenn dies aufgrund der Datenlage aus den Primärstudien nicht möglich war, wurde die Berechnung mittels der MAF durchgeführt, da diese sich aus den absoluten Fallzahlen berechnen lässt, jedoch nicht umgekehrt.

Die Umrechnung erfolgte mittels folgender Formel:

$$MAF = (2 \times \text{Homozygote MT} + \text{Heterozygote MT}) \div (2 \times \text{Total Pb})$$

Daraus ergibt sich somit für die MAF die Anzahl an mutierten Allelen, geteilt durch die Gesamtanzahl an untersuchten Allelen.

Ein Unterschied wurde als signifikant bezeichnet, wenn die Schätzer der beiden Gruppen jeweils nicht im 95% KI der Vergleichsgruppe lagen.

Je nach Datenlage wurde zur Berechnung der QTc-Veränderung durch den Polymorphismus entweder das QTc mit SD der Stichproben verwendet (genotypisches Modell) oder es wurden die Daten benutzt, welche die QTc-Veränderung pro minor Allel mit SE (allelisches Modell) abbilden. War bei der kumulativen Veränderung des QTc die Auswirkung derart, dass im 95% Konfidenzintervall die Zahl 0 eingeschlossen war, bedeutet dies, dass kein signifikanter Unterschied zwischen dem QTc der Mutationsträger und dem der Wildtypträger vorlag. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  fixiert.

Als Rechenfunktion wurde für die Prävalenz, für die LQTS-Gruppe sowie für die Kontrollgruppe mittels StatsDirect die Funktion ‚Metaanalysis → Proportion (Stuard-Ort)‘ verwendet. Da das Statistikprogramm StatsDirect für diese Berechnung absolute Zahlen anstatt von Prozentwerten benötigt, wurde die MAF mit der Anzahl an Probanden multipliziert.

Die Berechnung der Auswirkung des Polymorphismus auf das QTc beruht für das genotypische Modell auf der Funktion ‚Metaanalysis → Effect size (weighted mean difference from mean, n and SD)‘. Für die Berechnung der QTc-Veränderung pro minor Allel (allelisches Modell) wurde die Funktion ‚Metaanalysis → Summary (Other difference & SE)‘ herangezogen.

Bei den Metaanalysen, welche mittels genotypischem Modell, die Auswirkung der Mutationen auf das QTc untersuchten wurde das dominante Modell verwendet, wobei die homozygoten Mutationsträger mit den heterozygoten Probanden in eine Gruppe gefasst wurden und gegen die homozygoten Wildtypträger verrechnet wurden.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Datengewinnung

Insgesamt konnten durch die Literaturrecherche 370 Studien, mittels der in *Tabelle 2* angegebenen Suchbegriffe, identifiziert werden. Dann wurde anhand des Selektionsprozesses, der in *Abbildung 7* graphisch mittels Flussdiagramm dargestellt ist, solche Studien ausgeschlossen, die für die folgende Untersuchung irrelevant sind.

In der ersten Etappe wurden von den Studien, welche mehrfach bei den Suchbegriffen erschienen, die Duplikate aussortiert, da diese Studien ebenfalls lediglich nur einmal bearbeitet werden. Danach blieben noch 286 Studien zur Analyse übrig.

Dann wurden alle Studien, die vor dem Jahr 2000 publiziert wurden, ausgeschlossen (n=12). Da im Jahr 2000 in den USA ein Programm zur Genotypisierung von SNP mittels PCR vom NHGRI (National Human Genome Research Institute) anerkannt wurde (Hongbao, 2005), kann man davon ausgehen, dass ab diesem Zeitpunkt die Erkennung von SNP mittels PCR zuverlässig funktionierte.

Weiter wurden anhand des Titels solche Studien ausgeschlossen, die für das Long QT Syndrom und dessen Genetik irrelevant waren. Die danach übrig gebliebenen 216 Studien wurden mittels Abstract und Volltext weiter analysiert und auf das Vorhandensein von einem der in Kapitel 3.2.2 genannten Ausschlusskriterien untersucht.

Letztendlich blieben 64 Studien übrig, die für das Erstellen der Metanalyse und des Reviews herangezogen werden konnten. Zusätzlich wurden diese Studien auf Primärliteratur untersucht, welche in den Studien benutzt wurde, in der ‚Pubmed‘-Suche jedoch nicht auftauchte.

Im letzten Schritt wurden Daten bezüglich des Mutationsspektrums, der Prävalenz einzelner Genvarianten sowie zu den Auswirkungen auf das QTc extrahiert.

Es wurde darauf verzichtet Autoren bezüglich der Daten in ihren jeweiligen Studien sowie auch bei fehlenden Daten zu kontaktieren.

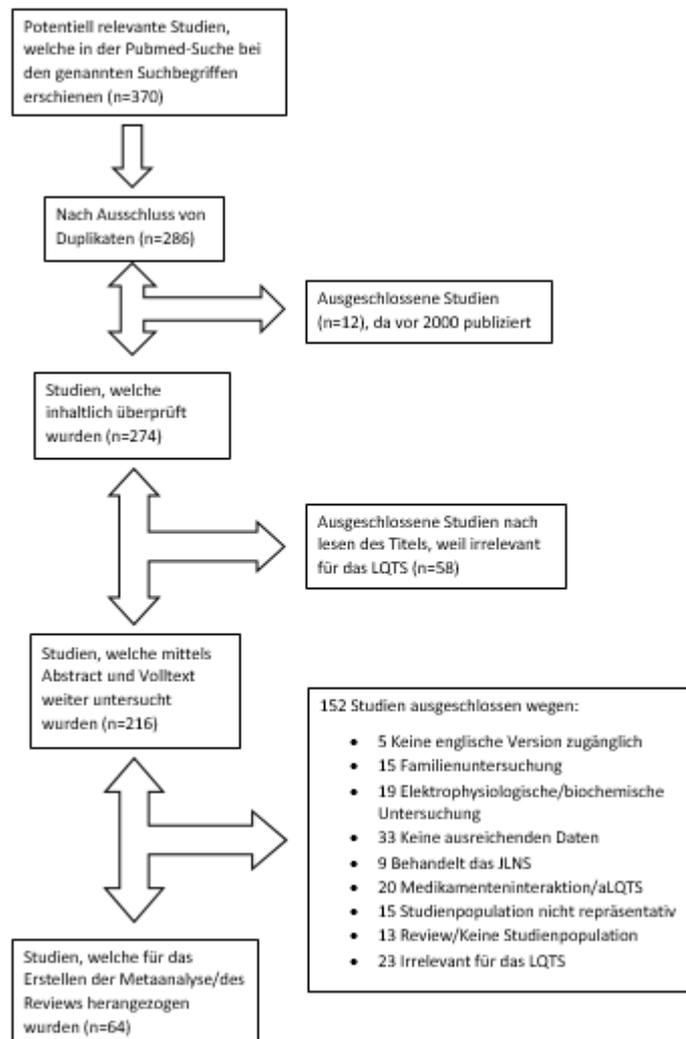


Abbildung 7: Flussdiagramm der eingeschlossenen/ausgeschlossenen Studien

## 4.2 Untersuchung des Mutationsspektrums von LQTS-Patienten

Zur Bestimmung der Prävalenz der einzelnen Mutationen wurde eine Tabelle erstellt, welche Daten aus den Studien beinhaltet, die eine unabhängige Genotypisierung der Studienpopulation, bestehend aus LQTS-Verdachtsfällen, durchgeführt hat. Dabei wurden alle Studien, die bereits identifizierte Patienten als Probanden nutzten, ausgeschlossen um Selektionsfehler zu vermeiden. Eine Ausnahme stellt die Studie von Christiansen et al. (2014) dar, die eine bereits genotypisierte Population untersuchte. Da jedoch alle genotyp-positiven Patienten miteinbezogen wurden, konnten die Daten (bis auf die Mutationsrate) wie bei den anderen Studien ausgewertet werden, ohne die Datenlage zu verfälschen.

Insgesamt konnten 17 Studien mit einer Gesamtzahl von 7118 Probanden in die Auswertung einbezogen werden (*Tabelle 3*). Die Größe der Studien unterscheidet sich erheblich, sodass die Spannweite der Studienpopulationen bei 2468 liegt. Allerdings ist vor allem die Studie von Kapplinger et al. (2009) zu nennen, die mit 2500 Probanden deutlich mehr Teilnehmer hat als die anderen Studien. Lässt man diese Studie außen vor, unterscheiden sich die Werte für den Mittelwert (n=289) und Median (n=215) weitaus weniger.

Die Detektionsrate, also die Anzahl an Patienten bei denen eine Mutation nachgewiesen werden konnte, liegt bei 56,5% (95%KI 56,2% bis 56,8%) und variiert deutlich von Studie zu Studie (Spannweite: 50%). Auch innerhalb einzelner Studien zeigen sich je nach Einschlusskriterien unterschiedliche Werte: Tester, Will, Haglund und Ackerman (2005) machten einzelne Berechnungen für die Gruppe der Probanden mit einem Schwartz-Score  $\geq 4$ . Dies ergab eine Detektionsrate von 72%, während in der Gesamtpopulation 50% der Probanden genotyp-positiv getestet wurden. Auch Berge et al. (2008) untersuchten eine Untergruppe der Population (25% der Probanden, die wegen verlängertem QTc einbestellt wurden), wobei sich zeigte, dass in der Untergruppe 71%, in der gesamten Population jedoch nur 32% genotyp-positiv waren.

Da die Detektionsrate an Mutationen sich im Verlauf der Jahre aufgrund des technischen Fortschritts sowie neuer Erkenntnisse über das Mutationsspektrum verändern kann, wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt, die die Variation von 2000 bis 2016 darstellen soll. Dabei konnte die lineare Regression angewendet werden, welche in *Abbildung 8* zu sehen ist, wobei die Regressionsgerade eine Steigung von +0,286 (95%KI -1,62 bis +2,19) hat. Das Bestimmtheitsmaß lag mit  $R^2=0,0074$  bei unter einem Prozent. Der Korrelationskoeffizient liegt bei 0,086 (p-Wert: 0,752), sodass dieser nicht signifikant vom 0-Wert abweicht.

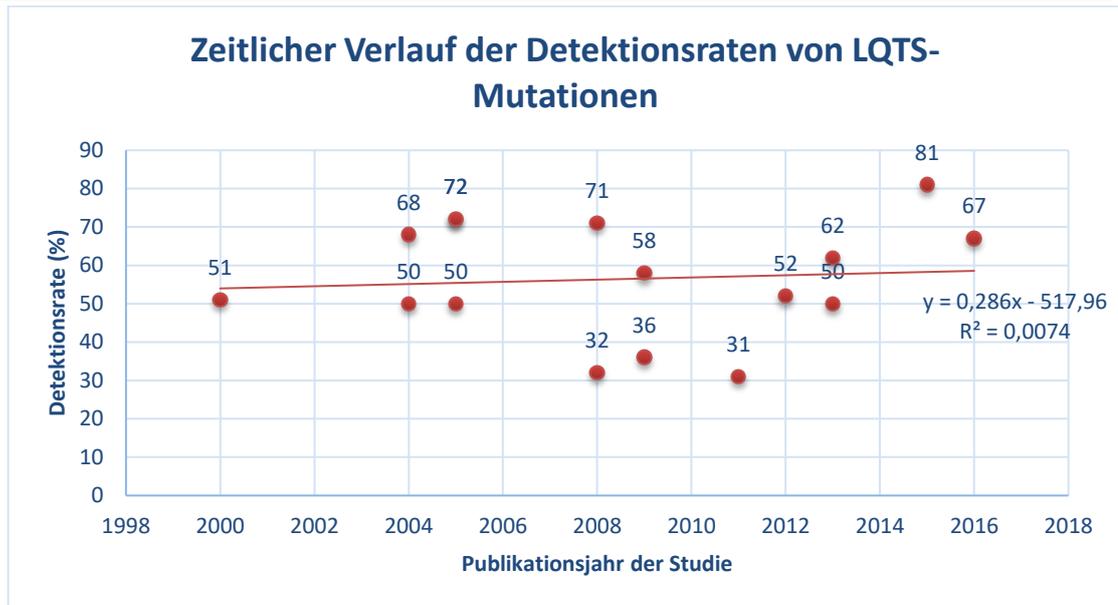


Abbildung 8: Zeitlicher Verlauf der Detektionsraten mit linearer Regression

Auch der Anteil an neuen Mutationen, die durch die einzelnen Studien gefunden werden, kann über den Verlauf der 17 Jahre, wo die einzelnen Studien durchgeführt wurden, variieren. Deshalb wurde auch diesbezüglich zusätzlich zur Bestimmung des Mittelwertes (49,4%) und des 95% KI (49,0% bis 49,7%) eine Regressionsanalyse mit linearer Regression durchgeführt. Die in *Abbildung 9* gezeigte Regressionsanalyse zeigt die Abnahmetendenz des Anteils neuer Mutationen (Steigung: -1,8304; 95% KI -3,97 bis -0,69). Das Bestimmtheitsmaß lag bei  $R^2=0,5323$ , sodass sich das Modell gut eignet, um die Variation des Anteils neuer Mutationen nach dem Publikationsjahr zu bestimmen. Das Modell erklärt somit 53,23% der Variation. Der p-Wert lag bei 0,0046, womit der Korrelationskoeffizient ( $r= -0,73$ ) signifikant verschieden vom 0-Wert ist.

Bei 8,2% (95% KI 8,0% bis 8,3%) der Patienten konnte mehr als eine Mutation nachgewiesen werden, dies entweder in Form einer Homozygotie, mehreren Mutationen in einem Gen oder einer Compound-Heterozygotie.

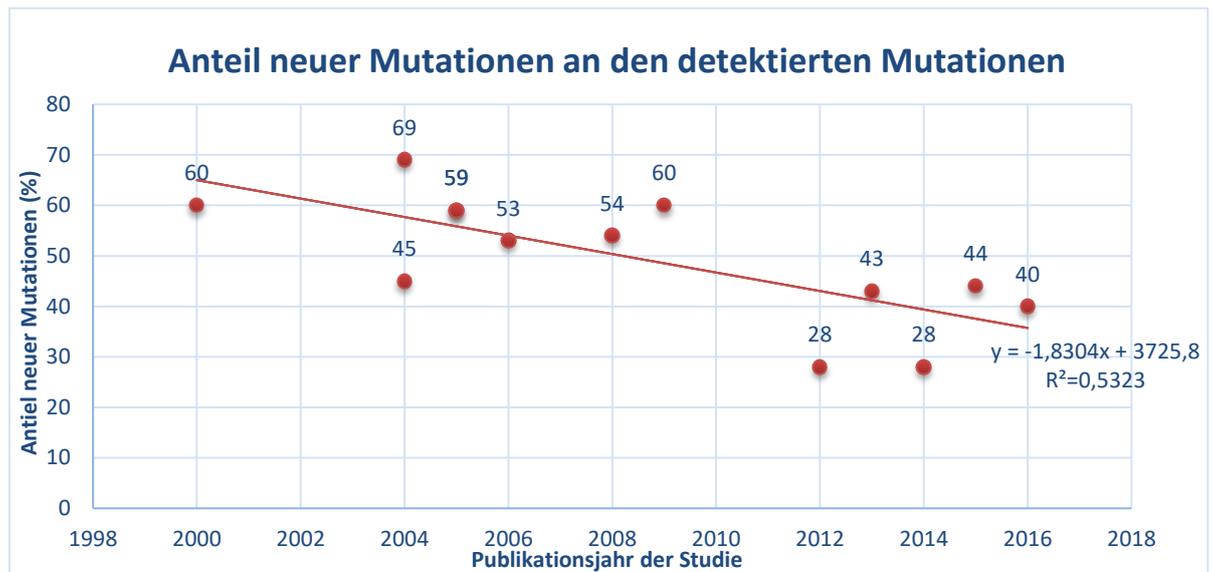


Abbildung 9: Zeitlicher Verlauf des Anteils neuer Mutationen mit linearer Regression

Bei einem Großteil der genotyp-positiven LQTS-Patienten konnte eine Mutation in den Genen KCNQ1 (47,1% 95%KI 46,9% bis 47,4%) und KCNH2 (36,7% 95%KI 36,5% bis 37,0%), die zusammen somit für über 80% der Fälle verantwortlich sind, nachgewiesen werden. Weiterhin war auch das SCN5A-Gen, welches in 12,9% der LQTS-Patienten eine pathogene Mutation aufweist (95%KI 12,7% bis 13,0%) häufig betroffen. Die anderen zwölf Gene, die in der Literatur als LQTS-auslösend identifiziert wurden, machen knapp über 10% aus. Die Tatsache, dass die Addition der Mittelwerte der Mutationen in allen Genen ein Wert von >100% ergibt, erklärt sich dadurch, dass die Patienten mit multiplen Mutationen mehrfach in die Rechnung einbezogen wurden.

Der überwiegende Anteil der Mutationen sind Missense-Mutationen (71% 95%KI 70,9% bis 71,1%), gefolgt von Frame-shift-Mutationen (11,8% 95%KI 11,8% bis 11,9%). Der Anteil der Nonsense-Mutationen und Inframe Insertions/Deletions beträgt jeweils 6,3% (95%KI 6,2% bis 6,4%). 5,1% der Mutationen sind Splice-site-Mutationen (95%KI 5,0% bis 5,1%). Untersuchungen zur Mutationslokalisierung zeigen, dass über die Hälfte der Mutationen (54,6% 95%KI 54,4% bis 54,7%) in der Transmembrandomäne der jeweiligen Gene vorzufinden ist. Rund 30% befinden sich in der C-terminalen Region und knapp über 15% in der N-terminalen Region.

*Tabelle 3: Zusammenfassung von Populationsscreening-Studien (2000-2016) bei LQTS-Verdachtsfällen mit Berechnung des Mittelwertes und des 95% Konfidenzintervalls. \* [Westenskow, Splawski, Timothy, Keating & Sanguinetti (2004)]*

	Splawski et al. (2000)	Jongbloed et al. (2002)	Fodstad et al. (2004)	Westenskow et al. (2004) *	Tester et al. (2005)	Napolitano et al. (2005)	Millat et al. (2006)	Berge et al. (2008)	Kapa et al. (2009)	Kapplinger et al. (2009)	Hofman et al. (2011)	Stattin et al. (2012)	Lee et al. (2013)	Yoshinaga et al. (2013)	Christiansen et al. (2014)	Gao et al. (2016)	Vyas et al. (2016)	Mittelwert	95% KI	
Indexpatienten (n)	262	32	939	252	541	430	44	169	388	2500	872	200	42	117	70	230	30	418,7	404,5	432,9
Detektionsrate (%) Alle Fälle/strengere Kriterien (‡ Schwarz-Score ≥4)	51	50	k. A	68	50/72‡	72	k. A	32/71	58	36	31	52	50	62	k. A	81	67	56,5	56,2	56,8
Verschiedene Mutationen (n)	177	16	42	k. A	211	233	45	37	180	562	k. A	64	k. A	61	64	104	20	129,7	126,0	133,4
Neue Mutation (%)	60	69	45	k. A	59	59	53	54	k. A	60	k. A	28	k. A	43	28	44	40	49,4	49,0	49,7
Multiple Mutationen (%)	k. A	0	k. A	8	10	5	2	0	6	9	k. A	4	k. A	16	1	8	37	8,2	8,0	8,3
Mutiertes Gen																				
KCNQ1 (%)	39	44	71	k. A	42	49	33	43	31	43	k. A	58	43	48	34	44	85	47,1	46,9	47,4
KCNH2 (%)	51	56	22	k. A	42	39	42	46	42	32	k. A	24	24	30	44	52	5	36,7	36,5	37,0
SCN5A (%)	6	k. A	6	k. A	15	10	16	9	27	13	k. A	13	14	23	14	4	10	12,9	12,7	13,0
KCNE1 (%)	2	0	k. A	k. A	0,5	2	2	2	k. A	3	k. A	1	0	7	5	k. A	k. A	2,2	2,2	2,3
KCNE2 (%)	2	0	k. A	k. A	0,5	1	7	k. A	k. A	1	k. A	1	0	0	3	k. A	k. A	1,6	1,5	1,6
Andere (%)	k. A	k. A	k. A	k. A	k. A	k. A	0	k. A	k. A	k. A	k. A	3	19	4	k. A	k. A	k. A	6,5	5,8	7,2
Mutationstyp																				
Missense (%)	72	69	69	k. A	73	72	73	65	81	70	k. A	70	k. A	79	69	72	60	71,0	70,9	71,1
Nonsense (%)	6	13	10	k. A	6	5	4	14	3	6	k. A	8	k. A	5	3	5	0	6,3	6,2	6,4
Frame-shift (%)	10	19	k. A	k. A	12	6	16	13	10	15	k. A	13	k. A	11	14	15	0	11,8	11,8	11,9
Splice site (%)	7	0	7	k. A	6	3	4	5	2	6	k. A	2	k. A	3	5	6	15	5,1	5,0	5,1
Inframe ins/del (%)	5	0	12	k. A	2	14	2	3	4	3	k. A	5	k. A	2	9	2	25	6,3	6,2	6,4
Mutationsregion																				
N-Terminal (%)	22	31	10	k. A	16	8	20	22	16	8	k. A	25	k. A	5	25	12	0	15,7	15,5	15,9
Transmembrandomäne (%)	54	44	67	k. A	49	64	56	54	47	57	k. A	47	k. A	58	49	53	65	54,6	54,4	54,7
C-Terminal (%)	24	25	24	k. A	35	28	27	24	37	35	k. A	28	k. A	38	26	37	35	30,2	30,1	30,3

### 4.3 Benigne von pathogenen Genvarianten unterscheiden

Aufgrund der Vielzahl an Mutationen, die im Rahmen des LQTS identifiziert worden sind, und auch aufgrund des großen Anteils neuer Mutationen, welche in jeder Studie auftauchen, ist es von großer Wichtigkeit, benigne Mutationen von pathogenen, also krankheitsauslösenden Mutationen, unterscheiden zu können.

Laut Kapa et al. waren bis 2009 weniger als 20% der entdeckten Mutationen auf die elektrophysiologischen Kanalfunktionen untersucht worden, sodass große Fall-Kontrollstudien zu den einzelnen Mutationen als Indiz herangezogen werden, um die Mutationen einordnen zu können.

Ein weiteres Problem stellt der von Diamant et al. (2013) gezeigte teilweise große Unterschied zwischen der in-vitro Kanalfunktion und den elektrophysiologischen Funktionen in-vivo dar, sodass die in-vitro Analysen nicht immer eindeutige Rückschlüsse auf die in-vivo Situation zulassen.

#### 4.3.1 Neue Mutationen einordnen

Eine große Studie, die versuchte, unbekannte Mutationen anhand ihrer Lokalisation und des Mutationstyps einzuordnen, ist von Kapa et al. (2009) mit knapp 400 LQTS-Patienten und über 1300 Kontrollpersonen durchgeführt worden. Sie berechneten je nach Mutationstyp und Lokalisation eine ‚estimated predictive value (EPV)‘.

$$\text{EPV} = (\text{Fall-Frequenz} - \text{Kontroll-Frequenz}) / \text{Fall-Frequenz}$$

Die Fall-Frequenz entspricht der Häufigkeit der Mutation in der LQTS-Population, während die Kontroll-Frequenz der Häufigkeit der gleichen Mutation in der Kontrollpopulation entspricht.

Die EPV soll angeben, mit welcher Wahrscheinlichkeit eine Mutation pathogen ist oder ob es sich um eine benigne ‚just rare, just there‘ Mutation handelt. Immerhin sind laut Kapa et al. (2009) 4% aller Kaukasier und 8% aller Nicht-Kaukasier Träger einer Mutation in einem der häufig betroffenen LQTS-Gene. Sie zeigten, dass radikale Mutationen (Splice-site, Nonsense, Frame-shift, Inframe insertions/deletions) unabhängig von ihrer Lokalisation in einem der drei untersuchten Gene eine sehr hohe EPV (>99%) hatten: KCNQ1:

EPV=100% (95% KI 95% bis 100%); KCNH2: EPV=99% (95% KI 94% bis 100%) & SCN5A: EPV= 91% (95% KI 10% bis 99%). Dies beruht darauf, dass in der LQTS-Population 51 von 388 Probanden eine solche Mutation aufwiesen, während in der Kontrollpopulation nur zwei radikale Mutationen gefunden wurden.

Anders als bei den radikalen Mutationen ist bei den Missense-Mutationen die Lokalisation wichtig und nimmt großen Einfluss auf die Pathogenität der Mutation. Für KCNQ1-Missense Mutationen lag die EPV insgesamt bei 95% (95% KI 92% bis 97%), wobei die EPV am N-Terminus (71%) deutlich niedriger war als in der Transmembran/Linker/Pore-Region (96%). Während auch der C-Terminus mit einer hohen EPV (95%) behaftet war, zeigt sich insbesondere in der SAD-Untereinheit eine EPV von 100%.

Für KCNH2-Missense Mutationen lag die EPV bei 84% (95% KI 84% bis 93%), wobei auch hier die EPV im N-Terminus (63%) deutlich geringer war als in der Transmembran/Linker/Pore-Region (100%). Die PAS/PAC-Domäne des N-Terminus jedoch wies eine EPV von 100% auf, genauso wie die cNBD des C-Terminus, der insgesamt nur ein EPV von 74% hatte.

Für SCN5A-Missense Mutationen lag die EPV bei 60% (95% KI 33% bis 75%), wobei sie im N-Terminus und in der IDL bei 0% lag, im C-Terminus bei 75% und in der Transmembran/Linker-Region bei 88%.

Auch eine Studie von Moss et al. (2007) versuchte, Mutationen nach ihrer Lokalisation, dem Mutationstyp und der biophysikalischen Funktion des Kanals einzuordnen, jedoch nicht um LQTS-auslösende von ‚Bystander‘-Mutationen zu unterscheiden, sondern um die klinischen Symptome voraussagen zu können. Dazu wurde eine Studienpopulation mit 600 Patienten mit gesicherter LQTS1-Diagnose untersucht. Es zeigt sich, dass Patienten mit einer Mutation in der Transmembran-Region ein 2,06-fach ( $p < 0,001$ ) höheres Risiko für kardiale Ereignisse hatten als solche mit einer Mutation im C-Terminus. Zusätzlich war auch das QTc in beiden Gruppen signifikant ( $p < 0,01$ ) unterschiedlich:  $485 \pm 53$  ms (Transmembran-Domäne) vs.  $460 \pm 61$  ms (C-Terminus). Auch zeigt sich, dass Patienten mit einem dominant-negativem Effekt ( $\geq 50\%$  Reduktion

des IKs) ein 2,26-fach höheres Risiko für kardiale Ereignisse hatten als solche mit einer Haploinsuffizienz (<50% Reduktion des IKs). Eine dritte Feststellung war, dass Patienten mit Missense-Mutationen signifikant ( $p < 0,01$ ) häufiger an Synkopen litten als Patient mit einer nicht-Missense-Mutation (34% vs. 21%).

Kolder et al. (2015) untersuchten über 600 LQTS2 Patienten und fanden für dieses Gen keinen signifikanten Unterschied für das QTc, wenn radikale Mutationen mit Missense Mutationen verglichen wurden ( $p = 0,13$ ). Es zeigte sich allerdings bezüglich der Mutationslokalisierung eine Beeinflussung des QTc: So sind Mutationen in der Transmembranregion (S1-S4) ( $496 \pm 55$ ms) mit einem signifikant ( $p = 2 \times 10^{-4}$ ) längeren QTc assoziiert als Mutationen im N-Terminus ( $458 \pm 47$ ms), in der Transmembran-Porenregion ( $474 \pm 40$ ms), oder im C-Terminus ( $462 \pm 46$ ms). Es konnte auch gezeigt werden, dass Patienten mit einer Mutation in der Transmembran-Porenregion ein längeres QTc hatten als Patienten mit Mutationen im C-/N-Terminus ( $p = 0,046$ )

#### 4.3.2 Mutationen entlarven

In Studien zur Identifizierung von LQTS-Patienten sowie im klinischen Alltag stellt das Genotypisieren eine fundamentale Etappe dar. Bei neuen Mutationen, die in der Kontrollgruppe nicht vorkommen, geht man systematisch davon aus, dass es sich bei diesen Mutationen somit um eine pathogene Mutation handelt, die für das LQTS verantwortlich ist. Der Prozentsatz an neuen Mutationen ist sehr hoch und da funktionale Analysen nicht in dem Ausmaß durchgeführt werden, wie neue Mutationen entdeckt werden, müssen auch Populationsstudien zum Einordnen von als pathogen angesehen Mutationen dienen.

Zu diesem Zweck untersuchten Refsgaard et al. (2012) 5400 gesunde Probanden aus dem ESP (Exome Sequencing Project) auf bekannte LQTS-Mutationen. Es wurden 33 von 631 bekannten LQTS Mutationen gefunden (5,2%), wovon 13 in  $\geq 3$  Allelen nachgewiesen werden konnten. Für die 33 detektierten Mutationen (alle Missense) sowie die restlichen 558 Missense-Mutationen wurden Polyphen-2-Analysen mittels Computerprogrammen durchgeführt (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), um mögliche Auswirkungen des Polymorphismus zu berechnen. Dort zeigte sich, dass in der Grup-

pe der gefundenen Polymorphismen mit 30% signifikant mehr als benigne eingestuft wurden als in der Gruppe der nicht-gefundenen Polymorphismen (13%;  $p=0,013$ ). Dies deutet darauf hin, dass nicht alle Polymorphismen, auch wenn elektrophysiologische Untersuchungen eine Modifikation der Ionenströme nachgewiesen haben, monogenetisch ein LQTS auslösen können.

Auch Ghouse et al. (2015) untersuchten eine gesunde Population von ungefähr 7000 Probanden auf die Präsenz von einer der 1358 bekannten Mutationen. Es wurden 33 Mutationen nachgewiesen, wobei 10 der Mutationen in  $\geq 8$  gesunden Probanden gefunden wurden. Bei insgesamt 227 Mutationsträgern entspricht dies einer Häufigkeit von pathogenen Genvarianten von knapp 4%, was sogar bei einer niedrigen Penetranz einer massiven Überrepräsentation von LQTS-Fällen in dieser Population entspräche. Daraufhin wurden die Mutationsträger mit den genotyp-negativen Probanden verglichen, wobei sich zwischen der Gruppe der Mutationsträger und der Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede bezüglich des QTc und der Rate an Synkopen ergab. Dies führte zu der Annahme, dass zumindest einige dieser Mutationen keinen, oder einen sehr geringen Effekt auf das QTc haben.

#### 4.4 Gründermutationen und deren Einfluss auf das QTc

In einigen Gegenden dieser Erde, wo die indigene Bevölkerung lange Zeit von der ‚Außenwelt‘ abgeschnitten war, zeigt sich ein besonderes Spektrum an Mutationen. Das LQTS ist an diesen Orten geprägt durch einzelne Genvarianten, die einen Großteil der Erkrankungsfälle erklären. Diese Mutationen sind in anderen Bevölkerungsgruppen nicht, oder in weitaus niedrigerer Prävalenz vorzufinden. Dies beruht vor allem auf der Abgeschlossenheit oder Isolation der Bevölkerung, sodass kaum neues genetisches Material zugetragen werden konnte (Brink & Schwartz, 2009).

Die am besten untersuchte Gründermutation ist die KCNQ1-A341V Mutation, die vor allem in Südafrika vorkommt. Auch die finnische Bevölkerung weist ein Spektrum von gut untersuchten Gründermutationen auf.

Aus didaktischen Gründen wird für die hier untersuchten Punktmutationen auf die geläufige AS-Sequenz als Angabe zurückgegriffen. Dies bedeutet, dass die Zahl angibt, an welcher Stelle die AS vertauscht wurde, der erste Buchstabe

stellt die Wildtyp-AS und der letzte Buchstabe die mutierte Variante dar (Ackerman et al., 2003).

Bei diesen Gründermutationen stammt eine große Population, die diese Mutation trägt, von einem Urahn ab, bei dem diese de novo entstanden ist. In einigen Fällen kann dieser durch genealogische Studien bestimmt werden und so das Datum der Mutationsentstehung abgeschätzt werden (Brink & Schwartz, 2009).

#### **4.4.1 Südafrikanische Gründermutation**

##### **4.4.1.1 Ursprung der Mutation**

KCNQ1-A341V ist eine Mutation, die seit den 2000er Jahren ausgiebig untersucht wurde. Dabei handelt es sich um eine Mutation, die vor allem in Südafrika vorkommt und genealogischen Studien zufolge um das Jahr 1720 dort de novo entstanden ist. Es konnten durch diese Studien zwei Ehepaare mit niederländisch-französischen Wurzeln gefunden werden, deren Kinder heirateten (Dirk Uys & Susanna Swart). Die Nachkommen aus dieser Verbindung sind die ersten Träger der KCNQ1-A341V Mutation, sodass laut Brink und Schwartz (2009) einer der Eltern von Dirk Uys oder von Susanna Swart als Ur-Träger in Frage kommt.

Die Afrikaaner-Population (v.a. Einwanderer aus den Niederlanden, Deutschland und Frankreich) vermehrte sich aus einem kleinen Genpool mit 2.540 Menschen im Jahr 1730 und verachzigfachte sich innerhalb von 150 Jahren, währenddessen kaum neues genetisches Material zugetragen wurde (Segregation, geringe Anzahl neuer Einwanderer). Der Ursprung der Mutation konnte auf eine Region 200km vor Kapstadt geortet werden, von wo er dann durch Bevölkerungswanderungen in Südafrika verteilt wurde (Brink & Schwartz, 2009).

##### **4.4.1.2 Charakteristika der Mutation**

Laut Hedley et al. (2013) sind knapp über die Hälfte (52%) der LQTS-Patienten in Südafrika Träger dieser Mutation.

Brink et al. beschrieben im Jahr 2005 die A341V Mutation anhand von 22 südafrikanischen Familien, wo die Mutation bekannt war. Von den 320 unter-

suchten Probanden trugen 166 (52%) die Mutation, während sie bei 154 Probanden nicht nachgewiesen werden konnte.

In erster Instanz wurde von Brink et al. (2005) das QTc der Mutationsträger mit dem der genotyp-negativen Probanden verglichen, wo festgestellt werden konnte, dass das QTc der Mutationsträger signifikant verlängert ist ( $487\pm 45\text{ms}$  vs.  $401\pm 25\text{ms}$ ;  $p<0,001$ ).

Auch in einer Studie von Heradien et al. (2006) zeigte die Wildtyp-Gruppe signifikant kürzere QTc-Intervalle als die Mutationsträger:  $414\pm 18\text{ms}$  vs.  $508\pm 58\text{ms}$  ( $p<0,0001$ ).

Dieses Ergebnis wurde 2009 von Crotti et al. bestätigt, wo auch gezeigt werden konnte, dass trotz großer Spannweite des QTc ( $397\text{-}676\text{ms}$ ), dieses im Vergleich zum Wildtyp-Allel signifikant verlängert ist ( $487\pm 44\text{ms}$  vs.  $402\pm 23\text{ms}$ ;  $p<0,001$ ).

Das gemessene QTc der A341V-Träger entspricht in etwa den Werten, die Crotti et al. (2016) fanden:  $485\pm 3,6\text{ms}$ .

Auch de Villiers et al. konnten 2014 dieses Ergebnis reproduzieren, mit einem um 21,4% verlängertem QTc (Median:  $401\text{ms}$  vs.  $483\text{ms}$ ;  $p<0,001$ ).

Symptomatische Probanden hatten laut Brink et al. (2005) ein längeres QTc als nicht-symptomatische ( $493\pm 48\text{ms}$  vs.  $468\pm 31\text{ms}$ ;  $p=0,026$ ), während ein QTc  $\geq 500\text{ms}$  mit einer signifikanten Risikoerhöhung für kardiale Ereignisse assoziiert war (OR=4,22; 95%KI, 1,12 bis 15,80;  $p=0,033$ ). Auch der Einfluss der Herzfrequenz auf den Phänotyp wurde getestet, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen Mutationsträgern und Nicht-Trägern festgestellt werden konnte. Allerdings war innerhalb der Gruppe der Mutationsträger, die HF bei symptomatischen Patienten höher als bei nicht-symptomatischen ( $71\pm 11\text{ bpm}$  vs.  $65\pm 13\text{ bpm}$ ;  $p=0,026$ ).

Es konnte, wie in *Abbildung 10* gezeigt, nachgewiesen werden, dass die Gruppe der Mutationsträger mit QTc  $< 500\text{ms}$  und HF  $< 73\text{bpm}$  im Vergleich zu den anderen drei Gruppen ein signifikant niedrigeres Risiko für Herzereignisse aufwies (OR=0,19; 95%KI, 0,06 bis 0,59;  $p=0,005$ ).

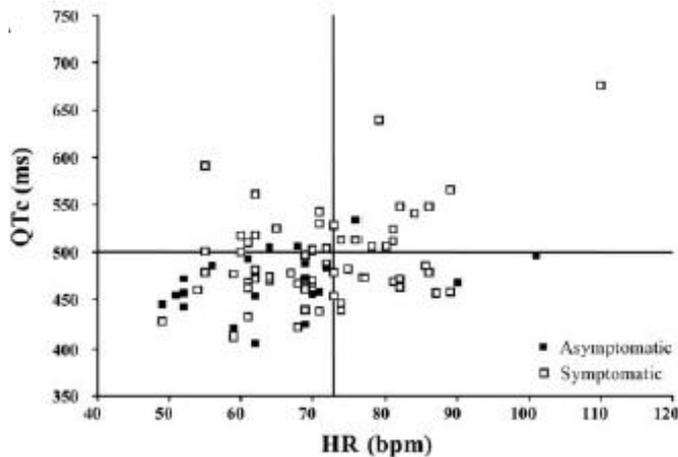


Abbildung 10: Verteilung der Mutationsträger nach Symptomen, HF & QTc – nach Brink et al. (2005)

Dass diese Mutation eine schwerwiegende ist, zeigt sich in der Studie von Brink et al. (2005) nicht nur in der geringeren Anzahl an Patienten mit normwertigem QTc (12% bei A341V vs. 36% in LQTS1 database;  $p < 0,001$ ), sondern vor allem in der höheren Inzidenz von kardialen Ereignissen vor dem 40. Lebensjahr (79% bei A341V vs. 30% bei LQTS1;  $p < 0,001$ ) (Abbildung 11 links) und dem früheren Auftreten dieser Ereignisse:  $7 \pm 4$  Jahre bei A341V vs.  $13 \pm 9$  Jahre bei LQTS1 ( $p < 0,001$ ).

Auch die Studie von de Villiers et al. (2014) bestätigt diese Ergebnisse mit 73% symptomatischen A341V-Trägern, wobei das erste Symptom im Median bereits mit 6 Jahren (Range: 2-22) auftrat.

In einer rezenten Studie von Crotti et al. (2016) waren 100 der 142 Probanden symptomatisch gewesen (70%).

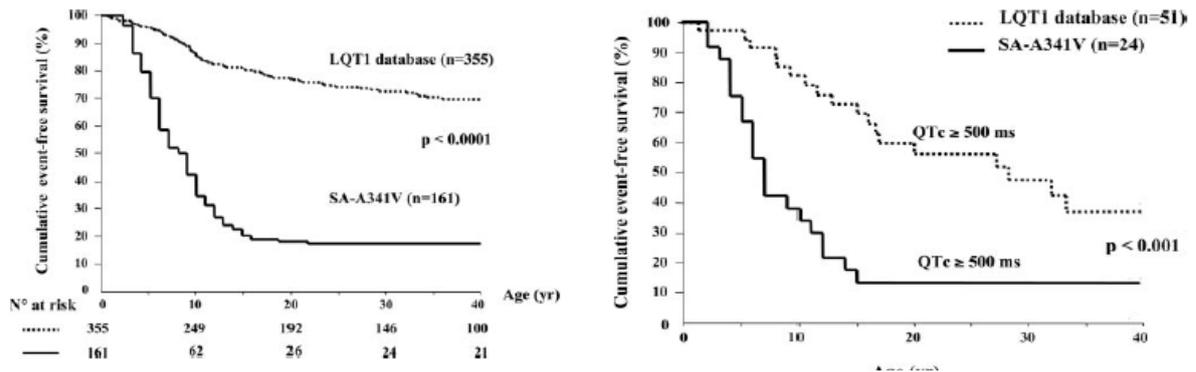


Abbildung 11: Links: Kumulatives event-freies Überleben bei A341V-Trägern im Vergleich zu LQTS1-Mutationsträgern<sup>i</sup>. Rechts: Kumulatives event-freies Überleben bei Frauen mit QTc > 500ms und A341V im Vergleich zu QTc > 500ms und LQTS1-Mutationsträgern<sup>i</sup> (<sup>i</sup>Daten für LQTS1-Mutation aus Priori et al. 2003) – nach Brink et al. (2005)

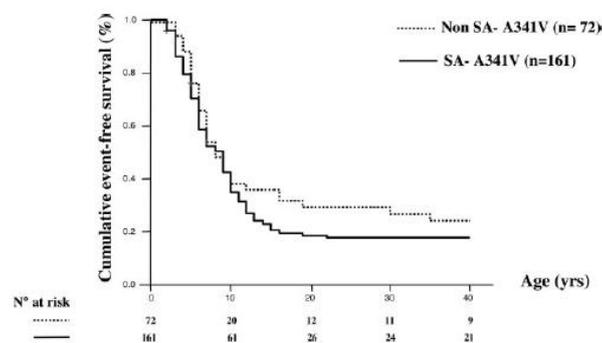
In einem weiteren Schritt wurden von Brink et al. (2005) die Gründermutationsträger mit einer Gruppe heterogener LQTS1-Mutationsträger verglichen, wobei man die Gruppe der Frauen mit QTc  $\geq$  500ms auswählte, um das längere QTc bei A341V als beeinflussenden Faktor auszuschließen. Auch dort zeigt die A341V-Mutation ein signifikant niedrigeres event-freies Überleben (Abbildung 11 rechts).

Obwohl diese Mutation vor allem in Südafrika vorkommt, kommt sie auch in anderen Ländern vor. Crotti et al. (2007) untersuchten, ob es zwischen der südafrikanischen A341V-Gruppe (SA-A341V) (die von Brink et al. (2005) beschrieben wurde) und der nicht-südafrikanischen Gruppe (Non-SA-A341V), die aus 78 A341V-Trägern aus acht Ländern besteht, Unterschiede gibt. Dadurch sollte geklärt werden, ob es einen zusätzlichen Faktor in Südafrika gäbe, der die Pathogenität der A341V-Mutation in dieser geografischen Region erklären würde.

*Tabelle 4: Klinische Charakteristika der Studienpopulationen und Vergleich beider Gruppen – nach Crotti et al. (2007)*

	Non-SA-A341V Population	SA-A341V Population	P
Genotype-positive patients, n	78	166	...
Families, n	21	22	...
Female gender, n (%)	43 (55)	89 (54)	0.9
Symptomatic (any first event before 40 y of age), n (%)	53 (68)	131 (79)	0.09
Median age at onset, y (IQR)	6 (5–9)	6 (4–10)	0.82
CA/SCD, n (%)	19 (24)	55 (33)	0.21
SCD, n (%)	10 (13)	24 (14)	0.88
Asymptomatic, n (%)	25 (32)	35 (21)	...
≤15 y of age, n (%)	13 (17)	9 (5)	<0.01
ECG off β-blocker therapy, n	63	90	...
QTc, ms	484±42	485±45	0.89
≤440 ms, n (%)	5 (8)	11 (12)	0.56
≥500 ms, n (%)	15 (24)	30 (33)	0.27
Median follow-up, y (IQR)	21.5 (11–40)	33 (17–56)	0.001

Wie in *Tabelle 4* dargestellt, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Populationen bezüglich der Symptomatik sowie auch der Dauer des QT-Intervalls. Auch das event-freie Überleben, welches in *Abbildung 12* gezeigt ist, unterscheidet sich nicht signifikant zwischen der SA-A341V und der non-SA-A341V Population.



*Abbildung 12: Nicht-adjustierte Kaplan-Meier-Kurven zum event-freien Überleben der SA-A341V & Non-SA-A341V-Populationen (vor β-Blocker-Therapie) – nach Crotti et al. (2007)*

Aufgrund der Tatsache, dass sich die SA-A341V nicht signifikant von der non-SA-A341V-Population unterscheidet, fassten Crotti et al. (2007) diese beiden Gruppen zusammen und untersuchten sie gegenüber Probanden mit beliebigen LQTS1 Mutationen (jedoch nicht A341V).

Diese Untersuchungen bestätigen die Ergebnisse von Brink et al. (2005) und de Villiers et al. (2014). In *Tabelle 5* sind die Ergebnisse dargestellt mit einer signifikanten Erhöhung von Patienten mit  $QTc \geq 500ms$ , einer signifikanten Verringerung der Patienten mit normalem  $QTc$ , sowie einer signifikanten Erhöhung der klinischen Symptome für die Träger von KCNQ1-A341V.

Eine Studie von Itoh et al. (2015) zeigt auch signifikante Unterschiede zwischen japanischen A341V-Trägern und LQTS1-Trägern, wobei auch hier das  $QTc$  der A341V-Träger länger ist:  $497 \pm 40ms$  vs.  $474 \pm 46ms$  ( $p=0,011$ ). Diese Probanden wurden ebenfalls häufiger symptomatisch: 58% vs. 34% ( $p=0,044$ ).

*Tabelle 5: Beschreibung der gesamten A341V-Population (SA & non-SA) und Vergleich mit einer LQTS1-nicht-A341V-Population – nach Crotti et al. (2007)*

	All A341V	LQTS1 Non-A341V	P
Genotype-positive patients, n	244	205	...
Female gender, n (%)	132 (54)	122 (59.5)	0.29
Symptomatic (any first event before 40 y of age), n (%)	184 (75)	49 (24)	<0.001
Median age at onset, y (IQR)	6 (5–10)	11 (4–17)	0.001
CA/SCD, n (%)	74 (30)	14 (7)	<0.001
ECG, n (%)	153 (63)	190 (93)	...
$QTc$ , ms	$485 \pm 43$	$465 \pm 38$	<0.001
$\leq 440$ ms, n (%)	16 (10.5)	45 (24)	0.002
$\geq 500$ ms, n (%)	45 (29)	26 (14)	0.001
Median follow-up, y (IQR)	30 (15–51)	32 (14–46)	0.35

#### 4.4.1.3 Statistische Auswertung

Zum Erstellen einer Metaanalyse bezüglich der Auswirkungen der Genvariante auf das QT-Intervall konnten drei Studien herangezogen werden, die sowohl das  $QTc$  der Mutationsträger sowie das  $QTc$  der Wildtypträger bestimmt haben. Der p-Wert beim Cochran Q Test betrug 0,73, weshalb für die Auswertung das Fixed Effects Modell herangezogen wird. Dort zeigte sich eine signifikante Verlängerung ( $p < 0,0001$ ) des  $QTc$  für die Mutationsträger um 86,4ms (95% KI 79,7ms bis 93,0ms) gegenüber den homozygoten Trägern des Wildtypallels.

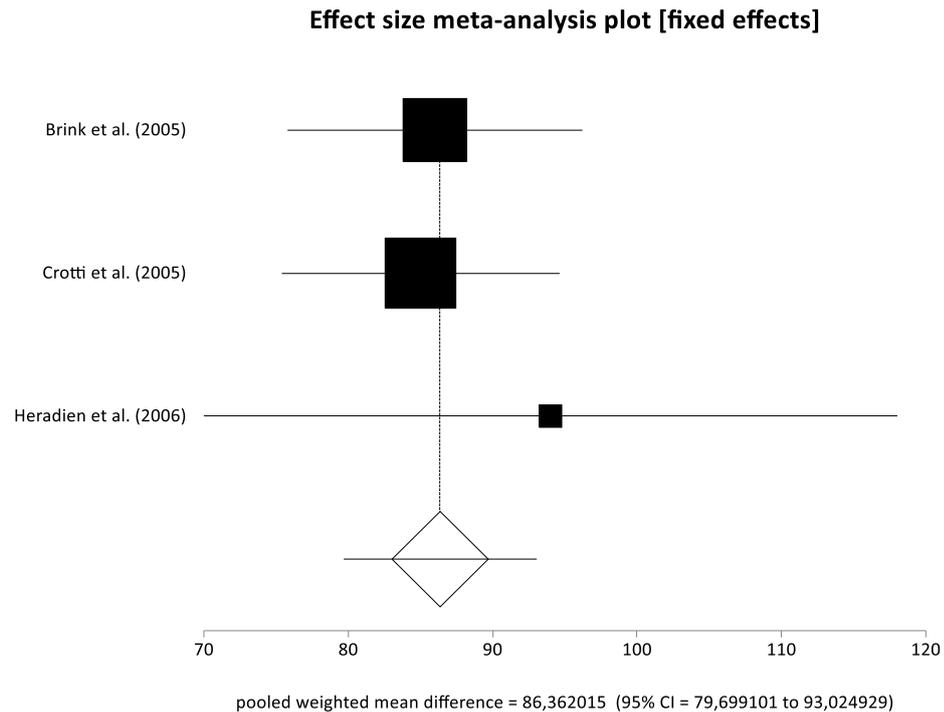


Abbildung 13: Metaanalyse zur Auswirkung von *KCNQ1-A341V* auf das *QTc*

#### 4.4.2 Finnische Gründermutationen

##### 4.4.2.1 Vier Gründermutationen

In Finnland sind vier Gründermutationen für den Großteil der LQTS-Fälle verantwortlich, davon sind zwei in *KCNQ1*: G589D (=KCNQ1-FinA) und IVS7-2A>G (=KCNQ1-FinB) sowie zwei in *KCNH2*: L552S (=HERG-FinA) und R176W (=HERG-FinB) (Fodstad et al., 2004).

##### 4.4.2.2 Geographische Verteilung

Untersuchungen der Völkerwanderungen innerhalb Finnlands legen laut Piippo et al. (2001) nahe, dass die *KCNQ1*-FinA-Mutation vor 500 bis 750 Jahren das erste Mal in der finnischen Population aufgetaucht ist, also etwa 25 bis 35 Generationen zuvor. Die Geburtsorte der Ahnen, die diese Mutation trugen, entsprechen den internen Wanderungen innerhalb Finnlands im 16. Jahrhundert.

Wie in *Abbildung 14* zu sehen, sind auch die drei anderen Gründermutationen in Finnland geographisch lokalisiert: Während *KCNQ1*-FinB und *HERG*-FinB

eher im Süden des Landes vorkommen, findet man HERG-FinA eher im mittleren Teil des Landes (Fodstad et al., 2004).

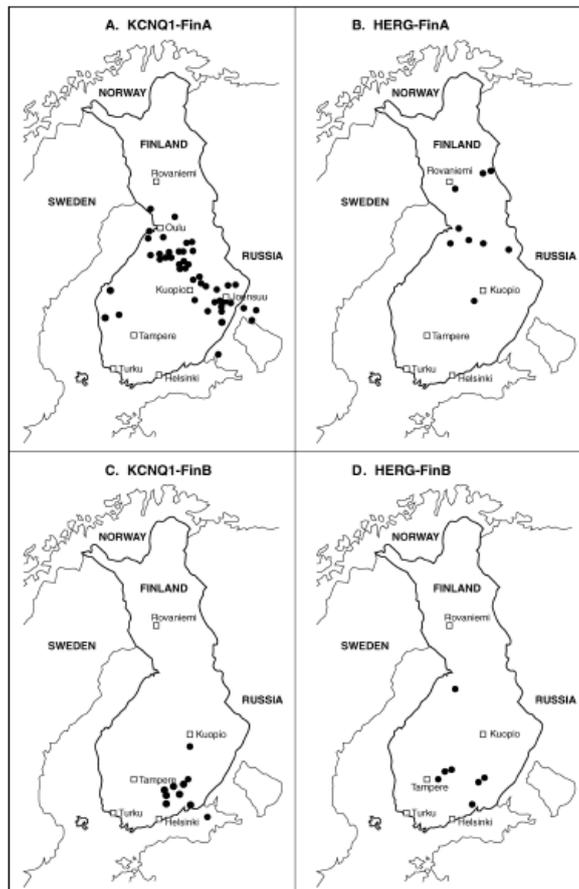


Abbildung 14: Geographische Verteilung der vier finnischen Gründermutationen. Jeder Punkt steht für den Geburtsort eines Mutationsträgers der zwischen 1890 und 1925 geboren wurde. – nach Fodstad et al. (2004)

#### 4.4.2.3 Charakteristika der Mutationen

Im Jahr 2004 untersuchten Fodstad et al. 188 LQTS-Patienten aus Finnland. Sie trugen diese Werte mit den bisherigen Studien an finnischen LQTS-Patienten zusammen. Dabei stellten sie fest, dass 687 der bis jetzt identifizierten 939 LQTS-Patienten in Finnland eine Gründermutation trugen (73%): 508 waren genotyp-positiv für die KCNQ1-FinA-Mutation, 55 für die KCNQ1-FinB-Mutation, 90 für die HERG-FinA-Mutation und 34 für die HERG-FinB-Mutation. In den 150 Familien mit LQTS in Finnland trugen 103 eine der vier Mutationen (69%).

*Tabelle 6: Spektrum der finnischen LQTS-Mutationen – nach Fodstad et al. (2004)*

Gene	Mutation	No. of families	No. of patients	Study (reference)	
<b>KCNQ1</b>	Y171X <sup>a</sup>	1	5	Piippo et al. 2001 (3)	
	D202H	1	1	Present study	
	R231C	1	3	Present study	
	W248C	1	7	Present study	
	G269S	1	10	Ackeman et al. 1999 (22)	
	S277L	1	2	Liu et al. 2002 (23)	
	277delS	1	7	Present study	
	T311P <sup>a</sup>	1	4	Saarienen et al. 1998 (17)	
	D317N <sup>a</sup>	1	32	Wolink et al. 1997 (24)	
	A341V	1	7	Wang et al. 1996 (9)	
	1032G > A	1	4	Kanters et al. 1998 (21)	
	R366W	2	9	Splawski et al. 1998 (25)	
	IVS7-2A > G (KCNQ1-FinB)	11	55	Present study	
	R518X	3	10	Wei et al. 2000 (26)	
	S547L	1	3	Present study	
	1685delAG, +1delG	1	4	Present study	
	G589D <sup>a</sup> (KCNQ1-FinA)	89	508	Piippo et al. 2001 (3)	
	<b>All KCNQ1 mutations</b>	<b>98</b>	<b>671</b>		
	<b>HERG</b>	C39X	1	3	Present study
		453delCA <sup>a,b</sup>	2	39	Lalinen et al. 2000 (18)
R176W <sup>a,b</sup> (HERG-FinB)		12	34	Lalinen et al. 2000 (18)	
R273X		1	1	Present study	
P451L <sup>a</sup>		1	5	Lalinen et al. 2000 (18)	
1382delA		1	1	Present study	
W497X		1	1	Present study	
1631delAG <sup>a,b</sup>		2	8	Lalinen et al. 2000 (18)	
L552S <sup>a,c</sup> (HERG-FinA)		11	90	Piippo et al. 2000 (16)	
Y589H <sup>a</sup>		1	1	Lalinen et al. 2000 (18)	
G572S		1	2	Present study	
G584S <sup>a,c</sup>		1	16	Lalinen et al. 2000 (18)	
G601S <sup>a</sup>		1	3	Akimoto et al. 1998 (27)	
T613M <sup>a</sup>		1	1	Jongbloed et al. 1999 (28)	
N629S		1	4	Saifer et al. 1998 (29)	
IVS13 + 1G > A		1	4	Present study	
3160insA		1	1	Present study	
<b>All HERG mutations</b>		<b>40</b>	<b>214</b>		
<b>SCN5A</b>		A185T	3	3	Present study
	R190G	3	10	Present study	
	I239V	1	5	Present study	
	R340Q	1	1	Present study	
	A691T	1	1	Present study	
	V1667I <sup>a</sup>	1	20	Piippo et al. 2001 (19)	
	E1784K	1	8	Wei et al. 1999 (30)	
	V1951L	1	6	Iwasa et al. 2000 (31)	
	<b>All SCN5A mutations</b>	<b>12</b>	<b>54</b>		
	<b>All three genes</b>	<b>42 different mutations</b>	<b>150</b>	<b>939</b>	

<sup>a</sup> The mutations have been described previously in the Finnish population (3, 16–19).

<sup>b</sup> The mutations were also identified in the present study.

<sup>c</sup> The mutations have also been reported in other populations (15).

KCNQ1-FinA wurde von Piippo et al. (2001) in keinem von 200 gesunden Finnen gefunden, jedoch in 34 von 114 finnischen LQTS-Probanden.

Fodstad et al. (2006) untersuchten 700 Finnen mit Verdacht auf das LQTS, wobei bei 66 Patienten die KCNQ1-FinA-Mutation, bei 13 KCNQ1-FinB, bei 13 HERG-FinA und bei 12 HERG-FinB nachgewiesen werden konnte. Die Kontrollpopulation, bestehend aus 317 gesunden Finnen, zeigte in 3 Fällen (0,9%) die HERG-FinB-Mutation während die drei anderen Gründermutationen in keinem der Probanden nachgewiesen werden konnten.

Marjamaa, Salomaa et al. (2009) untersuchten 6263 Finnen auf das Vorhandensein einer der vier Gründermutationen. Dabei zeigte sich in der Allgemeinbevölkerung eine Prävalenz von 0,4% (95% KI 0,3% bis 0,6%) dieser vier pathogenen Mutationen.

Es zeigte sich bei Piippo et al. (2001) ein signifikanter Unterschied im QTc der Patienten und Familienmitglieder, die die KCNQ1-FinA Mutation trugen, gegenüber den Familienmitgliedern mit Wildtyp-Allel:  $460\pm 40\text{ms}$  vs.  $410\pm 20\text{ms}$  ( $p < 0,001$ ).

Das QTc, welches von Fodstad et al. (2004) für die Träger der KCNQ1-FinA Mutation gemessen wurde ( $462\pm 38\text{ms}$ ), entsprach in etwa dem QTc der Probanden in Piippo et al. (2001). Bei KCNQ1-FinB war das QTc  $470\pm 31\text{ms}$ , bei HERG-FinA und HERG-FinB war es  $463\pm 45\text{ms}$  beziehungsweise  $459\pm 40\text{ms}$ .

Auch Crotti et al. (2016) fanden bezüglich des QTc für die KCNQ1-FinA-Mutation ( $459\pm 1,5\text{ms}$ ) und für KCNQ1-FinB ( $466\pm 3,5\text{ms}$ ) ähnliche Werte.

Die im Jahr 2000 von Laitinen et al. durchgeführte Studie fand auch Unterschiede zwischen den finnischen Gründermutationen für HERG-FinB und dem Wildtyp:  $463\pm 42\text{ms}$  vs.  $408\pm 23\text{ms}$ .

Fodstad et al. (2006) untersuchten die QTc-Differenz zwischen finnischen Gründermutationsträgern und dem Wildtyp und fanden ein signifikant verlängertes QTc für alle vier Mutationen ( $p < 0,0001$ ): KCNQ1-FinA ( $457\pm 33\text{ms}$  vs.  $414\pm 24\text{ms}$ ), KCNQ1-FinB ( $464\pm 32\text{ms}$  vs.  $411\pm 20\text{ms}$ ), HERG-FinA ( $459\pm 40\text{ms}$  vs.  $417\pm 22\text{ms}$ ) & HERG-FinB ( $448\pm 30\text{ms}$  vs.  $416\pm 26\text{ms}$ ).

Die von Marjamaa, Salomaa et al. (2009) untersuchte finnische Population zeigte eine signifikante Verlängerung in der Dauer des QTc für die heterozygoten Mutationsträgern von KCNQ1-FinA und von HERG-FinB verglichen mit dem Wildtyp:  $+50,5\text{ms}$  (SE 7,1;  $p < 0,001$ ) beziehungsweise  $+22,2\text{ms}$  (SE 4,7;  $p < 0,001$ ).

Das QTc der Probanden in der Studie von Koponen et al. (2015) unterschied sich zwischen der Gruppe der non-FF und der Gründermutationsträger. Der Unterschied war signifikant zwischen non-FF-KCNQ1 und KCNQ1-FinA ( $475\pm 43\text{ms}$  vs.  $454\pm 34\text{ms}$ ;  $p = 0,01$ ) und zwischen non-FF-KCNH2 und HERG-FinA ( $480\pm 39\text{ms}$  vs.  $448\pm 32\text{ms}$ ;  $p < 0,001$ ) sowie zwischen non-FF-KCNH2 und HERG-FinB ( $480\pm 39\text{ms}$  vs.  $436\pm 31\text{ms}$ ;  $p < 0,001$ ).

Der Anteil symptomatischer Patienten lag bei Piippo et al. (2001) unter den 316 heterozygoten Trägern von KCNQ1-FinA bei 26%.

Von den 508 KCNQ1-FinA-Patienten, die von Fodstad et al. (2004) zusammengefasst wurden, waren 30% symptomatisch. Bei den 55 Trägern von KCNQ1-FinB waren es 25%, während bei HERG-FinA und HERG-FinB 38% beziehungsweise 23% symptomatische Träger waren.

Crotti et al. (2016) untersuchten eine Population von KCNQ1-FinA-Trägern, wobei 11% der Patienten symptomatisch waren. Bei den KCNQ1-FinB-Trägern waren 10% symptomatisch.

Auch Koponen et al. (2015) untersuchten die vier Gründermutationen, verglichen sie jedoch mit anderen Mutationen in den gleichen Genen (non-FF) und fanden für beide Gene ein reduziertes Risiko beim Tragen von einer der Gründermutationen im Vergleich zu non-FF. Bei KCNQ1 war das Hazard Ratio (HR) 0,33 (95%KI 0,12 bis 0,91;  $p=0,03$ ), bei KCNH2 war es 0,16 (95%KI 0,04 bis 0,66;  $p=0,01$ ). Es wurden Kaplan-Meier-Kurven, zum Vergleich des event-freien Überlebens bis zum 18. Lebensjahr, erstellt, wobei gezeigt wurde, dass die finnischen Gründermutationen mit weniger kardialen Ereignissen behaftet sind als die non-FF Mutationen: KCNQ1: 11% vs. 26% ( $p=0,008$ ) und KCNH2: 4% vs. 43% ( $p=0,002$ )

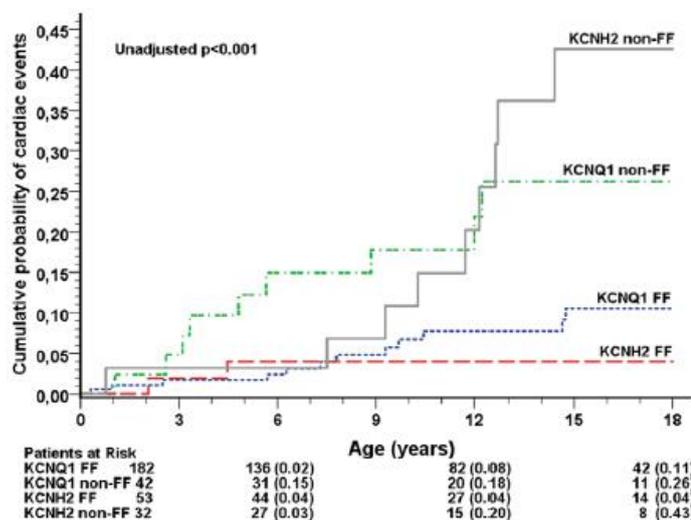


Abbildung 15: Kaplan-Meier-Kurven zum event-freien Überleben von LQTS-Probanden mit finnischer Gründermutation und non-FF – nach Koponen et al. (2015)

#### 4.4.2.4 Statistische Auswertung

Für zwei der vier Gründermutationen konnte eine Metaanalyse erstellt werden, und zwar für KCNQ1-FinA und die HERG-FinB Mutation. In beiden Fällen wurde die Auswirkung der Mutation auf das QTc untersucht, wobei für KCNQ1-FinA bei einem p-Wert von 0,081 im Cochran-Q-Test das Fixed Effects Modell angewandt wurde. Dort wurde herausgefunden, dass die Mutation zu einer signifikanten Verlängerung des QTc um 45,8ms (95% KI 42,7ms bis 48,8ms;  $p < 0,0001$ ) führte. Für die HERG-FinB Mutation wurde ebenfalls das Fixed Effects Modell (Cochran-Q-Test  $p = 0,49$ ) angewandt, wobei es zu einer signifikanten Verlängerung des QTc um 33,8ms (95% KI 27,0ms bis 40,6ms;  $p < 0,0001$ ) kam.

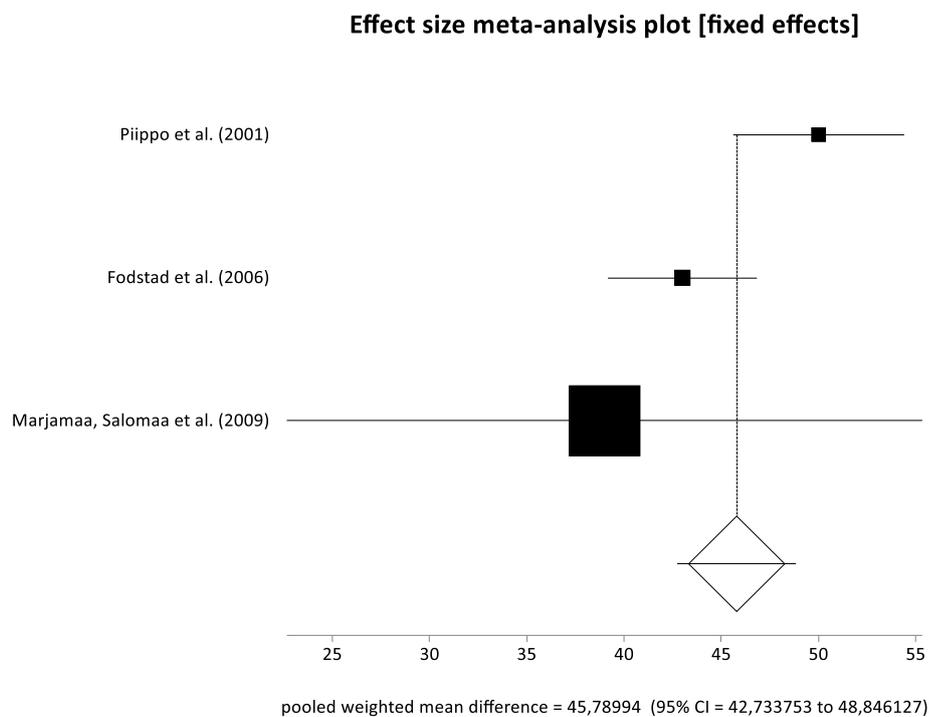


Abbildung 16: Metaanalyse zur Auswirkung von KCNQ1-FinA auf das QTc

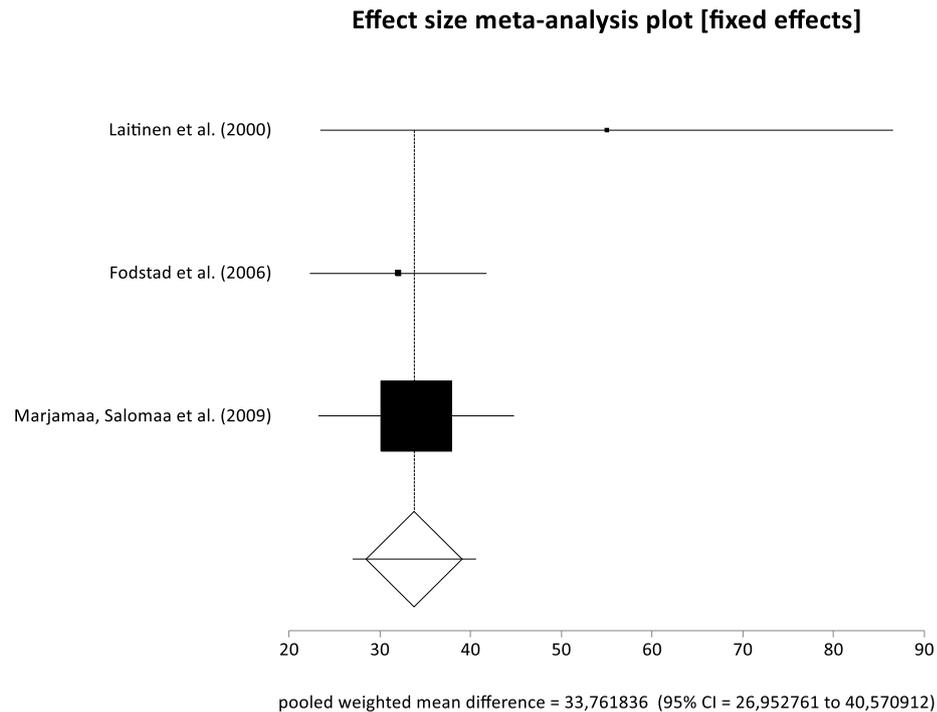


Abbildung 17: Metaanalyse zur Auswirkung von *HERG-FinB* auf das *QTc*

#### 4.4.3 Schwedische Gründermutationen

Auch in Schweden sind zwei Gründermutationen bekannt. Laut Winbo et al. (2014) sind das Y111C (Missense) und R518X (Nonsense), beide in *KCNQ1*. Sie machen laut Stattin et al. (2012) zusammen über 25% der genotyp-positiven schwedischen LQTS-Patienten aus. In einer Studie mit 103 genotyp-positiv Schweden zeigten sie, dass 20 Patienten positiv waren für Y111C und 6 für R518X. Diamant et al. schrieben 2013, dass Y111C einen dominant-negativen Effekt hat, während R518X eine Haploinsuffizienz verursacht.

Das Entstehen von R518X wird auf vor 28 Generationen (95%KI 19 bis 41) datiert, und passierte wahrscheinlich in der Gegend um Umeå in Schweden. Laut Winbo et al. (2011) wurde die Y111C-Mutation vor ungefähr 600 Jahren in Schweden eingeführt, von wo sie sich dann ausbreitete (siehe *Abbildung 18*).

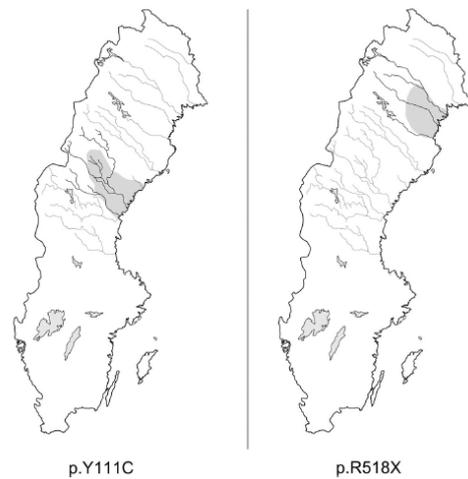


Abbildung 18: Geographische Darstellung des Ursprungs der beiden schwedischen Gründermutationen (Y111C & R518X) – nach Winbo et al. (2014)

Winbo et al. (2014) haben gezeigt, dass der Phänotyp von R518X recht benigne ist: Die jährliche Inzidenz von lebensbedrohlichen Ereignissen beträgt 0,04%, was sich signifikant von einer LQTS1-Population (0,3%) unterscheidet ( $p=0,007$ ).

Winbo et al. (2009) zeigten auch für den Y111C-Phänotyp eine benigne Klinik: nur 30% der unter 40-Jährigen waren je symptomatisch gewesen und nur 1 der 80 Patienten erlitt einen ACA/SCD. Ähnlich war die jährliche Inzidenz von lebensbedrohlichen Ereignissen bei Trägern von Y111C signifikant niedriger als in einer LQTS1-Population: 0,05% vs. 0,3% ( $p=0,025$ ).

Diamant et al. (2013) untersuchten eine Y111C-Studienpopulation, wobei 17 von 47 (36%) Erwachsenen Synkopen erlitten, und 1 von 47 (2%) einen ACA erlitt. In der R518X-Population hatten 5 von 28 (18%) Erwachsenen eine Synkope und keiner einen ACA (0%). In der LQTS1-Vergleichsgruppe, bestehend aus 75 Erwachsenen, erlitten 22 (29%) Synkopen und 1 einen ACA (1%). 55% der R518X-Mutationsträger aus der Studie von Winbo et al. (2014) hatten ein normales bis grenzwärtiges QTc. Der Mittelwert des QTc liegt bei  $462\pm 34$ ms. Es zeigte sich, dass nur 17% der Träger ein QTc  $\geq 500$ ms hatten.

In der Studie von Diamant et al. (2013) unterschied sich das QTc der R518X-Träger signifikant von der Gruppe der Y111C-Träger:  $446\pm 33$ ms vs.  $460\pm 26$ ms ( $p<0,05$ ).

Winbo et al. (2017) fanden für Träger von Y111C ein QTc von  $483 \pm 34$ ms, während das QTc der R518X-Träger bei  $462 \pm 34$ ms lag.

Für die Studienpopulation von Winbo et al. (2009) zeigte sich für die Träger von Y111C ein signifikant längeres QTc im Vergleich zu Trägern anderer Mutationen in LQTS1:  $481 \pm 36$ ms vs.  $465 \pm 38$ ms ( $p=0,001$ ). Es zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied in der Anzahl an symptomatischen Patienten zwischen beiden Gruppen.

Auch Diamant et al. (2013) untersuchten eine Studienpopulation mit Y111C-Trägern, wobei diese sich nicht signifikant von der LQTS1-Population unterschied:  $460 \pm 26$ ms vs.  $455 \pm 29$ ms.

## 4.5 Häufige Polymorphismen

Häufige Polymorphismen sind in den meisten Studien definiert als Genvarianten, die mit einer Prävalenz von  $>1\%$  in der Allgemeinbevölkerung, beziehungsweise in der Studienpopulation vorkommen. Wie im Punkt 2.2 ‚Polymorphismus vs. Mutation‘ bereits erwähnt, ist diese Einteilung sehr von der definierten Studienpopulation abhängig. Trotzdem wird auch hier der Begriff aus der gängigen Literatur übernommen, um eine einheitliche Nomenklatur über die einzelnen Studien hinweg zu gewährleisten.

Aziz et al. (2013) zeigten, dass Patienten, die Träger des minor Allels eines Polymorphismus sind, ein signifikant längeres QTc im Vergleich zu Wildtyp-Probanden haben und, dass homozygote Mutationsträger im Vergleich zu den heterozygoten Trägern ein wiederum längeres QTc hatten. Weiterhin zeigten Barsheshet et al. (2011), dass das Risiko für Synkopen bei Trägern des mutierten Allels von Polymorphismen im Vergleich zu den Wildtypträgern signifikant erhöht ist.

Crotti et al. (2005) sehen in den Polymorphismen neben der unterschiedlichen Penetranz der pathogenen Mutationen eine mögliche Erklärung für die klinische Heterogenität von Patienten mit der gleichen Mutation, da diese die Suszeptibilität für Arrhythmien verändern können.

Allerdings ist es wichtig zu identifizieren, welche Polymorphismen einen Einfluss haben und somit das QT-Intervall und den klinischen Phänotyp des

LQTS beeinflussen können und welche Polymorphismen klinisch inapparent bleiben.

#### 4.5.1 KCNE1 – D85N – Polymorphismus

Eine Studie von Nishio et al. (2009) untersuchte die Häufigkeit des D85N Polymorphismus in einer Gruppe von LQTS-Patienten sowie in einer Kontrollgruppe. Es zeigten sich signifikante Unterschiede bezüglich der Prävalenz des mutierten Allels: Während in der Kontrollgruppe die MAF 0,81% betrug, waren in der LQTS-Gruppe 2,1% der Allele vom minor Typ ( $p < 0,05$ ).

Die Frequenz des minor Allels des D85N-Polymorphismus lag bei der gesunden Population aus dem QTGEN-Konsortium bei 1% (Newton-Cheh et al., 2009).

Im PAGE-Konsortium, eine Untersuchung gesunder Probanden von Seyerle et al. (2014), zeigten sich je nach Ethnie minor Allel Frequenzen von 0,2% bis 1%.

Aydin et al. (2005) konnten den Polymorphismus mit einer MAF von 1% in einer gesunden Population nachweisen.

Auch Ackerman et al. (2003) untersuchten gesunde Probanden verschiedener Ethnien und fanden für das minor Allel des D85N-Polymorphismus Frequenzen von 0% bis 1,1%.

Iwasa, Itoh, Nagai, Nakamura und Tanaka (2000) fanden das minor Allel mit einer Frequenz von 2% in einer Gruppe bestehend aus 50 gesunden Japanern.

Marjamaa, Newton-Cheh et al. (2009) untersuchten eine Population von über 5000 gesunden Finnen (Health2000), wobei das minor Allel mit einer Frequenz von 1,4% auftrat.

Noseworthy et al. (2011) fanden eine Allelfrequenz von 1% bei knapp 7000 gesunden Finnen. Die Studienpopulation war zusammengesetzt aus den Daten der ‚Health2000‘-Studie und der ‚Mini-Finnland‘ Gruppe.

Refsgaard et al. (2012) fanden unter 5400 gesunden Probanden des ‚Exome Sequencing Project (EPS)‘ eine MAF von 0,8%.

Die MAF der Population Singapurs, lag bei 0,4% für die Chinesen und je 0% für die Malaysier und Inder (Koo, Ho & Lee, 2005).

Lehtinen et al. (2009) fanden eine MAF von 0,8% bei einer Population von gesunden Kaukasiern.

Millat et al. (2006) untersuchten 42 LQTS-Patienten und fand die mutierte Variante des Polymorphismus mit einer Frequenz von 3,6%.

Bei Aziz et al. (2013) zeigten 3 der 43 LQTS-Patienten die D85N-Mutation in ihrer heterozygoten Form.

Lahtinen, Marjamaa, Swan und Kontula (2011) untersuchten finnische LQTS-Patienten, die das minor Allel mit einer Frequenz von 3,2% trugen.

Jongbloed et al. (2002) untersuchten LQTS-Patienten aus den Niederlanden und Belgien und fanden eine MAF von 1,6%.

Nishio et al. (2009) verglichen das QTc der LQTS-Patienten mit dem D85N-Polymorphismus mit LQTS-Patienten, die eine andere LQTS-verursachende Mutation aufwiesen. Dort zeigte sich, dass letztere ( $540,6 \pm 6,1$ ms) ein signifikant längeres QTc aufwiesen als die D85N-Patienten ( $507 \pm 9,2$ ms;  $p < 0,05$ ).

Lahtinen et al. (2011) untersuchten die Auswirkung des Polymorphismus in einer Gründerpopulation Finnlands und fand eine signifikante Verlängerung des QTc ( $+16,9$ ms/minor Allel;  $p = 0,007$ ) für die LQTS-Patienten, welche zusätzlich zum KCNQ1-FinA noch das minor-Allel des D85N-Polymorphismus trugen. Bei der Untersuchung nach Geschlecht zeigte sich dieser Effekt jedoch nur für männliche Probanden ( $+25,7$ ms/minor Allel;  $p = 0,003$ ), während bei weiblichen Probanden kein signifikantes Ergebnis gefunden wurde ( $+0,7$ ms;  $p = 0,935$ ). Der Effekt war ähnlich, wenn nicht nur die KCNQ1-FinA, sondern die gesamten LQTS-Patienten betrachtet wurden: das minor Allel führte pro Kopie zu einer Verlängerung des QTc um 13,1ms ( $p = 0,028$ ), wobei wiederum bei der Auftrennung nach Geschlecht nur für die Männer ( $+20,1$ ms/minor Allel;  $p = 0,010$ ) eine signifikante Verlängerung gefunden wurde, während bei den Frauen eine nicht-signifikante Verlängerung festgestellt wurde ( $+1,6$ ms/minor Allel;  $p = 0,857$ ).

Auch Newton-Cheh et al. (2009) untersuchten die Auswirkung des Polymorphismus in der gesunden Bevölkerung (QTGEN-Konsortium,  $n = 7644$ ), wobei sie für das minor Allel eine signifikante ( $p = 2 \times 10^{-8}$ ) Verlängerung des QTc fanden ( $+8,4$ ms/minor Allel).

Eine Untersuchung von Pfeufer et al. (2009) anhand von über 15000 Probanden (QTSCD-Konsortium) fand für den D85N-Polymorphismus keinen signifikanten Einfluss auf das QTc (+1,01ms pro mutiertem Allel;  $p=0,18$ ).

Seyerle et al. (2014) untersuchten eine gesunde Population von knapp 29000 gesunden Probanden (PAGE-Konsortium, 5 Ethnien) auf Auswirkungen des D85N-Polymorphismus. Es zeigte sich insgesamt eine signifikante Verlängerung des QTc (+5,92ms/minor Allel;  $p=10^{-16}$ ). Bei der Auftrennung nach Ethnien zeigte sich für alle fünf Ethnien eine Verlängerung des QTc, jedoch war diese nur signifikant für die europäische und die afroamerikanische Population, nicht für Asiaten, Hispanics und American Indians.

Marjamaa, Newton-Cheh et al. (2009) fanden für die Träger des mutierten Allels ein um 10,5ms pro minor Allel verlängertes QTc im Vergleich zu Wildtypträgern ( $p=3,6 \times 10^{-11}$ ).

Noseworthy et al. (2011) fanden für das mutierte Allel eine signifikante Verlängerung des QTc um 10,4ms pro minor Allel ( $p=9 \times 10^{-11}$ ) gegenüber dem Wildtypallel.

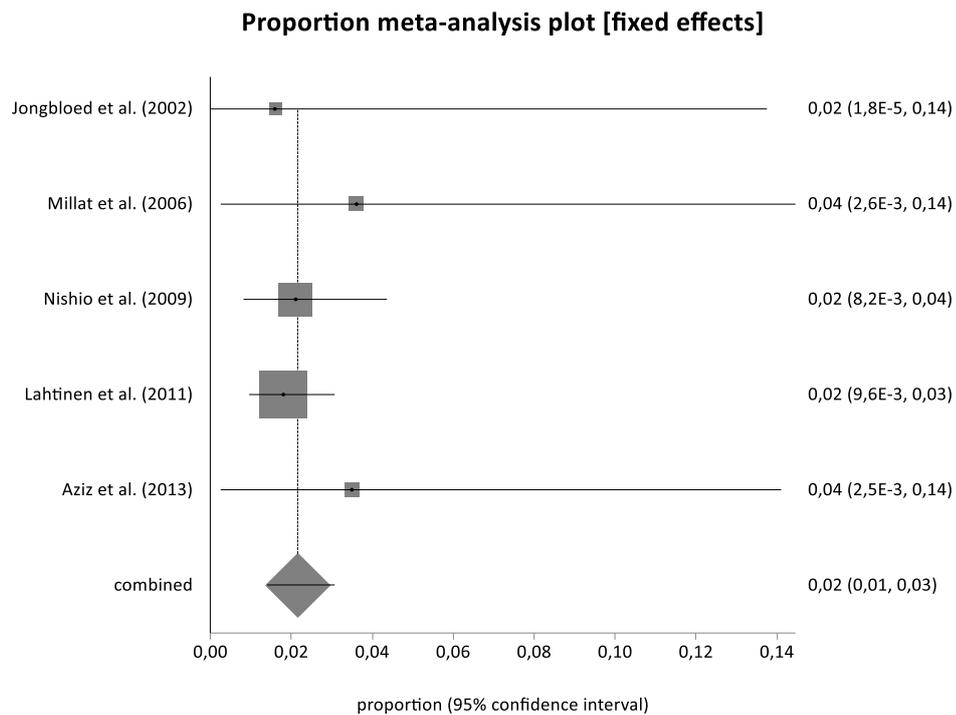
Eine Studie von Gouas et al. (2005) untersuchte über 2000 gesunde Franzosen (DESIR-Kohorte), von denen je 200 mit dem längsten QTc und 200 mit dem kürzesten QTc ausgewählt und dann genotypisiert wurden. Es zeigte sich, dass in der Gruppe der Probanden mit dem längeren QTc die MAF des Polymorphismus mit 3% signifikant höher war als in der Gruppe der kürzeren QTc mit 0,8% ( $p=0,016$ ).

#### 4.5.1.1 Statistische Auswertung

Zur Häufigkeit des D85N Polymorphismus konnte eine Metaanalyse jeweils für die Gruppe der LQTS-Probanden und die Kontrollpopulation angefertigt werden.

Für die LQTS-Probanden fand man für das Fixed Effects Modell (Cochran Q Test:  $p=0,744$ ) eine MAF von 2,16% (95%KI 1,40% bis 3,08%). Der p-Wert beim Egger-Test war 0,1444, sodass kein signifikanter Hinweis auf ein Publication Bias vorliegt. Dies wird in *Abbildung 21 (links)* mittels Funnel plot visualisiert.

In der Kontrollpopulation ergab sich, bei einem p-Wert von 0,0108 im Cochran Q Test, beim Random Effects Modell für das minor Allel eine Frequenz von 0,94% (95%KI 0,78% bis 1,11%). Der p-Wert beim Egger-Test war 0,9743, sodass kein signifikanter Hinweis auf Publication Bias vorliegt. Dies wird in *Abbildung 21 (rechts)* mittels Funnel plot visualisiert.



*Abbildung 19: Metaanalyse zur Prävalenz des KCNE1-D85N Polymorphismus in der LQTS-Population*

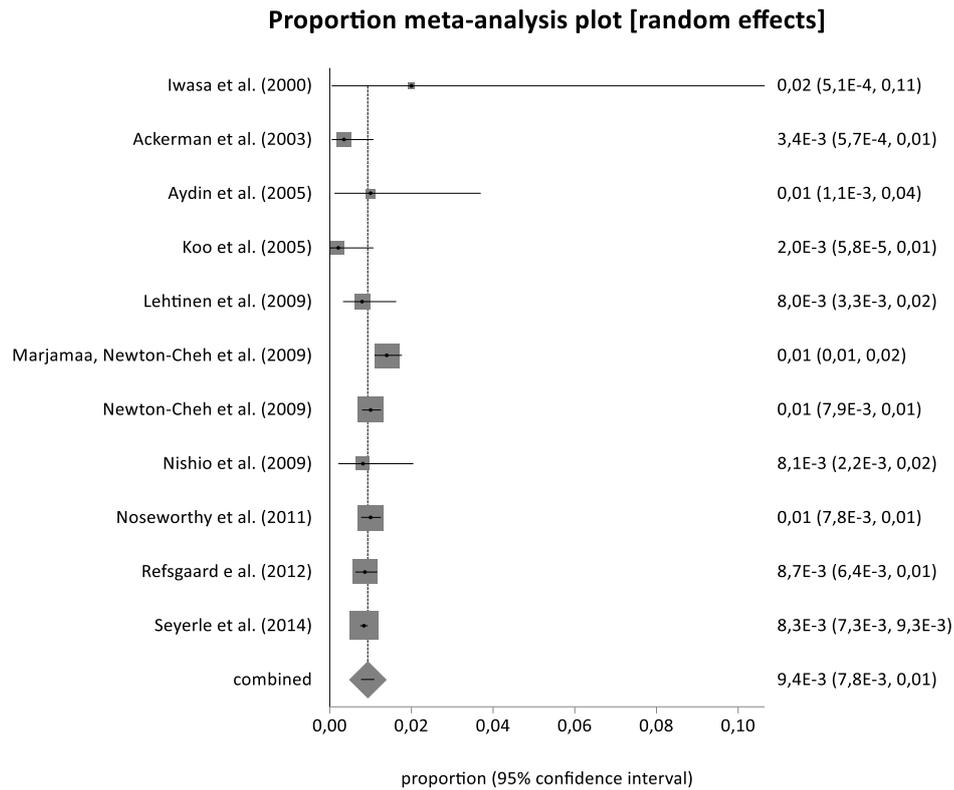


Abbildung 20: Metaanalyse zur Prävalenz des *KCNE1-D85N* Polymorphismus in der Kontrollpopulation

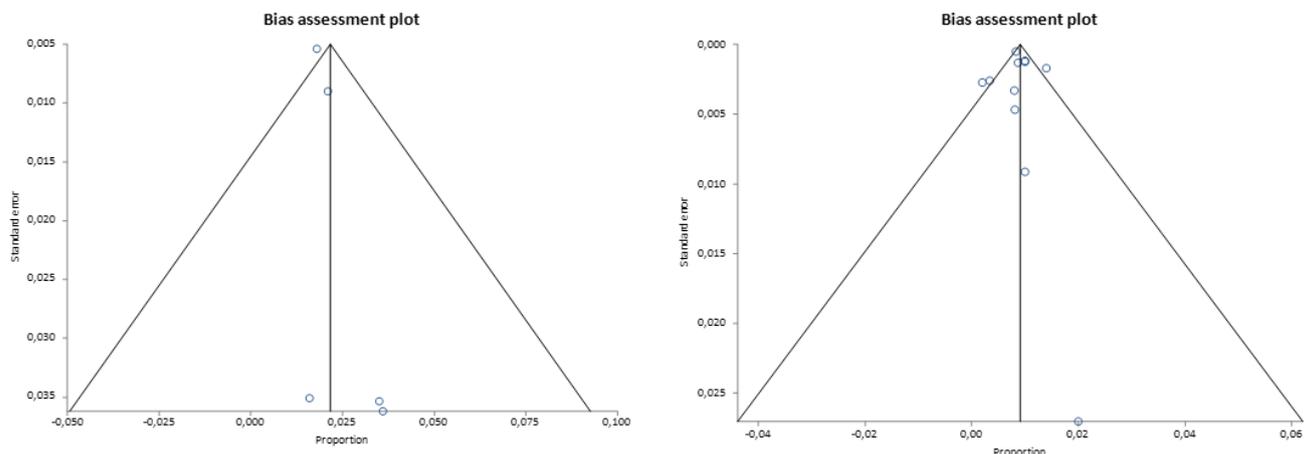
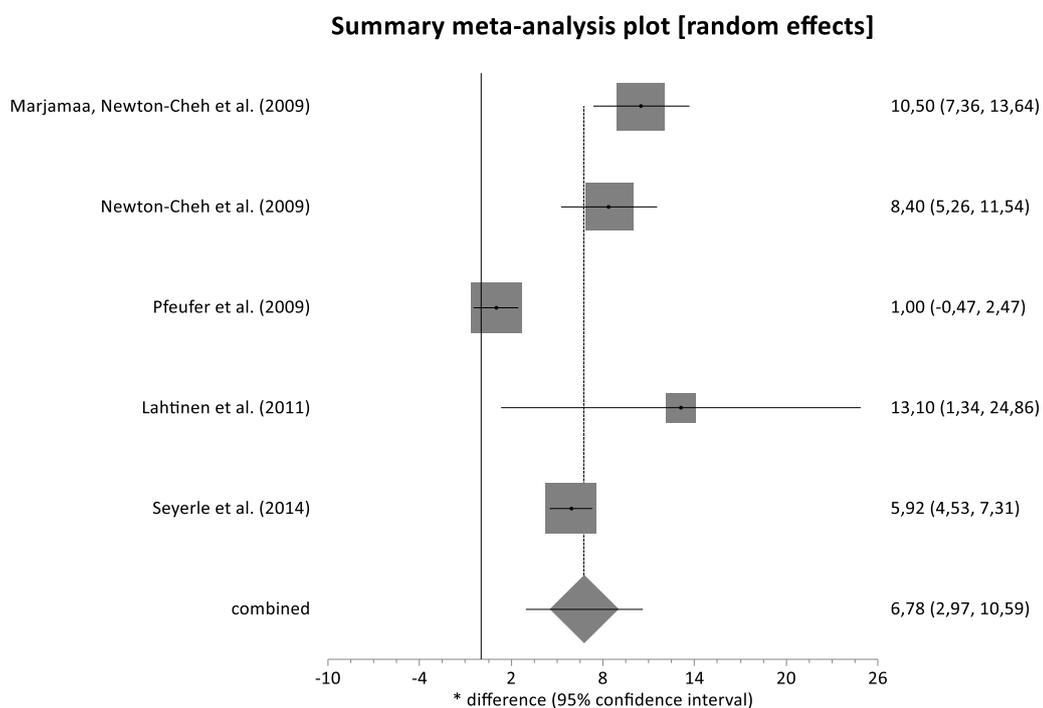


Abbildung 21: Funnel Plots zu den Proportion-Metaanalysen für die Prävalenz des *D85N*-Polymorphismus in der *LQTS*-Population (links) und in der Kontrollpopulation (rechts)

Außerdem konnte für die Auswirkung des D85N-Polymorphismus auf das QTc eine Metaanalyse erstellt werden, die eine signifikante Verlängerung des QT-Intervalls für die Träger des mutierten Allels feststellte. So konnten die Daten, nach dem allelischen Modell aus fünf Studien in die Metaanalyse einbezogen werden. Bei einem p-Wert von  $<0,0001$  im Cochran Q Test wurde das Random Effects Modell verwendet, welches eine Verlängerung des QTc um 6,78ms pro minor Allel feststellte (95%KI 2,97ms bis 10,59ms;  $p=0,0005$ ). Der p-Wert beim Egger-Test war 0,3194, sodass kein signifikanter Hinweis auf Publication Bias vorliegt. Dies wird in *Abbildung 23* mittels Funnel plot visualisiert.



*Abbildung 22: Metaanalyse zur Auswirkung von KCNE1-D85N auf das QTc (Angabe als QTc-Differenz/minor Allel)*

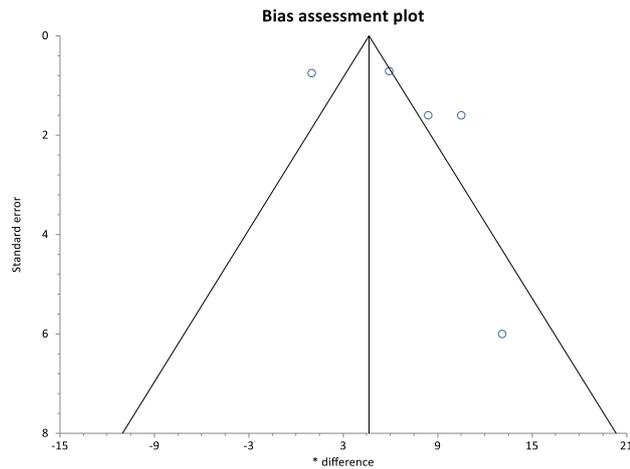


Abbildung 23: Funnel plot zur Summary-Metaanalyse der Auswirkung des D85N-Polymorphismus auf das QTc

#### 4.5.1.2 Sensitivitätsanalyse

Da in der Kontrollpopulation einige Studien keine Daten bezüglich des HWE enthielten und andere Studien das HWE nicht erfüllten, wurde eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt, wobei nur solche Studien eingeschlossen wurden, welche das HWE nachweislich erfüllten.

Für die Sensitivitätsanalyse konnten fünf Studien untersucht werden. Der p-Wert beim Cochran Q-Test lag bei 0,2105, weshalb das Fixed Effects Modell verwendet wurde. Die MAF lag bei 1,1% (95%KI 0,95% bis 1,23%). Somit kommt es beim Ausschluss der Studien, die das HWE nicht erfüllen, zu keiner signifikanten Veränderung der Resultate.

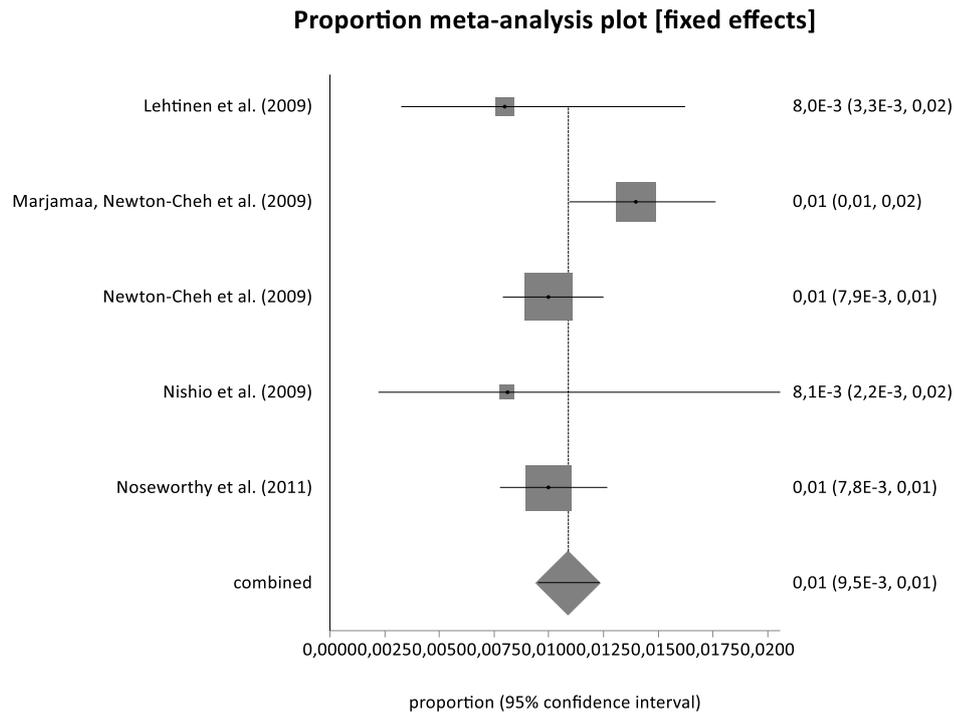


Abbildung 24: Proportion-Metaanalyse zur Sensitivitätsanalyse der Kontrollpopulation beim *KCNE1-D85N* Polymorphismus

Für die Auswirkung des Polymorphismus auf das QTc wurde ebenfalls eine Sensitivitätsanalyse unter Ausschluss der Studien, welche das HWE nicht nachweislich erfüllten, durchgeführt. Dabei wurden drei Studien in die Metaanalyse einbezogen. Der p-Wert beim Cochran-Q-Test war  $<0,0001$ , weshalb auf das Random Effects Modell zurückgegriffen wurde, wobei eine signifikante Verlängerung des QTc um 6,52ms (95%KI +0,01ms bis 13,03ms) pro minor Allel festgestellt wurde. Somit kommt es beim Ausschluss der Studien, die das HWE nicht erfüllen, zu keiner signifikanten Veränderung der Resultate.

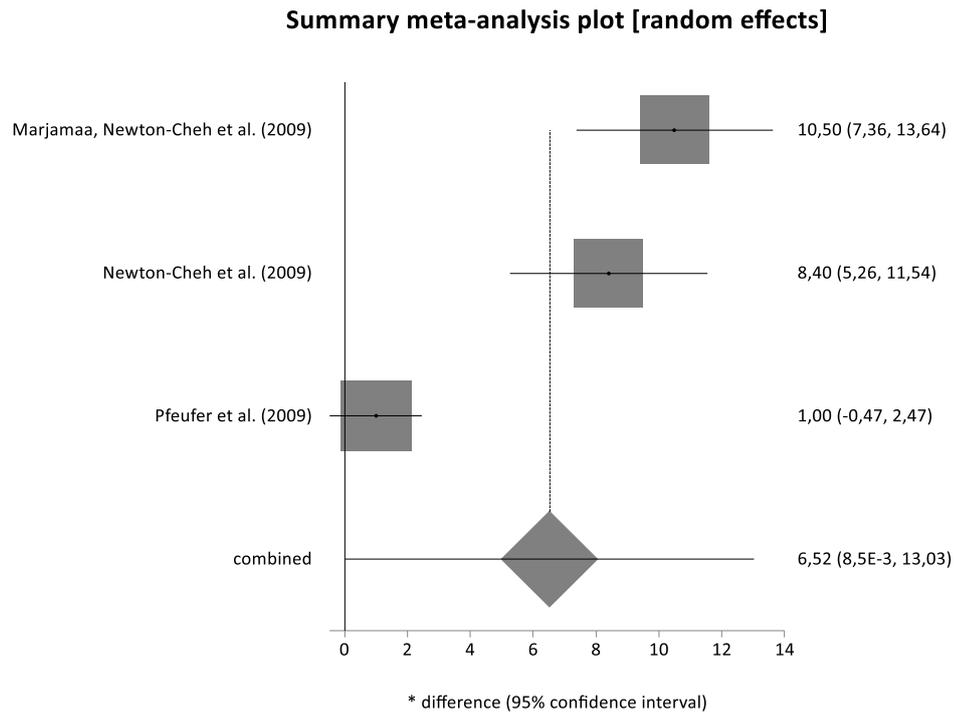


Abbildung 25: Summary-Metaanalyse zur Sensitivitätsanalyse der Auswirkung von KCNE1-D85N auf das QTc

#### 4.5.2 KCNQ1 – G643S – Polymorphismus

Kubota et al. (2001) untersuchten die Prävalenz des G643S-Polymorphismus in einer Population japanischer LQTS-Patienten. Während 6% der LQTS-Patienten das mutierte Allel trugen, waren in der Kontrollpopulation 11% Mutationsträger. Dies entspricht jeweils einer MAF von 3,5% beziehungsweise 5,5%.

Iwasa et al. (2000) wiesen eine MAF von 9% bei gesunden Japanern nach.

Eine Studie von Ackerman et al. (2003) zur Häufigkeit der Mutation in verschiedenen Ethnien zeigte signifikante Unterschiede: Die asiatische (5,9%) und die schwarze Bevölkerung (6,0%) unterscheidet sich signifikant von der weißen (0,0%) und hispanischen (1,1%) Bevölkerung ( $p < 0,001$ ) bezüglich der Heterozygotenfrequenz des Polymorphismus. Daraus ergibt sich für diese Studie unter Zusammenführung der vier Populationen eine MAF von 1,8%.

Refsgaard et al. beschrieben 2012 für eine Population von gesunden Probanden aus dem ESP eine MAF von 0,75%.

Ghouse et al. (2015) fanden in über 6000 gesunden Dänen 2 Träger des mutierten Allels, was einer MAF von 0,02% entspricht.

In der Studie von Ozawa et al. (2006) waren 8,9% der 992 gesunden Japaner positiv auf das Vorliegen des minor Allels getestet worden (MAF: 4,4%).

Laut Koo et al. (2005) liegt die Frequenz des mutierten Allels für diesen Polymorphismus in der Population Singapurs bei 0,58% (0,8% jeweils für die Chinesen und Malaysier und 0% für die Inder).

Aziz et al. (2013) fanden für 1 der 43 untersuchten LQTS-Patienten ein mutiertes Allel, entsprechend einer MAF von 1,2%.

In der von Kubota et al. (2001) untersuchten Population war kein signifikanter Unterschied zwischen dem QTc der Mutationsträger und dem der Wildtypträger nachzuweisen (keine Daten). Jedoch zeigte sich bei der Untersuchung von asymptomatischen Familienmitgliedern der Mutationsträger ein signifikant längeres QTc für diejenigen Probanden, die heterozygote Träger des mutierten Allels waren im Vergleich zu den Familienmitgliedern, die homozygot für das Wildtypallel waren:  $452 \pm 12 \text{ms}$  vs.  $406 \pm 8 \text{ms}$  ( $p < 0,01$ ).

Auch Ghouse et al. (2015) fanden keinen signifikanten Unterschied zwischen dem QTc der Mutationsträger ( $426,6 \text{ms}$ ; 95%KI  $401,0 \text{ms}$  bis  $452,2 \text{ms}$ ) und dem der Wildtypträger ( $423,3 \text{ms}$ ; 95%KI  $422,7 \text{ms}$  bis  $423,9 \text{ms}$ ).

Eine Studie von Ozawa et al. (2006) verglich das QTc der Wildtypträger mit den Mutationsträgern und fand keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ( $404,1 \pm 22,8 \text{ms}$  vs.  $405,3 \pm 22,3 \text{ms}$ ; NS).

#### 4.5.2.1 Statistische Auswertung

Zum Erstellen einer Metaanalyse bezüglich der Auswirkungen der Genvariante auf das QT-Intervall konnten drei Studien herangezogen werden, die sowohl das QTc der Mutationsträger sowie das QTc der Wildtypträger bestimmt haben. Dort zeigte sich für das Random Effects Modell (Cochran Q Test:  $p < 0,0001$ ) keine signifikante Beeinflussung des QT-Intervall ( $+16,98 \text{ms}$ ; 95%KI  $-14,26 \text{ms}$  bis  $48,22 \text{ms}$ ;  $p = 0,287$ ).

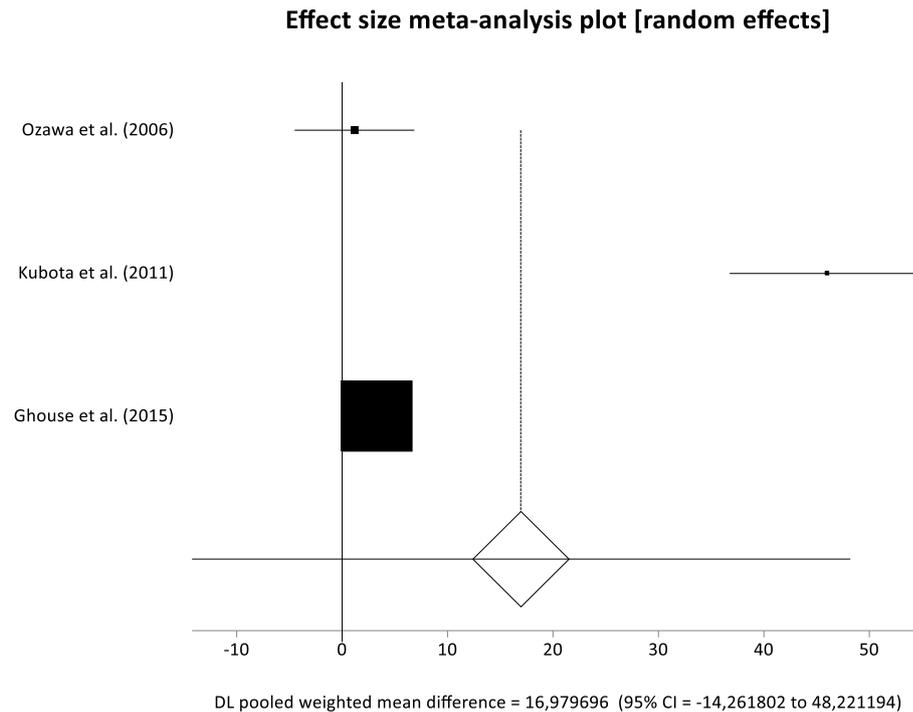


Abbildung 26: Metaanalyse zur Auswirkung von *KCNQ1-G643S* auf das *QTc*

#### 4.5.3 KCNE2 – T8A – Polymorphismus

Ackerman et al. (2003) fanden für die Häufigkeit des KCNE2-T8A-Polymorphismus eine Heterozygotenfrequenz von 1,1% in der weißen Bevölkerung, er konnte jedoch nicht in der asiatischen, schwarzen oder hispanischen Bevölkerung nachgewiesen werden.

In der Population von Refsgaard et al. (2012) lag die MAF des Polymorphismus bei 0,9%.

Die Population von Aydin et al. (2005) zeigte das minor Allel mit einer Frequenz von 1%.

Larsen et al. (2001) fanden in keinem der LQTS-Patienten (0%) ein mutiertes Allel, es war allerdings in 0,6% der Kontrollpersonen gefunden worden.

Von den LQTS-Patienten, die von Aziz et al. (2013) untersucht wurden, war 1 von 43 (2%) Träger des Polymorphismus.

3% der von Jongbloed et al. (2002) untersuchten LQTS-Patienten waren heterozygot für den Polymorphismus.

In der Population von Gouas et al. (2005) waren in der Gruppe der kürzesten QTc sowie in der Gruppe der längsten QTc jeweils 0,5% Träger des mutierten Allels.

#### 4.5.3.1 Statistische Auswertung

Es konnte eine Metaanalyse bezüglich der Prävalenz des minor Allels des T8A Polymorphismus mit drei Studien für die LQTS-Population sowie vier Studien für die Kontrollpopulation erstellt werden.

Es ergab sich für die LQTS-Population, bei einem p-Wert im Cochran Q Test von 0,471, im Fixed Effects Modell eine Mutationsprävalenz von 2,37% (95% KI 0,41% bis 5,91%).

Für die Kontrollpopulation lag der p-Wert beim Cochran Q Test bei 0,2517, sodass auch hier das Fixed Effects Modell angewandt werden konnte. Dort zeigte sich für das mutierte Allel eine Prävalenz von 0,83% (95% KI 0,62% bis 1,1%).

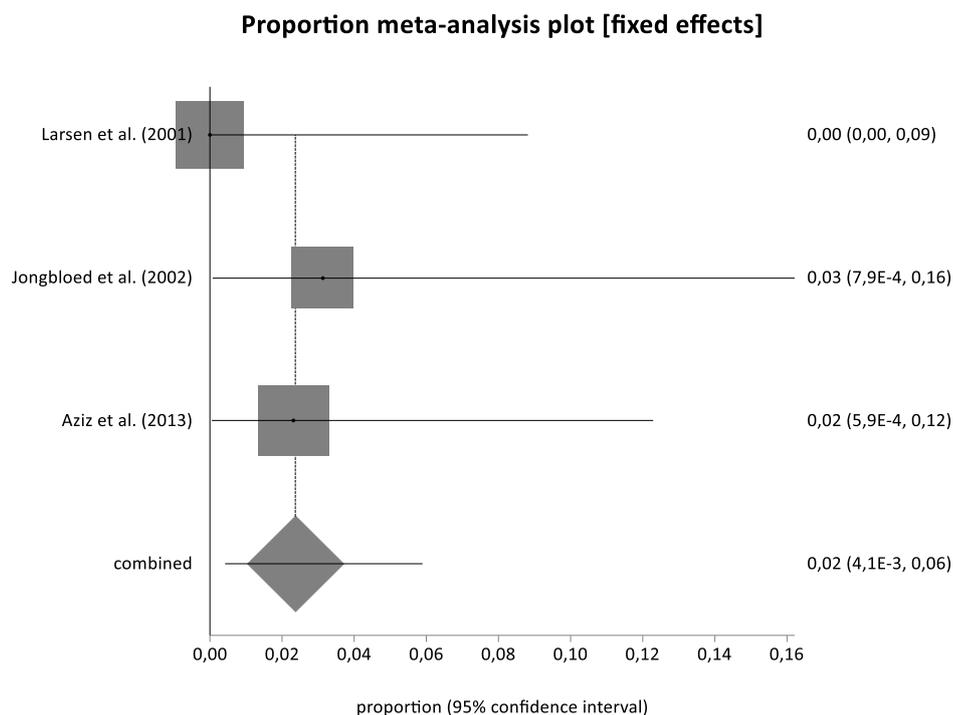


Abbildung 27: Metaanalyse zur Prävalenz des KCNE2-T8A Polymorphismus in der LQTS-Population

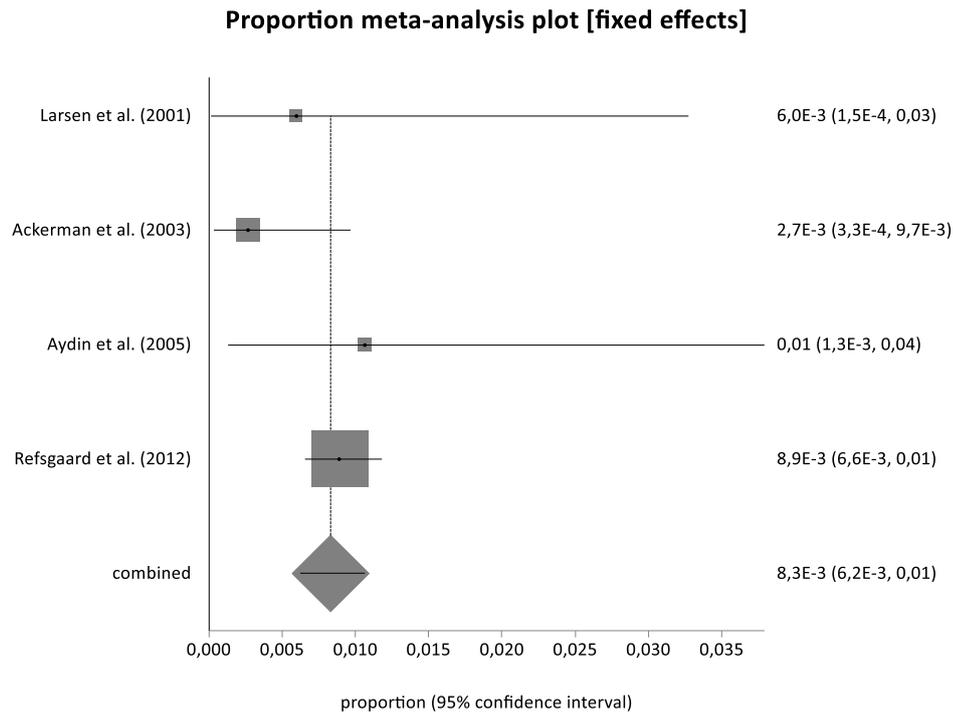


Abbildung 28: Metaanalyse zur Prävalenz des KCNE2-T8A Polymorphismus in der Kontrollpopulation

#### 4.5.4 KCNH2 – K897T – Polymorphismus

Die Frequenz des minor Allels des KCNH2-K897T-Polymorphismus war bei gesunden Japanern, die von Iwasa et al. (2000) untersucht wurden, 2%.

Koo et al. (2005) fanden für gesunde Probanden aus Singapur Frequenzen von 4,7% (Chinesen), 11,9% (Malaysier) und 15,8% (Inder).

Raitakari et al. (2009) fanden den Polymorphismus mit einer MAF von 16,1% in einer Population gesunder Finnen.

Linna et al. (2006) fanden den Polymorphismus mit einer Frequenz von 14% in einer Population gesunder Finnen.

Pietilä et al. (2002) fanden für eine Population aus Finnland eine MAF von 16%.

Eine Population von Koskela et al. (2008) aus Finnland hatte eine MAF von 15,5%.

Die von Pfeufer et al. (2005) untersuchten gesunden finnischen Probanden wiesen eine MAF von 24,1% auf.

Die finnischen Probanden von Laitinen et al. (2000) wiesen das mutierte Allel mit einer Frequenz von 16% auf.

Aydin et al. (2005) fanden bei gesunden Kaukasiern eine Allelfrequenz von 25%.

Die von Bezzina et al. (2003) untersuchten Studienpopulationen wiesen mutierte Allelfrequenzen von jeweils 23,5% (1030 Kaukasier) und 24,6% (173 Zwillingspaare) auf.

Lehtinen et al. (2009) untersuchten ebenfalls eine gesunde kaukasische Population auf die Prävalenz des K897T-Polymorphismus und fanden eine MAF von 23,6%.

Ackerman et al. (2003) wiesen in allen vier untersuchten ethnischen Gruppen das minor Allel des Polymorphismus nach, jedoch mit unterschiedlicher Häufigkeit: So waren 33,1% der Weißen, 8,2% der Schwarzen, 7,5% der Asiaten und 6,8% der hispanischen Probanden Träger des mutierten Allels.

Unter 44 kaukasischen LQTS-Patienten konnte das mutierte Allel des Polymorphismus mit einer Frequenz von 17% nachgewiesen werden (Millat et al., 2006).

Jongbloed et al. (2002) fanden für den Polymorphismus 41% heterozygote Träger in einer LQTS-Population aus den Niederlanden.

In der Untersuchung von Aziz et al. (2013) waren 32,5% der LQTS-Patienten Träger des mutierten Allels.

Die von Kanters et al. (2015) untersuchte dänische LQTS-Population zeigte eine Allelfrequenz von 9%.

Edelmann et al. (2017) verglichen die Prävalenz des Polymorphismus einer Kontrollgruppe mit der Prävalenz in einer Population, die aus LQTS-Patienten, jungen Verstorbenen mit negativer Autopsie und Probanden mit LQTS in der Familiengeschichte bestand. Dort fand sich keine signifikante Differenz in der Anhäufung der Allele.

Marjamaa, Newton-Cheh et al. (2009) fanden für jedes mutierte Allel eine Verkürzung des QTc um 2,6ms (SE 0,5;  $p=2,1 \times 10^{-7}$ ).

Raitakari et al. (2009) konnten keine signifikante Assoziation zwischen dem K897T-Polymorphismus und dem QTc feststellen (-0,3ms pro minor Allel;  $p=0,75$ )

Pfeufer et al. (2005) konnten eine signifikante Verkürzung des QTc um 1,9ms pro minor Allel nachweisen ( $p=0,0006$ ).

Noseworthy et al. (2011) zeigten eine signifikante Verlängerung des QTc um 2,6ms pro minor Allel ( $p=1,3 \times 10^{-7}$ ).

Laitinen et al. (2000) untersuchten Träger einer KCNQ1-FinA-Mutation in Bezug auf die Auswirkungen des K897T-Polymorphismus auf das QTc. Sie fanden in der Gruppe der LQTS-Patienten (Population 1) ein leicht verringertes QTc für die homozygoten Träger des mutierten Allels, allerdings nur bei Frauen ( $p=0,004$ ). Bei den LQTS-Männern sowie in der Kontrollpopulation (Population 2) konnte kein signifikanter Einfluss des Polymorphismus auf das QTc nachgewiesen werden.

Koskela et al. untersuchten 2008 eine Population gesunder Finnen auf die Auswirkungen des Polymorphismus und fanden für die homozygoten Trägerinnen des mutierten Allels ein signifikant längeres QTc als für die heterozygoten ( $p=0,004$ ) und die homozygoten Wildtypträger ( $p=0,011$ ). Bei Männern wurde kein statistisch signifikanter Unterschied gefunden.

Eine Studie von Kapplinger et al. (2017) fand für den Polymorphismus keine signifikante Beeinflussung des QTc, weder für die Gesamtpopulation ( $p=0,914$ ), noch für männliche ( $p=0,651$ ) oder weibliche Probanden ( $p=0,481$ ) getrennt.

Kanters et al. (2015) fanden bei den untersuchten LQTS-Patienten eine Verkürzung der Mittelwerte des QTc für die Träger des mutierten Allels. Da die Angabe jedoch mittels der Range als Streuungsmaß angegeben wurde, konnten keine Berechnungen durchgeführt werden.

Pietilä et al. (2002) untersuchten den Effekt des Polymorphismus auf das QTc sowie auf das QTcmax. Während für das QTc für beide Geschlechter kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden konnte, war bei den Frauen, die das mutierte Allel trugen, das QTcmax signifikant verlängert: 441ms vs. 477ms ( $p=0,005$ )

Bezzina et al. (2003) untersuchten zwei Studienpopulationen. Die erste bestand aus 1030 gesunden Kaukasiern (Sample 1) und die zweite aus 173 Zwillingspaaren (Sample 2). Die erste Population zeigte eine signifikante Assoziation zwischen dem QTc und dem Polymorphismus ( $p=0,0025$ ), die jedoch nach Aufteilung nach Geschlecht nur für Frauen signifikant war (Frauen:  $p=0,002$ ; Männer:  $p=0,34$ ). In der zweiten Population war nur für Frauen eine signifikante Assoziation nachzuweisen ( $p=0,044$ ; Männer:  $p=0,088$ ). Das QTc der Sample 1 war in der Gruppe der Probanden mit homozygot mutiertem Allel signifikant niedriger als das QTc der Heterozygoten und Wildtypträger:  $388,5\pm 2,9\text{ms}$  vs.  $398\pm 0,7\text{ms}$  ( $p<0,001$ ). Der gleiche Trend konnte für die Frauen aus der zweiten Population beobachtet werden:  $389\pm 3,9\text{ms}$  vs.  $402,6\pm 0,9\text{ms}$  ( $p<0,01$ ).

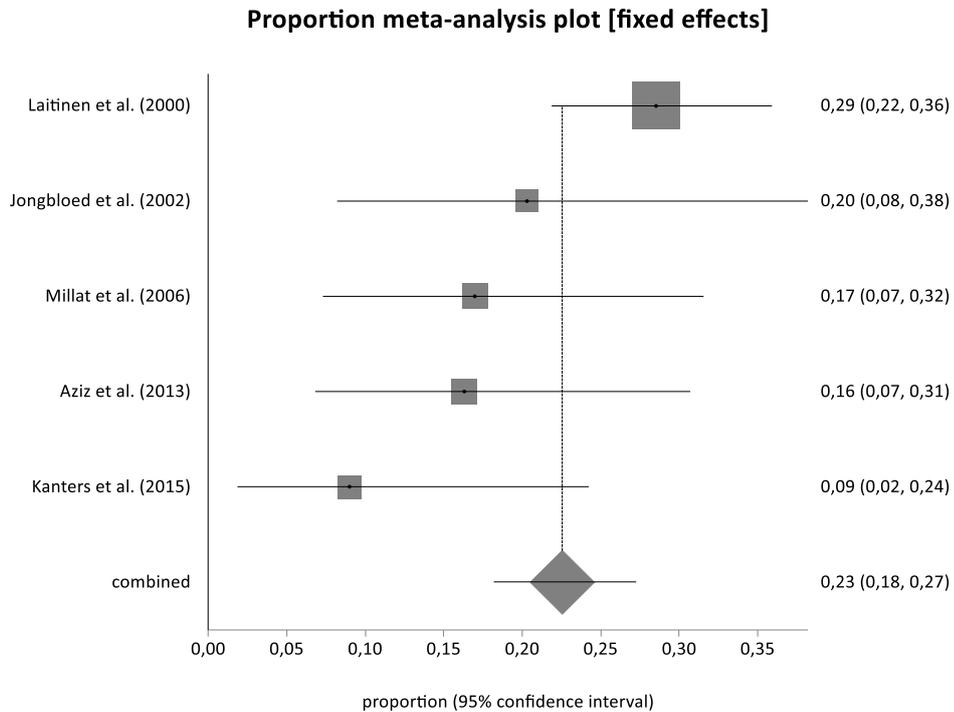
Newton-Cheh et al. (2007) untersuchten über 2500 Probanden aus der FHS und fanden pro Wildtypallel ein um 1,6ms verlängertes QTc im Vergleich zum mutierten Allel ( $p<0,01$ ).

Eine Studie von Gouas et al. fand 2005 für den K897T-Polymorphismus bei über 2000 gesunden Probanden ein häufigeres Auftreten des minor Allels in der Gruppe der 200 Probanden mit den kürzesten QTc verglichen mit der Gruppe der 200 Probanden mit dem längsten QTc: Die Allelfrequenzen lagen bei 31,3% und 22% ( $p=0,0065$ ).

#### 4.5.4.1 Statistische Auswertung

Zur Prävalenz des K897T Polymorphismus konnte eine Metaanalyse durchgeführt werden, wobei für die LQTS-Gruppe fünf Studien und für die Kontrollpopulation vierzehn Studien einbezogen werden konnten. Für die LQTS-Gruppe lag der p-Wert des Cochran Q Test bei 0,0689, weshalb das Fixed Effects Modell verwendet wurde. Dort zeigte sich eine MAF von 22,6% (95% KI 18,2% bis 27,3%). Der p-Wert beim Egger-Test war 0,1592, sodass kein signifikanter Hinweis auf Publication Bias vorliegt. Dies wird in *Abbildung 31 (links)* mittels Funnel plot visualisiert.

Die Metaanalyse der Kontrollgruppe ergab, bei einem p-Wert  $<0,0001$  im Cochran Q Test, im Random Effects Modell eine MAF von 16,0% (95%KI 13,3% bis 18,9%). Der p-Wert beim Egger-Test war 0,4734, sodass kein signifikanter Hinweis auf Publication Bias vorliegt. Dies wird in *Abbildung 31* (*rechts*) mittels Funnel plot visualisiert.



*Abbildung 29: Metaanalyse zur Prävalenz des KCNH2-K897T Polymorphismus in der LQTS-Population*

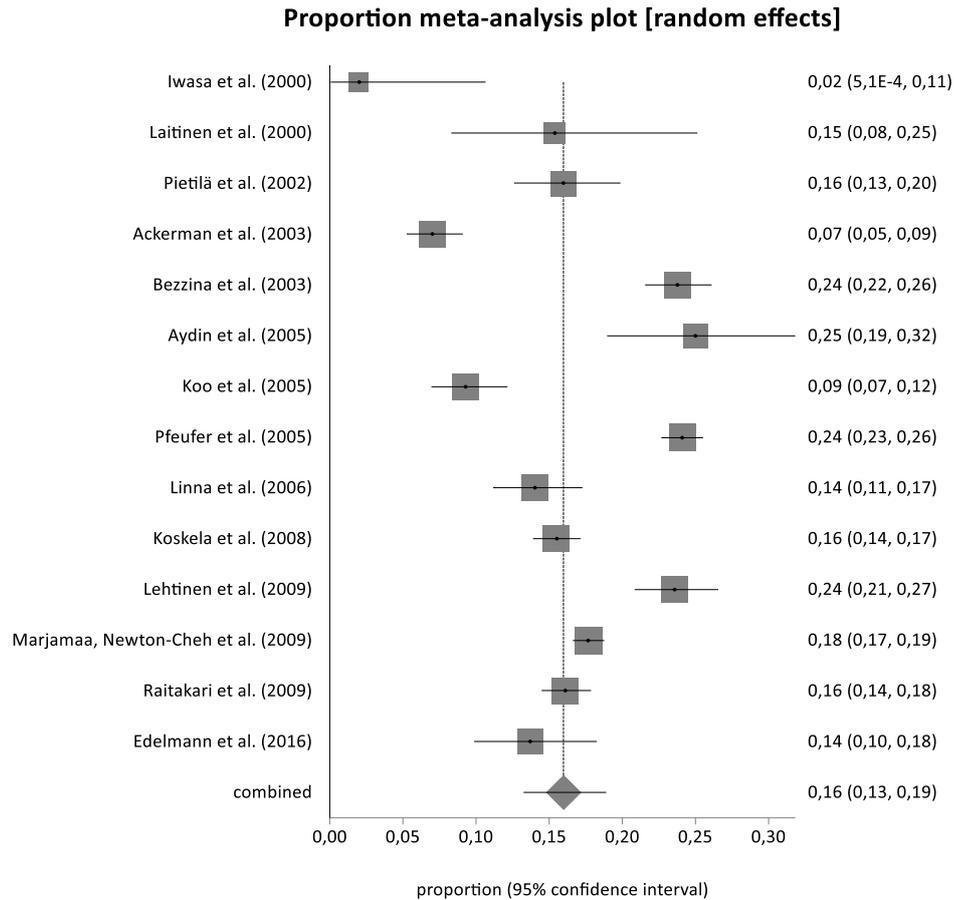


Abbildung 30: Metaanalyse zur Prävalenz des *KCNH2-K897T* Polymorphismus in der Kontrollpopulation

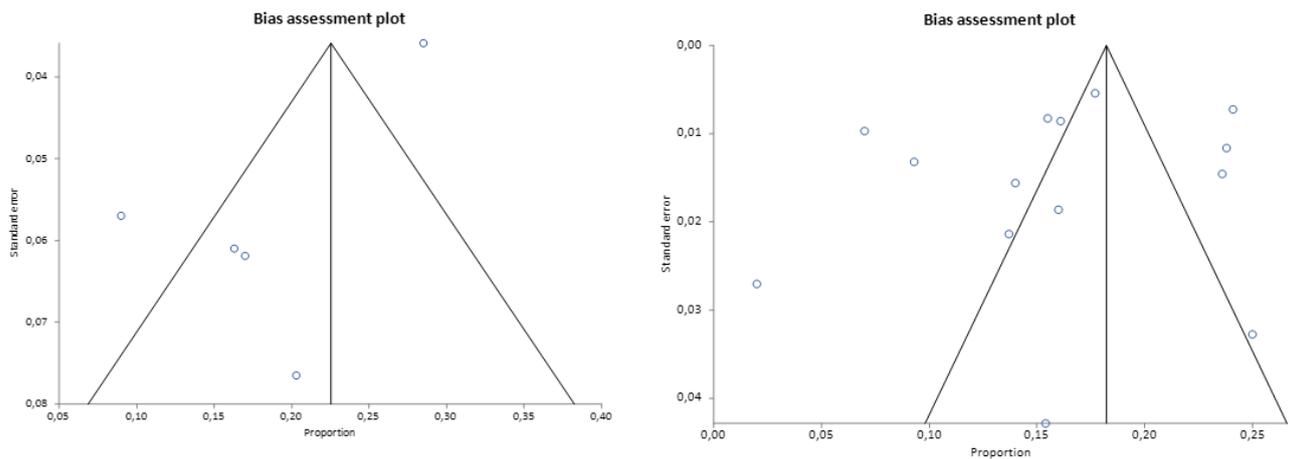


Abbildung 31: Funnel plots zu den Proportion-Metaanalysen für die Prävalenz des *K897T*-Polymorphismus in der LQTS-Population (links) und in der Kontrollpopulation (rechts)

Es konnte ebenfalls eine Metaanalyse bezüglich der Auswirkungen des Polymorphismus auf das QTc durchgeführt werden, wobei insgesamt vier Studien einbezogen werden konnten, eine Studie enthielt jedoch keine homozygoten Mutationsträger als Probanden.

Die erste Untersuchung verglich die homozygoten Wildtypträger mit den heterozygoten Probanden (*Abbildung 32*). Der p-Wert des Cochran Q-Test lag bei 0,9574, sodass das Fixed Effects Modell verwendet wurde. Es wurde eine nicht-signifikante Verkürzung des QTc um 1,47ms (95%KI -3,20ms bis 0,25ms; p=0,0945) für die Träger des mutierten Allels festgestellt.

Im zweiten Schritt wurden die homozygoten Wildtypträger mit den homozygoten Mutationsträgern verglichen, wobei ebenfalls das Fixed Effects Modell verwendet wurde (Cochran Q-Test: p=0,2024). Es wurde eine signifikante Verkürzung des QTc um 6,57ms (95%KI -10,61ms bis -2,52ms; p=0,0015) für die Träger des mutierten Allels festgestellt (*Abbildung 33*).

In einer dritten Etappe wurden die heterozygoten Probanden mit den homozygoten Mutationsträgern verglichen (*Abbildung 34*). Der p-Wert des Cochran Q-Test lag bei 0,3283, sodass auch hier das Fixed Effects Modell verwendet wurde. Es konnte eine signifikante Verkürzung des QT-Intervalls um 4,87ms (95%KI -9,03ms bis -0,72ms; p=0,0215) für die homozygoten Mutationsträger festgestellt werden.

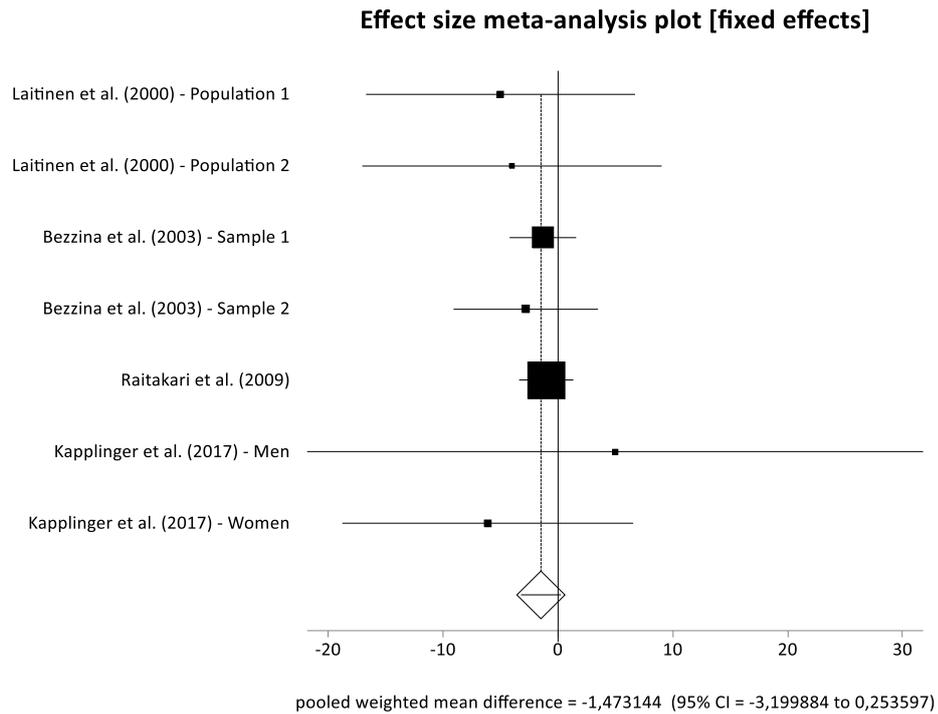


Abbildung 32: Metaanalyse zur Auswirkung von *KCNH2-K897T* auf das *QTc* (Homozygote *WT* vs. Heterozygote *Pb*)

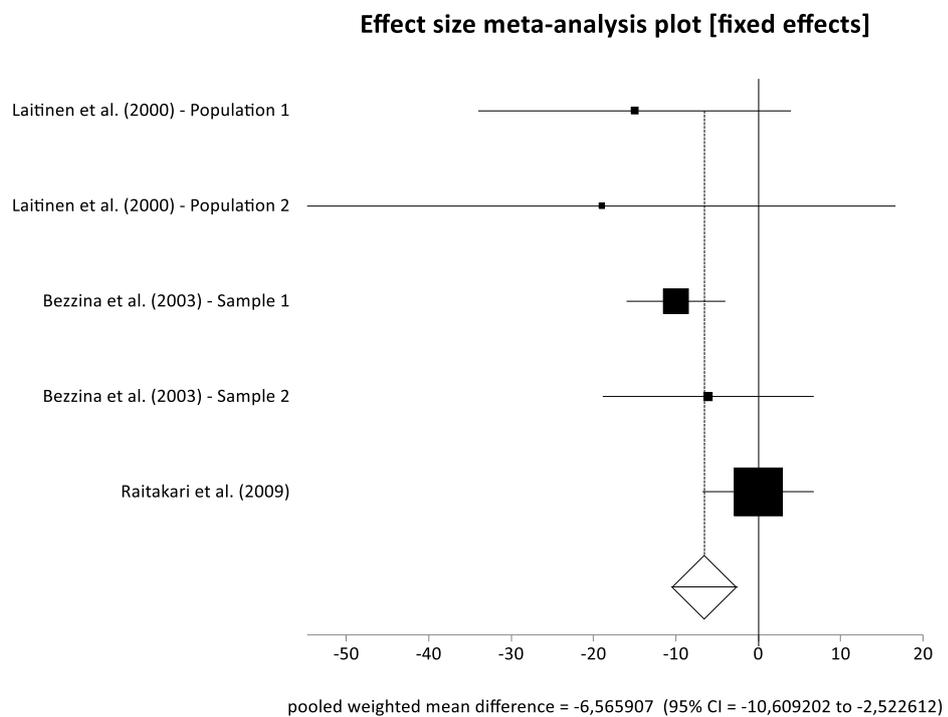


Abbildung 33: Metaanalyse zur Auswirkung von *KCNH2-K897T* auf das *QTc* (Homozygote *WT* vs. Homozygote *MT*)

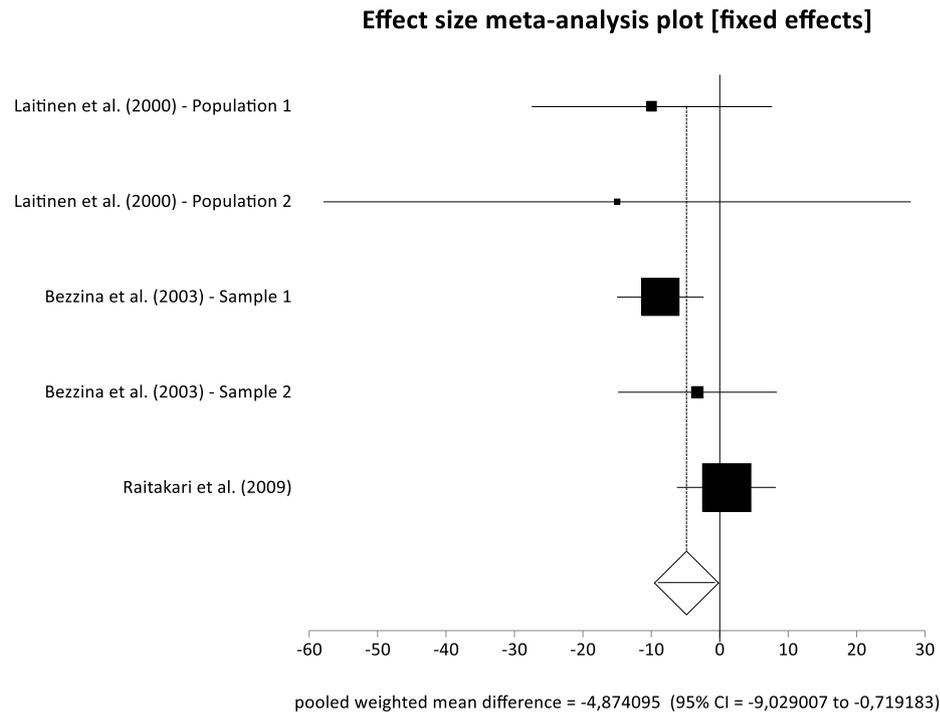


Abbildung 34: Metaanalyse zur Auswirkung von *KCNH2-K897T* auf das *QTc* (Heterozygote *Pb* vs. Homozygote *MT*)

#### 4.5.4.2 Sensitivitätsanalyse

Da in der Kontrollpopulation einige Studien keine Daten bezüglich des HWE enthielten und andere Studien das HWE nicht erfüllten, wurde eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt, wobei nur solche Studien eingeschlossen wurden, die das HWE nachweislich erfüllten.

Für die Sensitivitätsanalyse konnten acht Studien untersucht werden. Der p-Wert beim Cochran Q-Test lag bei  $<0,0001$ , weshalb das Random Effects Modell verwendet wurde. Die MAF lag bei 19,0% (95%KI 16,1% bis 22,0%). Somit kommt es unter Verwendung der Sensitivitätsanalyse zu einer signifikanten Veränderung der Resultate, da der Schätzer der Kontrollpopulation somit im 95% KI der LQTS-Population liegt und somit kein signifikanter Unterschied mehr zwischen der LQTS-Population und der Kontrollpopulation besteht.

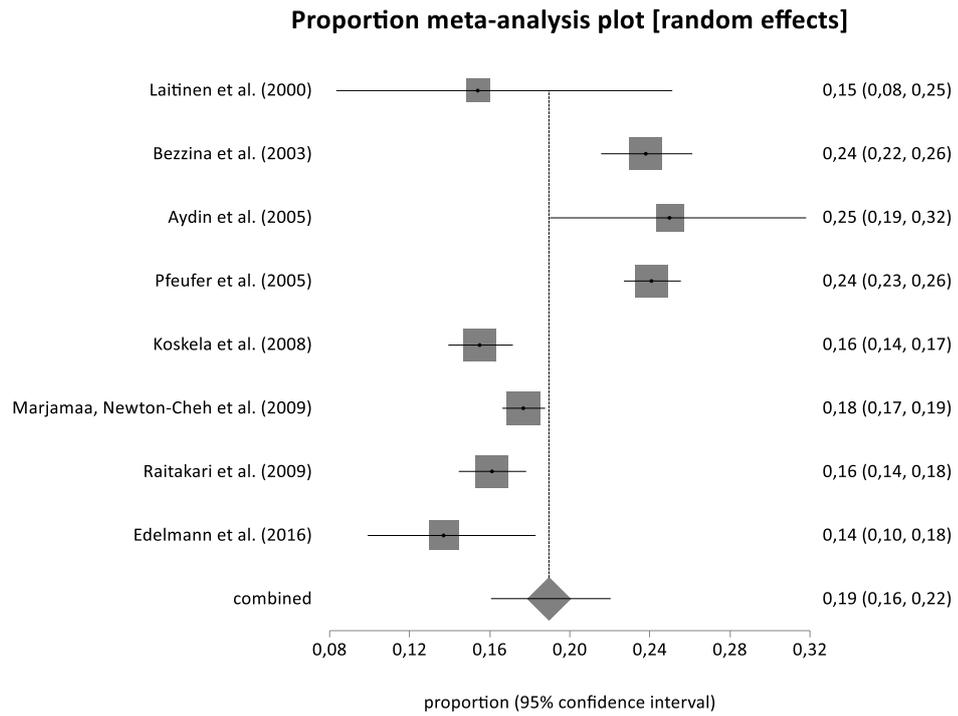


Abbildung 35: Proportion-Metaanalyse zur Sensitivitätsanalyse der Kontrollpopulation beim *KCNH2-K897T*-Polymorphismus

## 5 Diskussion

Die Tatsache, dass es sich beim LQTS um eine genetische Erkrankung handelt, erfordert eine Untersuchung des Mutationsspektrums mit den betroffenen Genen sowie den Mutationstypen. Trotz einer gewissen Heterogenität über die 17 untersuchten Studien hinweg bestehen sehr enge 95% Konfidenzintervalle.

Es konnte gezeigt werden, dass das KCNQ1-Gen in knapp über 47% der LQTS-Fälle mutiert ist. Ebenso konnte bestätigt werden, dass das KCNH2-Gen mit 36,7% gefolgt vom SCN5A-Gen (12,9%) am zweit- beziehungsweise dritthäufigsten Mutationen aufweisen. In den anderen zwölf Genen, die als Auslöser für das LQTS bekannt sind, sind weitaus weniger häufig Mutationen vorgefunden worden. Dabei muss jedoch erwähnt werden, dass diese in mehreren Studien gar nicht untersucht wurden, sodass deren Anteil unterschätzt werden kann.

Weiterhin stellt sich die Transmembrandomäne mit 54,6% als häufigste Lokalisation für Mutationen dar, gefolgt vom C-Terminus (30,2%) und dem N-Terminus (15,7%). Diese allgemeine Einteilung zeigt bereits die Wichtigkeit der einzelnen AS, welche die Lipiddoppelschicht durchspannen, verglichen mit der wahrscheinlich höheren Mutationstoleranz der endständigen AS. In diesem Zusammenhang muss auf die Studie von Kapa et al. (2009) verwiesen werden, die versuchte diese Regionen enger einzugrenzen und so für Mutationen in einigen Loci eine sehr hohe LQTS-auslösende Wahrscheinlichkeit feststellen konnte. Dazu zählten neben der Transmembrandomäne einige besondere Lokalisationen im N-/C-Terminus (cNBD, PAS/PAC, SAD). Diese Loci haben somit voraussichtlich eine wichtige Funktion in der Regulation der Ionenflüsse, der Kanalfunktion, deren Regulation oder der 3D-Faltung des Kanals. Dies ist eher für Missense-Mutationen als für radikale Mutationen wichtig, da die radikalen Mutationen unabhängig von ihrem Locus eine hohe EPV hatten.

Auch zeigten Moss et al. (2007), dass Mutationen in der Transmembran-Region nicht nur zu einem längeren QTc verglichen mit dem C-Terminus führten, sondern auch noch das Risiko für kardiale Ereignisse um den Faktor 2,06 ansteigen ließen. Kolder et al. (2015) fanden ähnliche Resultate. Auch dort

waren Mutationen in der Transmembrandomäne mit einem längeren QTc vergesellschaftet, verglichen mit dem C-/N-Terminus.

In den untersuchten Studien verursachten Missense-Mutationen mit 71% den Großteil der Fälle, während radikale Mutationen, also solche Mutationen, die zu mehr als einem AS-Wechsel führen, 29,5% der Mutationen ausmachten. Während Kapa et al. (2009) den radikalen Mutationen eine EPV von >99% zuschrieb, die somit mit hoher Wahrscheinlichkeit als krankheitsauslösend zu werten sind, zeigten Moss et al. (2007), dass Probanden mit Missense-Mutationen vermehrt Synkopen haben. Kolder et al. (2015) fanden keinen signifikanten Unterschied bezüglich der QT-Dauer zwischen Patienten mit radikalen und Missense-Mutationen.

Die Detektionsrate an Mutationen war zwischen den einzelnen Studien sowie auch innerhalb der Studien sehr heterogen. So konnte in der Studie von Gao et al. (2016) bei 81% der Probanden eine Mutation nachgewiesen werden, während in der Studie von Hofman et al. (2011) nur bei 31% der Probanden eine Mutation festgestellt werden konnte. Dies könnte daran liegen, dass unterschiedliche Kriterien dazu geführt haben, dass diese Probanden als potentielle LQTS-Patienten auf das Vorhandensein einer Mutation untersucht werden sollten. Dies wird insbesondere deutlich in der Studie von Tester et al. (2005), in der die potentiellen LQTS-Patienten nochmals in zwei Gruppen unterteilt wurden: die erste Gruppe enthielt alle Patienten, die genotypisiert werden sollten, die zweite Gruppe hingegen enthielt nur diejenigen Patienten, die einen Schwartz-Score  $\geq 4$  hatten. Dort zeigte sich deutlich, dass von den Patienten der zweiten Gruppe deutlich mehr eine Mutation aufwiesen als in der ersten Gruppe (72% vs. 50%), was darauf schließen lässt, dass die Detektionsrate sehr stark davon abhängt, wie wahrscheinlich ein LQTS tatsächlich besteht und demnach auch eine Mutation vorliegt.

Unter der Annahme, dass die Kriterien für eine Genotypisierung über die 17 Jahre in den Studien weitestgehend gleichblieben, wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt, um zu untersuchen, ob der Anteil an Patienten, bei denen eine Mutation nachgewiesen werden kann, variiert. Dabei konnte keine signifikante Veränderung festgestellt werden. Ebenso deutet der Korrelationskoeffizient ( $r=0,085$ ) darauf hin, dass keine Korrelation zwischen dem Publikati-

onsjahr und dem Anteil an Patienten, bei denen eine Mutation nachgewiesen werden kann, besteht.

Aufgrund der Tatsache, dass immer mehr Mutationen identifiziert werden, erwartet man, dass der Anteil der neuen Mutationen, die in den Studien entdeckt werden, sich über die Jahre verringert. Dies ließ sich auch mittels Regressionsanalyse nachweisen, wobei eine Abnahme des Anteils an neuen Mutationen von 1,83% pro Jahr festgestellt wurde. Das Bestimmtheitsmaß gibt an, dass 53% der Varianz des Anteils an neuen Mutationen durch das Publikationsjahr erklärt werden kann.

Der **KCNQ1-A341V** Polymorphismus, der als bedeutendste Genvariation in Südafrika für einen Großteil der LQTS-Erkrankten verantwortlich ist, zeigte in der Metaanalyse eine signifikante Verlängerung des QTc um 86,4ms (95% KI 79,7ms bis 93,0ms;  $p < 0,0001$ ), wenn die Mutationsträger mit den homozygoten Wildtypträger verglichen wurden. Dies stimmt mit den Ergebnissen von de Villiers (2014) überein, welche ebenfalls eine signifikante Verlängerung des QTc von 82ms (Median) für die Mutationsträger feststellen konnten.

Weiterhin zeigten Brink et al. (2005), de Villiers et al. (2014), Itoh et al. (2015) und Crotti et al. (2016) recht einheitlich, dass diese Mutation mit einem Anteil von zwischen 59% und 79% an symptomatischen Patienten deutlich über den ungefähr 30% an symptomatischen Patienten für die anderen Mutationen in KCNQ1 liegt.

Zusätzlich zu dem höheren Anteil an symptomatischen Patienten verglichen mit den LQTS1-Patienten zeigten Crotti et al. (2007) und Itoh et al. (2015), dass das QTc der KCNQ1-A341V-Träger signifikant länger ist als das QTc bei anderen Mutationen in KCNQ1.

Jedoch kann die besondere Pathogenität des Polymorphismus nicht allein auf die Verlängerung des QTc zurückgeführt werden, da Brink et al. (2005) in einer Probandengruppe, bestehend aus Frauen mit QTc  $> 500$ ms, zeigten, dass auch in dieser Konstellation, wo das QT-Intervall wenig Einfluss auf die Symptomatik hat, die KCNQ1-A341V-Träger signifikant mehr Symptome aufweisen als die LQTS1-Patienten mit einer anderen Mutation in diesem Gen.

Auch konnte von Crotti et al. (2007) gezeigt werden, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen den KCNQ1-A341V-Patienten aus Südafrika und denen aus anderen Regionen bestehen, womit eine zusätzliche Komponente für diese außerordentliche Pathogenität unwahrscheinlich wird. Dies wurde von Itoh et al. (2015) anhand einer japanischen KCNQ1-A341V Population bestätigt, die ähnliche Werte bezüglich des QTc und der Symptomatik zeigte.

Fodstad et al. untersuchten 2004 und 2006 das Mutationsspektrum in Finnland in Bezug auf das Vorhandensein von Gründermutationen (**FF-Mutationen**). Dort zeigte sich, dass 73% aller genotyp-positiven finnischen LQTS-Patienten eine der vier beschriebenen Gründermutationen aufweisen, wobei KCNQ1-FinA die häufigste Mutation ist (54%), gefolgt von HERG-FinA (10%) und KCNQ1-FinB (5%), und die HERG-FinB Mutation die seltenste der Gründermutationen ist (4%). Piippo et al. (2001) fanden die KCNQ1-FinA-Mutation in 30% der untersuchten genotyp-positiven LQTS-Patienten.

Dass die Mutationen in der finnischen Allgemeinbevölkerung sehr selten vorkommen, zeigten Fodstad et al. (2006) und Marjamaa, Salomaa et al. (2009), wo die Gründermutationen mit einer Prävalenz von 0,9% und 0,4% vorkamen. Koponen et al. (2015) zeigten, dass die Gründermutationen im Vergleich zu anderen Mutationen in den jeweiligen Genen eine benignere Klinik aufweisen, mit signifikant kürzeren QT-Intervallen und signifikant weniger kardialen Ereignissen.

Zu zwei der vier finnischen Gründermutationen konnten Metaanalysen durchgeführt werden. Für die KCNQ1-FinA Mutation konnte im genotypischen Modell eine signifikante Verlängerung des QTc um 45,8ms (95%KI 42,7ms bis 48,8ms;  $p < 0,0001$ ) für die Träger des mutierten Allels festgestellt werden. Für die HERG-FinB Mutation konnte im genotypischen Modell für die Mutationsträger ebenfalls eine signifikante Verlängerung des QTc festgestellt werden: 33,8ms (95%KI 27,0ms bis 40,6ms;  $p < 0,0001$ ). Crotti et al. (2016) und Fodstad et al. (2004) fanden ähnliche QTc-Werte für die Mutationsträger, die Studien konnten allerdings aufgrund des Fehlens einer Kontrollgruppe nicht in die Metaanalyse einbezogen werden. Für die KCNQ1-FinB und die HERG-FinA

Mutationen konnten aufgrund unzureichender Datenlage keine Metaanalysen durchgeführt werden.

Die beiden **schwedischen Gründermutationen** machen laut Stattin et al. (2012) ungefähr 25% der LQTS-Fälle in Schweden aus. Winbo et al. (2017) zeigten nicht nur, dass die Träger von einer der Mutationen ein längeres QTc haben als genotyp-negative Probanden, sie bestätigten auch die Ergebnisse von Diamant et al. (2013), welche für KCNQ1-Y111C ein signifikant längeres QTc fanden als für die Träger von KCNQ1-R518X. Dies mag darauf zurückzuführen sein, dass die Y111C-Mutation durch den dominant-negativen Effekt die Kanalfunktion stärker einschränkt als R518X (Haploinsuffizienz).

Winbo et al. untersuchten 2009 KCNQ1-Y111C und 2014 KCNQ1-R518X und fanden für beide Mutationen jeweils eine signifikant geringere jährliche Inzidenz an lebensbedrohlichen Ereignissen, wenn die Mutationen mit anderen Mutationen in KCNQ1 verglichen wurden. Dieses Ergebnis konnte von Diamant et al. (2013) nicht bestätigt werden, was allerdings möglicherweise auf die kleine Studienpopulation zurückgeführt werden kann.

Zu den beiden schwedischen Gründermutationen konnten keine Metaanalysen durchgeführt werden, da die Datenlage dazu nicht ausreichte. Deshalb sind auch aussagekräftige Schlussfolgerungen nicht möglich.

Beim **KCNE1-D85N** Polymorphismus war in der Metaanalyse zur Häufigkeit eine signifikante Erhöhung der MAF in der LQTS-Population (2,16% 95%KI 1,40% bis 3,08%) im Vergleich zur Kontrollpopulation (0,94% 95%KI 0,78% bis 1,11%) festgestellt worden. Die Schätzer befanden sich jeweils nicht im 95% Konfidenzintervall der Vergleichsgruppe.

Es konnte zusätzlich eine Metaanalyse zur Auswirkung des Polymorphismus auf das QTc durchgeführt werden, wobei für das allelische Modell eine signifikante Verlängerung des QTc um 6,78ms pro minor Allel (95%KI 2,97ms bis 10,59ms;  $p=0,0005$ ) für die Mutationsträger festgestellt werden konnte. Dies stimmt auch mit der Studie von Gouas et al. (2005) überein, wo eine signifikante Anhäufung der Mutationsträger in der Gruppe der Probanden mit dem

längeren QT-Intervall nachgewiesen wurde. Noseworthy et al. (2011) fanden ebenfalls eine signifikante Verlängerung des QTc um 10,4ms pro minor Allel. Da die Standardabweichung allerdings nicht angegeben war, konnte die Studie nicht mit in die Metaanalyse einbezogen werden.

Die Studie von Lahtinen et al. (2011) zeigte allerdings, dass bei der Auftrennung nach Geschlecht nur für das männliche Geschlecht eine signifikante Verlängerung des QTc vorlag. Bei den Frauen hingegen gab es keine signifikante Verlängerung des QTc, weshalb weitere Untersuchungen zur Auswirkung nach Geschlecht durchgeführt werden müssen. Ebenfalls zeigten Seyerle et al. (2014) eine Heterogenität des Effektes bei unterschiedlichen Ethnien, weshalb auch dies weiteren Untersuchungen bedarf.

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse beider Metaanalysen, kann man schließen, dass eine Assoziation zwischen dem LQTS und dem D85N-Polymorphismus besteht, wobei das minor Allel gehäuft in der LQTS-Population vorkommt und auch eine Verlängerung des QT-Intervalls verursacht.

Zur Prävalenz des **KCNQ1-G643S** Polymorphismus konnte keine Metaanalyse durchgeführt werden, da lediglich eine Studie die Prävalenz in der LQTS-Population abgebildet hat. Die Metaanalyse zur Auswirkung des Polymorphismus auf das QTc zeigte keine signifikante Veränderung des QTc (+16,98ms; 95%KI -14,26ms bis 48,22ms; p=0,287) für das genotypische Modell zwischen der Gruppe der Mutationsträger (homo-/heterozygot) und der Wildtypträger (homozygot). Somit kann für den KCNQ1-G643S Polymorphismus kein Zusammenhang mit dem QTc nachgewiesen werden.

Auffällig war jedoch die Studie von Kubota et al. (2001), die sich deutlich von den anderen Studien abhebt. Dabei handelte es sich allerdings, im Gegensatz zu den anderen beiden Studien, um den Vergleich von Mutationsträgern und deren genotyp-negativen Familienmitglieder. Kubota et al. (2001) verglichen zusätzlich die Mutationsträger mit einer unabhängigen Kontrollgruppe, jedoch wurden diese Daten nicht veröffentlicht. Dabei konnte, wie bei den Studien

von Ghouse et al. (2015) und Ozawa et al. (2006), keine signifikante Beeinflussung des QTc nachgewiesen werden.

Der **KCNE2-T8A** Polymorphismus zeigte in der Metaanalyse bezüglich der Prävalenz keinen signifikanten Unterschied zwischen der LQTS-Gruppe (2,37% 95%KI 0,41% bis 5,91%) und der Kontrollgruppe (0,83% 95%KI 0,62% bis 1,1%). Dies zeigte sich dadurch, dass der Schätzer der Kontrollgruppe im 95% KI der LQTS-Gruppe liegt. Die könnte allerdings auch durch das sehr weite Konfidenzintervall der LQTS-Gruppe geschuldet sein, das auf die geringen Fallzahlen in den einzelnen Populationen zurückgeführt werden kann. Jedoch zeigte auch die Studie von Gouas et al. (2005) keine signifikant unterschiedliche Verteilung der Probanden nach der Länge ihres QTc. Somit konnte für den KCNE2-T8A Polymorphismus keine signifikante Assoziation zum angeborenen LQTS nachgewiesen werden.

Der **KCNH2-K897T** Polymorphismus ist eine Genvariante, die mit einer sehr hohen Prävalenz sowohl in der LQTS-Population als auch in der Kontrollpopulation vorkommt. Es konnte eine signifikant höhere Frequenz des minor Allels von diesem Polymorphismus in der Gruppe der LQTS-Patienten (22,6% 95%KI 18,2% bis 27,3%) festgestellt werden als in der Kontrollgruppe (16,0% 95%KI 13,3% bis 18,9%), da die Schätzer nicht im 95%KI der jeweiligen Vergleichsgruppe lagen. Demnach ist davon auszugehen, dass der K897T-Polymorphismus mit dem LQTS assoziiert ist. Allerdings ist nach der Sensitivitätsanalyse kein signifikanter Unterschied mehr zwischen der LQTS-Population und der Kontrollpopulation festzustellen, da die MAF dort 19,0% beträgt und somit im 95% KI der LQTS-Population liegt.

Auffällig ist für die Verteilung des minor Allels allerdings die deutlichen Unterschiede bezüglich der Häufigkeit in verschiedenen ethnischen Gruppen der Allgemeinbevölkerung. So ist das minor Allel in der kaukasischen Bevölkerung mit einer MAF von knapp 25% recht häufig, während die MAF in der finnischen Bevölkerung bei um die 16% liegt. Noch deutlicher wird der Unterschied, wenn man die MAF im asiatischen Raum betrachtet, wo die MAF von

16% bis 2% variiert. So erscheint es notwendig, die Polymorphismen jeweils nach ethnischen Gruppen getrennt zu untersuchen. Durch die deutlichen Unterschiede der Häufigkeit des minor Allels nach Ethnie nimmt die Aussagekraft der hier durchgeführten Untersuchung bezüglich der Prävalenz ab, da verschiedene Ethnien miteinander verglichen wurden.

Es bleibt zu klären, ob die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen der initialen Metaanalyse und der Sensitivitätsanalyse, aufgrund des Nichterfüllens des HWE oder der unterschiedlichen Zusammensetzung der Studienpopulationen bezüglich der Herkunft zustande kommen. Dies erfordert eine größere Anzahl und differenziertere Studien mit großen Studienpopulationen.

Die Metaanalyse zur Auswirkung des Polymorphismus auf das QT-Intervall konnte eine Assoziation feststellen, wobei das minor Allel mit einer Verkürzung des QTc vergesellschaftet war. Die Verkürzung war signifikant, wenn die homozygoten Wildtypträger mit den homozygoten Mutationsträgern (-6,57ms;  $p=0,0015$ ) verglichen wurden und wenn die heterozygoten Probanden mit den homozygoten Mutationsträger verglichen wurden (-4,87ms;  $p=0,0215$ ). Der Vergleich der homozygoten Wildtypträger mit den heterozygoten Probanden zeigte ebenfalls eine Verkürzung des QTc für die Mutationsträger, war jedoch nicht signifikant (-1,47ms;  $p=0,0945$ ).

Die Studie von Pfeufer et al. (2005) fand ebenfalls eine signifikante Verkürzung des QT-Intervalls für die Träger des mutierten Allels (-1,9ms/minor Allel;  $p=0,0006$ ). Newton-Cheh et al. (2007) fanden ebenfalls eine signifikante Verkürzung des QTc für die Träger des mutierten Allels (-1,6ms/minor Allel;  $p=0,01$ ). Marjamaa, Newton-Cheh et al. (2009) fanden eine signifikante Verkürzung des QTc um 2,6ms ( $p=2,1 \times 10^{-7}$ ). Auch die Studie von Gouas et al. (2005) zeigte eine signifikante Anhäufung der Probanden, die das minor Allel trugen, in der Gruppe der kürzeren QT-Intervalle ( $p=0,0065$ ), weshalb auch dort ein QTc-verkürzender Effekt postuliert wird.

Andererseits zeigen Noseworthy et al. (2011) eine signifikante Verlängerung des QTc für die Träger des minor Allels (+2,6ms/minor Allel;  $p=1,3 \times 10^{-7}$ ). Die Studie von Koskela et al. (2008) konnte für die Frauen eine signifikante Verlängerung des QTc für die Träger des mutierten Allels nachweisen

( $p=0,011$ ), wobei bei den Männern keine signifikante Veränderung festgestellt werden konnte.

Nicht nur Koskela et al. (2008), sondern auch Bezzina et al. (2003) und Laitinen et al. (2000) konnten bei der Auftrennung nach Geschlecht unterschiedliche Ergebnisse finden, weshalb auch hier eine Beeinflussung des Phänotyps durch das Geschlecht nicht auszuschließen ist.

Zusammenfassend überwiegt hier die Aussagekraft der Studien, die dem minor Allel des K897T-Polymorphismus eine leichte Verkürzung des QTc zusprechen.

## 5.1 Einschränkungen

Rekapitulierend kann man sagen, dass es sich bei dieser Metaanalyse um eine Momentaufnahme der aktuellen Datenlage handelt, deren Ergebnisse durch zukünftige Publikationen durchaus verändert werden können. Aufgrund der Tatsache, dass die Literaturrecherche ausschließlich in der ‚Pubmed‘-Datenbank durchgeführt wurde, ist es nicht auszuschließen, dass in anderen Literaturdatenbanken Publikationen zu finden sind, die die Ergebnisse ebenfalls verändern können. Weiterhin ist es möglich, dass einzelne Publikationen zu den untersuchten Polymorphismen mit den verwendeten Suchbegriffen nicht auffindig gemacht werden konnten.

Ebenso ist es möglich, dass in den Primärstudien bereits Fehler enthalten sind, die hier nicht identifiziert werden konnten. Trotz mehrfacher Kontrolle der Ergebnisse sind auch Übertragungsfehler nicht komplett ausgeschlossen.

Es wurden nur einige der über 1000 bekannten Genvarianten, die das QTc beeinflussen können, untersucht. Es bleibt somit weiter zu erörtern, inwiefern andere Polymorphismen das QT-Intervall ebenfalls beeinflussen, und ob auch die Interaktion einzelner Genvarianten untereinander den klinischen Phänotyp des LQTS modifizieren können.

Die Datenverarbeitung der einzelnen Studien ist aufgrund der Heterogenität der einzelnen Studienprotokolle erschwert worden. Beispielsweise haben einige Studien die LQTS-Population mit der Wildtyppopulation verglichen, andere Studien verglichen die Mutationsträger mit gesunden Familienmitgliedern, andere wiederum vergleichen verschiedene Polymorphismen untereinander.

Auch existieren viele Studien, die lediglich eine Population, also entweder LQTS-Patienten oder gesunde Probanden, auf die Prävalenz verschiedener Polymorphismen untersucht haben, so, dass keine Odds-ratio bestimmt werden konnte. Daraus resultiert, dass verhältnismäßig wenig Studien in die Metaanalysen eingeschlossen werden konnten, was die Aussagekraft dieser negativ beeinflusst.

Aufgrund dieser nicht ganz übersichtlichen Darstellung der Ergebnisse über die einzelnen Studien hinweg mit zum Teil ganz verschiedenen Studienprotokollen kann die Empfehlung ausgesprochen werden, in Zukunft die Resultate der einzelnen Untersuchungen entweder nach dem allelischen Modell oder dem genotypischen Modell zu stratifizieren um eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erreichen. Ebenso sollten anstatt der einzelnen Untersuchung lediglich einer Gruppe, Fall-Kontroll-Studien durchgeführt werden, da letztere eine bessere Vergleichbarkeit bieten. Ebenfalls sollten Angaben bezüglich des Hardy-Weinberg-Equilibriums gemacht werden, da dieses ein wichtiges populationsgenetisches Maß darstellt.

Zu beachten ist auch, dass die Ergebnisse dieses Reviews beziehungsweise dieser Metaanalyse nicht auf jede Population übertragen werden können, da sich die Daten je nach Ethnie teilweise unterscheiden können. Das Geschlecht der Probanden sollte ebenfalls in die Versuchsprotokolle integriert werden, da die Polymorphismen je nach Geschlecht durchaus verschiedene Effekte haben können.

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

Das Long QT Syndrom ist eine genetische Erkrankung, die durch Mutationen in den Genen, die für kardiale Ionenkanäle kodieren, ausgelöst wird. In dieser Untersuchung, welche auf einer Literaturrecherche in der ‚Pubmed‘-Datenbank basiert, wurden Daten bezüglich des genetischen Profils von LQTS-Patienten und Kontrollpopulationen miteinander verglichen, wobei 64 Studien eingeschlossen werden konnten. Es wurden die Auswirkungen der Genvarianten auf das QTc untersucht, sowie ob eine Anhäufung in der LQTS oder Kontrollpopulation vorliegt.

Dabei sind die meisten der Mutationen, die das LQTS auslösen, in KCNQ1, KCNH2 und SCN5A vorzufinden. Für die Auswirkungen der Genvariante auf den klinischen Phänotyp spielt allerdings nicht nur das betroffene Gen, sondern auch der Mutationstyp und die Lokalisation eine Rolle. Missense-Mutationen sind weitaus am häufigsten, während die Transmembrandomäne der am häufigsten betroffene Genabschnitt ist.

Von den untersuchten Genvarianten konnten für KCNQ1-A341V, KCNQ1-FinA, HERG-FinB und KCNE1-D85N eine signifikante Verlängerung des QTc für die Träger des mutierten Allels nachgewiesen werden. Für den KCNH2-K897T Polymorphismus konnte für die Träger des mutierten Allels eine signifikante Verkürzung des QT-Intervalls festgestellt werden.

Untersuchungen zur Prävalenz der Genvarianten konnten für KCNE1-D85N und KCNH2-K897T einen signifikant höheren Anteil an Probanden mit dem mutierten Allel in der LQTS-Gruppe als in der Kontrollgruppe nachweisen.

Für KCNQ1-G643S und KCNE2-T8A konnte keine signifikante Assoziation zum LQTS festgestellt werden.

Die Ergebnisse dieser Metaanalyse dienen insbesondere dem Verständnis der interindividuellen Variabilität der LQTS-Patienten, da nicht nur die LQTS-auslösende Mutation, sondern auch häufige Polymorphismen zum klinischen Phänotyp beitragen. Ebenso ist es für die genetische Diagnostik essentiell zu wissen, welche Genvarianten untersucht werden müssen, um eine etwaige Beeinflussung des QT-Intervalls detektieren zu können.

## 7 English summary

The long QT syndrome is a genetic disease, caused by mutations in genes coding for the cardiac ion channels.

In this study, which is based on a literature research in ‚Pubmed‘, data concerning the genetic profile of LQTS-patients and control groups has been compared. All in all, 69 studies could be used for the creation of this study, which tried to analyse the impact of several genetic variants on the QTc and the accumulation of some variants in the LQTS or the healthy population.

Most mutations causing the LQTS are in KCNQ1, KCNH2 or SCN5A. But not only the concerned gene influences the clinical expression, but also the type and localisation of the mutation. Missense mutations are far the most and mutations are most of the time located in the transmembrane domain.

For some gene variants, such as KCNQ1-A341V, KCNQ1-FinA, HERG-FinB and KCNE1-D85N, one could prove a significant elongation of the QTc for the mutation carriers. For the carriers of the mutated allele of KCNH2-K897T however, a significant shortening of the QTc could be proved.

For KCNE1-D85N and KCNH2-K897T significantly more carriers of the mutated allele could be found in the LQTS-population compared to a healthy control group.

For KCNQ1-G643S and KCNE2-T8A no significant association to the LQTS could be found in the present study.

The results of this study first serve the understanding of the interindividual variability in LQTS-patients, because not only the LQTS-causing mutation, but also common polymorphisms can modify the clinical phenotype. Furthermore, it is essential for genetic diagnosis to know which gene variants to screen when searching factors modifying the QTc.

## 8 Anhang

*Tabelle 7: Daten zur ,Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNQ1-A341V auf das QTc*

<u>N (exptl.)</u>	<u>N (ctrl.)</u>	<u>Mean diff.</u>	<u>Approximate 95% CI</u>		
86	102	86	75,80	96,20	Brink et al. (2005)
109	101	85	75,39	94,61	Crotti et al. (2005)
36	24	94	70,00	118,00	Heradien et al. (2006)

*Tabelle 8: Daten zur ,Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNQ1-FinA auf das QTc*

<u>N (exptl.)</u>	<u>N (ctrl.)</u>	<u>Mean diff.</u>	<u>Approximate 95% CI</u>		
316	423	50	45,60	54,40	Piippo et al. (2001)
371	471	43	39,15	46,85	Fodstad et al. (2006)
7	4758	39	22,67	55,33	Marjamaa, Salomaa et al. (2009)

*Tabelle 9: Daten zur ,Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von HERG-FinB auf das QTc*

<u>N (exptl.)</u>	<u>N (ctrl.)</u>	<u>Mean diff.</u>	<u>Approximate 95% CI</u>		
6	10	55	23,48	86,52	Laitinen et al. (2000)
62	65	32	22,25	41,75	Fodstad et al. (2006)
16	4758	34	23,21	44,79	Marjamaa, Salomaa et al. (2009)

*Tabelle 10: Daten zur ,Proportion‘-Metaanalyse der KCNE1-D85N Prävalenz in der LQTS-Population*

<u>Responding</u>	<u>Total</u>	<u>Proportion</u>	<u>95% CI (exact)</u>		
0,512	32	0,016	0,00002	0,14	Jongbloed et al. (2002)
1,512	42	0,036	0,003	0,14	Millat et al. (2006)
6,657	317	0,021	0,008	0,04	Nishio et al. (2009)
12,816	712	0,018	0,01	0,03	Lahtinen et al. (2011)
1,505	43	0,035	0,003	0,14	Aziz et al. (2013)

*Tabelle 11: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNE1-D85N Prävalenz in der Kontrollpopulation*

Responding	Total	Proportion	95% CI (exact)		
1	50	0,02	0,0005	0,11	Iwasa et al. (2000)
2,5296	744	0,0034	0,0006	0,01	Ackerman et al. (2003)
1,044	522	0,002	0,00006	0,01	Koo et al. (2005)
1,88	188	0,01	0,001	0,04	Aydin et al. (2005)
7,208	901	0,008	0,003	0,02	Lehtinen et al. (2009)
70,602	5043	0,014	0,01	0,02	Marjamaa, Newton-Cheh et al. (2009)
76,44	7644	0,01	0,008	0,01	Newton-Cheh et al. (2009)
4,0176	496	0,0081	0,002	0,02	Nishio et al. (2009)
68,08	6808	0,01	0,008	0,01	Noseworthy et al. (2011)
46,7973	5379	0,0087	0,006	0,01	Refsgaard e al. (2012)
269,5342	32474	0,0083	0,007	0,009	Seyerle et al. (2014)

*Tabelle 12: Daten zur ‚Summary‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNE1-D85N auf das QTc*

Difference	SE	Approximate 95% CI		
10,5	1,6	7,36	13,64	Marjamaa, Newton-Cheh et al. (2009)
8,4	1,6	5,26	11,54	Newton-Cheh et al. (2009)
1	0,75	-0,47	2,47	Pfeufer et al. (2009)
13,1	6	1,34	24,86	Lahtinen et al. (2011)
5,92	0,71	4,53	7,31	Seyerle et al. (2014)

*Tabelle 13: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNQ1-G643S auf das QTc*

N (exptl.)	N (ctrl.)	Mean diff.	Approximate 95% CI		
81	243	1,2	-4,50	6,90	Ozawa et al. (2006)
6	12	46	36,75	55,25	Kubota et al. (2011)
2	6059	3,3	2,70	3,90	Ghouse et al. (2015)

*Tabelle 14: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNE2-T8A Prävalenz in der LQTS-Population*

Responding	Total	Proportion	95% CI (exact)		
0	40	0	0	0,09	Larsen et al. (2001)
1	32	0,03125	0,0008	0,16	Jongbloed et al. (2002)
1	43	0,023256	0,0006	0,12	Aziz et al. (2013)

*Tabelle 15: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNE2-T8A Prävalenz in der Kontrollpopulation*

<u>Responding</u>	<u>Total</u>	<u>Proportion</u>	<u>95% CI (exact)</u>		
1	168	0,005952	0,0002	0,03	Larsen et al. (2001)
2	744	0,002688	0,0003	0,01	Ackerman et al. (2003)
2	188	0,010638	0,001	0,04	Aydin et al. (2005)
48	5379	0,008924	0,007	0,01	Refsgaard et al. (2012)

*Tabelle 16: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNH2-K897T Prävalenz in der LQTS-Population*

<u>Responding</u>	<u>Total</u>	<u>Proportion</u>	<u>95% CI (exact)</u>		
48,45	170	0,285	0,22	0,36	Laitinen et al. (2000)
6,496	32	0,203	0,08	0,38	Jongbloed et al. (2002)
7,31	43	0,17	0,07	0,32	Millat et al. (2006)
7,009	43	0,163	0,07	0,31	Aziz et al. (2013)
2,97	33	0,09	0,02	0,24	Kanters et al. (2015)

*Tabelle 17: Daten zur ‚Proportion‘-Metaanalyse der KCNH2-K897T Prävalenz in der Kontrollpopulation*

<u>Responding</u>	<u>Total</u>	<u>Proportion</u>	<u>95% CI (exact)</u>		
1	50	0,02	0,0005	0,11	Iwasa et al. (2000)
12,474	81	0,154	0,08	0,25	Laitinen et al. (2000)
66,08	413	0,16	0,13	0,20	Pietilä et al. (2002)
52,08	744	0,07	0,05	0,09	Ackerman et al. (2003)
328,916	1382	0,238	0,22	0,26	Bezzina et al. (2003)
47	188	0,25	0,19	0,32	Aydin et al. (2005)
48,546	522	0,093	0,07	0,12	Koo et al. (2005)
855,309	3549	0,241	0,23	0,26	Pfeufer et al. (2005)
73,64	526	0,14	0,11	0,17	Linna et al. (2006)
306,125	1975	0,155	0,14	0,17	Koskela et al. (2008)
208,388	883	0,236	0,21	0,27	Lehtinen et al. (2009)
892,611	5043	0,177	0,17	0,19	Marjamaa, Newton-Cheh et al. (2009)
304,934	1894	0,161	0,14	0,18	Raitakari et al. (2009)
38,497	281	0,137	0,10	0,18	Edelmann et al. (2016)

*Tabelle 18: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNH2-K897T auf das QTc (Homozygote WT vs. Heterozygote P<sub>b</sub>)*

<u>N (exptl.)</u>	<u>N (ctrl.)</u>	<u>Mean diff.</u>	<u>Approximate 95% CI</u>		
63	90	-5	-16,72	6,72	Laitinen et al. (2000) - Population 1
21	58	-4	-17,03	9,03	Laitinen et al. (2000) - Population 2
368	604	-1,3	-4,21	1,61	Bezzina et al. (2003) - Sample 1
86	135	-2,8	-9,09	3,49	Bezzina et al. (2003) - Sample 2
517	1331	-1	-3,36	1,36	Raitakari et al. (2009)
5	91	5	-21,79	31,79	Kapplinger et al. (2017) - Men
18	169	-6,1	-18,77	6,57	Kapplinger et al. (2017) - Women

*Tabelle 19: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNH2-K897T auf das QTc (Homozygote WT vs. Homozygote MT)*

N (exptl.)	N (ctrl.)	Mean diff.	Approximate 95% CI		
17	90	-15	-34,00	4,00	Laitinen et al. (2000) - Population 1
2	58	-19	-54,71	16,71	Laitinen et al. (2000) - Population 2
58	604	-10	-15,95	-4,05	Bezzina et al. (2003) - Sample 1
15	135	-6,1	-18,92	6,72	Bezzina et al. (2003) - Sample 2
46	1331	0	-6,77	6,77	Raitakari et al. (2009)

*Tabelle 20: Daten zur ‚Weighted mean difference‘-Metaanalyse der Auswirkung von KCNH2-K897T auf das QTc (Heterozygote Pb vs. Homozygote MT)*

N (exptl.)	N (ctrl.)	Mean diff.	Approximate 95% CI		
17	63	-10	-27,60	7,60	Laitinen et al. (2000) - Population 1
2	21	-15	-57,96	27,96	Laitinen et al. (2000) - Population 2
58	368	-8,7	-15,04	-2,36	Bezzina et al. (2003) - Sample 1
15	86	-3,3	-14,89	8,29	Bezzina et al. (2003) - Sample 2
46	517	1	-6,24	8,24	Raitakari et al. (2009)

*Tabelle 21: Angaben zum HWE der einzelnen Untersuchungen*

Metaanalyse	Studie	HWE p-Wert	Bemerkung
Proportion-Metaanalyse D85N Kontrolle	Iwasa et al. (2000)	k.A.	
	Ackerman et al. (2003)	k.A.	
	Aydin et al. (2005)	0,02	Angabe
	Koo et al. (2005)	k.A.	
	Lehtinen et al. (2009)	✓	Angabe, Berechnung ergibt: 0,799
	Marjamaa, Newton-Cheh et al. (2009)	✓	Angabe, p>0,01
	Newton-Cheh et al. (2009)	✓	Angabe, p>0,01
	Nishio et al. (2009)	0,856	Berechnet
	Noseworthy et al. (2011)	0,093	Angabe
	Refsgaard et al. (2012)	k.A.	
	Seyerle et al. (2014)	k.A.	HWE der einzelnen eingeschlossenen Studien erfüllt

Summary-Metaanalyse D85N MT vs. WT	Marjamaa, Newton-Cheh et al. (2009)	✓	Angabe, $p > 0,01$
	Newton-Cheh et al. (2009)	✓	Angabe, $p > 0,01$
	Pfeufer et al. (2009)	✓	Angabe
	Lahtinen et al. (2011)	0,0001	Berechnet, Population: FF-Mutationsträger, Chi-Quadrat-Test verletzt
	Seyerle et al. (2014)	k.A.	HWE der einzelnen eingeschlossenen Studien jedoch erfüllt
Effect-size-Metaanalyse G643S MT vs. WT	Ozawa et al. (2006)	0,143	Berechnet, Chi-Quadrat-Test verletzt
	Kubota et al. (2011)	0,396	Berechnet, Chi-Quadrat-Test verletzt
	Ghouse et al. (2015)	✓	Angabe, $p > 0,05$
Proportion-Metaanalyse T8A Kontrolle	Larsen et al. (2001)	0,969	Berechnet, Chi-Quadrat-Test verletzt
	Ackerman et al. (2003)	k.A.	
	Aydin et al. (2005)	0,22	Angabe
	Refsgaard et al. (2012)	k.A.	
Proportion-Metaanalyse K897T Kontrolle	Iwasa et al. (2000)	k.A.	
	Laitinen et al. (2000)	0,952	Berechnet, Chi-Quadrat-Test verletzt
	Pietilä et al. (2002)	k.A.	
	Ackerman et al. (2003)	k.A.	
	Bezzina et al. (2003)	✓	Angabe, Berechnung ergibt: 0,45
	Aydin et al. (2005)	0,08	Angabe
	Koo et al. (2005)	k.A.	
	Pfeufer et al. (2005)	0,3	Berechnet
	Linna et al. (2006)	k.A.	
	Koskela et al. (2008)	✓	Angabe, Berechnung ergibt: 0,676
	Lehtinen et al. (2009)	✗	Angabe, aber Berechnung ergibt: 0,102
	Marjamaa, Newton-Cheh et al. (2009)	✓	Angabe, $p > 0,01$
	Raitakari et al. (2009)	0,61	Angabe
Edelmann et al. (2016)	0,885	Berechnet	

Effect size Metaanalyse K897T MT vs. WT	Laitinen et al. (2000) - Population 1	0,234	Berechnet
	Laitinen et al. (2000) - Population 2	0,952	Berechnet, Chi-Quadrat-Test verletzt
	Bezzina et al. (2003) - Sample 1	✓	Angabe, Berechnung ergibt: 0,843
	Bezzina et al. (2003) - Sample 2	✓	Angabe, Berechnung ergibt: 0,793
	Raitakari et al. (2009)	0,61	Angabe
	Kapplinger et al. (2017) - Men	0,793	Berechnet, Chi-Quadrat-Test verletzt

## 9 Literaturverzeichnis

- Ackerman, M. J., Splawski, I., Makielski, J. C., Tester, D. J., Will, M. L., Timothy, K. W., ... & Stephens, J. C. (2004). Spectrum and prevalence of cardiac sodium channel variants among black, white, Asian, and Hispanic individuals: implications for arrhythmogenic susceptibility and Brugada/long QT syndrome genetic testing. *Heart Rhythm*, 1(5), 600-607.
- Ackerman, M. J., Tester, D. J., Jones, G. S., Will, M. L., Burrow, C. R., & Curran, M. E. (2003, December). Ethnic differences in cardiac potassium channel variants: implications for genetic susceptibility to sudden cardiac death and genetic testing for congenital long QT syndrome. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 78, No. 12, pp. 1479-1487). Elsevier.
- Alders, M., & Christiaans, I. (2015). Long QT Syndrome
- Aydin, A., Bähring, S., Dahm, S., Guenther, U. P., Uhlmann, R., Busjahn, A., & Luft, F. C. (2005). Single nucleotide polymorphism map of five long-QT genes. *Journal of molecular medicine*, 83(2), 159-165.
- Aziz, P. F., Wieand, T. S., Ganley, J., Henderson, J., McBride, M., & Shah, M. J. (2013). Do LQTS gene single nucleotide polymorphisms alter QTc intervals at rest and during exercise stress testing?. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, 18(3), 288-293.
- Barsheshet, A., Moss, A. J., McNitt, S., Polonsky, S., Lopes, C. M., Zareba, W., ... & Towbin, J. A. (2011). Risk of syncope in family members who are genotype negative for a family-associated long QT syndrome mutation. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, CIRCGENETICS-111.
- Berge, K. E., Haugaa, K. H., Früh, A., Anfinnsen, O. G., Gjesdal, K., Siem, G., ... & Hallerud, M. (2008). Molecular genetic analysis of long QT syndrome in Norway indicating a high prevalence of heterozygous mutation carriers. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 68(5), 362-368.
- Bezzina, C. R., Verkerk, A. O., Busjahn, A., Jeron, A., Erdmann, J., Koopmann, T. T., ... & Luft, F. C. (2003). A common polymorphism in KCNH2 (HERG) hastens cardiac repolarization. *Cardiovascular research*, 59(1), 27-36.
- Blaufox, A. D., Tristani-Firouzi, M., Seslar, S., Sanatani, S., Trivedi, B., Fischbach, P., ... & Cuneo, B. (2012). Congenital long QT 3 in the pediatric population. *The American journal of cardiology*, 109(10), 1459-1465.
- Brink, P. A., Crotti, L., Corfield, V., Goosen, A., Durrheim, G., Hedley, P., ... & Spazzolini, C. (2005). Phenotypic variability and unusual clinical severity of congenital long-QT syndrome in a founder population. *Circulation*, 112(17), 2602-2610.
- Brink, P. A., & Schwartz, P. J. (2009). Of founder populations, long QT syndrome, and destiny. *Heart Rhythm*, 6(11), S25-S33.
- Camm, A. J., Janse, M. J., Roden, D. M., Rosen, M. R., Cinca, J., & Cobbe, S. M. (2000). Congenital and acquired long QT syndrome. *European Heart Journal*, 21(15), 1232-1237.

- Christiansen, M., Hedley, P. L., Theilade, J., Stoevring, B., Leren, T. P., Eschen, O., ... & Frikke-Schmidt, R. (2014). Mutations in Danish patients with long QT syndrome and the identification of a large founder family with p. F29L in KCNH2. *BMC medical genetics*, 15(1), 31.
- Crotti, L., Celano, G., Dagradi, F., & Schwartz, P. J. (2008). Congenital long QT syndrome. *Orphanet journal of rare diseases*, 3(1), 18.
- Crotti, L., Lahtinen, A. M., Spazzolini, C., Mastantuono, E., Monti, M. C., Morassutto, C., ... & Meitinger, T. (2016). Genetic Modifiers for the Long-QT Syndrome. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 9(4), 330-339.
- Crotti, L., Lundquist, A. L., Insolia, R., Pedrazzini, M., Ferrandi, C., De Ferrari, G. M., ... & Schwartz, P. J. (2005). KCNH2-K897T is a genetic modifier of latent congenital long-QT syndrome. *Circulation*, 112(9), 1251-1258.
- Crotti, L., Monti, M. C., Insolia, R., Peljto, A., Goosen, A., Brink, P. A., ... & George, A. L. (2009). NOS1AP is a genetic modifier of the long-QT syndrome. *Circulation*, 120(17), 1657-1663.
- Crotti, L., Spazzolini, C., Schwartz, P. J., Shimizu, W., Denjoy, I., Schulze-Bahr, E., ... & Wilde, A. A. (2007). The common Long-QT syndrome mutation KCNQ1/A341V causes unusually severe clinical manifestations in patients with different ethnic backgrounds. *Circulation*, 116(21), 2366-2375.
- Curran, M. E., Splawski, I., Timothy, K. W., Vincen, G. M., Green, E. D., & Keating, M. T. (1995). A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell*, 80(5), 795-803.
- De Villiers, C. P., Van Der Merwe, L., Crotti, L., Goosen, A., George, A. L., Schwartz, P. J., ... & Corfield, V. A. (2014). AKAP9 is a genetic modifier of congenital long-QT syndrome type 1. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, CIRCGEN ETICS-113.
- Diamant, U. B., Vahedi, F., Winbo, A., Rydberg, A., Stattin, E. L., Jensen, S., & Bergfeldt, L. (2013). Electrophysiological phenotype in the LQTS mutations Y111C and R518X in the KCNQ1 gene. *Journal of Applied Physiology*.
- Edelmann, J., Dobosz, T., Sobieszczanska, M., Kawecka-Negrusz, M., Dreßler, J., & Nastainczyk-Wulf, M. (2017). Mutation analysis for the detection of long QT-syndrome (LQTS) associated SNPs. *International journal of legal medicine*, 131(2), 333-338.
- Fodstad, H., Bendahhou, S., Rougier, J. S., Laitinen-Forsblom, P. J., Barhanin, J., Abriel, H., ... & Swan, H. (2006). Molecular characterization of two founder mutations causing long QT syndrome and identification of compound heterozygous patients. *Annals of medicine*, 38(4), 294-304.
- Fodstad, H., Swan, H., Laitinen, P., Piippo, K., Paavonen, K., Viitasalo, M., ... & Kontula, K. (2004). Four potassium channel mutations account for 73% of the genetic spectrum underlying long-QT syndrome (LQTS) and provide evidence for a strong founder effect in Finland. *Annals of medicine*, 36(sup1), 53-63.
- Gao, Y., Liu, W., Li, C., Qiu, X., Qin, X., Guo, B., ... & Liang, L. (2016). Common genotypes of long QT syndrome in China and the role of ECG prediction. *Cardiology*, 133(2), 73-78.

- Ghose, J., Have, C. T., Weeke, P., Bille Nielsen, J., Ahlberg, G., Balslev-Harder, M., ... & Linneberg, A. (2015). Rare genetic variants previously associated with congenital forms of long QT syndrome have little or no effect on the QT interval. *European heart journal*, 36(37), 2523-2529.
- Goldenberg, I., Horr, S., Moss, A. J., Lopes, C. M., Barsheshet, A., McNitt, S., ... & Ackerman, M. J. (2011). Risk for life-threatening cardiac events in patients with genotype-confirmed long-QT syndrome and normal-range corrected QT intervals. *Journal of the American College of Cardiology*, 57(1), 51-59.
- Gouas, L., Nicaud, V., Berthet, M., Forhan, A., Tiret, L., Balkau, B., & Guicheney, P. (2005). Association of KCNQ1, KCNE1, KCNH2 and SCN5A polymorphisms with QTc interval length in a healthy population. *European journal of human genetics: EJHG*, 13(11), 1213.
- Hedley, P. L., Durrheim, G. A., Hendricks, F., Goosen, A., Brink, P. A., Corfield, V. A., ... & Christiansen, M. (2013). Long QT syndrome in South Africa: the results of comprehensive genetic screening: cardiovascular topic. *Cardiovascular journal of Africa*, 24(6), 231-237.
- Heradien, M. J., Goosen, A., Crotti, L., Durrheim, G., Corfield, V., Brink, P. A., & Schwartz, P. J. (2006). Does pregnancy increase cardiac risk for LQT1 patients with the KCNQ1-A341V mutation?. *Journal of the American College of Cardiology*, 48(7), 1410-1415.
- Hofman, N., Jongbloed, R., Postema, P. G., Nannenberg, E., Alders, M., & Wilde, A. A. (2011). Recurrent and founder mutations in the Netherlands: the long-QT syndrome. *Netherlands Heart Journal*, 19(1), 10-16.
- Hongbao, M. (2005). Development Application Polymerase Chain Reaction (PCR). *J. Am. Sci*, 1(3), 1-15.
- Itoh, H., Dochi, K., Shimizu, W., Denjoy, I., Ohno, S., Aiba, T., ... & Schulze-Bahr, E. (2015). A common mutation of long QT syndrome type 1 in Japan. *Circulation Journal*, 79(9), 2026-2030.
- Iwasa, H., Itoh, T., Nagai, R., Nakamura, Y., & Tanaka, T. (2000). Twenty single nucleotide polymorphisms (SNPs) and their allelic frequencies in four genes that are responsible for familial long QT syndrome in the Japanese population. *Journal of human genetics*, 45(3), 182-183.
- Jervell, A., & Lange-Nielsen, F. (1957). Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the QT interval, and sudden death. *American heart journal*, 54(1), 59-68.
- 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. *Human mutation*, 20(5), 382-391.
- Kapa, S., Tester, D. J., Salisbury, B. A., Harris-Kerr, C., Pungliya, M. S., Alders, M., ... & Ackerman, M. J. (2009). Genetic testing for long-qt syndrome. *Circulation*, 120(18), 1752-1760.
- Kanters, J. K., Skibsbye, L., Hedley, P. L., Dembic, M., Liang, B., Hagen, C. M., ... & Jespersen, T. (2015). Combined gating and trafficking defect in Kv11. 1 manifests as a malignant long QT syndrome phenotype in a large Danish p. F29L founder family. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 75(8), 699-709.

- Kapplinger, J. D., Erickson, A., Asuri, S., Tester, D. J., McIntosh, S., Kerr, C. R., ... & Ackerman, M. J. (2017). KCNQ1 p. L353L affects splicing and modifies the phenotype in a founder population with long QT syndrome type 1. *Journal of Medical Genetics*, 54(6), 390-398.
- Kapplinger, J. D., Tester, D. J., Salisbury, B. A., Carr, J. L., Harris-Kerr, C., Pollevick, G. D., ... & Ackerman, M. J. (2009). Spectrum and prevalence of mutations from the first 2,500 consecutive unrelated patients referred for the FAMILION® long QT syndrome genetic test. *Heart Rhythm*, 6(9), 1297-1303.
- Karki, R., Pandya, D., Elston, R. C., & Ferlini, C. (2015). Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics. *BMC medical genomics*, 8(1), 37.
- Kawataki, M., Kashima, T., Toda, H., & Tanaka, H. (1984). Relation between QT interval and heart rate. Applications and limitations of Bazett's formula. *Journal of electrocardiology*, 17(4), 371-375.
- Klinefelter syndrome. (o.D.) Abgerufen am 03.02.2018 von <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/klinefelter-syndrome>
- Koo, S. H., Ho, W. F., & Lee, E. J. D. (2005). Genetic polymorphisms in KCNQ1, HERG, KCNE1 and KCNE2 genes in the Chinese, Malay and Indian populations of Singapore. *British journal of clinical pharmacology*, 61(3), 301-308.
- Kolder, I. C., Tanck, M. W., Postema, P. G., Barc, J., Sinner, M. F., Zumhagen, S., ... & Pfeufer, A. (2015). Analysis for genetic modifiers of disease severity in patients with long QT syndrome type 2. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, CIRCGENETICS-114.
- Koponen, M., Marjamaa, A., Hiippala, A., Happonen, J. M., Havulinna, A. S., Salomaa, V., ... & Kontula, K. (2015). Follow-up of 316 molecularly defined pediatric long QT syndrome patients-clinical course, treatments and side effects. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, CIRCEP-114.
- Koskela, J., Laiho, J., Kähönen, M., Rontu, R., Lehtinen, R., Viik, J., ... & Pörsti, I. (2008). Potassium channel KCNH2 K897T polymorphism and cardiac repolarization during exercise test: The Finnish Cardiovascular Study. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 68(1), 31-38.
- Kubota, T., Horie, M., Takano, M., Yoshida, H., Takenaka, K., Watanabe, E., ... & Sasayama, S. (2001). Evidence for a Single Nucleotide Polymorphism in the KCNQ1 Potassium Channel that Underlies Susceptibility to Life-Threatening Arrhythmias. *Journal of cardiovascular electrophysiology*, 12(11), 1223-1229.
- Lahtinen, A. M., Marjamaa, A., Swan, H., & Kontula, K. (2011). KCNE1 D85N polymorphism—a sex-specific modifier in type 1 long QT syndrome?. *BMC medical genetics*, 12(1), 11.
- Laitinen, P., Fodstad, H., Piippo, K., Swan, H., Toivonen, L., Viitasalo, M., ... & Kontula, K. (2000). Survey of the coding region of the HERG gene in long QT syndrome reveals six novel mutations and an amino acid polymorphism with possible phenotypic effects. *Human mutation*, 15(6), 580.
- Larsen, L. A., Andersen, P. S., Kanters, J., Svendsen, I. H., Jacobsen, J. R., Vuust, J., ... & Christiansen, M. (2001). Screening for mutations and polymorphisms in the genes KCNH2 and KCNE2 encoding the cardiac HERG/MiRP1 ion channel: implications for acquired and congenital long QT syndrome. *Clinical Chemistry*, 47(8), 1390-1395.

- Lee, Y. S., Kwon, B. S., Kim, G. B., Oh, S. I., Bae, E. J., Park, S. S., & Noh, C. I. (2013). Long QT syndrome: a Korean single center study. *Journal of Korean medical science*, 28(10), 1454-1460.
- Lehtinen, A. B., Daniel, K. R., Shah, S. A., Nelson, M. R., Ziegler, J. T., Freedman, B. I., ... & Bowden, D. W. (2009). Relationship between genetic variants in myocardial sodium and potassium channel genes and QT interval duration in diabetics: the Diabetes Heart Study. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, 14(1), 72-79.
- Linna, E. H., Perkiömäki, J. S., Karsikas, M., Seppänen, T., Savolainen, M., Kesäniemi, Y. A., ... & Huikuri, H. V. (2006). Functional Significance of KCNH2 (HERG) K897T Polymorphism for Cardiac Repolarization Assessed by Analysis of T-Wave Morphology. *Annals of noninvasive electrocardiology*, 11(1), 57-62.
- Marjamaa, A., Newton-Cheh, C., Porthan, K., Reunanen, A., Lahermo, P., Väänänen, H., ... & Nieminen, M. S. (2009). Common candidate gene variants are associated with QT interval duration in the general population. *Journal of internal medicine*, 265(4), 448-458.
- Marjamaa, A., Salomaa, V., Newton-Cheh, C., Porthan, K., Reunanen, A., Karanko, H., ... & Swan, H. (2009). High prevalence of four long QT syndrome founder mutations in the Finnish population. *Annals of medicine*, 41(3), 234-240.
- Millat, G., Chevalier, P., Restier-Miron, L., Da Costa, A., Bouvagnet, P., Kugener, B., ... & Froidefond, E. (2006). Spectrum of pathogenic mutations and associated polymorphisms in a cohort of 44 unrelated patients with long QT syndrome. *Clinical genetics*, 70(3), 214-227.
- Moss, A. J., Shimizu, W., Wilde, A. A., Towbin, J. A., Zareba, W., Robinson, J. L., ... & Hofman, N. (2007). Clinical aspects of type-1 long-QT syndrome by location, coding type, and biophysical function of mutations involving the KCNQ1 gene. *Circulation*, 115(19), 2481-2489.
- Napolitano, C., Priori, S. G., Schwartz, P. J., Bloise, R., Ronchetti, E., Nastoli, J., ... & Leonardi, S. (2005). Genetic testing in the long QT syndrome: development and validation of an efficient approach to genotyping in clinical practice. *Jama*, 294(23), 2975-2980.
- Newton-Cheh, C., Eijgelsheim, M., Rice, K. M., De Bakker, P. I., Yin, X., Estrada, K., ... & Sotoodehnia, N. (2009). Common variants at ten loci influence QT interval duration in the QTGEN Study. *Nature genetics*, 41(4), 399-406.
- Newton-Cheh, C., Guo, C. Y., Larson, M. G., Musone, S. L., Surti, A., Camargo, A. L., ... & Hirschhorn, J. N. (2007). Common genetic variation in KCNH2 is associated with QT interval duration. *Circulation*, 116(10), 1128-1136.
- Nishio, Y., Makiyama, T., Itoh, H., Sakaguchi, T., Ohno, S., Gong, Y. Z., ... & Kawamura, M. (2009). D85N, a KCNE1 polymorphism, is a disease-causing gene variant in long QT syndrome. *Journal of the American College of Cardiology*, 54(9), 812-819.
- Noseworthy, P. A., Havulinna, A. S., Porthan, K., Lahtinen, A. M., Jula, A., Karhunen, P. J., ... & Newton-Cheh, C. (2011). Common Genetic Variants, QT Interval and Sudden Cardiac Death in a Finnish Population-Based Study. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, CIRCGENETICS-110.

- Ozawa, T., Ito, M., Tamaki, S., Yao, T., Ashihara, T., Kita, Y., ... & Horie, M. (2006). Gender and age effects on ventricular repolarization abnormality in Japanese general carriers of a G643S common single nucleotide polymorphism for the KCNQ1 gene. *Circulation Journal*, 70(6), 645-650.
- Pfeufer, A., Jalilzadeh, S., Perz, S., Mueller, J. C., Hinterseer, M., Illig, T., ... & Steinbeck, G. (2005). Common variants in myocardial ion channel genes modify the QT interval in the general population. *Circulation research*, 96(6), 693-701.
- Pfeufer, A., Sanna, S., Arking, D. E., Müller, M., Gateva, V., Fuchsberger, C., ... & Perz, S. (2009). Common variants at ten loci modulate the QT interval duration in the QTSCD Study. *Nature genetics*, 41(4), 407-414.
- Pietilä, E., Fodstad, H., Niskasaari, E., Swan, H., Savolainen, M., Kesäniemi, Y. A., ... & Huikuri, H. V. (2002). Association between HERG K897T polymorphism and QT interval in middle-aged Finnish women. *Journal of the American College of Cardiology*, 40(3), 511-514.
- Piippo, K., Swan, H., Pasternack, M., Chapman, H., Paavonen, K., Viitasalo, M., ... & Kontula, K. (2001). A founder mutation of the potassium channel KCNQ1 in long QT syndrome: implications for estimation of disease prevalence and molecular diagnostics. *Journal of the American College of Cardiology*, 37(2), 562-568.
- Priori, S. G., Schwartz, P. J., Napolitano, C., Bloise, R., Ronchetti, E., Grillo, M., ... & Folli, R. (2003). Risk stratification in the long-QT syndrome. *New England Journal of Medicine*, 348(19), 1866-1874.
- Priori, S. G., Wilde, A. A., Horie, M., Cho, Y., Behr, E. R., Berul, C., ... & Kannankeril, P. (2013). Executive summary: HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes. *Europace*, 15(10), 1389-1406.
- Qureshi, S. F., Ali, A., John, P., Jadhav, A. P., Venkateshwari, A., Rao, H., ... & Nallari, P. (2015). Mutational analysis of SCN5A gene in long QT syndrome. *Meta gene*, 6, 26-35.
- Raitakari, O. T., Blom-Nyholm, J., Koskinen, T. A., Kähönen, M., Viikari, J. S., & Lehtimäki, T. (2009). Common variation in NOS1AP and KCNH2 genes and QT interval duration in young adults. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Annals of medicine*, 41(2), 144-151.
- Refsgaard, L., Holst, A. G., Sadjadieh, G., Haunsø, S., Nielsen, J. B., & Olesen, M. S. (2012). High prevalence of genetic variants previously associated with LQT syndrome in new exome data. *European Journal of Human Genetics*, 20(8), 905.
- Ressing, M., Blettner, M., & Klug, S. J. (2009). Systematic literature reviews and meta-analyses: part 6 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int*, 106(27), 456-63.
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., ... & Voelkerding, K. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*, 17(5), 405-424.

- Romano, C., Gemme, G., & Pongiglione, R. (1963). Artimie cardiache rare dell'eta' pediatrica. II. *Accesisincopali per fibillazione ventricolare paro ssistica*. (presentazione del primo caso della I *etterature pediatrica Italiana*.) *Clin. Pediat*, 45(656), 3.
- Sauer, A. J., Moss, A. J., McNitt, S., Peterson, D. R., Zareba, W., Robinson, J. L., ... & Benhorin, J. (2007). Long QT syndrome in adults. *Journal of the American College of Cardiology*, 49(3), 329-337.
- Schwartz, P. J., & Crotti, L. (2011). QTc behavior during exercise and genetic testing for the long-QT syndrome.
- Schwartz, P. J., Moss, A. J., Vincent, G. M., & Crampton, R. S. (1993). Diagnostic criteria for the long QT syndrome. An update. *Circulation*, 88(2), 782-784.
- Schwartz, P. J., Periti, M., & Malliani, A. (1975). The long QT syndrome. *American heart journal*, 89(3), 378-390.
- Schwartz, P. J., Spazzolini, C., & Crotti, L. (2009). All LQT3 patients need an ICD: true or false?. *Heart Rhythm*, 6(1), 113-120
- Schwartz, P. J., Spazzolini, C., Crotti, L., Bathen, J., Amlie, J. P., Timothy, K., ... & Horie, M. (2006). The Jervell and Lange-Nielsen Syndrome. *Circulation*, 113(6), 783-790.
- Schwartz, P. J., Stramba-Badiale, M., Crotti, L., Pedrazzini, M., Besana, A., Bosi, G., ... & Mosca, F. (2009). Prevalence of the congenital long-QT syndrome. *Circulation*, 120(18), 1761-1767.
- Seyerle, A. A., Young, A. M., Jeff, J. M., Melton, P. E., Jorgensen, N. W., Lin, Y., ... & Jackson, R. D. (2014). Evidence of heterogeneity by race/ethnicity in genetic determinants of QT interval. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 25(6), 790.
- Splawski, I., Shen, J., Timothy, K. W., Lehmann, M. H., Priori, S., Robinson, J. L., ... & Keating, M. T. (2000). Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes. *Circulation*, 102(10), 1178-1185.
- Stattin, E. L., Boström, I. M., Winbo, A., Cederquist, K., Jonasson, J., Jonsson, B. A., ... & Norberg, A. (2012). Founder mutations characterise the mutation panorama in 200 Swedish index cases referred for Long QT syndrome genetic testing. *BMC cardiovascular disorders*, 12(1), 95.
- Takahashi, K., Shimizu, W., Miyake, A., Nabeshima, T., Nakayashiro, M., & Ganaha, H. (2014). High prevalence of the SCN5A E1784K mutation in school children with long QT syndrome living on the Okinawa islands. *Circulation Journal*, 78(8), 1974-1979.
- Tester, D. J., & Ackerman, M. J. (2014). Genetics of long QT syndrome. *Methodist DeBakey cardiovascular journal*, 10(1), 29-33.
- 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. *Heart Rhythm*, 2(5), 507-517.
- Tranebjærg, L., Samson, R. A., & Green, G. E. (2002). Jervell and Lange-Nielsen Syndrome. Update: 2014
- Vincent, G. M. (2002). The Long QT Syndrome. *Indian Pacing and Electrophysiology Journal*, 2(4), 127-142.

- Vyas, B., Puri, R. D., Namboodiri, N., Saxena, R., Nair, M., Balakrishnan, P., ... & Verma, I. C. (2016). Phenotype guided characterization and molecular analysis of Indian patients with long QT syndromes. *Indian Pacing and Electrophysiology Journal*, 16(1), 8-18
- Wang, Q., Curran, M., Splawski, I., Burn, T. C., Millholland, J. M., VanRaay, T. J., ... & Schwartz, P. J. (1996). Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias. *Nature genetics*, 12(1), 17-23.
- Wang, Q., Shen, J., Li, Z., Timothy, K., Vincent, G. M., Priori, S. G., ... & Keating, M. T. (1995). Cardiac sodium channel mutations in patients with long QT syndrome, an inherited cardiac arrhythmia. *Human molecular genetics*, 4(9), 1603-1607.
- Ward, O. C. (1964). A new familial cardiac syndrome in children. *Journal of the Irish Medical Association*, 54, 103-106.
- Westenskow, P., Splawski, I., Timothy, K. W., Keating, M. T., & Sanguinetti, M. C. (2004). Compound mutations. *Circulation*, 109(15), 1834-1841.
- Wilde, A. A., Moss, A. J., Kaufman, E. S., Shimizu, W., Peterson, D. R., Benhorin, J., ... & Zareba, W. (2016). Clinical aspects of type 3 long QT syndrome: an international multicenter study. *Circulation*, CIRCULATIONAHA-116.
- Winbo, A., Diamant, U. B., Rydberg, A., Persson, J., Jensen, S. M., & Stattin, E. L. (2011). Origin of the Swedish long QT syndrome Y111C/KCNQ1 founder mutation. *Heart Rhythm*, 8(4), 541-547.
- Winbo, A., Diamant, U. B., Stattin, E. L., Jensen, S. M., & Rydberg, A. (2009). Low incidence of sudden cardiac death in a Swedish Y111C-LQT1 population. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, CIRCGENETICS-108.
- Winbo, A., Fosdal, I., Lindh, M., Diamant, U. B., Persson, J., Wettrell, G., & Rydberg, A. (2015). Third trimester fetal heart rate predicts phenotype and mutation burden in the type 1 long QT syndrome. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, CIRCEP-114.
- Winbo, A., Stattin, E. L., Nordin, C., Diamant, U. B., Persson, J., Jensen, S. M., & Rydberg, A. (2014). Phenotype, origin and estimated prevalence of a common long QT syndrome mutation: a clinical, genealogical and molecular genetics study including Swedish R518X/KCNQ1 families. *BMC cardiovascular disorders*, 14(1), 22.
- Winbo, A., Stattin, E. L., Westin, I. M., Norberg, A., Persson, J., Jensen, S. M., & Rydberg, A. (2017). Sex is a moderator of the association between NOS1AP sequence variants and QTc in two long QT syndrome founder populations: a pedigree-based measured genotype association analysis. *BMC medical genetics*, 18(1), 74.
- Yoshinaga, M., Kucho, Y., Sarantuya, J., Ninomiya, Y., Horigome, H., Ushinohama, H., ... & Horie, M. (2013). Genetic characteristics of children and adolescents with long QT syndrome diagnosed by school-based electrocardiographic screening programs. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, CIRCEP-113.

## 10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben, herzlich danken.

Dabei möchte ich insbesondere meinem Doktorvater, Herr Prof. Dr. Wagenpfeil, danken, der durch seine fachliche Unterstützung in zahlreichen Gesprächen, diese Arbeit erst ermöglicht hat.

Darüber hinaus möchte ich meinen Freunden und Kommilitonen, die durch zahlreiche konstruktive Ratschläge zur kontinuierlichen Verbesserung der Doktorarbeit beigetragen haben, einen besonderen Dank aussprechen.

Ebenso will ich mich hier für die moralische Unterstützung und Geduld, die ich während dieser Zeit erfahren habe, bedanken. Dabei gilt dies insbesondere meinen Freunden und meiner Familie die mich immer unterstützt haben.