

Aus der Klinik für angeborene Herzfehler und Kinderkardiologie des  
Deutschen Herzzentrums Berlin

DISSERTATION

Die GATA binding protein 4 (GATA4) Sequenzvariation S377G  
bei Patienten mit isoliertem Vorhofseptumdefekt im Herzen –  
Determination eines Phänotyps?

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Eva-Maria Gwendolyn Roth, geb. Esenwein

aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. F. Berger  
2. Prof. Dr. med. K. Brockmeier  
3. Prof. Dr. med. Ch. Bühner

Datum der Promotion: 29. Januar 2010

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1.	Embryologie .....	2
1.2.	Herzentwicklung und GATA4 .....	5
1.3.	GATA4 und ASDII .....	6
1.4.	Zielsetzung .....	8
2.	Methodik.....	9
2.1.	Studienvorbereitung .....	9
2.1.1.	Einschlusskriterien.....	9
2.1.2.	Ausschlusskriterien.....	10
2.1.3.	Patientenkollektiv .....	10
2.1.4.	Einteilung in Studiengruppen .....	11
2.2.	Patientenrekrutierung und Probengewinnung .....	11
2.2.1.	Rekrutierung der Patienten .....	11
2.2.2.	Einverständnis der Patienten.....	11
2.2.3.	Probengewinnung .....	12
2.3.	Datenerhebung.....	12
2.3.1.	Charakterisierung der Patienten.....	12
2.3.1.1.	Körperbezogene Kenndaten .....	13
2.3.1.2.	Art des Septumdefektes.....	13
2.3.1.3.	Blockbild .....	13
2.3.2.	Anamneseerhebung.....	14
2.3.2.1.	Alter bei Erstdiagnose .....	14
2.3.2.2.	Symptome bei Erstdiagnose .....	14
2.3.2.3.	Migräne .....	14
2.3.2.4.	Familienanamnese .....	15
2.3.3.	Körperliche Untersuchungsbefunde .....	15
2.3.4.	Elektrokardiogramm .....	16
2.3.5.	Transthorakale Echokardiografie.....	17
2.3.5.1.	Zweidimensionale Darstellung der Herzhöhlen .....	17
2.3.5.2.	Defektbeschreibung.....	17
2.3.5.3.	Herzklappen .....	18
2.3.5.4.	Ventrikuläre Ausflusstrakte und Lebervenenstauung .....	18
2.3.5.5.	Größe der Herzhöhlen .....	19
2.3.5.6.	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion und Verkürzungsfraktion .....	19
2.3.6.	Transösophageale Echokardiografie.....	19
2.3.7.	Herzkatheteruntersuchung .....	20
2.3.7.1.	Sättigungsanalyse .....	20
2.3.7.2.	Angiografische Druckmessungen .....	20
2.3.8.	Katheterinterventioneller Defektverschluss.....	20
2.3.9.	Operativer Defektverschluss.....	21
2.4.	Datenbank.....	21
2.4.1.	Entwicklung der Datenbankstruktur .....	21
2.4.2.	Erstellung der Datenbank .....	22
2.5.	Genetisches Screening .....	23
2.5.1.	DNA-Extraktion .....	23
2.5.2.	PCR von Exon 5 des GATA4 Gens.....	24
2.5.3.	Genotypisierung (SSCP).....	24
2.6.	Statistische Analyse.....	24

3.	Ergebnisse.....	25
3.1.	Patientenkollektiv .....	25
3.2.	GATA4 Polymorphismus S377G im Studienkollektiv .....	26
3.3.	Defektart und Geschlecht der Studienpatienten .....	28
3.4.	Anamnese .....	29
3.4.1.	Alter bei Erstdiagnose und bei Defektverschluss .....	29
3.4.2.	Symptome bei Erstdiagnose .....	31
3.4.3.	Migräne.....	31
3.4.4.	Familiäre angeborene Herzfehler .....	32
3.5.	Körperliche Untersuchung.....	32
3.6.	Elektrokardiogramm.....	33
3.6.1.	Auswertung der pädiatrischen Elektrokardiogramme .....	33
3.6.2.	Herzfrequenz und Herzrhythmus.....	35
3.6.3.	Lagetypen und elektrische Herzachsen .....	35
3.6.4.	Schenkelblöcke .....	37
3.6.5.	AV-Blockierungen.....	38
3.7.	Echokardiografie .....	39
3.7.1.	Größe und Lage des Defektes.....	39
3.7.2.	Aneurysma der Fossa ovalis .....	41
3.7.3.	Shuntnachweis .....	41
3.7.4.	Dimensionen der Herzhöhlen .....	42
3.7.5.	M-Mode: RVIDd .....	42
3.7.6.	Doppler .....	43
3.7.6.1.	Trikuspidalklappeninsuffizienz.....	43
3.7.6.2.	Systolischer rechtsventrikulärer Druck .....	44
3.8.	Herzkatheter.....	45
3.8.1.	Angiografie-Drücke .....	45
3.8.2.	Shunt-Berechnungen.....	47
3.8.3.	Defektverschluss.....	48
4.	Diskussion.....	51
4.1.	GATA4 Polymorphismus S377G im Patientenkollektiv .....	54
4.2.	Anamnese .....	57
4.3.	Elektrokardiogramm.....	60
4.4.	Echokardiografie .....	61
4.5.	Herzkatheteruntersuchung .....	62
4.6.	Einschränkungen .....	64
4.7.	Fazit und Ausblick.....	67
5.	Zusammenfassung .....	69
6.	Abkürzungsverzeichnis.....	71
7.	Literaturverzeichnis .....	73
8.	Publikationsliste.....	77
9.	Erklärung .....	79
10.	Lebenslauf.....	81
11.	Danksagung .....	83
12.	Anhang.....	85

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Häufigkeit der angeborenen Herzfehler .....	1
Tabelle 2: Vorhofseptumdefekte im Überblick .....	3
Tabelle 3: Non-synonyme GATA4-Mutationen und assoziierte angeborene Herzfehler .....	7
Tabelle 4: Subjektive Stadieneinteilung der Herzinsuffizienz .....	16
Tabelle 5: Diagnosekriterien für Schenkelblöcke .....	17
Tabelle 6: Echokardiografische Defektbeschreibung .....	18
Tabelle 7: Prävalenz der Defektarten nach Geschlecht im Studienkollektiv .....	26
Tabelle 8: Verteilung des GATA4 Polymorphismus S377G im Patientenkollektiv .....	27
Tabelle 9: Häufigkeiten der Allele A und G im Patientenkollektiv .....	27
Tabelle 10: Kenndaten der Studienpatienten .....	32
Tabelle 11: Normwerte für das pädiatrische EKG .....	34
Tabelle 12: Analyse der EKGs der unter 16-jährigen Patienten .....	34
Tabelle 13: QRS-Lagetypen der ASDII-Patienten .....	36
Tabelle 14: QRS-Lagetypen der PFO-Patienten .....	36
Tabelle 15: Inkomplette und komplette Rechtsschenkelblöcke nach Defektart .....	38
Tabelle 16: AV-Blockierungen bei ASDII-Patienten .....	39
Tabelle 17: Defektlage bei ASDII-Patienten .....	40
Tabelle 18: RVIDd in Abhängigkeit von Defektart und SNP S377G .....	43
Tabelle 19: Trikuspidalklappeninsuffizienz und Defektart .....	44
Tabelle 20: RVSP nach SNP S377G bei ASDII- und PFO-Patienten .....	45
Tabelle 21: Rechtsventrikulärer Spitzendruck bei ASDII- und PFO-Patienten .....	46
Tabelle 22: Shuntgrößen bei ASDII- und PFO-Patienten .....	47
Tabelle 23: Art des Defektverschlusses .....	48
Tabelle 24: Kenngrößen des Patientenkollektivs .....	57

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Screenshot der Datenbank - Ebene 1 .....	22
Abbildung 2: Screenshot der Datenbank - Ebene 2 .....	22
Abbildung 3: Der SNP S377G bei ASDII- und PFO-Patienten .....	28
Abbildung 4: Alter bei Erstdiagnose und Defektverschluss bei ASDII und PFO .....	29
Abbildung 5: Alter bei Erstdiagnose .....	30
Abbildung 6: Alter bei Defektverschluss .....	30
Abbildung 7: Defektgrößen bei ASDII- und PFO-Patienten nach GATA4 SNP .....	40

## Formelverzeichnis

Formel 1: Berechnung der Körperoberfläche nach Mosteller .....	13
Formel 2: Berechnung des BMI nach Quetelet .....	13
Formel 3: Berechnung der QTc nach Bazett .....	16
Formel 4: Berechnung der Ejektionsfraktion nach Simpson .....	19
Formel 5: Berechnung des Fractional Shortening .....	19



## 1. Einleitung

Angeborene Herzfehler (AHF) zählen zu den häufigsten angeborenen Fehlbildungen. Ungefähr eines von 100 Kindern kommt mit einem angeborenen Herzfehler zur Welt. Dabei sind Jungen häufiger betroffen als Mädchen. Drei von 1000 lebenden Neugeborenen benötigen zudem innerhalb des ersten Lebensjahres eine kathetergestützte oder chirurgische Intervention aufgrund eines angeborenen Herzfehlers [1]. Die Häufigkeiten, mit denen die verschiedenen Herzfehler auftreten, unterscheiden sich sehr. Der Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp (ASDII) ist dabei mit einer Häufigkeit von 1/1062 lebenden Neugeborenen der dritthäufigste angeborene Herzfehler [2]. Einen Überblick gibt Tabelle 1:

**Tabelle 1: Häufigkeit der angeborenen Herzfehler**

Defektart	Vollständige Bezeichnung des Defekts	Häufigkeit
VSD	Ventrikelseptumdefekt (Kammerseptumdefekt)	31%
ASD	Atriumseptumdefekt (Vorhofseptumdefekt)	7%
PDA	Persistierender Ductus arteriosus	7%
PaV	Pulmonalklappenstenose	7%
ISTA	Aortenisthmusstenose	5-8%
AoV	Aortenklappenstenose	3-6%
TOF	Fallot'sche-Tetralogie	5,5%
AVSD	Atrioventrikulärer Septumdefekt	4,8%
TGA	Transposition der großen Gefäße	4,5%
HLHS	Hypoplastisches Linksherzsyndrom	3,8%
PA+VSD	Pulmonalatresie mit Ventrikelseptumdefekt	2,5-3,4%
PA	Pulmonalatresie ohne Ventrikelseptumdefekt	2,4%
TrA	Trikuspidalatresie	1-2%
DIV	Double inlet left ventricle (singulärer Ventrikel)	1,5%
DORV	Double outlet right ventricle	1,2%
CCT	Angeboren-korrigierte Transposition der großen Gefäße	1%
TAC	Truncus arteriosus communis	0,5-1%
HOCM	Hypertrophe obstruktive Kardiomyopathie	0,4%
Suprav. AS	Supravalvuläre Aortenstenose (Williams-Beuren-Syndrom)	0,4%

**Quelle: Kompetenznetz – Angeborene Herzfehler**

Ein persistierendes Foramen ovale (PFO) wird nach heutigem Kenntnisstand nicht den angeborenen Herzfehlern zugeordnet, sondern gilt als struktureller Defekt. Angaben über die Häufigkeit von PFO variieren stark – je nach Studiendesign und Patientenkollektiv von 9,2% [3] bis 27,3% [4]. Studien, in deren Rahmen Autopsien durchgeführt wurden, berichten von einer Prävalenz bis zu 26% [5] bzw. 27,3% [4] für PFO.

Für die vorliegende Arbeit wurden 201 Patienten mit der Verdachtsdiagnose eines isolierten Vorhofseptumdefektes vom Sekundumtyp oder eines isolierten persistierenden Foramen ovale rekrutiert. Ziel war es, den Polymorphismus S377G im Kandidatengen GATA4 in einem homogenen Patientenkollektiv zu untersuchen und in einer eigens dafür vom Institut für medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie Leipzig (IMISE) erstellten Datenbank Korrelationen zwischen Phänotypisierungs- und Genotypisierungsdaten zu identifizieren. Dabei wurde für jeden Patienten ein 224 Daten umfassender Datensatz erhoben.

## **1.1. Embryologie**

Im Rahmen der Embryogenese des Herzens kommt es zu verschiedenen Umstrukturierungen des atrialen Kompartiments. Mit der Drehung des linearen Herzschlauches um Tag 28 der Embryogenese beginnt die Trennung der Herzkammern. Die einzelnen Herzkammern drehen sich entlang der äußeren Krümmung des gedrehten Herzens ballonartig aus. Gleichzeitig beginnen im Inneren des zunächst einheitlichen Herzschlauches Wachstumsvorgänge, die zur Trennung in rechten und linken Vorhof sowie rechte und linke Herzkammer führen. Es kommt zur Ausbildung getrennter Ein- und Ausflussbahnen für beide Herzhälften [6].

Die Trennung der Vorhöfe beginnt mit der Entwicklung des Septum primum, das von kranial als längs gestellte Scheidewand in Richtung Endokardkissen wächst. Daraus resultiert eine erste, unvollständige Trennung in rechtes und linkes Atrium: Oberhalb des Endokardkissens bleibt eine breite Verbindung bestehen, das Foramen primum. Über diese Verbindung kann Blut vom rechten in den linken Vorhof übertreten. Während das Septum primum auf das Endokardkissen zu wächst und das Foramen primum verschließt, entsteht im kranialen Teil des Septum primum durch Rückbildungsvorgänge das Foramen secundum. Im rechten Vorhof beginnt gleichzeitig das Wachstum des Septum secundum, einer zweiten, längs gestellten Scheidewand, die sich vom rechten Vorhofdach in Richtung Endokardkissen einfaltet. Es bildet später den kranialen Rand des Foramen ovale. Dieses verbleibt als ovale Öffnung im Septum secundum und wird auf der linken Vorhofseite von einer Lasche des Septum primum verschlossen. Der kaudale Rand wird von Strukturen des Septum primum gebildet, die durch einwandernde Zellen aus dem Endokardkissen verstärkt werden. Der Blutfluss vom rechten in den linken Vorhof unter Umgehung des Lungenkreislaufs bleibt über dieses Ventil bestehen.

Nach der Geburt kommt es durch die einsetzende Atmung und Durchblutung der Lungenstrombahn zu einer erheblichen Drucksteigerung im linken Vorhof. Das Septum primum wird gegen das Septum secundum gedrückt und verschließt die atriale Kommunikation [6].



Bei einem persistierenden Foramen ovale unterbleibt die Verwachsung der beiden Septae zum interatrialen Septum im Laufe der ersten Lebensjahre. Andere Formen der persistierenden interatrialen Kommunikation entstehen, wenn zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Septierung Gewebefusionen unterbleiben oder sich Teile des Septum primum zu stark zurückbilden. Dabei bezeichnet ein Vorhofseptumdefekt (ASD) zunächst ein Loch oder eine beliebig geartete Öffnung im interatrialen Septum. Ein persistierendes Foramen ovale wird jedoch nicht als Vorhofseptumdefekt angesehen, da kein septales Gewebe fehlt [7].

Einen Überblick über die verschiedenen Vorhofseptumdefekte gibt Tabelle 2.

**Tabelle 2: Vorhofseptumdefekte im Überblick [7]**

Art des ASD	Lokalisation	Defektbeschreibung
Single atrium	Interatriales Septum	Das interatriale Septum fehlt komplett, ohne dass Defekte der AV-Klappen vorliegen.
Common atrium	Interatriales Septum	Das interatriale Septum fehlt komplett. Zusätzlich liegen Defekte der AV-Klappen vor.
Unroofed coronary sinus	Sinus coronarius	Fehlende Wand zwischen linkem Vorhof und Koronarsinus. Ein Links-Rechts-Shunt ist über den Koronarsinus möglich. Der Defekt entsteht durch ein Defizit des Überbleibels des linken Sinus venosus-Horns.
Primum ASD	Inferiores interatriales Septum	Halbmondförmiger Defekt im unteren Anteil des interatrialen Septums. Er liegt direkt oberhalb der AV-Klappen und entsteht wahrscheinlich durch einen Substanzdefekt im Bereich des Septum primum.
Secundum ASD	Fossa ovalis	Der Defekt entsteht meist durch ein Defizit des Septum primum, aber auch Defizite im Bereich des Limbus oder des Septum secundum können dazu beitragen.
Sinus venosus defect	Mündung der V. cava superior oder inferior	Der Defekt entsteht meist im Mündungsbereich der Vena cava superior, selten posterior der Fossa ovalis oder im Mündungsbereich der Vena cava inferior. Es besteht eher eine interatriale Kommunikation, wobei das interatriale Septum komplett ist.

Insgesamt macht der Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp 85% aller ASDs aus, der Vorhofseptumdefekt vom Primumtyp nur 10%. 5% der ASDs sind Sinus venosus Defekte, während Koronarsinusdefekte extrem selten sind. Single und Common atrium wurden dabei nicht berücksichtigt [1].

ASDII sind in der Regel zentral im interatrialen Septum im Bereich der Fossa ovalis lokalisiert. Sie wird durch den Limbus des ehemaligen Septum secundum begrenzt. Bei einem multiplen ASDII können mehrere Defekte innerhalb der Fossa ovalis vorhanden sein. Die Defekte variieren in ihrer Größe zwischen weniger als 3 mm bis zu Durchmessern über 20 mm. Durch die atriale Kommunikation kommt es zu verschiedenen pathophysiologischen Veränderungen. Die fehlende Trennung der Vorhöfe führt aufgrund des Druckunterschiedes zwischen linkem und rechtem Vorhof beim ASDII postnatal zu einem Links-Rechts-Shunt über den Defekt. Das

Shuntvolumen ist zunächst meist klein, da der rechte Ventrikel nach der Geburt noch verhältnismäßig dickwandig ist und eine geringe Compliance hat. Durch die sich entfaltende Lunge sinkt jedoch der Widerstand in der Lungenstrombahn, die Compliance des rechten Ventrikels steigt und der mittlere rechtsatriale Druck fällt. Diese Umstellungen erhöhen das Druckgefälle und führen zu einem größeren Shuntvolumen zwischen linkem und rechtem Vorhof. Durch den ständigen Shuntfluss ist das in der Lungenstrombahn zirkulierende Blutvolumen höher als das im systemischen Kreislauf. Das Verhältnis zwischen pulmonalem und systemischem Blutfluss ( $Q_p/Q_s$ ) ist entsprechend erhöht. Bei symptomatischen jungen Erwachsenen kann es auf Werte zwischen 2:1 bis 5:1 erhöht sein, in schweren Fällen sind Verhältnisse bis 8:1 beschrieben [8].

Der persistierende Links-Rechts-Shunt führt durch die konstante Volumenbelastung zu einer Dilatation des rechten Vorhofs und später auch des rechten Ventrikels. Diese mit einer Gefügedilatation einhergehende Veränderung kann das Entstehen atrialer Arrhythmien und ventrikulärer Funktionsstörungen begünstigen. In Abhängigkeit von Größe und Dauer des Shuntflusses können Patienten mit einem unkorrigierten ASDII einen sekundären pulmonalen Hypertonus (sPHT) entwickeln, der unbehandelt zum Eisenmenger-Syndrom mit Shuntumkehr und Rechtsherzversagen führen kann [9].

Diese Komplikationen sind heutzutage aufgrund der guten interventionellen Verschlussmöglichkeiten sehr selten geworden. Der Defektverschluss wird meist schon im Vorschulalter angestrebt, bei relevantem Shuntfluss und bereits beginnender Rechtsherzbelastung auch früher.

Die häufig im Zusammenhang mit einem ASDII auftretenden atrioventrikulären Blockbilder (AV-Blöcke), komplette Rechtsschenkelblöcke (RSB) und inkomplette Rechtsschenkelblöcke (iRSB) wurden zunächst auf strukturelle Schädigungen des Reizleitungssystems im Rahmen des ASD zurückgeführt. Neuere Studien zeigen jedoch, dass die Entwicklung des Atrioventrikularknotens (AV-Knoten) und des kardialen Reizleitungssystems von ähnlichen Transkriptionsprogrammen abhängig sind wie die Entwicklung des interatrialen Septums [10], so dass auch eine genetische Komponente als Ursache für die häufige Koinzidenz von ASDII und AV-Blöcken bzw. Rechtsschenkelblöcken möglich scheint.

Ungefähr 30% aller Erwachsenen haben ein PFO. Die Größe der Defekte variiert typischerweise zwischen 1-10 mm im maximalen Durchmesser [4], aber auch größere Defekte sind beschrieben. Bei normalen Druckverhältnissen tritt kein Links-Rechts-Shunt auf, da die aus dem Septum primum hervorgegangene Ventilklappe des Foramen ovale dieses kompetent verschließt. Erst wenn es aufgrund anderer Einflüsse zu einer Umkehr der Druckverhältnisse auf Vorhofebene

kommt, kann ein dauerhafter Rechts-Links-Shunt mit dem Risiko paradoxer Embolien auftreten. Im Rahmen kurzzeitiger Veränderungen der Druckverhältnisse, zum Beispiel durch Husten oder starke körperliche Belastung, können kurzzeitige Rechts-Links-Shunts auftreten, die vor allem bei zusätzlichem Vorhandensein von Risikofaktoren für thrombembolische Ereignisse als Ursache für kryptogene Schlaganfälle bei jungen Erwachsenen verantwortlich gemacht werden [11-13]. Kommt es im Laufe des Lebens zu einer Vorhofvergrößerung, ist auch ein Auseinanderweichen der Ränder der Fossa ovalis als Ursache für eine dann permanente Kommunikation zwischen rechtem und linkem Atrium – ähnlich dem ASD – denkbar.

Studien der letzten Jahre berichten zudem über einen Zusammenhang zwischen Vorhofseptumdefekten und dem Auftreten von Migräne [14, 15]. Insbesondere scheint es eine Verbindung zwischen Migräneleiden mit Aura und PFO zu geben [16]. *Reisman et al.* beschreiben sogar das komplette Verschwinden von Migräne nach katheterinterventionellem PFO-Verschluss [17]. Dieses Phänomen wird auch bei Patienten mit ASDII und Migräne beschrieben [18].

## **1.2. Herzentwicklung und GATA4**

In den letzten Jahren ist es gelungen, die molekulare Morphogenese des Herzens weiter aufzuschlüsseln und Störungen distinkter molekularer Entwicklungsschritte als Ursache bestimmter Herzfehler zu erkennen. Man geht inzwischen davon aus, dass definierte Regionen und Segmente des Herzens während der Evolution in modularer Weise ergänzt wurden [19, 20]. Bereits die sichelförmige Herzanlage enthält die Segmente, aus denen sich später die verschiedenen Regionen des Herzens bilden. Für die Organentwicklung ist ein präzises Zusammenspiel von zelltypspezifischer Integration und morphologischer Entwicklung nötig. Beide sind in ihrer Regulation von Transkriptionsfaktoren abhängig. Einer dieser für die regelrechte Herzentwicklung essentiellen Transkriptionsfaktoren ist GATA4.

GATA4 gehört zu einer Familie strukturell verwandter Transkriptionsfaktoren (GATA binding proteins), die sowohl die Genexpression als auch die Differenzierung in verschiedenen Zelltypen kontrollieren. Charakteristisch für die GATA-Faktoren sind die zwei Zinkfinger-Domänen (Cys-X2-Cys-X17-Cys-X2-Cys), die für die DNA-Bindung verantwortlich sind. GATA4 bindet an die DNA-Sequenz 5´-(A/T)GATA(A/G)-3´, die ein wichtiges cis-Element in Promotoren von vielen kardialen Genen darstellt. Wichtige Zielgene im Herzen sind beispielsweise Sarkomerproteine wie  $\alpha$ -Myosin Heavy Chain, Cardiac Troponin C+I, Myosin Light chain 3 oder das atriale natriuretische Peptid (ANP) [21]. Die transkriptionelle Aktivität von GATA4 hängt von einer

Reihe von Kofaktoren, insbesondere von anderen kardialen Transkriptionsfaktoren wie „*Friend of GATA*“ (*FOG*) *NKX2.5*, *TBX5*, *TBX20* und *MEF2* [22]. Die Ausschaltung von GATA4 im Mausmodell (knock out) führt zu einem Entwicklungsstopp und Tod der homozygoten Tiere im frühen Embryonalstadium [23, 24].

### **1.3. GATA4 und ASDII**

Der Zinkfingertranskriptionsfaktor GATA4 ist auf Chromosom 8p23.1-p22 lokalisiert und, ist für wesentliche Schritte der Morphogenese des Herzens mitverantwortlich. Dazu zählen die Anlage der Herzsichel und des linearen Herzschlauches und insbesondere die endgültige Reifung und Septierung des Herzens [25].

Eine genomweite Kopplungsanalyse bei einer großen Familie führte zur Identifizierung von GATA4 als Krankheitsgen für ASDII [26]. Diese G296S Mutation ist sowohl mit einer verminderten Affinität gegenüber DNA als auch mit einer reduzierten transkriptionellen Aktivität assoziiert. In der gleichen Studie konnte in einem Kandidatengenansatz eine zweite GATA4 Mutation (E359Del) bei einer weiteren großen Familie mit ASDII identifiziert werden. Die funktionellen Konsequenzen auf molekularer Ebene waren ähnlich wie die der G296S Mutation. Auch die Interaktion von GATA4 mit *TBX5* war deutlich eingeschränkt.

Seit dieser Erstbeschreibung von GATA4 als Krankheitsgen für ASDII wurden eine Vielzahl weiterer Mutationen bei Patienten mit angeborenen Herzfehlern identifiziert (siehe Tabelle 3). Dabei ist entscheidend, dass jede der bisher gefundenen Mutationen spezifisch für die einzelne Familie ist, in der sie gefunden wurde (sog. private Mutationen). Der mit Abstand häufigste kardiale Phänotyp bei Patienten mit GATA4 Mutationen ist der ASDII. Des Weiteren haben funktionelle Untersuchungen gezeigt, dass nahezu alle mit angeborenen Herzfehlern assoziierten Mutationen zu einer verminderten Transkriptionsaktivität von GATA4, einem so genannten Loss of function, führen [26-28].

**Tabelle 3: Non-synonyme GATA4-Mutationen und assoziierte angeborene Herzfehler**

Mutation	Genregion	AVB	ASD	VSD	PS	andere AHF	Referenz
<i>Missense Mutation</i>							
S52F	Exon 1 (TAD1)	-	+	-	-	-	Hirayama-Yamada [29]
G296S (c.886 G>A)	Exon 3 (CZf-NLS gap)	N/A	+	+	+	AVSD, PDA, AR, MR	Garg [26]
A411V (c.1750C>T) (c.1232C>T)	Exon 6	-	+	+	-	PAPVR	Poirier [30] Tomita-Mitchell [31] Posch [32]
Gly93Ala (c.278G>C)	Exon 1	-	+	-	-	-	Tomita-Mitchell [31]
Gln316Glu (c.946C>G)	Exon 4	-	+	-	-	-	
Asp425Asn (c.1273G>A)	Exon 6	-	+	-	-	TOF	
E216D	Exon 2	-	-	-	-	TOF	Nemer [27]
P163S (c.487C>T)	Exon 1 (TADII)	-	-	-	-	ECD	Rajagopal [33]
A346V (c.1037C>T)	Exon 5	-	-	-	-	ECD	
G296C (c.886G>T)	Exon 3 (CZf-NLS gap)	-	+	-	+	-	
L403M (c.1207C>A)	Exon 6	-	-	-	-	Hypoplastic RV	
<i>Frame-Shift Mutation</i>							
S358Xfs (c.1074delC)	Exon 5 (3' coding reg.)	-	+	-	+	-	Okubo [34]
E359Xfs (c.1075delG)	Exon 5 (3' coding reg.)	-	+	-	-	Dextrokardie	Garg [26] Hirayama-Yamada [29]

**CZf C-terminaler Zinkfinger, NLS nuclear localization signal**

Im GATA4 Gen sind darüber hinaus mehrere genetische Polymorphismen bekannt. Diese Polymorphismen kommen in der Population in unterschiedlicher Häufigkeit vor. Einige bewirken non-synonyme Transkriptionen, führen also zum Austausch einer Aminosäure im GATA4 Protein. Der häufigste kodierende Polymorphismus im GATA4 Gen ist S377G (rs3729856). Dieser Polymorphismus bewirkt eine Änderung der Aminosäure von Serin zu Glycin an Position 377 im GATA4 Protein. *Schluterman et al* konnten mittels eines Luciferase Transkriptionsassays nachweisen, dass der S377G Polymorphismus zu einer erhöhten Transkriptionsaktivität des GATA4 Proteins führt [28].

In einer kürzlich publizierten Studie wurden Patienten mit Migräne auf den S377G Polymorphismus untersucht und mit einer Kontrollpopulation verglichen [35]. Es zeigte sich bei

diesen Patienten jedoch kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit von S377G im Vergleich zu Kontrollprobanden ohne Migräne.

Eine mögliche Assoziation von S377G mit ASDII oder PFO wurde bislang noch nicht beschrieben.

#### **1.4. Zielsetzung**

Im Rahmen dieser Arbeit sollte eine Assoziation des GATA4 Polymorphismus S377G mit einem isolierten Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp (ASDII) bzw. mit einem isolierten Foramen ovale (PFO) untersucht und mit einem Kontrollkollektiv verglichen werden. Weiterhin sollte eine mögliche Assoziation des GATA4 Polymorphismus S377G mit bestimmten klinischen Charakteristika untersucht werden.

Am Deutschen Herzzentrum Berlin (DHZB) wurde dafür ein homogenes Kollektiv von 201 Patienten mit einem isolierten Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp oder einem isolierten persistierenden Foramen ovale rekrutiert. Die klinischen Daten dieses Patientenkollektivs wurden in einer Datenbank erfasst. Zeitgleich wurde in diesem Kollektiv durch die Arbeitsgruppe von Dr. med. C. Özcelik und Dr. med. M. Posch, Kardiogenetisches Labor, Experimental and Clinical Research Center, (Lindenberger Weg 80, 13125 Berlin) der GATA4 Polymorphismus S377G mittels Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) bestimmt [32].

Die Patienten wurden im Weiteren nach Defektart und Vorkommen des GATA4 Polymorphismus S377G kategorisiert und anhand ihrer klinischen Daten miteinander verglichen. Dabei wurden folgende Fragestellungen untersucht:

1. Wie hoch ist die Prävalenz des GATA4 Polymorphismus S377G bei Patienten mit isoliertem ASDII und bei Patienten mit isoliertem PFO im Vergleich zu Kontrollgruppen?
2. Gibt es eine signifikante Assoziation des GATA4 Polymorphismus S377G mit ASDII oder PFO (SNP S377G als Risikovariante)?
3. Gibt es klinische Parameter bei Patienten mit ASDII oder PFO, die mit dem GATA4 Polymorphismus S377G assoziiert sind (Phänotyp-Genotyp-Korrelation) und handelt es sich somit bei dem Polymorphismus um eine Modifier-Variante?

## **2. Methodik**

In der vorliegenden Arbeit wurden die klinischen Daten für die Phänotyp-Genotyp-Korrelation bei Patienten mit Vorhofseptumdefekten vom Sekundumtyp (ASDII) sowie Patienten mit persistierendem Foramen ovale (PFO) erhoben. Von der Studienplanung über die Patientenrekrutierung und Probengewinnung für die genetische Analyse bis hin zur Datenerhebung mit Erstellung einer eigenen Datenbank zur späteren statistischen Auswertung wurde der klinische Datenteil im Rahmen der Promotion bearbeitet. Die Genotypisierung der Patienten wurde korrespondierend von der Arbeitsgruppe von Dr. med. C. Özcelik und Dr. med. M. Posch, Kardiogenetisches Labor, Experimental and Clinical Research Center, (Lindenberger Weg 80, 13125 Berlin) durchgeführt.

### **2.1. Studienvorbereitung**

Die Planung dieser retrospektiven Querschnittsstudie erforderte eine genaue Abgrenzung des Patientenkollektivs. Hierzu wurden Ein- und Ausschlusskriterien definiert, um eine homogene Stichprobe zu gewährleisten.

Das Studienprotokoll wurde der Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin im April 2005 vorgelegt. Das positive Votum für den Einschluss volljähriger Patienten wurde im Juni 2005, für minderjährige Patienten im September 2005 erteilt.

#### **2.1.1. Einschlusskriterien**

Für den Einschluss in die Studie wurden vier Kriterien definiert:

1. Vorhandensein eines isolierten ASDII oder PFO
2. Diagnosestellung durch farbkodierte Doppler-Echokardiografie (transthorakal oder transösophageal)
3. Bestätigung der Diagnose durch eine Herzkatheteruntersuchung im Deutschen Herzzentrum Berlin (DHZB) oder in der Charité Campus Virchow Klinikum.
4. Vorliegende schriftliche Einverständniserklärung zur Aufnahme in die Studie.

### **2.1.2. Ausschlusskriterien**

Für die Studie wurden zunächst die folgenden allgemeinen Ausschlusskriterien festgelegt und angewandt, um ein homogenes Patientenkollektiv zu erhalten:

1. Das Vorliegen eines oder mehrerer weiterer angeborener Herzfehler, zum Beispiel ein Ventrikelseptumdefekt (VSD), ein persistierender Ductus arteriosus Botalli (PDA), eine Pulmonalklappenstenose (PaVS), ein atrioventrikulärer Septumdefekt (AVSD), eine Transposition der großen Arterien (TGA), eine Fallot'sche Tetralogie oder andere kombinierte angeborene kardiale Vitien und weitere Malformationen.
2. Das Vorliegen eines genetischen Syndroms bzw. einer Chromosomenabberation, wie zum Beispiel das Down-Syndrom oder das Marfan-Syndrom ebenso wie das Noonan-, Holt-Oram- oder Ellis-van-Creveld-Syndrom.

Im Verlauf der Studie wurde es erforderlich, diese allgemeinen Kriterien durch speziellere Ausschlusskriterien zu ergänzen. So wurden Patienten mit sekundärem pulmonalem Hypertonus und Rechtsherzbelastung bei rezidivierenden Lungenarterienembolien sowie Patienten mit einer Herzinsuffizienz nach Myokardinfarkt aus dem klinischen Vergleich der Studie ausgeschlossen, da die hämodynamischen Parameter in diesen Fällen nicht mehr isoliert auf den ASDII oder das PFO bezogen werden können. Dies war nötig, um die Vergleichbarkeit der erhobenen Daten zu verbessern.

### **2.1.3. Patientenkollektiv**

Von Juni 2005 bis Juli 2006 wurden 201 Patienten für die Studie rekrutiert: 97 Patienten mit der Verdachtsdiagnose eines Vorhofseptumdefektes vom Sekundumtyp sowie 98 Patienten mit der Verdachtsdiagnose eines persistierenden Foramen ovale. Bei sechs der rekrutierten Patienten konnte die Diagnose ASDII oder PFO im Rahmen der diagnostischen Untersuchungen nicht bestätigt werden. Weitere acht Patienten wurden aufgrund der Ausschlusskriterien nicht in die Studie eingeschlossen.

Insgesamt wurden 187 Patienten im Alter von 2,0 bis 77,8 Jahren (Stichtag 30.06.2006) in die Studie aufgenommen. Das Durchschnittsalter bei Einschluss in die Studie betrug 48,2 Jahre.



#### **2.1.4. Einteilung in Studiengruppen**

Die Patienten wurden für die Auswertung der Studie und für die Phänotypisierung in zwei Hauptgruppen aufgeteilt:

Gruppe 1        Patienten mit einem isolierten ASDII

Gruppe 2        Patienten mit einem isolierten PFO

In beiden Gruppen wurde abhängig vom Vorkommen des GATA4 Polymorphismus S377G in zwei Subgruppen unterschieden. Patienten mit der heterozygoten und der homozygoten Form des GATA4 Polymorphismus S377G (SNP S377G) wurden zusammengefasst, da die Zahl der Patienten mit der homozygoten Variante sehr gering war.

Gruppe 1A       ASDII-Patienten ohne Polymorphismus (Wildtyp)

Gruppe 1B       ASDII-Patienten mit Polymorphismus (SNP S377G)

Gruppe 2A       PFO-Patienten ohne Polymorphismus (Wildtyp)

Gruppe 2B       PFO-Patienten mit Polymorphismus (SNP S377G))

### **2.2. Patientenrekrutierung und Probengewinnung**

#### **2.2.1. Rekrutierung der Patienten**

Ein Teil der potentiellen Studienpatienten wurde unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien über die elektronischen Archive des DHZB ermittelt. Die Kontaktaufnahme erfolgte zunächst schriftlich, später auch telefonisch.

Ein weiterer Teil der Patienten wurde prospektiv aus den Patienten der Abteilung für angeborene Herzfehler und Kinderkardiologie des DHZB eingeschlossen.

#### **2.2.2. Einverständnis der Patienten**

Alle Patienten erhielten einen eigens für die Studie erstellten Aufklärungsbogen (siehe Anhang), in dem über Art und Umfang der Studie sowie den Umgang mit persönlichen Daten aufgeklärt wurde. Das schriftliche Einverständnis der Patienten, bei Minderjährigen das der Eltern, wurde mindestens 24h vor Einschluss in die Studie auf dem Aufklärungsbogen eingeholt.

Von Patienten, bei denen der Defekt bereits erfolgreich verschlossen worden war, genügte die Einwilligung zur Blutentnahme und Verwendung der bereits erhobenen Daten. Während des Termins zur Blutentnahme wurde allen Patienten die Gelegenheit gegeben, persönlich weitere Fragen zur Studie zu stellen. Die stationär zur Herzkatheteruntersuchung oder zur Operation

aufgenommenen Patienten der kinderkardiologischen Abteilung des DHZB oder deren Eltern wurden im Rahmen der üblichen vorbereitenden Gespräche über Art und Umfang der Studie aufgeklärt.

### **2.2.3. Probengewinnung**

Allen in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden im Rahmen von Routine-Blutentnahmen zweimal 9 ml EDTA-Blut (bei Kindern zweimal 2,7 ml) abgenommen. Die Proben wurden mit einer vierstelligen Nummer anonymisiert und bis zur Weiterverarbeitung bei -80°C in einem verschlossenen Tiefkühlschrank im DHZB gelagert.

## **2.3. Datenerhebung**

Zur Phänotypisierung der Patienten mit ASDII und PFO wurden die typischen klinischen und diagnostischen Daten und Parameter des jeweiligen Defektes zusammengestellt. Die Datenerhebung erfolgte dann im direkten ärztlichen Gespräch und anhand der Befundberichte aus den Patientenakten des DHZB.

Auf einem Registrierungsbogen wurden Daten gesammelt, die eine kurze charakteristische Beschreibung des Patienten lieferten. Dabei wurde insbesondere das Zutreffen der Ein- und Ausschlusskriterien der Studie überprüft. Im Anschluss wurden die Ergebnisse der Patientenanamnese und der körperlichen Untersuchung dokumentiert und die Daten aus den diagnostischen Untersuchungen zusammengefasst, die vor dem Verschluss des ASDII oder des PFO durchgeführt worden waren. Hierzu zählten das 12-Kanal-EKG und die transthorakale oder transösophageale Echokardiografie. Zuletzt wurden die Befunde der Herzkatheteruntersuchung gemeinsam mit den Details des Defektverschlusses erhoben, der meist zeitgleich mit der Diagnosesicherung erfolgte.

### **2.3.1. Charakterisierung der Patienten**

Die Patientendaten wurden bei der Speicherung in der Datenbank mittels einer eigenen Identifikationsnummer (ID) pseudonymisiert. Jeder Blutprobe, die mit einem vierstelligen Code versehen war, wurde eine fünfstelligen Patienten-ID zugeordnet, unter der die klinischen und genetischen Daten des jeweiligen Patienten in der Datenbank registriert wurden. Rückschlüsse auf die Identität einzelner Patienten sind so nur mithilfe einer Schlüsseldatei möglich, mit der die jeweiligen Codes einander zugeordnet werden können.

Für jeden Patienten wurden Alter, Geschlecht, Körpergröße und -gewicht zum Zeitpunkt des Defektverschlusses erhoben und der Body-Mass-Index (BMI) und die Körperoberfläche (KOF) berechnet. Zusätzlich wurden die Defektart, das Vorhandensein eines Aneurysmas der Fossa ovalis, das Vorkommen eines Blockbildes im EKG sowie die Erfüllung der Ein- und Ausschlusskriterien geprüft.

### **2.3.1.1. Körperbezogene Kenndaten**

Als Kenndaten wurden die Körperlänge (KL) in cm und das Körpergewicht (KG) in kg zum Zeitpunkt des Defektverschlusses registriert.

Aus diesen Werten wurde nach der Formel von Mosteller [36] die Körperoberfläche (KOF) berechnet.

**Formel 1: Berechnung der Körperoberfläche nach Mosteller**

$$KOF[m^2] = \sqrt{\frac{KG[kg] \times KL[cm]}{3600}}$$

Der Body-Mass-Index wurde nach Quetelet berechnet.

**Formel 2: Berechnung des BMI nach Quetelet**

$$BMI = \frac{KG[kg]}{(KL[m])^2}$$

Diese Kenndaten dienen speziell bei den Kindern als Bezugsgröße für echokardiografische Normwerte sowie zur Beschreibung des Patientenkollektivs.

### **2.3.1.2. Art des Septumdefektes**

Die Diagnose eines ASDII oder PFO wurde in fast allen Fällen bereits vor Defektverschluss mittels transthorakaler (ASDII) oder transösophagealer (PFO) Echokardiografie gestellt. Ausschlaggebend für die Bestimmung der Defektart waren die Ergebnisse der durchgeführten Herzkatheteruntersuchung bzw. die Defektbeschreibung im OP-Bericht. Zusätzlich wurde dokumentiert, ob die Patienten ein Aneurysma der Fossa ovalis hatten.

### **2.3.1.3. Blockbild**

Anhand des letzten 12-Kanal-EKGs vor Defektverschluss wurde bei jedem Patienten entschieden, ob ein Blockbild vorlag. Hierbei wurden AV-Blockierungen ersten bis dritten Grades und die verschiedenen Schenkelblöcke unterschieden.

### **2.3.2. Anamneseerhebung**

Die Erhebung der Eigen- und der Familienanamnese erfolgte durch direkte ärztliche Befragung der Patienten während der stationären Aufnahme oder des Termins zur Blutentnahme. Weitere Informationen wurden den Arztberichten über den Erstkontakt mit der kinder-kardiologischen Ambulanz des DHZB entnommen.

#### **2.3.2.1. Alter bei Erstdiagnose**

Um das Alter der Patienten bei Diagnosestellung berechnen zu können, wurde das Datum der Erstdiagnose durch Befragung des Patienten oder aus der Patientenakte erhoben. Wenn dies nicht möglich war, wurde bei bekanntem Monat der Diagnose der 01. des entsprechenden Monats angegeben. Bei bekanntem Diagnosejahr wurde der 01. Januar des entsprechenden Jahres als Diagnosedatum gewählt. So konnte der Zeitpunkt der Erstdiagnose bei 108 Patienten (53,7%) bis auf den Monat genau bestimmt werden, bei 59 Patienten (29,4%) konnte nur das Diagnosejahr ermittelt werden. In 30 Fällen (14,9%) war der Tag bekannt. Bei vier Patienten konnte der Diagnosezeitpunkt nicht ermittelt werden.

#### **2.3.2.2. Symptome bei Erstdiagnose**

Für alle Patienten wurden die Symptome erfasst, die zur Erstdiagnose führten. Es wurde insbesondere nach Herzgeräuschen, Schwindel, Synkopen und gehäuften respiratorischen Infekten im Kindesalter sowie nach kardialen Belastungszeichen gefragt. Ferner wurde das Vorkommen eines oder mehrerer neurologischer Ereignisse dokumentiert. Im Hinblick auf die neueren Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie wurden transitorische ischämische Attacke (TIA), prolongiertes neurologisches Defizit (PRIND) und ischämischer Apoplex als „neurologisches Ereignis/ischämischer Schlaganfall“ zusammengefasst.

#### **2.3.2.3. Migräne**

Die Patienten wurden nach einem Migräneleiden befragt, da es im Rahmen mehrerer Studien Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Migräne und Vorhofseptumdefekten bzw. deren Verschluss gibt [14, 15, 37]. Dabei wurde zwischen Migräneformen mit und ohne Aura unterschieden.

#### **2.3.2.4. Familienanamnese**

Für den Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp wurden in der Vergangenheit mehrfach vererbare genetische Ursachen innerhalb einer Familie nachgewiesen [26, 29, 34]. Auch für das persistierende Foramen ovale gibt es vereinzelt Hinweise auf eine familiäre Häufung, ohne dass jedoch bisher ein spezielles Gen als ursächlich identifiziert wurde [38, 39].

Daher wurde sowohl bei Patienten mit ASDII als auch bei Patienten mit PFO die Familienanamnese erhoben. Hierbei waren alle Arten angeborener Herzfehler, Chromosomenanomalien und andere genetisch bedingte Syndrome sowie das Vorkommen eines PFO bei Blutsverwandten von Interesse. Die Art der vorkommenden Defekte und Anomalien sowie die familiären Verhältnisse wurden separat dokumentiert, um später einen möglichen Zusammenhang zwischen familiär gehäuft vorkommenden angeborenen Herzfehlern oder Fällen von PFO und der GATA4 Sequenzvariationen S377G identifizieren zu können.

#### **2.3.3. Körperliche Untersuchungsbefunde**

Zur Beurteilung des Ausmaßes der klinischen Ausprägung des ASDII oder des PFO wurden die körperlichen Untersuchungsbefunde der letzten ambulanten Vorstellung oder des stationären Aufenthaltes vor dem interventionellen oder operativen Defektverschluss herangezogen.

Zusätzlich zu vorliegenden kardialen Belastungszeichen wurde die transkutane Sauerstoffsättigung als klinischer Parameter für das Ausmaß eines eventuell vorliegenden Rechts-Links-Shunts herangezogen.

Bei den kardialen Belastungszeichen richtete sich das Augenmerk auf das Vorhandensein von Dyspnoe, Tachypnoe und zentraler oder peripherer Zyanose in Ruhe oder bei leichter Belastung sowie auf kardiale Ödeme. Die subjektive Belastbarkeit der Patienten wurde erfragt und mithilfe der NYHA-Klassifikation evaluiert:

**Tabelle 4: Subjektive Stadieneinteilung der Herzinsuffizienz**

<b>NYHA-Stadium</b>	<b>Subjektive Beschwerden bei Herzinsuffizienz</b>
I	Beschwerdefreiheit, normale körperliche Belastbarkeit
II	Beschwerden bei stärkerer körperlicher Belastung
III	Beschwerden schon bei leichter körperlicher Belastung
IV	Beschwerden in Ruhe

Quelle: New York Heart Association (NYHA)

### 2.3.4. Elektrokardiogramm

Bei allen in die Studie eingeschlossenen Patienten wurde im DHZB im Rahmen der Diagnostik vor dem Defektverschluss ein 12-Kanal-EKG mit einer Geschwindigkeit von 50mm/s abgeleitet. Dieses letzte EKG vor Defektverschluss wurde im Rahmen der vorliegenden Studie erneut befundet. Die Normwerte für Kinder und Erwachsene wurden gemäß den Leitlinien der European Society for Cardiology (ESC) [40, 41] und dem ESC-Textbook festgelegt.

Die elektrischen Herzachsen der Vorhöfe und Ventrikel wurden mittels des Cabrera-Kreises anhand der Amplituden von P-Wellen und QRS-Komplexen in den Extremitätenableitungen nach Einthoven und Goldberger bestimmt.

Die Überleitungszeiten wurden jeweils aus der Extremitätenableitung mit der größten Abweichung bestimmt. Ausgemessen wurden dabei die Dauer der P-Welle, das PQ-Intervall, die QRS-Dauer sowie die QT-Zeit. Die frequenzkorrigierte QT-Zeit (QTc) wurde nach der Formel von Bazett (vgl. Formel 3) berechnet.

#### Formel 3: Berechnung der QTc nach Bazett

$$QTc = \frac{\overline{QT}[ms]}{\sqrt{\frac{60}{\text{Frequenz}[1/min]}}}$$

Klassische Reizleitungsstörungen, die bei Patienten mit einem Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp oder mit einem persistierenden Foramen ovale auftreten, sind der Atrioventrikuläre Block (AV-Block) und der Rechtsschenkelblock (RSB). Alle EKGs wurden nach diesen Blockbildern untersucht, um überprüfen zu können, ob das Auftreten eines dieser Blockbilder mit der GATA4 Sequenzvariation S377G in Zusammenhang gebracht werden kann.

Anhand der vorliegenden Ableitungen wurde geprüft, ob ein AV-Block ersten, zweiten oder dritten Grades vorlag. AV-Blöcke zweiten Grades wurden hierbei unterteilt in Typ 1 (Wenckebach) und Typ 2 (Mobitz).

Das Vorkommen von kompletten oder inkompletten Rechts- und Linksschenkelblöcken wurde ebenso erhoben wie linksanteriore oder -posteriore Schenkelblöcke. Dabei kamen folgende Kriterien zur Anwendung:

**Tabelle 5: Diagnosekriterien für Schenkelblöcke**

Art des Schenkelblocks	QRS-Dauer	Morphologie
Rechtsschenkelblock	> 120ms	Verzögerter oberer Umschlagpunkt (>30ms) in V <sub>1</sub>
Inkompletter Rechtsschenkelblock	100-120ms	Verzögerter oberer Umschlagpunkt (>30ms) in V <sub>1</sub> häufig rsR' oder rsr' in V <sub>1</sub>
Linksschenkelblock	> 120ms	Verzögerter oberer Umschlagpunkt (>50ms) in V <sub>6</sub> Häufig R-Verlust über der Vorderwand (V <sub>2</sub> -V <sub>4</sub> ) ST-Streckenhebungen
Inkompletter Linksschenkelblock	100-120ms	Verzögerter oberer Umschlagpunkt (>50ms) in V <sub>6</sub>
Linksanteriorer Hemiblock	60-100ms	Überdrehter Linkstyp
Linksposteriorer Hemiblock	60-100ms	Überdrehter Rechtstyp

### 2.3.5. Transthorakale Echokardiografie

Die transthorakale Echokardiografie wurde im DHZB, in der kinder-kardiologischen Abteilung des Otto-Heubner-Zentrums der Charité Campus Virchow Klinikum, in der kardiologischen Abteilung der Charité Campus Benjamin Franklin, der Franz-Vollhardt Klinik in Berlin Buch oder von niedergelassenen Kardiologen und Kinderkardiologen durchgeführt.

Die Bilder der letzten durchgeführten Untersuchung, die innerhalb eines Jahres vor Defektverschluss aufgenommen worden waren, wurden hinsichtlich der nachfolgenden Parameter erneut ausgewertet. Unterstützend wurde der schriftliche Befund der ausgewählten Untersuchung herangezogen.

#### 2.3.5.1. Zweidimensionale Darstellung der Herzhöhlen

Im Rahmen der Echokardiografie wurden bereits vorhandene Folgen der kardialen Belastung dokumentiert. Dazu wurde für jede der vier Herzhöhlen erhoben, ob sie in der zweidimensionalen Darstellung normal dimensioniert, vergrößert oder verkleinert erschien.

#### 2.3.5.2. Defektbeschreibung

Der Defekt wurde im Rahmen der Echokardiografie hinsichtlich Lage und Größe sowie des Vorhandenseins eines interatrialen Shunts charakterisiert. Einen Überblick über die erhobenen Parameter gibt Tabelle 6.

**Tabelle 6: Echokardiografische Defektbeschreibung**

Parameter	Beschreibung	Charakterisierung
Defektlage	Lokalisierung des Defekts im interatrialen Septum	Zentral Apikal/superior Multiperforiert Keine Angabe
Defektgröße	Bestimmung in verschiedenen Standardschnitten	Angabe in mm
Interatriales Septum	Beschreibung der Morphologie des interatrialen Septums	Aneurysma Fossae ovalis Paradoxe Septumbewegung
Shunt	Beobachtung des Shuntflusses über das interatriale Septum	Links-Rechts-Shunt Rechts-Links-Shunt Pendelshunt
Valsalva Manöver	Shuntrichtung unter Valsalva-Pressversuch	Rechts-Links-Shunt Links-Rechts-Shunt

### **2.3.5.3. Herzklappen**

Die Herzklappen wurden mithilfe der Pulsed Wave-Dopplerechokardiografie hinsichtlich Insuffizienzen und der Flussgeschwindigkeiten über die Klappen beurteilt.

Die Informationen bezüglich möglicher Klappeninsuffizienzen, die zum Beispiel als Folge der Vergrößerung der Herzhöhlen auftreten können, wurden aus den Berichten und Arztbriefen der elektronischen Patientenakte entnommen. Die Einteilung der Schwere einer vorhandenen Klappeninsuffizienz erfolgte in physiologische/minimale, erst-, zweit- oder drittgradige Insuffizienz.

Für die Trikuspidalklappe (TK) und die Mitralklappe (MK) wurde das Verhältnis der Ein- und Ausstromgeschwindigkeiten (e/a) über die jeweilige Klappe bestimmt. Bei Nachweis einer mindestens physiologischen TI konnte zusätzlich der rechtsventrikuläre systolische Druck (RVSP) mittels Continuous-Wave-Doppler-Messung anhand der Bernoulli-Gleichung bestimmt werden.

Für die Mitralklappe wurde das Vorkommen eines eventuellen Mitralklappenprolapses dokumentiert. Über die Pulmonalklappe (PK) und die Aortenklappe wurden die maximale Flussgeschwindigkeit und das Flow-Velocity-Integral (VTI) erhoben.

### **2.3.5.4. Ventrikuläre Ausflusstrakte und Lebervenenstauung**

Die Ausflusstrakte wurden nach Obstruktionen untersucht und die Lebervenen hinsichtlich einer eventuellen Stauung beurteilt. Besonders bei Kindern waren diese Befunde relevant, da



angeborene Obstruktionen des links- oder rechtsventrikulären Ausflusstraktes ein Ausschlusskriterium für die Studie darstellten.

### **2.3.5.5. Größe der Herzhöhlen**

Die diastolischen und systolischen links- und rechtsventrikulären Innendurchmesser (LVIDd/s, RVIDd/s) und der linksatriale Durchmesser (LAD) wurden im M-Mode in der langen Achse in horizontaler Lage erhoben. In der gleichen Einstellung wurden die Dicke des interventrikulären Septums (IVSd/s) sowie die Dicke der posterioren Hinterwand des linken Ventrikels (LVPWd/s) jeweils in der Systole und der Diastole ausgemessen.

### **2.3.5.6. Linksventrikuläre Ejektionsfraktion und Verkürzungsfraktion**

In der zweidimensionalen Echokardiografie wurden die systolische linksventrikuläre Ejektionsfraktion (EF) nach Simpson und die linksventrikuläre Verkürzungsfraktion (Fractional shortening, FS) bestimmt, um die Pumpfunktion des Herzens zu objektivieren und zu beurteilen. Die Berechnung erfolgte nach der Scheibchensummationsmethode im apikalen Vierkammerblick bzw. im M-Mode.

#### **Formel 4: Berechnung der Ejektionsfraktion nach Simpson**

$$EF = \frac{EDV - ESV}{EDV}$$

EDV = enddiastolisches Volumen, ESV = endsystolisches Volumen

#### **Formel 5: Berechnung des Fractional Shortening**

$$FS = \frac{LVIDd - LVIDs}{LVIDd}$$

LVIDd/s = linksventrikulärer enddiastolischer/-systolischer Innendurchmesser

### **2.3.6. Transösophageale Echokardiografie**

Eine transösophageale Echokardiografie wurde in der Regel bei Patienten mit einem PFO durchgeführt, da dieses von transthorakal in den wenigsten Fällen darstellbar ist.

Diese Untersuchung erfolgte meist bei einem niedergelassenen Kardiologen oder im Rahmen der Abklärung eines neurologischen Ereignisses. Die Patienten brachten die jeweiligen Filme in elektronischer Form zur Indikationsstellung für den interventionellen Verschluss mit.

### **2.3.7. Herzkatheteruntersuchung**

Bei allen in die Studie eingeschlossenen Patienten war eine katheterinterventionelle Untersuchung in der Abteilung für Kinderkardiologie/angeborene Herzfehler des Deutschen Herzzentrum Berlin (DHZB) oder in der kinderkardiologischen Abteilung des Otto-Heubner-Zentrums der Charité Campus Virchow Klinikum erfolgt. Wenn möglich wurde der Defekt in der gleichen Sitzung mittels eines Schirmchen-Devices verschlossen.

Sämtliche Werte bezüglich der Herzkatheteruntersuchung wurden den Protokollen der jeweiligen Untersuchung entnommen. Während der Herzkatheteruntersuchungen wurde bei allen Patienten eine TEE-Kontrolle durchgeführt. Bei Kindern, Schwangeren und auf besonderen Wunsch der Patienten wurde auf eine Kontrolle mit dem Bildwandler komplett verzichtet. Dieses Verfahren wurde unter anderem von Herrn Prof. Dr. Felix Berger und Herrn PD Dr. Peter Ewert im DHZB etabliert [42-44].

#### **2.3.7.1. Sättigungsanalyse**

Während der Druckrückzüge im Rahmen der Druckmessungen in den Herzhöhlen und in den großen Gefäßen wurden in Vena cava superior und inferior, in linker und rechter Pulmonalarterie sowie im linken Vorhof Blutproben für eine Sättigungsanalyse entnommen. Die Sättigungswerte dienen dabei sowohl der Abschätzung der kardiopulmonalen Funktion als auch der Berechnung der Shuntfraktionen. Die Bestimmung des Verhältnisses von pulmonalem zu systemischem Blutfluss ( $Q_p/Q_s$ ) als Maß für die Compliance des Lungenkreislaufs und das Shuntvolumen erfolgte in Anlehnung an die FICKsche Formel.

#### **2.3.7.2. Angiografische Druckmessungen**

Alle während der Herzkatheteruntersuchung dokumentierten Drücke in den Herzhöhlen und den großen Arterien wurden für diese Studie notiert. Zusätzlich wurden auch die Druckverhältnisse im Körperkreislauf registriert. Für Vorhöfe und große Gefäße wurden systolischer, diastolischer und mittlerer Druck bestimmt (a-Welle, v-Welle, mean). In den Ventrikeln wurden der systolische Spitzendruck sowie der enddiastolische Druck bestimmt.

### **2.3.8. Katheterinterventioneller Defektverschluss**

In den meisten Fällen erfolgte der Defektverschluss direkt im Rahmen der Herzkatheteruntersuchung im Anschluss an den diagnostischen Teil.

War ein interventioneller Verschluss möglich, so wurden die Daten bezüglich des Verschlusses gesondert registriert. Dies waren im Einzelnen die Kontrolle des Verschlusses mittels Bildwandler oder TEE, die Ergebnisse von Ballon- und TEE-Sizing sowie Device-Art und Device-Größe. Hierzu wurde die Device-Datenbank des DHZB herangezogen, in der jeder implantierte Schirm dokumentiert wird. Das Vorhandensein eines relevanten Restshunts wurde ebenfalls dokumentiert.

### **2.3.9. Operativer Defektverschluss**

In einigen Fällen war ein interventioneller Verschluss nicht möglich. Bei diesen Patienten wurden dann zusätzlich das OP-Datum als Tag des Verschlusses und die OP-Technik registriert.

## **2.4. Datenbank**

Zur Erfassung der erhobenen Daten wurde eine webbasierte, verschlüsselte Datenbank eingesetzt, die einen standortunabhängigen Zugriff auf die Daten ermöglichte und den datenschutzrechtlichen Anforderungen gerecht wurde.

Die Datenbank kann für weiterführende Studien und andere Projekte im Forschungsnetzwerk des Berlin Institute for Heart Research (BIHR) als Modelldatenbank genutzt und ausgebaut werden. Die erfassten Daten wurden für die Phänotypisierung später in SPSS Version 15.0 für Windows exportiert und statistisch ausgewertet.

### **2.4.1. Entwicklung der Datenbankstruktur**

Der Aufbau der Datenbank orientierte sich an der inhaltlichen Struktur der ausgewählten Parameter. Jeder Parameter wurde zur Spezifikation einzeln definiert und das Eingabeformat der einzelnen Werte vorgegeben. In diesem Zusammenhang wurden Fehlwerte und Bereiche der Parameter vorgegeben, innerhalb derer die einzugebenden Werte sich bewegen mussten. Für einige Parameter wurden wechselseitige Verknüpfungen definiert. Sie führten bei Aktivierung zur automatischen Aktivierung bzw. Deaktivierung der verknüpften Felder. Wurde zum Beispiel die Frage nach einem vorhandenen Blockbild im EKG mit „ja“ beantwortet, so aktiviert dies eine Auswahlliste, in der dieses Blockbild genauer klassifiziert werden musste. Einige Parameterwerte wurden gemäß vorgegebener Formeln durch die Datenbank berechnet, zum Beispiel das Alter bei Einschluss in die Studie (mithilfe des Geburtsdatums), die Körperoberfläche und der BMI der Patienten. Die Ausprägungen der Datenfelder reichten von

ja/nein-Feldern (nominale Werte) über Datums-Felder und Felder für Zahlenwerte (skalierte Werte) bis hin zu Freitextfeldern.

## 2.4.2. Erstellung der Datenbank

Anhand der im Rahmen der Studie angefertigten Spezifikationen wurde vom Institut für Koordination Klinischer Studien Leipzig (KKSL) und dem Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie (IMISE) der Universität Leipzig die Datenbank erstellt.

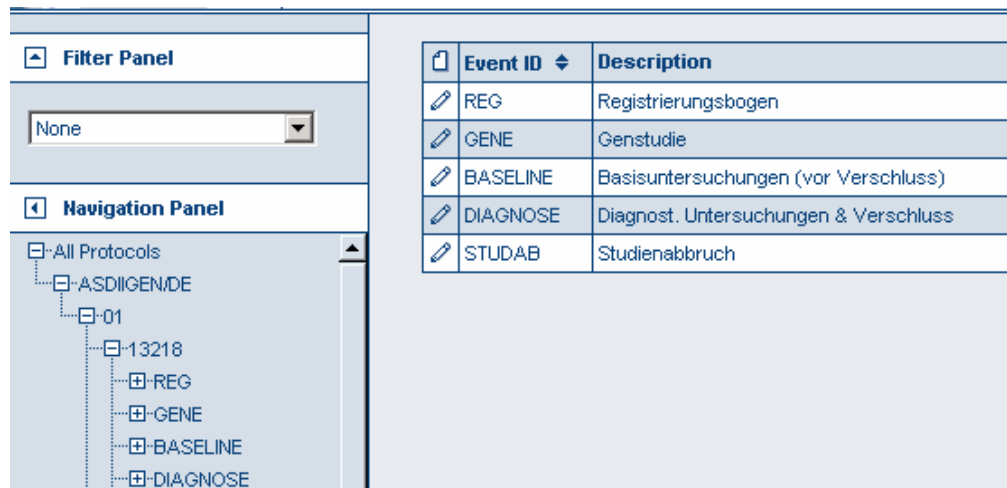


Abbildung 1: Screenshot der Datenbank - Ebene 1

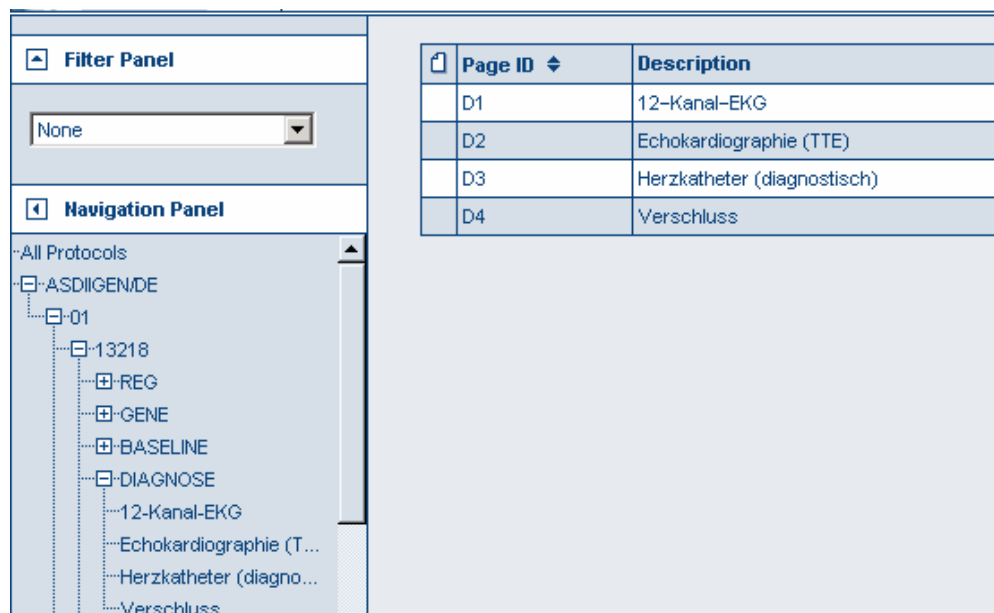


Abbildung 2: Screenshot der Datenbank - Ebene 2

Die Datenbank wurde mit dem Studienmanagement-Werkzeug eResearch Network® der Firma eResearch Technology ([www.ert.com](http://www.ert.com)) entwickelt.

Alle notwendigen Informationen wurden über Formulare für Spezifikationen und Case Report

Forms, einer Vorlage für die spätere Anordnung der Daten, akquiriert. Für alle Datenfelder (Items) wurden genaue Beschreibungen sowie ein Layout erstellt.

Für jedes Datenfeld musste der exakte Name (Prompt), die maximale Größe inklusive Vor- und Nachkommastellen, evtl. eine Codeliste (zum Beispiel 0=nein, 1=ja) und Wertebereiche angegeben werden. Daraus generierte eResearch Network® in einer Datenbank eine entsprechende Spalte mit dem angegebenen Namen. In dieser Spalte wurden später die eingegebenen Daten für das Feld abgelegt (meist ein Datensatz pro Patient). Gleichzeitig erzeugte eResearch Network® ein einfaches Layout, welches über einen Layoutmanager an die Vorgaben angepasst werden konnte.

Die grafische Darstellung im Webbrowser übernimmt die Komponente eResearch eDataEntry®. Diese interpretiert die Datenbankstruktur und generiert anhand der Layoutvorgaben eine Eingabemaske für eine Webseite. Über diese Webseite können Daten eingegeben werden. Um den Anforderungen des Datenschutzes gerecht zu werden erfolgt der Zugang zur Datenbank Passwort gesichert. Zusätzlich kommuniziert eDataEntry per HTTPS-Verschlüsselung mit dem Server des KKSL, so dass eine Kompromittierung der schützenswerten personenbezogenen Daten ausgeschlossen ist.

Als Systeme kamen bei der Entwicklung und Verwaltung der Studiendatenbank folgende Systeme zum Einsatz:

Oracle 9i Datenbankmanagement System®  
eResearch Network 4.10 mit eDataEntry 4.11

## **2.5. Genetisches Screening**

Im Rahmen der Studie wurde die DNA aller 187 in die Studie eingeschlossenen Patienten sowie die DNA von 96 Kontrollen ohne angeborenen Herzfehler durch die Arbeitsgruppe von Dr. med. C. Özcelik und Dr. med. M. Posch, Kardiogenetisches Labor, Experimental and Clinical Research Center, (Lindenberger Weg 80, 13125) Berlin genotypisiert.

### **2.5.1. DNA-Extraktion**

Die genomische DNA wurde aus peripheren Leukozyten der in EDTA-Röhrchen gelagerten Blutproben mittels Puregene Kit in der Autopure LS Workstation gemäß den Herstellerangaben extrahiert.

### **2.5.2. PCR von Exon 5 des GATA4 Gens**

Exon 5 des GATA4 Gens wurde mit den flankierenden intronischen Bereichen (Fragmentlänge 439 bp) mittels PCR bei 59°C „annealing“ Temperatur amplifiziert. Dabei wurden die folgenden Primersequenzen verwendet:

Vorwärts-Primer:           GCC ATC CCT GTG AGA ACT GTA

Rückwärts-Primer:       TAG CTC ACT GCT TGC ACC TG

### **2.5.3. Genotypisierung (SSCP)**

Der GATA4 Polymorphismus S377G wurde mittels Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) Analyse bestimmt. Die SSCP Bedingungen wurden so gewählt, dass die drei möglichen Genotypen (Wildtyp, heterozygot, homozygot) eindeutig auf dem Gel identifizierbar waren. Zur richtigen Determination des Genotyps wurden je zwei PCR Produkte pro Bandenmuster bidirektional sequenziert

## **2.6. Statistische Analyse**

Die erhobenen Daten wurden pseudonymisiert aus der Datenbank des IMISE in das Statistikprogramm SPSS für Windows Version 15.1 bzw. 17.0 exportiert.

Kategoriale Variablen wurden als absolute Zahlen oder in Prozenten ausgedrückt und mit dem Chi-Quadrat-Test berechnet. Bei einer Merkmalshäufigkeit kleiner als vier in einer der Subgruppen wurde der exakte Fisher-Test angewendet. Metrische Variablen wurden auf Normalverteilung überprüft und als Mittelwerte  $\pm$  Standard-Abweichung angegeben. Bei normalverteilten Werten kam der zweiseitige T-Test für unabhängige Stichproben und bei nicht normalverteilten Werten der zweiseitige Mann-Whitney-Test für unabhängige Stichproben zur Anwendung. Als signifikant galt ein P-Wert  $<0,05$ .

### **3. Ergebnisse**

Anhand der durchgeführten Genotypisierung wurde zunächst die Prävalenz des GATA4 S377G Polymorphismus bei den ASDII- und PFO-Patienten bestimmt. Des Weiteren wurde in beiden Gruppen zwischen Patienten mit und ohne den GATA4 Polymorphismus S377G unterschieden (vgl. 2.1.4), um eine mögliche Assoziation des Polymorphismus mit den erhobenen klinischen Parametern zu identifizieren. In diesem Zusammenhang wurden auch die Unterschiede zwischen ASDII- und PFO-Patienten ohne Berücksichtigung des Polymorphismus S377G untersucht.

#### **3.1. Patientenkollektiv**

Vom 01.06.2005 bis 31.07.2006 wurden insgesamt 201 Patienten für die Studie rekrutiert. 14 dieser Patienten mussten im Studienverlauf aus der Auswertung ausgeschlossen werden:

- In drei Fällen konnte die Diagnose ASDII oder PFO bei der Herzkatheteruntersuchung nicht bestätigt werden. Eventuell führten in diesen Fällen Artefakte während der Echokardiografie zur Verdachtsdiagnose.
- In weiteren drei Fällen wurde die Herzkatheteruntersuchung nicht durchgeführt, da der Defekt der Patienten bereits in einem anderen Haus verschlossen worden war oder bereits echokardiografisch erkennbar war, dass ein interventioneller Verschluss nicht möglich wäre.
- Bei einer Patientin stellte sich während der OP heraus, dass es sich um einen Vorhofseptumdefekt vom Sinus venosus inferior-Typ handelte.
- Vier Patienten hatten noch weitere angeborene Herzfehler wie zum Beispiel einen VSD, eine TGA oder einen PDA.
- Eine Patientin hatte das Dubowitz-Syndrom [45].
- Zusätzlich waren zwei Probanden herzgesunde Eltern (Defektausschluss per TTE) eines in die Studie aufgenommenen Patienten, dessen Schwester ebenfalls einen isolierten ASDII hat und deren Blut ebenfalls untersucht wurde. Da bei ihnen kein Defekt nachgewiesen wurde, wurden sie aus der weiteren Auswertung ausgeschlossen.

Insgesamt konnten für die Auswertung die Daten von 187 Patienten herangezogen werden, darunter 92 Patienten mit ASDII und 95 Patienten mit PFO. Die Verteilung der Defektarten unter männlichen und weiblichen Probanden dieses Studienkollektivs zeigt Tabelle 7.

**Tabelle 7: Prävalenz der Defektarten nach Geschlecht im Studienkollektiv**

Geschlecht		Defektart		Gesamt
		ASDII	PFO	
männlich	Anzahl	26	52	78
	% von Defektart	28,3%	54,7%	41,7%
weiblich	Anzahl	66	43	109
	% von Defektart	71,7%	45,3%	58,3%
Gesamt	Anzahl	92	95	187
	% von Defektart	100,0%	100,0%	100,0%

Das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Probanden unter den ASDII-Patienten entspricht mit 26:66 Patienten in etwa 1:2,5 (m:w). Bei den PFO-Patienten war dieses Verhältnis 1:0,83 (m:w). Ein ASDII war bei weiblichen Patienten signifikant häufiger als bei männlichen ( $p < 0,001$ ), während sich das Vorkommen eines PFO nach bisherigen Erkenntnissen homogen auf beide Geschlechter verteilte. Damit entsprach das Studienkollektiv hinsichtlich des Vorkommens der Defekte bei Männern und Frauen den in früheren Studien beschriebenen Verhältnissen [46].

### **3.2. GATA4 Polymorphismus S377G im Studienkollektiv**

Bei 19 (20,7%) der 92 Patienten mit einem ASDII sowie bei 67 (70,5%) der 95 PFO-Patienten konnte der GATA4 Polymorphismus S377G nachgewiesen werden. In der Kontrollgruppe kam er nur bei 21 der 95 Patienten ohne Vorhofseptumdefekt oder andere angeborene Herzfehler vor. Vier ASDII-Patienten und drei PFO-Patienten waren homozygoter Träger des SNP S377G. Unter den Kontrollprobanden konnte der Polymorphismus fünfmal in homozygoter Form nachgewiesen werden (vgl. Tabelle 8). Aufgrund der geringen Häufigkeit der homozygoten Variante des SNP S377G (G/G) wurden die betroffenen Patienten zur Gruppe der heterozygoten Variante (A/G) hinzugezählt.



**Tabelle 8: Verteilung des GATA4 Polymorphismus S377G im Patientenkollektiv**

Gruppe		Defektart		Gesamt
		1: ASDII	2: PFO	
A Wildtyp (AA)	Anzahl	73	28	101
	%von Defektart	79,3%	29,5%	54,0%
B SNP S377G (AG/GG)	Anzahl	19 (15/4)	67 (64/3)	86 (79/7)
	%von Defektart	20,7% (16,3/4,4%)	70,5% (67,4/3,1%)	46,0% (42,2/3,8%)
Gesamt		92 100,0%	95 100,0%	187 100,0%

Entgegen der Erwartungen war der GATA4 Polymorphismus S377G signifikant mit dem Auftreten eines PFO assoziiert. Bei den ASDII-Patienten war der Polymorphismus hingegen genauso häufig wie bei den Kontrollen. Diese Assoziation des SNP S377G mit PFO basierte ausschließlich auf der großen Zahl von PFO-Patienten mit dem heterozygoten Genotyp. Die beschriebene Assoziation zeigt sich besonders deutlich bei der Berechnung der Allelhäufigkeiten bei Patienten mit ASDII und PFO sowie in der Kontrollgruppe (Tabelle 9).

**Tabelle 9: Häufigkeiten der Allele A und G im Patientenkollektiv**

	ASDII(n= 92)	Kontrollgruppe	Chi-Quadrat	OR (KI 95%)	Signifikanz
<b>A</b>	161	164	0,12	0,9 (0,47 - 1,71)	0,73
<b>G</b>	23	26			
	PFO (n=95)	Kontrollgruppe	Chi-Quadrat	OR (KI 95%)	Signifikanz
<b>A</b>	120	164	26,9	3,7 (2,15 - 6,32)	0,00000021
<b>G</b>	70	26			
	PFO (n=95)	ASDII (n= 92)	Chi-Quadrat	OR (KI 95%)	Signifikanz
<b>A</b>	120	161	29,6	4,1 (2,34 - 7,17)	0,000000052
<b>G</b>	70	23			

**OR (KI 95%): Odds ratio mit oberem und unterem Konfidenzintervall**

Es zeigt sich eine signifikant höhere Prävalenz des G-Allels bei Patienten mit PFO im Vergleich zu den Patienten mit ASDII ( $p < 0,00001$ ). Ähnlich signifikant war der Unterschied zwischen Patienten mit PFO und der Kontrollgruppe ( $p < 0,00001$ ). Die Verteilung der Allele zwischen den ASDII-Patienten und der Kontrollgruppe ist hingegen nicht signifikant unterschiedlich ( $p = 0,73$ ). Aus dieser Verteilung ergibt sich die Hypothese, dass es sich bei der heterozygoten Variante des SNP S377G um eine Risikovariante für das PFO handelt, nicht aber für den ASDII, während die homozygote Variante des SNP S377G nicht mit einem erhöhten Risiko, weder für ASDII noch für PFO, einhergeht.

### 3.3. Defektart und Geschlecht der Studienpatienten

Wie bereits in Abschnitt 3.1 beschrieben, waren ASDII-Patienten bei Betrachtung des gesamten Studienkollektivs signifikant häufiger weiblich als PFO-Patienten ( $p < 0,001$ ). Die Verteilung des GATA4 Polymorphismus S377G bei männlichen und weiblichen ASDII- und PFO-Patienten ist in Abbildung 3 dargestellt.

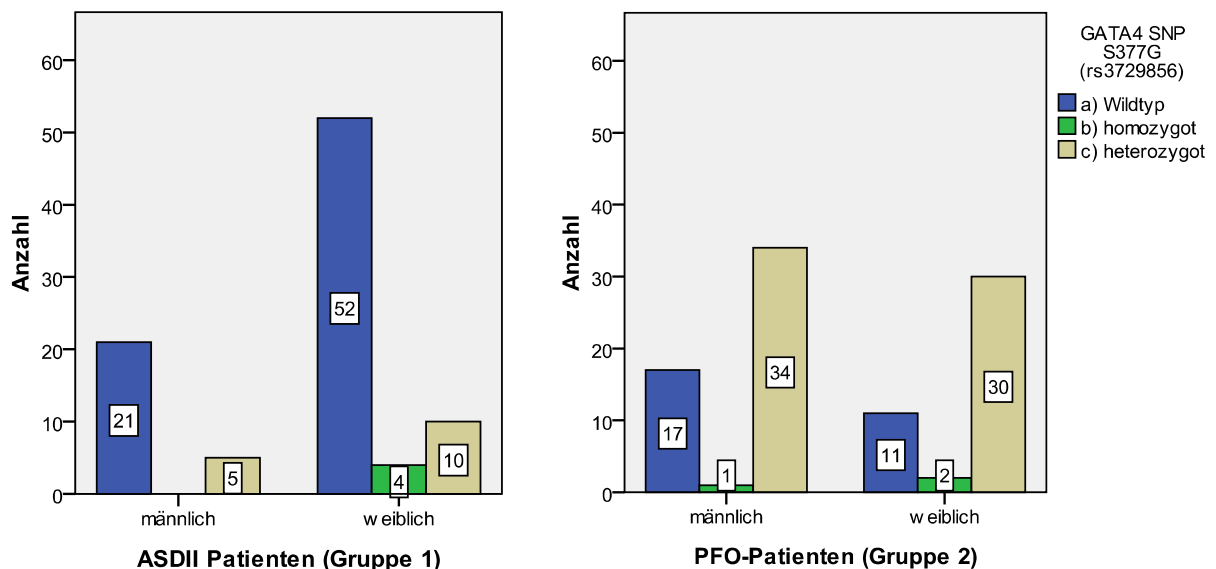


Abbildung 3: Der SNP S377G bei ASDII- und PFO-Patienten

Bei ASDII-Patienten gab es keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorkommen des SNP S377G und dem Geschlecht der Patienten ( $p = 0,833$ ). Das Verhältnis von Männern zu Frauen (m:w) war sowohl in Gruppe 1A (Wildtyp) als auch in Gruppe 1B (SNP S377G) dem in der gesamten Gruppe 1 (ASDII) vergleichbar. Es fiel zwar auf, dass die vier ASDII-Patienten mit der homozygoten Variante des GATA4 SNP S377G alle weiblich waren. Dies war jedoch nicht signifikant ( $p = 0,412$ ).

Bei den PFO-Patienten verhielt es sich ähnlich. Es gab keinen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen des SNP S377G und der Geschlechterverteilung ( $p = 0,449$ ). Männer und Frauen waren in den Gruppen 2A und 2B etwa gleich häufig von einem PFO betroffen.

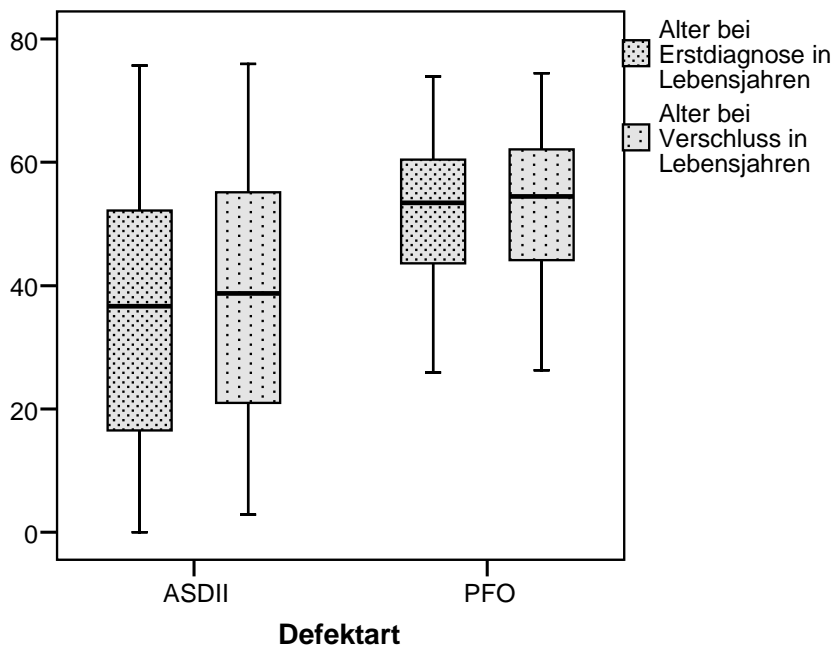
Der GATA4 Polymorphismus S377G war somit weder bei ASDII- oder PFO-Patienten noch im gesamten Studienkollektiv ( $p = 0,219$ ) mit einem bestimmten Geschlecht assoziiert.

### 3.4. Anamnese

#### 3.4.1. Alter bei Erstdiagnose und bei Defektverschluss

Das durchschnittliche Alter der Patienten war 43,8 Jahre bei Erstdiagnose und 46,1 Jahre bei Defektverschluss. Insgesamt vergingen im Schnitt 2,5 Jahre zwischen Erstdiagnose und Defektverschluss. Der Ausschluss der drei Patienten mit unbekanntem Erstdiagnosealter führte bei der Berechnung des durchschnittlichen Verschlussalters nur zu einer Abweichung von 0,1 Jahr, so dass im Folgenden alle Patienten in die Berechnungen einbezogen wurden.

Abbildung 4 stellt Erstdiagnose- und Verschlussalter für die beiden Defektarten grafisch dar und zeigt deutlich die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.



**Abbildung 4: Alter bei Erstdiagnose und Defektverschluss bei ASDII und PFO**

Das durchschnittliche Erstdiagnosealter von ASDII- und PFO-Patienten unterschied sich mit 17,3 Jahren (ASDII 34,8 Jahre, PFO 52,1 Jahre), auch unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Altersverteilung innerhalb der beiden Gruppen, signifikant ( $p < 0,001$ ). Gleiches galt für das Verschlussalter (ASDII 38,6 Jahre, PFO 53,3 Jahre). Der Unterschied lag hier bei 14,7 Jahren ( $p < 0,001$ ).

Die Zeit, die bis zum Defektverschluss verging, war bei den ASDII-Patienten mit einem Mittelwert von 3,8 Jahren deutlich länger als bei den PFO-Patienten mit 1,2 Jahren ( $p = 0,001$ ).

Abbildung 5 und Abbildung 6 zeigen die unterschiedliche Altersstruktur in den beiden Defektgruppen.

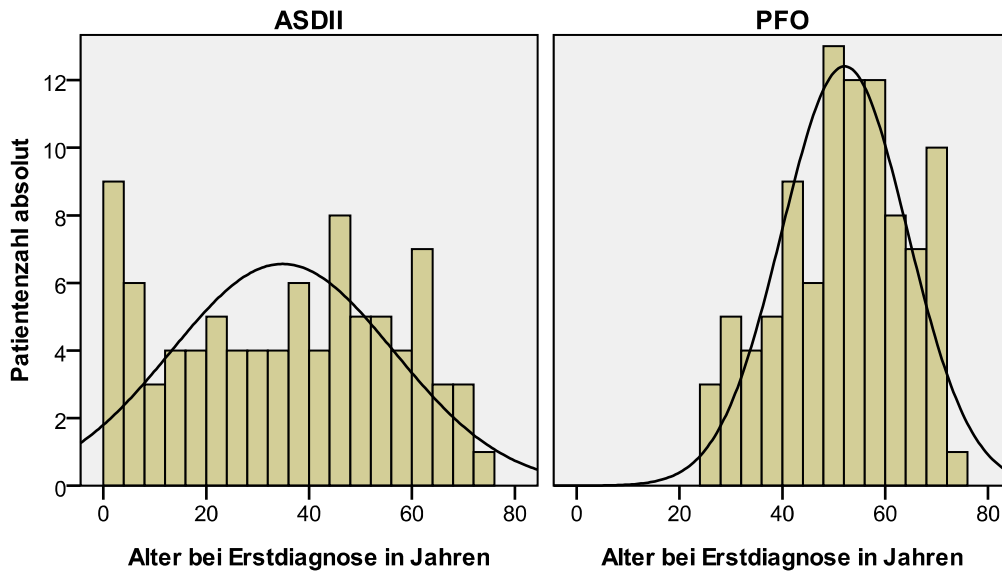


Abbildung 5: Alter bei Erstdiagnose

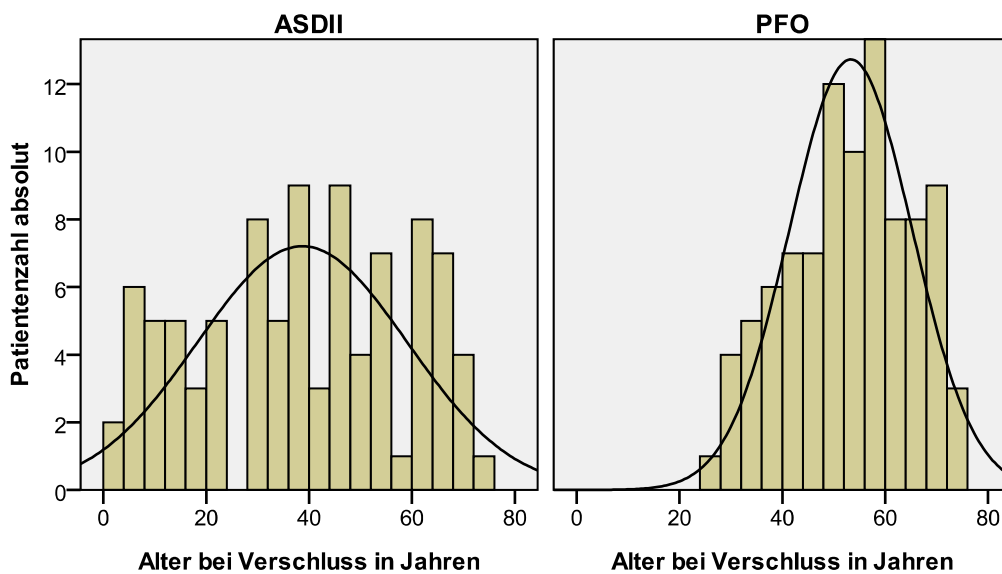


Abbildung 6: Alter bei Defektverschluss

Während sich das Diagnose- und Verschlussalter bei den ASDII-Patienten über den gesamten Altersbereich relativ homogen erstreckte, kam es bei den PFO-Patienten sowohl bei Erstdiagnose- als auch bei Verschlussalter zu einer deutlichen Häufung jenseits des 40. Lebensjahres. Der jüngste Patient mit der Diagnose PFO war 25,9 Jahre alt.

### 3.4.2. Symptome bei Erstdiagnose

Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose lagen bei den Patienten verschiedene Symptome vor, die sie zum Arzt und somit zur Diagnose des Vorhofseptumdefektes geführt hatten. Zu diesen Symptomen zählten Herzgeräusche, kardiale Belastungszeichen, neurologische Ereignisse, Synkopen oder Schwindelanfälle sowie gehäufte respiratorische Infekte bei Kindern.

Bei 34,8% der ASDII-Patienten lagen kardiale Belastungszeichen und bei 38,0% ein Herzgeräusch vor. Drei Patienten hatten beide Symptome. PFO-Patienten hatten diese Symptome mit 6,3% bzw. 3,2% deutlich seltener ( $p < 0,001$ ). Stattdessen hatten sie zum Diagnosezeitpunkt zu 92,6% bereits ein neurologisches Ereignis gehabt. Dies war wiederum bei ASDII-Patienten mit 8,7% signifikant seltener ( $p < 0,001$ ). Über Schwindelanfälle oder Synkopen wurde in beiden Gruppen seltener berichtet (ASDII 15,2%, PFO 10,5%). Nur ein ASDII-Patient war aufgrund gehäufter respiratorischer Infekte auffällig geworden.

ASDII- und PFO-Patienten unterschieden sich also signifikant hinsichtlich der bei Diagnosestellung vorliegenden Symptome. Ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des GATA4 Polymorphismus S377G und den bei Erstdiagnose vorliegenden Symptomen konnte weder für die ASDII- noch für die PFO-Patienten identifiziert werden.

### 3.4.3. Migräne

Bei insgesamt zehn Patienten, davon fünf (5,4%) mit einem ASDII und fünf (5,3%) mit einem PFO, war eine Form von Migräne dokumentiert. Für die übrigen Patienten konnte die genaue Migräneanamnese im Rahmen der Aktenstudien nicht erhoben werden. Des Weiteren wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit keine Angaben über die Entwicklung der Migräne in Bezug zum Defektverschluss erhoben. Vier der zehn Patienten mit Migräne hatten die heterozygote Form des GATA4 Polymorphismus S377G, die anderen sechs den Wildtyp. Eine signifikante Assoziation mit einer Defektart oder dem SNP S377G lag nicht vor. Die Zahl der Migränepatienten ist zwar sehr gering, die Ergebnisse deuten jedoch in die gleiche Richtung wie die von *Sherin et al.* 2008 [35], die in einem Kollektiv von 275 Patienten keine signifikante Assoziation des GATA4 Polymorphismus S377G mit Migräne nachweisen konnten.

### 3.4.4. Familiäre angeborene Herzfehler

Bei ASDII-Patienten war eine positive Familienanamnese bezüglich angeborener Herzfehler mit acht (8,7%) der 92 Patienten gegenüber einem (1,1%) der 95 PFO-Patienten signifikant häufiger ( $p=0,015$ ). Eine signifikante Assoziation mit dem GATA4 Polymorphismus S377G wurde nicht identifiziert. Nur der PFO-Patient hatte die heterozygote Variante des SNP S377G, die ASDII-Patienten hatten alle den Wildtyp.

Die Stammbäume dieser Indexpatienten wurden für die vorliegende Arbeit nicht erhoben. Sie werden momentan im Rahmen weiterführender Untersuchungen analysiert.

### 3.5. Körperliche Untersuchung

Die Studienpatienten hatten insgesamt eine mittlere Größe von 166,8 cm und ein durchschnittliches Gewicht von 71,3 kg. Die mittlere KOF betrug  $1,79 \text{ m}^2$ , der durchschnittliche BMI war 25,1. Diese Werte fielen im weiblichen Mittel stets signifikant geringer aus als im männlichen Mittel ( $p<0,001$  bzw.  $p<0,02$  für den BMI). Gleiches galt im Vergleich der ASDII-Patienten (Gruppe 1) mit den PFO-Patienten (Gruppe 2). Die Mittelwerte der Gruppe 1 fielen in allen Kategorien signifikant geringer aus als in Gruppe 2 ( $p<0,001$ ). Dies liegt am höheren Anteil weiblicher Probanden und am höheren Anteil jüngerer Patienten und von Kindern an den ASDII-Patienten. So erklärte sich, dass die Werte im Gesamtkollektiv und unter den ASDII-Patienten nicht normalverteilt waren. Nur unter den PFO-Patienten waren die Werte bis auf den BMI normalverteilt.

**Tabelle 10: Kenndaten der Studienpatienten**

		Körperlänge [cm]	Körpergewicht [kg]	KOF [m <sup>2</sup> ]	BMI
<b>ASDII</b>	männlich	170,7 (±18,0)	73,1 (±22,8)	1,84 (±0,39)	24,2 (±4,9)
	weiblich	157,5 (±18,8)	60,7 (±19,8)	1,60 (±0,36)	23,6 (±5,1)
	Insgesamt	161,2 (±19,4)	64,2 (±21,3)	1,67 (±0,38)	23,8 (±5,0)
<b>PFO</b>	männlich	177,1 (±7,7)	83,0 (±12,2)	2,00 (±0,17)	26,4 (±3,0)
	weiblich	166,1 (±7,0)	72,1 (±13,2)	1,80 (±0,15)	26,2 (±5,1)
	Insgesamt	172,1 (±9,2)	78,1 (±13,7)	1,91 (±0,19)	26,3 (±4,1)
<b>Gesamt</b>	männlich	175,0 (±12,4)	79,7 (±17,0)	1,95 (±0,27)	25,7 (±3,9)
	weiblich	160,9 (±15,8)	65,2 (±18,3)	1,68 (±0,31)	24,6 (±5,3)
	Insgesamt	166,7 (±16,1)	71,3 (±71,3)	1,79 (±0,32)	25,1 (±4,7)

Mittelwerte (Standardabweichung)

Bei alleiniger Betrachtung der über 18-jährigen Patienten waren die Werte normalverteilt. Ein Vergleich der Mittelwerte zwischen Gruppe 1A und 1B (ASDII) sowie zwischen Gruppe 2A und 2B (PFO) zeigte keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der erhobenen Kenndaten. Bei vier Patienten waren zum Untersuchungszeitpunkt kardiale Belastungszeichen wie Dyspnoe, Tachypnoe und Ödeme dokumentiert. Darüber hinaus wurden 43 Patienten als NYHA-Stadium II (32) oder III (11) eingestuft. Das entspricht 23% aller Studienpatienten, die über kardiale Belastungszeichen bei starker (NYHAIII) oder leichter (NYHAII) körperlicher Belastung klagten. 30 der Patienten mit NYHA-Stadium II oder III hatten einen ASDII, die übrigen 13 ein PFO. Es gab also einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Defektart und der NYHA-Klassifikation ( $p < 0,004$ ). Eine Assoziation zwischen dem GATA4 Polymorphismus S377G und dem Grad der NYHA-Klassifikation konnte hingegen nicht nachgewiesen werden.

### **3.6. Elektrokardiogramm**

Die Elektrokardiogramme vor Defektverschluss wurden hinsichtlich der beim Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp häufig vorkommenden Veränderungen untersucht. Hierzu zählen die Verlängerung des PQ-Intervalls, eine QRS-Achse von  $95-135^\circ$  und leichte Verlängerungen des QRS-Komplexes mit inkomplettem Rechtsschenkelblock sowie komplette Rechtsschenkelblöcke.

In zwei Fällen lag kein 12-Kanal-EKG von einem Zeitpunkt vor dem Defektverschluss vor. Daher beziehen sich die Auswertungen auf 185 Patienten.

#### **3.6.1. Auswertung der pädiatrischen Elektrokardiogramme**

Die Normwerte für die Auswertung der EKGs der Patienten unter 16 Jahre wurden anhand der Empfehlungen European Society of Cardiology (ESC) nach *Rijnbeek et al.* [40] festgelegt und sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

**Tabelle 11: Normwerte für das pädiatrische EKG nach Rijnbeek et al. [40]**

Ableitung	2 Jahre	3-4 Jahre	5-7 Jahre	8-11 Jahre	12-15 Jahre
Herzfrequenz (1/min)	119 (97-155) 128 (95-178)	98 (73-123) 101 (78-124)	88 (62-113) 89 (68-115)	78 (55-101) 80 (58-110)	73 (48-99) 76 (54-107)
P-Achse (Grad)	48 (-12-78) 47 (1-90)	43 (-13-69) 44 (-6-90)	41 (-54-72) 42 (-13-77)	39 (-17-76) 42 (-15-82)	40 (-24-76) 45 (-18-76)
P-Welle (ms)	80 (63-113) 83 (62-104)	87 (67-102) 84 (66-101)	92 (73-108) 89 (71-107)	98 (78-117) 94 (75-114)	100 (82-118) 98 (78-122)
PQ-Intervall (ms)	118 (86-151) 113 (78-147)	121 (98-152) 123 (99-153)	129 (99-160) 124 (92-156)	134 (105-174) 129 (103-163)	139 (107-178) 135 (106-176)
QRS-Achse (°)	64 (-4-118) 69 (2-121)	70 (7-112) 69 (3-106)	70 (-10-112) 74 (27-117)	70 (-21-114) 66 (5-117)	65 (-9-112) 66 (5-101)
QRS-Komplex (ms)	71 (54-88) 68 (54-85)	75 (58-92) 71 (58-88)	80 (63-98) 77 (59-95)	85 (67-103) 82 (66-99)	91 (78-111) 87 (72-106)
QTc-Zeit (ms)	412 (377-455) 417 (388-442)	412 (377-448) 415 (388-442)	411 (371-443) 409 (375-449)	411 (373-440) 410 (365-447)	407 (362-449) 414 (370-457)

**Jungen (oben), Mädchen (unten); Median (2.-98. Perzentile)**

Die 18 Patienten unter 16-jährigen Patienten wurden zur Auswertung in die entsprechenden Gruppen eingeteilt. Tabelle 12 zeigt die Ergebnisse der EKG-Auswertung anhand der altersentsprechenden Normwerte. Angegeben sind immer der kleinste und der größte gemessene Wert. Pathologische Werte sind hervorgehoben. Alle Kinder hatten zum Zeitpunkt des Defektverschlusses einen normofrequenten Sinusrhythmus.

**Tabelle 12: Analyse der EKGs der unter 16-jährigen Patienten**

Ableitung	2 Jahre (n=1)	3-4 Jahre (n=2)	5-7 Jahre (n=5)	8-11 Jahre (n=5)	12-15 Jahre (n=5)
Herzfrequenz (1/min)	107	97-100	81-92	82-92	68-85
P-Achse (°)	42	45-50	38-57	10-65	5-70
P-Welle (ms)	70	80-100	60-90	65-80	80-100
PQ-Intervall (ms)	130	135-160	110-180 ( <b>2x170, 180</b> )	120-180 ( <b>180</b> )	130-180
QRS-Achse (°)	47	27-128 ( <b>128</b> )	60-133 ( <b>133</b> )	45-90	12-65
QRS-Komplex (ms)	80	70	60-100	60-90	80-120 ( <b>120</b> )
QTc-Zeit (ms)	407	413-432	372-457	379-421	374-429

**Minimum-Maximum (pathologische Werte in Klammern); n=Zahl der Kinder in der jeweiligen Gruppe**

Bei vier Kindern konnte ein verlängertes PQ-Intervall und somit ein AV-Block ersten Grades nachgewiesen werden. Bei einem Kind lag ein AV-Block II° Typ Mobitz mit normalem PQ-Intervall vor. In einem Fall lag ein kompletter Rechtsschenkelblock mit einer verlängerten QRS-Dauer vor, bei 13 Kindern wurde ein verspäteter oberer Umschlagspunkt in V<sub>1</sub> im Sinne eines inkompletten Rechtsschenkelblocks festgestellt. Die QRS-Achse war bei zwei Kindern im Alter



von drei bis sieben Jahren bereits pathologisch nach rechts verschoben.

Diese Ergebnisse flossen in die folgenden Auswertungen ein, so dass sich die Betrachtungen immer auf das gesamte Studienkollektiv inklusive der Kinder und Jugendlichen beziehen.

### **3.6.2. Herzfrequenz und Herzrhythmus**

Insgesamt hatten 27 Patienten (16,2%) zum Zeitpunkt der Untersuchung eine Herzfrequenz unter 60/min, davon drei unter 50/min. Bis auf einen Fall mit einer Arrhythmia absoluta bei Vorhofflimmern handelte es sich um Sinusbradykardien.

Bei 154 Patienten (83,2%) lag ein normofrequenter Sinusrhythmus vor. Zusätzlich hatte ein Patient einen Schrittmacherrhythmus. Bei weiteren zwei Patienten wurde eine absolute Arrhythmie bei Vorhofflimmern diagnostiziert. Ein Erwachsener hatte eine Herzfrequenz von 101/min.

Es wurden weder Zusammenhänge zwischen der Herzfrequenz und dem Vorhandensein von ASDII oder PFO noch eine Assoziation zwischen dem GATA4 Polymorphismus S377G und der Herzfrequenz nachgewiesen.

### **3.6.3. Lagetypen und elektrische Herzachsen**

In den 185 vorliegenden EKG-Ableitungen konnte für 184 Patienten die QRS-Achse in Grad bestimmt werden. In diesen Ableitungen hatten insgesamt 82,6% (152) aller Patienten einen für ihr Alter normalen Lagetyp. Bei 4,9% (9) der Patienten war die Herzachse pathologisch nach links und bei 12,5% (23) pathologisch nach rechts verschoben, wenn man den Steiltyp bei über 18-jährigen Patienten ebenfalls als Zeichen einer beginnenden rechtsventrikulären Hypertrophie wertet. Tabelle 13 und Tabelle 14 zeigen die Verteilung der Lagetypen bei ASDII- und PFO-Patienten in Abhängigkeit vom GATA4 Polymorphismus S377G.

**Tabelle 13: QRS-Lagetypen der ASDII-Patienten (Gruppe 1)**

Lagetyp		GATA4 SNP S377G		Gesamt
		Wildtyp (Gruppe 1A)	SNP S377G (Gruppe 1B)	
ÜLT (-90° bis -30°)	Anzahl	1	0	1
	% von SNP S377G	1,4%	,0%	1,1%
LT (-30° bis 30°)	Anzahl	21	1	22
	% von SNP S377G	29,2%	5,3%	24,2%
IT (30° bis 60°)	Anzahl	32	13	45
	% von SNP S377G	44,4%	68,4%	49,5%
ST (60° bis 90°)	Anzahl	10	4	14
	% von SNP S377G	13,9%	21,1%	15,4%
RT (90° bis 120°)	Anzahl	5	0	5
	% von SNP S377G	6,9%	,0%	5,5%
ÜRT (>120°)	Anzahl	3	1	4
	% von SNP S377G	4,2%	5,3%	4,4%
Gesamt	Anzahl	72	19	91
	% von SNP S377G	100,0%	100,0%	100,0%

**Tabelle 14: QRS-Lagetypen der PFO-Patienten (Gruppe 2)**

Lagetyp		GATA4 SNP S377G		Gesamt
		Wildtyp (Gruppe 2A)	SNP S377G (Gruppe 2B)	
ÜLT (-90° bis -30°)	Anzahl	1	7	8
	% von SNP S377G	3,7%	10,6%	8,6%
LT (-30° bis 30°)	Anzahl	14	32	46
	% von SNP S377G	51,9%	48,5%	49,5%
IT (30° bis 60°)	Anzahl	10	21	31
	% von SNP S377G	37,0%	31,8%	33,3%
ST (60° bis 90°)	Anzahl	2	6	8
	% von SNP S377G	7,4%	9,1%	8,6%
Gesamt	Anzahl	27	66	93
	% von SNP S377G	100,0%	100,0%	100,0%

Es gab im Patientenkollektiv einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Defektart und dem QRS-Lagetyp ( $p < 0,0001$ ): Bei den ASDII-Patienten war der Indifferenztyp deutlich häufiger als der Linkstyp, bei den PFO-Patienten war dies genau umgekehrt.

Eine Assoziation des GATA4 SNP S377G mit einem bestimmten Lagetyp konnte hingegen weder im Gesamtkollektiv noch bei den ASDII-Patienten ( $p = 0,191$ ) oder bei den PFO-Patienten ( $p = 0,723$ ) identifiziert werden.

Trennte man die ASDII- und PFO-Patienten mit dem SNP S377G nach homozygoter und heterozygoter Form des SNP S377G auf, so zeigte sich, dass die PFO-Patienten mit der homozygoten Variante alle einen Linkslagetyt hatten, die ASDII-Patienten mit der homozygoten Variante hingegen alle einen Indifferenztyp ( $p=0,008$ ). Der Lagetyt entsprach in beiden Fällen dem häufigsten Lagetyt in der jeweiligen Gesamtgruppe (Gruppe 1 bzw. 2) und war nie pathologisch.

Da die Fallzahlen in den einzelnen Subgruppen sehr gering sind, können diese Zusammenhänge zwischen Lagetyt und Defektart bei Patienten mit dem SNP S377G zunächst nur als mögliche Tendenz betrachtet werden. Sie müssten an einem größeren Patientenkollektiv überprüft werden.

Deutlich aussagekräftiger ist in diesem Zusammenhang der Vergleich der elektrischen Herzachse in Grad. Sie lag bei ASDII-Patienten im Mittel mit  $45,2^\circ (\pm 34,9)$  signifikant weiter rechts als bei PFO-Patienten mit  $16,2^\circ (\pm 33,4)$  ( $p < 0,001$ ). Patienten mit und ohne den SNP S377G unterschieden sich diesbezüglich nicht.

#### **3.6.4. Schenkelblöcke**

87 der 185 Patienten (47,5%) hatten einen inkompletten Rechtsschenkelblock (iRSB) mit einem QRS-Komplex innerhalb der Norm und dem morphologischen Zeichen eines Rechtsschenkelblocks, einem verzögerten oberen Umschlagpunkt in  $V_1$ . Bei weiteren acht Patienten (4,4%) lag ein kompletter Rechtsschenkelblock (RSB) vor und acht Patienten hatten einen anderen Schenkelblock.

Unter den ASDII-Patienten hatten 68 (73,9%) einen inkompletten und sechs (6,5%) einen kompletten Rechtsschenkelblock. Andere Schenkelblöcke kamen in dieser Gruppe nicht vor.

Unter den Patienten mit PFO hatten nur 19 (20,9%) einen inkompletten und zwei (2,2%) einen kompletten Rechtsschenkelblock. Tabelle 15 gibt einen Überblick über das Vorkommen kompletter und inkompletter Schenkelblöcke im Patientenkollektiv.

**Tabelle 15: Inkomplette und komplette Rechtsschenkelblöcke nach Defektart**

Defektart			Schenkelblöcke zusammengefasst				Gesamt
			kein SB	iRSB	RSB	andere SB	
ASDII	Wildtyp	Anzahl	13	54	6		73
		% von SNP S377G	17,8%	74,0%	8,2%		100,0%
	SNP S377G	Anzahl	5	14	0		19
		% von SNP S377G	26,3%	73,7%	,0%		100,0%
	Gesamt	Anzahl	18	68	6		92
		% von SNP S377G	19,6%	73,9%	6,5%		100,0%
PFO	Wildtyp	Anzahl	19	5	0	2	26
		% von SNP S377G	73,1%	19,2%	,0%	7,7%	100,0%
	SNP S377G	Anzahl	43	14	2	6	65
		% von SNP S377G	66,2%	21,5%	3,1%	9,2%	100,0%
	Gesamt	Anzahl	62	19	2	8	91
		% von SNP S377G	68,1%	20,9%	2,2%	8,8%	100,0%

Inkomplette und komplette Rechtsschenkelblöcke waren bei ASDII-Patienten deutlich häufiger als bei PFO-Patienten ( $p < 0,00001$ ). Es konnte hingegen weder bei ASDII- noch bei PFO-Patienten eine signifikante Assoziation des SNP S377G mit einem bestimmten Schenkelblock nachgewiesen werden.

Auffällig war auch hier wieder, dass Patienten mit der homozygoten Variante des SNP S377G nie einen kompletten Rechtsschenkelblock hatten. Inkomplette Rechtsschenkelblöcke kamen jedoch auch bei diesen Patienten vor, so dass ein echter Zusammenhang unwahrscheinlich bleibt.

In Ergänzung zu den morphologischen Kriterien des inkompletten und des komplettern Rechtsschenkelblocks wurde die QRS-Dauer der ASDII-Patienten und der PFO-Patienten verglichen. Diese waren bei ASDII-Patienten mit durchschnittlich 87,5 ms ( $\pm 16,5$ ) deutlich länger als bei PFO-Patienten mit 81,1 ms ( $\pm 14,8$ ) ( $p = 0,007$ ).

### 3.6.5. AV-Blockierungen

Bei 14 (7,6%) von 185 Patienten wurde eine AV-Blockierung diagnostiziert. In 13 Fällen handelte es sich um einen AV-Block I°. Ein ASDII-Patient hatte einen AV-Block II° (Typ Mobitz). Die Prävalenz von AV-Blockierungen war bei ASDII-Patienten (Gruppe 1) mit 14,1% signifikant höher als bei PFO-Patienten (Gruppe 2) mit 1,1% ( $p = 0,001$ ). Tabelle 16 zeigt das Vorkommen von AV-Blöcken bei ASDII-Patienten mit und ohne den SNP S377G. Von den 95 PFO-Patienten hatte nur einer einen AV-Block I° und zwei hatten eine Arrhythmia absoluta. Sie sind in dieser Tabelle nicht dargestellt.

**Tabelle 16:AV-Blockierungen bei ASDII-Patienten**

ASDII		Grad des AV-Blocks			Gesamt
		kein	1. Grades	2. Grades (Typ Mobitz)	
Wildtyp	Anzahl	65	7	1	73
	% von SNP S377G	89,0%	9,6%	1,4%	100,0%
SNP S377G	Anzahl	14	5	0	19
	% von SNP S377G	73,7%	26,3%	,0%	100,0%
Gesamt	Anzahl	79	12	1	92
	% von SNP S377G	85,9%	13,0%	1,1%	100,0%

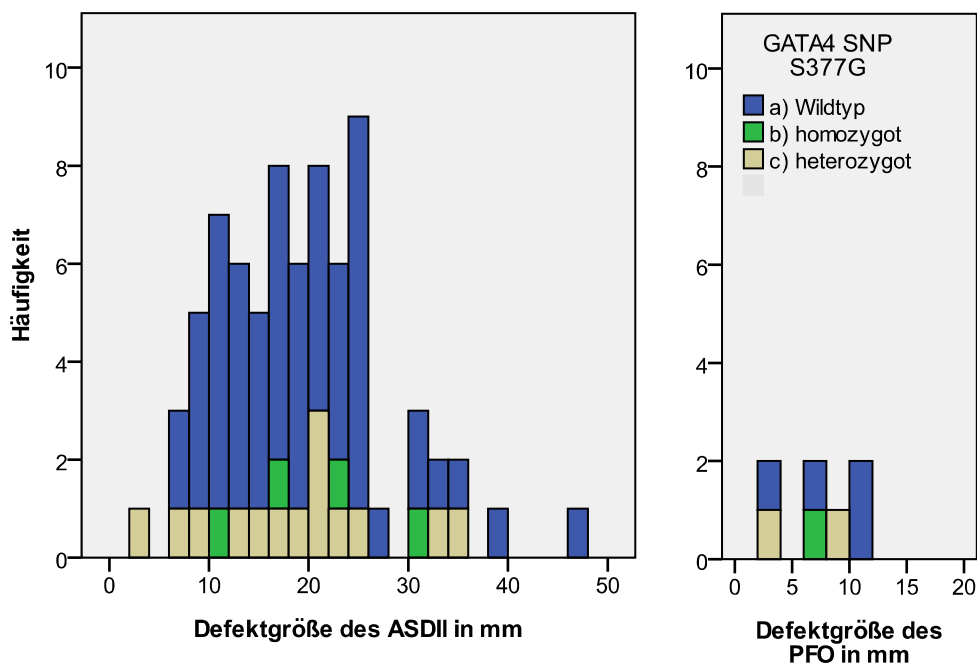
Eine Assoziation des GATA4 Polymorphismus S377G mit AV-Blockierungen gab es in unserem Patientenkollektiv weder bei den ASDII-Patienten ( $p=0,087$ ) noch bei den PFO-Patienten ( $p=0,520$ ). Es war jedoch auch bei AV-Blockierungen auffällig, dass sie nie Patienten mit der homozygoten Form des SNP S377G betrafen.

### 3.7. Echokardiografie

Bei einem ASDII- und fünf PFO-Patienten lagen keine genauen Unterlagen über die Ergebnisse der transthorakalen Echokardiografie vor. Daher beziehen sich die folgenden Angaben auf eine Grundgesamtheit von 181 Patienten.

#### 3.7.1. Größe und Lage des Defektes

In 81 (43,3%) der 181 Fälle, davon 74 ASDII- und 7 PFO-Patienten, war der Defekt in der transthorakalen Echokardiografie darstellbar. ASDII-Patienten hatten auch unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Altersverteilung im Mittel mit 18,6 mm ( $\pm 8,4$  mm) signifikant größere Defekte als PFO-Patienten mit 6,6 mm ( $\pm 3,3$  mm) ( $p=0,0003$ ). Patienten mit und ohne SNP S377G unterschieden sich hinsichtlich der mittleren Defektgröße kaum (18,61 mm vs. 18,63 mm für ASDII und 6,0 mm vs. 7,0 mm für PFO). Abbildung 7 gibt einen Überblick über die Verteilung der Defektgrößen im Studienkollektiv.



**Abbildung 7: Defektgrößen bei ASDII- und PFO-Patienten nach GATA4 SNP**

Die Defektlage war insgesamt bei 59 Patienten – 47 ASDII- und 12 PFO-Patienten – in der transthorakalen Echokardiografie (TTE) darstellbar. Das entsprach 31,6% aller Studienpatienten. Klassischerweise lässt sich ein PFO von transthorakal nur selten, meist mithilfe des Valsalva-Manövers, darstellen. In der Regel ist ein PFO jedoch zentral lokalisiert, so dass im Folgenden im Wesentlichen auf die Defektlage bei ASDII-Patienten eingegangen wird. Tabelle 17 gibt einen Überblick über die Verteilung der Defektlage bei ASDII-Patienten in Abhängigkeit vom Genotyp.

**Tabelle 17: Defektlage bei ASDII-Patienten**

Defektlage		GATA4 SNP S377G (rs3729856)			Gesamt
		Wildtyp	homozygot	heterozygot	
zentral	Anzahl	23	3	6	32
	% von SNP S377G	65,7%	100,0%	66,7%	68,1%
superior	Anzahl	5	0	1	6
	% von SNP S377G	14,3%	,0%	11,1%	12,8%
inferior	Anzahl	3	0	1	4
	% von SNP S377G	8,6%	,0%	11,1%	8,5%
multipel	Anzahl	4	0	1	5
	% von SNP S377G	11,4%	,0%	11,1%	10,6%
Gesamt	Anzahl	35	3	9	47
	% von SNP S377G	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Es gab bei den ASDII-Patienten keine Assoziation zwischen dem GATA4 Polymorphismus S377G und einer bestimmten Defektlage. Die Tatsache, dass der Defekt bei allen Patienten mit der homozygoten Variante des SNP zentral lokalisiert war, kann in diesem Fall nicht einmal als Tendenz gewertet werden, sondern muss zunächst als zufälliges Ergebnis gewertet werden, da die Fallzahlen in den Subgruppen zu gering sind.

Auch beim Vergleich der Defektlage bei ASDII- und PFO-Patienten konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen Defektart und Defektlage gefunden werden. Die Zahl der PFO-Patienten, bei denen die Defektlage in der TTE bestimmt werden konnte, war hierfür zu gering.

### **3.7.2. Aneurysma der Fossa ovalis**

Für die Erhebung eines Aneurysmas der Fossa ovalis wurden zusätzlich zur transthorakalen Echokardiografie (TTE) die Befunde der transösophagealen Echokardiografie (TEE) herangezogen, so dass diesbezüglich zu allen 187 Studienpatienten Informationen vorlagen.

Bei 73 (39,0%) der 187 Patienten wurde echokardiografisch ein Aneurysma der Fossa ovalis (AFO) nachgewiesen, davon 35 (38,0%) der 92 ASDII-Patienten (Gruppe 1) und 38 (40,0%) der 95 PFO-Patienten (Gruppe 2). Das bedeutet, es gab keinen Zusammenhang zwischen der Defektart und dem Vorkommen eines AFO ( $p=0,784$ ). Ebenso wenig konnte in einer der beiden Patientengruppen eine Assoziation des GATA4 Polymorphismus S377G mit einem AFO identifiziert werden ( $p=0,682$  für ASDII,  $p=0,713$  für PFO).

### **3.7.3. Shuntnachweis**

Der besonders beim ASDII häufig auftretende Links-Rechts-Shunt konnte insgesamt bei 51,9% (94) der 181 Patienten mit vorliegender TTE nachgewiesen werden. Dies waren 78% (71) von 91 ASDII-Patienten. Bei den 90 PFO-Patienten war der Links-Rechts-Shunt mit 25,6% (23) signifikant seltener ( $p<0,00001$ ). Der Defekt bleibt beim PFO funktionell geschlossen, solange es nicht aufgrund anderer kardialer Belastung zur Vorhofdilatation kommt. Der GATA4 Polymorphismus S377G war weder bei ASDII-Patienten ( $p=0,387$ ) noch bei PFO-Patienten ( $p=0,278$ ) mit einem gehäuften Vorkommen von Links-Rechts-Shunts assoziiert.

Ein Rechts-Links-Shunt kam bei 3 PFO-Patienten vor. Ein Pendelshunt wurde bei einem ASDII-Patienten diagnostiziert.

Das Valsalva-Manöver war nur für Patienten mit einem PFO dokumentiert. Bei 25 (27,8%) der 90 PFO-Patienten mit vorliegendem TTE trat unter Valsalva-Manöver ein Rechts-Links-Shunt

auf. In 13 dieser Fälle war zuvor kein Shunt gesehen worden und das PFO wurde somit indirekt diagnostiziert. Zusammenhänge mit dem Vorkommen des SNP S377G gab es nicht.

#### **3.7.4. Dimensionen der Herzhöhlen**

Die Dimensionen der Herzhöhlen waren für 87 Patienten der ASDII-Patienten (Gruppe 1) und 88 PFO-Patienten (Gruppe 2) dokumentiert. Die Beurteilung der Herzhöhlen im zweidimensionalen Echokardiografiebild zeigte bei insgesamt 71 Patienten (40,6%) eine Vergrößerung des rechten Vorhofs. Patienten der Gruppe 1 hatten mit 63 (72,4%) von 87 Patienten deutlich häufiger einen vergrößerten rechten Vorhof als Patienten der Gruppe 2 mit nur 8 (9,1%) von 88 Patienten ( $p < 0,00001$ ).

Eine Vergrößerung des rechten Ventrikels war ebenfalls in 40,6% aller Fälle dokumentiert, wovon 90,1% zur Gruppe 1 gehörten. Hier hatten 64 (73,6%) von 87 Patienten einen vergrößerten rechten Ventrikel. Patienten der Gruppe 2 waren mit 7 (8,0%) von 88 signifikant seltener betroffen ( $p < 0,00001$ ).

Es konnte also ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Defektart und der Vergrößerung der rechten Herzhöhlen bestätigt werden. ASDII-Patienten waren hiervon sehr viel häufiger betroffen als PFO-Patienten. Eine Assoziation des GATA4 Polymorphismus S377G mit einer Vergrößerung des rechten Vorhofs oder Ventrikels gab es jedoch weder bei ASDII-Patienten ( $p = 0,471$  bzw.  $p = 0,989$ ) noch bei PFO-Patienten ( $p = 0,550$  bzw.  $p = 0,992$ ).

Linker Vorhof und linker Ventrikel waren nur in 6,9 bzw. 2,8% aller Fälle vergrößert. Hier gab es keinen Zusammenhang mit der Defektart.

#### **3.7.5. M-Mode: RVIDd**

Bei 55,4% (51) der ASDII-Patienten (Gruppe 1) und 29,5% (28) der PFO-Patienten (Gruppe 2) war die Größe des rechten Ventrikels im M-Mode dokumentiert worden. In beiden Gruppen waren die Werte normalverteilt.

Der diastolische rechtsventrikuläre Innendurchmesser (RVIDd) war in Gruppe 1 mit einer durchschnittlichen Größe von 3,44 cm ( $\pm 1,1$  cm) im Mittel signifikant größer als in Gruppe 2, in der der Mittelwert bei 2,35 cm ( $\pm 2,3$  cm) lag ( $p < 0,00001$ ). Einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen des GATA4 Polymorphismus S377G und dem RVIDd gab es weder in Gruppe 1 ( $p = 0,618$ ) noch in Gruppe 2 ( $p = 0,972$ ).

Anhand der Normwerte des ESC-Textbook [47] wurde in Tabelle 18 in den einzelnen Gruppen zwischen normalem oder erhöhtem RVIDd unterschieden.



**Tabelle 18: RVIDd in Abhängigkeit von Defektart und SNP S377G**

			RVIDd		Gesamt
			normal groß <30 mm	erhöht >30 mm	
ASDII	Wildtyp	Anzahl	14	27	41
		% von SNP S377G	34,1%	65,9%	100,0%
	SNP S377G	Anzahl	4	6	10
		% von SNP S377G	40,0%	60,0%	100,0%
	Gesamt	Anzahl	18	33	51
		% von SNP S377G	35,3%	64,7%	100,0%
PFO	Wildtyp	Anzahl	6	0	6
		% von SNP S377G	100,0%	,0%	100,0%
	SNP S377G	Anzahl	18	4	22
		% von SNP S377G	81,8%	18,2%	100,0%
	Gesamt	Anzahl	24	4	28
		% von SNP S377G	85,7%	14,3%	100,0%

In Gruppe 1 wurde zum Zeitpunkt des Defektverschlusses bei insgesamt 64,7% (33) der Patienten ein enddiastolisch vergrößerter rechter Ventrikel diagnostiziert. In Gruppe 2 war dies nur bei 14,3% (4) der Patienten der Fall ( $p < 0,0001$ ). ASDII-Patienten hatten bei Defektverschluss deutlich häufiger einen erhöhten RVIDd als PFO-Patienten.

Einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen des GATA4 Polymorphismus S377G und einem erhöhten oder normalen RVIDd gab es zwar weder in Gruppe 1 ( $p = 0,728$ ) noch in Gruppe 2 ( $p = 0,259$ ). Es sollte aber an einer größeren Fallzahl überprüft werden, ob PFO-Patienten mit dem Wildtyp immer einen normalen RVIDd haben.

Der systolische rechtsventrikuläre Innendurchmesser (RVIDs) wurde nur bei 11 ASDII-Patienten und bei 10 PFO-Patienten dokumentiert. Auch hier deutete sich ein Zusammenhang zwischen RVIDs und der Defektart an: Bei ASDII-Patienten war der RVIDs mit durchschnittlich 3,07 cm ( $\pm 1,1$  cm) größer als bei PFO-Patienten mit 2,22 cm ( $\pm 0,7$  cm) ( $p = 0,048$ ).

### 3.7.6. Doppler

#### 3.7.6.1. Trikuspidalklappeninsuffizienz

Von 181 Patienten mit vorliegender TTE hatten insgesamt 108 Patienten (59,7%) eine physiologische oder erstgradige Trikuspidalklappeninsuffizienz (TI). Bei acht Patienten (4,4%), davon fünf mit ASDII und drei mit PFO, lag eine höhergradige Insuffizienz vor. 35,9% der

Patienten (65) hatten gar keine Insuffizienz der Trikuspidalklappe. Tabelle 19 zeigt das Vorkommen der TI in den jeweiligen Subgruppen.

**Tabelle 19: Trikuspidalklappeninsuffizienz und Defektart**

			Trikuspidalklappeninsuffizienz			Gesamt
			keine	physiologisch/Grad I°	höhergradig	
ASDII	Wildtyp	Anzahl	12	57	3	72
		% von SNP S377G	16,7%	79,2%	4,2%	100,0%
	SNP S377G	Anzahl	5	12	2	19
		% von SNP S377G	26,3%	63,2%	10,5%	100,0%
	Gesamt	Anzahl	17	69	5	91
		% von SNP S377G	18,7%	75,8%	5,5%	100,0%
PFO	Wildtyp	Anzahl	14	10	2	26
		% von SNP S377G	53,8%	38,5%	7,7%	100,0%
	SNP S377G	Anzahl	34	29	1	64
		% von SNP S377G	53,1%	45,3%	1,6%	100,0%
	Gesamt	Anzahl	48	39	3	90
		% von SNP S377G	53,3%	43,3%	3,3%	100,0%

Es bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Defektart und einer TI: Von den 81 ASDII-Patienten (Gruppe 1) hatten insgesamt 81,3% bei Defektverschluss eine TI, wohingegen bei den PFO-Patienten (Gruppe 2) nur 46,6% von einer TI betroffen waren ( $p < 0,00001$ ). Eine Assoziation des GATA4 Polymorphismus S377G mit einer TI konnte weder bei ASDII-Patienten ( $p = 0,307$ ) noch bei PFO-Patienten ( $p = 0,319$ ) identifiziert werden.

Bezüglich der übrigen Klappen wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen identifiziert.

### 3.7.6.2. Systolischer rechtsventrikulärer Druck

Bei 44,2% (80) der 181 Patienten mit vorliegender TTE konnte der systolische rechtsventrikuläre Druck (RVSP) bestimmt werden. Von diesen Patienten hatten 80% (64) einen normalen und 20,0% (16) einen erhöhten RVSP ( $> 35$  mmHg).

Der RVSP war bei ASDII-Patienten mit 29,68 mmHg ( $\pm 11,52$ ) im Mittel um 4,24 mmHg höher als bei PFO-Patienten mit einem mittleren RVSP von 25,44 mmHg ( $\pm 14,58$ ). Dieser Unterschied war mit  $p = 0,021$  signifikant. Die Höhe des RVSP hing weder bei ASDII-Patienten ( $p = 0,867$ ) noch bei PFO-Patienten ( $p = 0,611$ ) mit dem Vorkommen des GATA4 PM S377G zusammen.

In Tabelle 20 ist der RVSP in allen vier Gruppen als normal oder erhöht zusammengefasst.

**Tabelle 20: RVSP nach SNP S377G bei ASDII- und PFO-Patienten**

			RVSP		Gesamt
			normal ≤35 mmHg	erhöht >35 mmHg	
ASDII	Wildtyp	Anzahl	32	12	44
		% von SNP S377G	72,7%	27,3%	100,0%
	SNP S377G	Anzahl	8	2	10
		% von SNP S377G	80,0%	20,0%	100,0%
	Gesamt	Anzahl	40	14	54
		% von SNP S377G	74,1%	25,9%	100,0%
PFO	Wildtyp	Anzahl	7	0	7
		% von SNP S377G	100,0%	,0%	100,0%
	SNP S377G	Anzahl	17	2	19
		% von SNP S377G	89,5%	10,5%	100,0%
	Gesamt	Anzahl	24	2	26
		% von SNP S377G	92,3%	7,7%	100,0%

Auf den ersten Blick schien es zwischen der Defektart und einem erhöhten RVSP einen Zusammenhang zu geben. ASDII-Patienten hatten augenscheinlich deutlich häufiger einen erhöhten RVSP als PFO-Patienten; statistisch war dieser Unterschied jedoch nicht signifikant ( $p=0,056$ ).

Die für den GATA4 Polymorphismus S377G homozygoten Patienten waren zwar nie von einem erhöhten RVSP betroffen. Dies kann aber bei einer Fallzahl von vier Patienten mit ASDII oder PFO nur als mögliche Tendenz gewertet werden, die es in weiteren Studien zu verifizieren gälte. Eine signifikante Assoziation des SNP S377G mit einem erhöhten RVSP gab es im Studienkollektiv nicht ( $p=0,636$  für ASDII,  $p=0,372$  für PFO).

### 3.8. Herzkatheter

#### 3.8.1. Angiografie-Drücke

Der mittlere Druck im rechten Vorhof (RAmean) konnte bei 162 der 187 Studienpatienten bestimmt werden und war nur bei einem ASDII-Patienten mit dem Wildtyp erhöht. Bei allen anderen Patienten bewegte sich der rechtsatriale Druck zwischen 0 und 8 mmHg. ASDII-Patienten hatten einen mittleren rechtsatrialen Druck von 2,76 mmHg ( $\pm 2,23$ ), bei den PFO-Patienten waren es 2,11 mmHg ( $\pm 1,97$ ). Der Unterschied war nicht signifikant ( $p=0,0501$ ). Einen

Zusammenhang zwischen dem Vorkommen des GATA4 Polymorphismus S377G und der Höhe von R<sub>A</sub>mean gab es weder bei ASDII- (p=0,594) noch bei PFO-Patienten (p=0,231).

Der rechtsventrikuläre Spitzendruck (RV<sub>sys</sub>) war insgesamt bei 161 von 187 Patienten dokumentiert. Im Vergleich waren die mittleren systolischen Drücke im rechten Ventrikel bei PFO-Patienten durchschnittlich um 4,8 mmHg und damit signifikant niedriger als die der ASDII-Patienten (p<0,0009): Der mittlere systolische Spitzendruck der PFO-Patienten lag mit 25,95 mmHg (±7,73) im Normbereich, der der ASDII-Patienten war mit 30,81 mmHg (±11,91) leicht erhöht. Die Höhe des RVSP hing weder bei ASDII- (p=0,474) noch bei PFO-Patienten (p=0,722) mit dem Vorkommen des SNP S377G zusammen.

Tabelle 21 gibt einen Überblick über die Verteilung normaler und erhöhter Werte für RVSP.

**Tabelle 21: Rechtsventrikulärer Spitzendruck bei ASDII- und PFO-Patienten**

			RV <sub>sys</sub>		Gesamt
			normal <30 mmHg	erhöht >30 mmHg	
ASDII	Wildtyp	Anzahl	39	20	59
		% von SNP S377G	66,1%	33,9%	100,0%
	SNP S377G	Anzahl	10	4	14
		% von SNP S377G	71,4%	28,6%	100,0%
	Gesamt	Anzahl	49	24	73
		% von SNP S377G	67,1%	32,9%	100,0%
PFO	Wildtyp	Anzahl	24	3	27
		% von SNP S377G	88,9%	11,1%	100,0%
	SNP S377G	Anzahl	52	9	61
		% von SNP S377G	85,2%	14,8%	100,0%
	Gesamt	Anzahl	76	12	88
		% von SNP S377G	86,4%	13,6%	100,0%

67,1% (49) von 73 ASDII- Patienten und 86,4% (76) von 88 PFO-Patienten hatten einen normalen rechtsventrikulären Spitzendruck unter 30 mmHg. Eine Erhöhung auf über 30 mmHg lag bei ASDII-Patienten signifikant häufiger vor als bei PFO-Patienten (p=0,0035). Eine Assoziation des SNP S377G mit einem normalen oder erhöhten RV<sub>sys</sub> gab es weder bei ASDII- (p=0,703) noch bei PFO-Patienten (p=0,646).

Bei insgesamt 161 der Patienten wurde der enddiastolische rechtsventrikuläre Druck (RV<sub>EDP</sub>) dokumentiert. Dieser war bei ASDII-Patienten im Mittel mit 4,86 mmHg (±2,09) signifikant höher als bei PFO-Patienten mit 3,98 mmHg (±1,94) (p<0,0045). Pathologische Werte über 8 mmHg für den RV<sub>EDP</sub> wurden bei vier der 161 Patienten gemessen. Da bei so geringen

Fallzahlen in einzelnen Gruppen keine validen Ergebnisse zu erwarten sind, wurden bezüglich des RVEDP keine weiteren Analysen durchgeführt.

Ein Assoziation des SNP S377G mit der Höhe des RVEDP konnte weder bei ASDII- ( $p=0,467$ ) noch bei PFO-Patienten ( $p=0,374$ ) identifiziert werden.

### 3.8.2. Shunt-Berechnungen

Das Verhältnis von pulmonalem zu systemischem Blutfluss ( $Q_p/Q_s$ ) gilt beim isolierten ASDII oder PFO als Maß für den interatrialen Shunt und den pulmonalen Widerstand. Tabelle 22 gibt einen Überblick über das Auftreten erhöhter Werte von  $Q_p/Q_s$  in den Subgruppen des Patientenkollektivs.

**Tabelle 22: Shuntgrößen bei ASDII- und PFO-Patienten**

			Qp/Qs				Gesamt
			< 0.9	0.9-1.1	> 1.1	>2	
ASDII	Wildtyp	Anzahl	2	4	27	16	49
		% von SNP S377G	4,1%	8,2%	55,1%	32,7%	100,0%
	SNP S377G	Anzahl	0	1	8	4	13
		% von SNP S377G	,0%	7,7%	61,5%	30,8%	100,0%
	Gesamt	Anzahl	2	5	35	20	62
		% von SNP S377G	3,2%	8,1%	56,5%	32,3%	100,0%
PFO	Wildtyp	Anzahl	4	4	4		12
		% von SNP S377G	33,3%	33,3%	33,3%		100,0%
	SNP S377G	Anzahl	1	11	5		17
		% von SNP S377G	5,9%	64,7%	29,4%		100,0%
	Gesamt	Anzahl	5	15	9		29
		% von SNP S377G	17,2%	51,7%	31,0%		100,0%

88,8% (55) der 62 ASDII-Patienten, bei denen  $Q_p/Q_s$  dokumentiert war, hatten einen Quotienten über 1,1 als Hinweis auf einen signifikanten Links-Rechts-Shunt. In 20 dieser Fälle war  $Q_p/Q_s$  sogar größer als 2. Bei den PFO-Patienten hatten insgesamt 31,0% (9) von 29 Patienten ein Verhältnis von  $Q_p/Q_s > 1,1$ . Dieser Zusammenhang zwischen der Defektart und dem interatrialen Shunt war mit  $p < 0,00001$  hoch signifikant. Übereinstimmend dazu zeigte auch die Betrachtung der Mittelwerte von  $Q_p/Q_s$  ein bei ASDII-Patienten mit 1,75 ( $\pm 0,64$ ) signifikant höheres mittleres Shuntvolumen als bei PFO-Patienten mit 1,06 ( $\pm 0,17$ ) ( $p < 0,00001$ ).

Der GATA4 Polymorphismus S377G hatte keinen Einfluss auf die Größe des Shuntvolumens ( $p=0,413$  für ASDII,  $p=0,353$  für PFO).

### 3.8.3. Defektverschluss

In 86,1% der Fälle konnten ASDII oder PFO interventionell mittels Implantation eines Schirmchens ohne relevante Restdefekte verschlossen werden. In den übrigen 13,9% der Fälle (26 Patienten) musste der Defekt im Rahmen einer Operation mittels Perikardpatch oder Direktnaht verschlossen werden. Dabei handelte es sich in zwei Fällen um PFO-Patienten und in 24 Fällen um Patienten mit einem ASDII (vgl. Tabelle 23). Bei allen 26 Patienten war der Defekt zu groß bzw. der Rand zum Vorhofdach oder der Abstand zu den atrioventrikulären Klappen zu gering, um ein Device implantieren zu können.

**Tabelle 23: Art des Defektverschlusses**

Defektart		Verschlussart zusammengefasst		Gesamt
		interventionell	operativ	
ASDII	Anzahl	68	24	92
	% von Defektart	73,9%	26,1%	100,0%
PFO	Anzahl	93	2	95
	% von Defektart	97,9%	2,1%	100,0%
Gesamt	Anzahl	161	26	187
	% von Defektart	86,1%	13,9%	100,0%

Patienten mit einem ASDII mussten sich zum Defektverschluss signifikant häufiger einer Operation unterziehen als PFO-Patienten ( $p < 0,00001$ ). Einen Unterschied zwischen den Patienten mit dem Wildtyp und denen mit dem GATA4 Polymorphismus S377G gab es weder bei den ASDII- ( $p = 0,251$ ) noch bei den PFO-Patienten ( $p = 0,520$ ). Interessant war, dass alle Defekte der Patienten mit der homozygoten Form des SNP S377G interventionell verschlossen werden konnten, während in allen anderen Subgruppen die operative Verschlussrate bei 37-30% lag. Diese Auffälligkeit war jedoch statistisch nicht signifikant ( $p = 0,373$  bei ASDII,  $p = 0,799$  bei PFO).

Die im Rahmen des Defektverschlusses beim Ballon-Sizing der Defekte gemessenen Werte waren bei ASDII-Patienten im Mittel mit 19,9 mm ( $\pm 7,9$ ) signifikant höher als bei den PFO-Patienten mit 13,57 mm ( $\pm 4,7$ ) ( $p = 0,005$ ). Einen Zusammenhang zwischen dem SNP S377G und der Defektgröße gab es aber auch bei dieser Messmethode weder bei ASDII- ( $p = 0,648$ ) noch bei PFO-Patienten ( $p = 0,376$ ).

Der Defektverschluss wurde immer in zusätzlicher TEE-Kontrolle durchgeführt. Die hierbei gemessenen Defektgrößen unterschieden sich ebenfalls signifikant zwischen ASDII-Patienten mit 18,7 mm ( $\pm 8,6$ ) und PFO-Patienten mit 11,6 mm ( $\pm 7,1$ ) ( $p = 0,003$ ). Zusammenhänge

zwischen der gemessenen Größe und dem Vorkommen des SNP S377G gab es weder bei ASDII-Patienten ( $p=0,16$ ) noch bei den PFO-Patienten ( $p=0,35$ ).





## 4. Diskussion

Ziel dieser Studie war es, ein großes Kollektiv von Patienten mit isoliertem Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp (ASDII) und isoliertem persistierendem Foramen ovale (PFO) im Rahmen einer retrospektiven Querschnittstudie auf den GATA4 Polymorphismus S377G zu untersuchen. Zunächst wurde geprüft, ob die Prävalenz des Polymorphismus zwischen den Gruppen signifikant unterschiedlich ist und ob er eine mögliche Risikovariante für ASDII oder ein PFO darstellt. Die ausführliche Phänotypisierung der Probanden sollte weiterhin eine mögliche Assoziation des GATA4 SNP S377G mit bestimmten klinischen Parametern ermöglichen.

In Rahmen dieser Arbeit wurden mehr als 200 Patienten mit einem isolierten Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp oder einem persistierenden Foramen ovale rekrutiert. Aus diesem Kollektiv konnten 187 Patienten mit isoliertem ASDII oder isoliertem PFO in die Auswertung einbezogen werden. 14 Patienten wurden nach Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien ausgeschlossen (vgl. Abschnitte 2.1.2 und 3.1).

Alle aufgenommenen Patienten wurden systematisch phänotypisiert und sämtliche klinische Daten in die dafür erstellte Datenbank eingegeben. Für jeden Patienten wurde ein 224 Parameter umfassender Datensatz erhoben. Die Ergebnisse der Genotypisierung im GATA4 Gen wurden in dieselbe Datenbank eingegeben, um die medizinischen Patientendaten mit den zugehörigen genetischen Daten (GATA4 SNP S377G) zu korrelieren.

Bisherige Studien beschränkten sich zum großen Teil auf Linkage-Analysen innerhalb großer Familien, in denen Vorhofseptumdefekte über drei oder mehr Generationen hinweg bekannt waren. Darüber hinaus wurden in diesen und anderen, mit der vorliegenden Studie vergleichbaren Projekten auch stets Patienten eingeschlossen, die noch weitere angeborene Herzfehler hatten oder bei denen weitere genetische Syndrome festgestellt worden waren.

*Garg et al. [26]* identifizierten 2003 erstmals Mutationen in GATA4 als eines der ursächlichen Gene für angeborene Herzfehler. Sie führten eine Linkage Analyse bei einer fünf Generationen umfassenden Familie durch, in der 16 Personen an einem angeborenen Herzfehler litten. Alle Familienmitglieder hatten einen Vorhofseptumdefekt, einige unter ihnen hatten jedoch weitere angeborene Herzfehler wie ventrikuläre Septumdefekte, atrioventrikuläre Septumdefekte, Klappeninsuffizienzen oder Dextrokardie. Die anschließende direkte Sequenzierung von GATA4 bei allen Familienangehörigen führte zur Identifikation der Missense Mutation c.886G>A (G296S) bei allen betroffenen Angehörigen. Bei einer zweiten Familie fand sich im Rahmen derselben Studie die Frame Shift Mutation c.1075delG (E359del). In beiden Familien war die

Penetranz 100%. *Okubo et al. [34]* berichteten 2005 von einer weiteren GATA4 Mutation bei einer vier Generationen umfassenden japanischen Familie, in der elf Angehörige von einem ASD betroffen waren. Zwei hatten zusätzlich eine Pulmonalklappenstenose. Sie differenzierten in ihrer Studie nicht zwischen Vorhofseptumdefekten vom Primum- oder Sekundumtyp. Mittels Linkage Analyse und direkter Sequenzierung wurde auch hier eine Frameshift Mutation (c.1074delC / S358del) mit 100% Penetranz identifiziert. Durch das Screening der gesunden Kontrollindividuen der Familie wurde bei drei weiteren Familienmitgliedern ein ASD diagnostiziert. Eine weitere GATA4 Missense Mutation wurde 2005 von *Hirayama-Yamada et al. [29]* beschrieben. In diesem Fall wurden 16 Patienten aus fünf Familien mit familiärem Vorkommen von ASD nach Variationen in GATA4 gescreent. Dabei wurden zwei GATA4 Mutationen bei zwei Probanden identifiziert, eine davon die bereits bekannte S359del, die andere die bis dahin unbekannte Missense Mutation S52F. Schließlich beschrieben auch *Nemer et al. [27]* eine GATA4 Mutation bei zwei nicht verwandten libanesischen Patienten mit Fallot'scher Tetralogie (TOF). Auch diese wurde im Rahmen eines Screenings von 120 Patienten mit verschiedenen angeborenen Herzfehlern identifiziert, ohne dass später eine Phänotypisierung stattfand. *Tomita-Mitchell et al. [31]* haben ebenfalls im Rahmen eines genetischen Screenings ein großes Patientenkollektiv hinsichtlich Polymorphismen und Mutationen im GATA4 Gen untersucht. Insgesamt wurde die DNA von 628 Patienten analysiert. 122 Patienten hatten einen ASDII oder einem ASD von Sinus venosus Typ. Bei drei ASDII-Patienten wurden nicht-synonyme Mutationen in GATA4 identifiziert. Bei weiteren zwei ASDII-Patienten konnten synonyme Sequenzvarianten gefunden werden (vgl. Tabelle 3). Die GATA4 Mutation A411V, die im Rahmen der vorliegenden Promotionsarbeit bereits von *Posch et al. [32]* bei einer Patientin mit einem ASDII beschrieben wurde, konnte bei einem Patienten mit VSD identifiziert werden. Die Häufigkeit von nicht-synonymen Variationen wurde von *Tomita-Mitchell et al. [31]* mit 1,6%, die von synonymen Variationen sogar mit 2,5% angegeben.

In keiner der bekannten Studien wurde der Versuch einer Korrelation des GATA4 Polymorphismus S377G zwischen Patienten mit und ohne angeborenen Herzfehler unternommen. Des Weiteren wurde bei den meisten Studien nur selten auf die Phänotypisierung eingegangen. Die einzigen klinischen Informationen bezogen sich auf das Vorkommen von Reizleitungsstörungen oder weiterer assoziierter AHF. Die beschriebenen Patientenkollektive waren für umfassendere Beschreibungen häufig zu klein und zu inhomogen. Auch in der einzigen größer angelegten Studie von *Tomita-Mitchell et al. [31]* wurde keine ausführliche Phänotypisierung der Studienpatienten durchgeführt. Zudem wurden Patienten mit einem ASD vom Primum- oder Sinus venosus Typ oder konotrunkalen Defekten ebenfalls eingeschlossen, da

die Häufigkeit von GATA4 Mutationen in einem großen Kollektiv von Patienten mit selteneren angeborenen Herzfehlern erhoben werden sollte. Ein Grund für die geringe Studienzahl, in deren Rahmen Korrelationen zwischen Genotyp und Phänotyp untersucht wurden, könnte der hohe Zeitaufwand sein, den die Erhebung und Zusammenstellung klinischer Daten erfordert.

Der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte GATA4 Polymorphismus S377G wurde bisher in einer Studie aus dem Jahre 2008 beschrieben [35]. In dieser Arbeit wurden 194 Patienten mit Migräne und 201 Kontrollprobanden auf den S377G SNP analysiert. Es zeigte sich allerdings keine signifikante Assoziation des SNPs mit dem Auftreten einer Migräne. Auch in unserem Patientenkollektiv konnten wir keine Assoziation des SNP S377G mit Migräne feststellen. Allerdings ist die Zahl der Patienten mit Migräne in unserer Untersuchung sehr klein (insgesamt 5 Patienten mit PFO und Migräne)

Die Auswahl eines homogenen Patientenkollektivs für die vorliegende Studie macht es möglich, die gewonnenen Erkenntnisse auf ein klar definiertes Krankheitsbild – den ASDII oder das PFO – zu beziehen. Das Studiendesign war so gewählt, dass ein zusätzlicher Herzfehler oder angeborene Syndrome wie das Marfan-Syndrom als Ausschlusskriterium galten. Dies erlaubt in der Konsequenz einen direkten Vergleich zwischen den Patienten mit einem ASDII und denen mit einem PFO. Insbesondere der Frage nach ähnlichen Assoziationen zwischen dem SNP S377G und bestimmten klinischen Parametern bei ASDII- und PFO-Patienten konnte auf diese Weise nachgegangen werden. Eine solche Ähnlichkeit könnte gegebenenfalls einen ersten Hinweis auf einen gemeinsamen genetischen Ursprung von ASDII und PFO darstellen und somit die Frage aufwerfen, ob es sich auch beim PFO um einen genetisch determinierten Strukturdefekt des Herzens handelt.

Alle Patienten wurden im DHZB oder dessen kooperierenden Kliniken nach denselben Standards untersucht. Insbesondere die Herzkatheteruntersuchung wurde entweder in der Abteilung für Kinderkardiologie/angeborene Herzfehler des DHZB oder in der kinderkardiologischen Abteilung des Otto-Heubner-Zentrums der Charité Campus Virchow Klinikum durchgeführt. Patienten, von denen keine Echokardiografiebefunde vorlagen, weil sie zum Beispiel in einer externen Praxis untersucht worden waren, wurden nicht in die Studie aufgenommen. Somit sind die im Rahmen der vorliegenden Studie erhobenen Daten gut vergleichbar und valide.

#### 4.1. GATA4 Polymorphismus S377G im Patientenkollektiv

Viel häufiger als tatsächliche Mutationen sind genetische Polymorphismen. Sie sind molekulare Varianten eines kodierenden Gens bzw. Genortes (Allel) an korrespondierenden Genloci der homologen Chromosomen. Die häufigste Variante dieser Sequenzvariationen ist der Einzelnukleotidpolymorphismus (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), bei dem es zum Austausch eines Nukleotids im DNA-Molekül kommt. Ein im kodierenden Bereich einer Gen-Sequenz liegender Polymorphismus kann einen Aminosäuretausch im resultierenden Protein zur Folge haben, der jedoch nicht immer zu einer Fehlfunktion des Proteins führt. Da die Aminosäuren von mehreren Basentriplets kodiert werden, hat nicht jeder SNP auch ein verändertes Protein zur Folge. In den letzten Jahren wurde vermehrt festgestellt, dass bestimmte Polymorphismen häufiger bei Patienten mit bestimmten Krankheiten vorkommen als bei der Durchschnittsbevölkerung. Man geht inzwischen davon aus, dass manche Polymorphismen diese Krankheiten vielleicht nicht verursachen, wohl aber als Risikovariante für ihr Auftreten prädisponieren können.

Für GATA4 wurden in der Vergangenheit bereits mehr als 20 solcher Polymorphismen beschrieben, von denen es sich jedoch nur bei neun um nicht-synonyme SNPs handelt. Da einige genetische Missense Mutationen in GATA4 nachweislich zu Vorhofseptumdefekten führen (vgl. Tabelle 3), haben wir die Hypothese aufgestellt, dass auch kodierende Polymorphismen wie der SNP S377G in GATA4 (rs3729856) eine Rolle bei der Entstehung solcher Defekte spielen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das Patientenkollektiv daher auf diesen nicht-synonymen Polymorphismus untersucht und die Ergebnisse sowohl mit der Defektart als auch mit klinischen Parametern korreliert.

Tatsächlich war der GATA4 Polymorphismus S377G im untersuchten Patientenkollektiv deutlich mit dem Vorkommen eines Vorhofseptumdefektes assoziiert. Es handelte sich dabei jedoch nicht wie erwartet um den ASDII sondern um das persistierende Foramen ovale (vgl. Abschnitt 3.2). Bei den Patienten mit einem ASDII war der SNP nicht häufiger als in der Kontrollgruppe. Der SNP S377G scheint also eine Risikovariante für das Auftreten eines PFO nicht jedoch für einen ASDII zu sein. *Schlutermann et al.* beschrieben 2007 die Auswirkung des SNP S377G auf die Aktivität von GATA4 [28]. Während für die Mutationen S52F in GATA4 eine deutliche Verringerung der Transkriptionsaktivität von GATA4 gegenüber dem Wildtyp nachgewiesen wurde, zeigten die Veränderungen durch den SNP S377G nur eine sehr geringe Steigerung der transkriptionellen Aktivität von GATA4. Eine Prädisposition zu einem bestimmten Phänotyp durch den Polymorphismus S377G könnte durch diese geringe

Aktivitätsänderung erklärt werden. Allerdings sind die Mechanismen, die letztendlich zu einer Entstehung des PFO führen, zunächst noch unklar und bedürfen weiterer Erforschung.

In Schlutermanns Studienkollektiv lag die Allelhäufigkeit bei 0,067 (21/314) und war somit nicht höher als in ihrer Kontrollgruppe mit 0,072 (23/318). Diese Allelhäufigkeit galt jedoch für ein sehr inhomogenes Studienkollektiv von 157 Patienten mit verschiedenen angeborenen Herzfehlern, davon nur zwölf Patienten mit einem ASDII. Zudem gehörten die Studienpatienten verschiedenen ethnischen Gruppen an, so dass die Allelhäufigkeiten nicht mit denen unseres Kollektivs verglichen werden können.

In den letzten Jahren gab es bereits in einigen Arbeiten Hinweise darauf, dass nicht nur beim Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp, sondern auch beim persistierenden Foramen ovale Assoziationen mit kardialen Transkriptionsfaktoren wie GATA4, also genetische Ursachen existieren. Studien zur Prävalenz von ASD und PFO und Kreuzungsversuche bei Mäusen deuten darauf hin, dass eine Reihe von genetisch kontrollierten Prozessen zum Risiko für das Auftreten eines PFO beitragen können [39, 48]. Darüber hinaus weisen auch klinische Studien beim Menschen auf eine mögliche familiäre Häufung von PFO hin.

So fanden *Arquizan et al.* in ihrer Arbeit Hinweise für eine familiäre Disposition für PFO, besonders bei weiblichen Geschwistern von Frauen mit PFO [38]. 62 unter 60jährige Patienten, die ein ischämisches neurologisches Ereignis hatten und je ein gleichgeschlechtliches Geschwister ( $\pm 10$  Jahre) wurden für diese Studie gematcht und mittels transkranieller Kontrast-Dopplersonografie auf ein PFO hin untersucht. Bei Frauen war die Prävalenz für ein PFO signifikant höher, wenn sie eine Schwester mit PFO hatten (76,5%), als wenn die Schwester kein PFO hatte (25%). Bei männlichen Geschwistern konnte kein vergleichbarer Zusammenhang hergestellt werden. Die familiäre Häufung schien also bei Frauen höher zu sein als bei Männern.

Im Rahmen der vorliegenden Promotionsarbeit konnten diese Erkenntnisse nicht nachvollzogen werden, da Angehörige der jeweiligen Indexpatienten nicht untersucht wurden und keine Häufung von PFO bei weiblichen Probanden, die man basierend auf den Ergebnissen von *Arquizan* annehmen könnte, nachgewiesen wurden. *Wilmshurst et al.* argumentieren zudem, dass die Beobachtungen von *Arquizan* weder zu mendelscher noch zu mitochondrialer Vererbung passen. Zudem muss die Weitergabe einer Krankheit oder eines Krankheitsmerkmals über mindestens eine Generation nachgewiesen werden, um von einer Vererbbarkeit der entsprechenden Krankheit sprechen zu können [49]. Diese Kriterien erfüllt die Studie von *Arquizan et al.* nicht.

*Wilmshurst et al.* untersuchten in einer Publikation aus dem Jahr 2007 [49] 71 Verwandte von 20

Probanden mit einem signifikanten interatrialen Shunt mittels transthorakaler Kontrast-Echokardiografie auf interatriale Shunts, die in den meisten Fällen als ein persistierendes Foramen ovale auftraten. Das Auftreten eines PFO bei den Angehörigen der 20 Indexpatienten war vereinbar mit einer dominanten Vererbung, die jedoch nicht den mendelschen Regeln folgt. *Wilmshurst et al.* konnten im Rahmen ihrer Studie das Auftreten von interatrialen Shunts über mindestens zwei, häufig sogar mehr Generationen nachweisen. In einer Familie mit 54 Individuen über fünf Generationen lagen bei 28 Angehörigen der Indexpatientin Informationen über das Vorkommen eines ASDII, PFO oder anderer angeborener Herzfehler vor. Unter ihnen hatten 14 Personen ein PFO. Das entspricht einer Häufigkeit von 48,3% und ist deutlich höher als die Häufigkeit von PFO in der Normalbevölkerung. Darüber hinaus wiesen einige Daten auf einen Zusammenhang zwischen der Vererbung von komplexen angeborenen Herzfehlern und der Vererbung von PFO hin, da in einigen Familien eine hohe Koinzidenz von PFO und zyanotischen Herzfehlern berichtet wurde. *Wilmshurst et al.* leiten hieraus die mögliche dominante Vererbung einer Prädisposition zur Entwicklung kardialer Malformationen ab, die sich teilweise in schweren angeborenen Herzfehlern oder eben nur in Formen eines atrialen Shunts durch ein PFO äußern können [49].

Die hochsignifikante Assoziation des GATA4 SNP S377G mit dem Vorkommen eines PFO in unserem Kollektiv deutet darauf hin, dass es sich bei diesem Polymorphismus um eine so genannte Risikovariante handeln könnte, auch wenn bisher nicht bekannt ist, über welchen Mechanismus der SNP S377G die Funktion von GATA4 alterieren könnte.

Darüber hinaus wurde bei den genetischen Analysen bei einer Patientin mit einem persistierenden Foramen ovale die Mutation A346V und D425N in GATA4 identifiziert. Sie wurden bereits von *Rajagopal et al.* sowie von *Tomita-Mitchell et al.* bei Patienten mit ASDII, Endokardkissendefekten oder Fallot'scher Tetralogie (TOF) beschrieben [31, 33]. Die Variationen konnten weder bei einem der übrigen 201 Patienten dieser Studie noch bei 95 weiteren Patienten eines Kontrollkollektivs des Max-Delbrück-Zentrums für molekulare Medizin nachgewiesen werden. Die Aufarbeitung des Stammbaums der betroffenen Patienten und die Untersuchung der Angehörigen erfolgt im Rahmen einer anderen Arbeit. Das Auftreten einer Mutation, die bereits bei einem Patienten mit einem ASDII identifiziert worden war, bei einer Patientin mit einem PFO wurde bisher nicht beschrieben.

Man könnte also anhand dieser Ergebnisse noch einen Schritt weiter gehen und nicht nur den SNP S377G als Risikovariante für das Auftreten eines PFO bezeichnen, sondern auch die Hypothese aufstellen, es könnte sich beim PFO ebenfalls um einen genetisch determinierten Strukturdefekt, also um einen angeborenen Herzfehler handeln. Diese These gilt es in weiteren

Untersuchungen, wie zum Beispiel der Aufarbeitung des Stammbaums der PFO-Patientin mit den GATA4-Mutationen A346V und D425N zu stützen oder zu widerlegen.

Um die Rolle des GATA4 Polymorphismus S377G weiter zu untersuchen und herauszufinden, ob es sich dabei nicht nur um eine Risikovariante, sondern auch um eine Modifier-Variante handeln könnte, die die Defektausprägungen bei ASDII- oder PFO-Patienten beeinflusst, wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine systematische Phänotypisierung des Patientenkollektivs durchgeführt.

## 4.2. Anamnese

Die ASDII- und PFO-Patienten wurden hinsichtlich der Geschlechterverteilung in den einzelnen Gruppen verglichen. Der ASDII war im untersuchten Kollektiv bei Frauen signifikant häufiger als bei Männern, wohingegen das PFO bei Frauen und Männern etwa gleich häufig war. Diese Verteilungen entsprechen den Beobachtungen aus früheren Studien [46, 50-53]. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem GATA4 Polymorphismus S377G und dem Geschlecht der Patienten konnte nicht hergestellt werden. Der SNP S377G scheint also das Geschlecht der betroffenen Patienten nicht als Modifier-Variante zu beeinflussen.

Die Tatsache, dass alle vier ASDII-Patienten mit der homozygoten Variante des SNP und zwei der drei PFO-Patienten mit der homozygoten Variante des SNP weiblich sind, erscheint zwar auffällig, die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant. Die Fallzahl in den einzelnen Gruppen ist zu niedrig, um statistisch valide Aussagen treffen zu können. Hier kann höchstens für die ASDII-Patienten von der Möglichkeit einer Tendenz gesprochen werden. Es müsste an einem größeren Patientenkollektiv überprüft werden ob es dabei bleibt, dass alle für den SNP S377G homozygoten Patienten weiblich sind.

Die im Rahmen der Anamnese erhobenen Parameter wie Körpergröße, Körperlänge, Body-Mass-Index (BMI) und Körperoberfläche (KOF) fielen bei Patienten mit einem ASDII im Mittel stets signifikant geringer aus als bei Patienten mit einem PFO. ASDII-Patienten mit oder ohne den SNP S377G (Gruppe 1A/B) unterschieden sich jedoch ebenso wenig in diesen Merkmalen wie PFO-Patienten der Gruppen 2A und 2B. Eine Assoziation des GATA4 SNP S377G mit der Größe, dem Gewicht, dem BMI oder der Körperoberfläche der Patienten konnte somit ausgeschlossen werden.

**Tabelle 24: Kenngrößen des Patientenkollektivs**

	Alter bei ED [Jahre]	Alter bei DV [Jahre]	m:w	Größe [kg]	Gewicht [cm]	BMI	KOF [m2]
--	-------------------------	-------------------------	-----	---------------	-----------------	-----	-------------

ASDII	Wildtyp	34,4 ( $\pm$ 21,6)	38,2 ( $\pm$ 20,2)	21:52	160,6	63,8	23,8	1,66
	SNP S377G	36,3 ( $\pm$ 21,6)	40,6 ( $\pm$ 21,1)	5:14	163,6	65,9	23,8	1,71
	gesamt	34,8 ( $\pm$ 21,5)	38,7 ( $\pm$ 20,3)	26:66	161,2	64,2	23,8	1,67
PFO	Wildtyp	56,9 ( $\pm$ 10,2)	57,4 ( $\pm$ 10,2)	17:11	173,3	79,7	26,5	1,94
	SNP S377G	50,1 ( $\pm$ 12,4)	51,6 ( $\pm$ 12,1)	35:32	171,6	77,4	26,3	1,90
	Gesamt	52,1 ( $\pm$ 12,2)	53,3 ( $\pm$ 11,9)	52:43	172,1	78,1	26,32	1,91

**ED: Erstdiagnose, DV: Defektverschluss, Mittelwerte ( $\pm$ Standardabweichung), Standardabweichung Größe, Gewicht, BMI und KOF vgl. Tabelle 10**

Die Unterschiede zwischen den ASDII- und PFO-Patienten lassen sich zum einen durch die signifikant unterschiedliche Altersstruktur der beiden Gruppen und zum anderen durch den höheren Anteil von Frauen an den ASDII-Patienten erklären. Die Altersstruktur der beiden Gruppen liegt in der Pathophysiologie der beiden Defekte begründet, die dazu führte, dass das Alter der Patienten bei Erstdiagnose und bei Defektverschluss in keiner der Gruppen normalverteilt war.

Patienten mit einem PFO bleiben klinisch lange Zeit unauffällig, da der Defekt funktionell verschlossen ist. In den meisten Fällen wird die Diagnose erst in höherem Alter im Rahmen der Abklärung eines neurologischen Ereignisses gestellt. Bei PFO-Patienten war das Alter daher besonders in den oberen Wertebereichen mit einer Häufung jenseits des 40. Lebensjahres nicht normalverteilt und die Streubreite war deutlich geringer als bei ASDII-Patienten.

Patienten mit einem ASDII wurden oft früher auffällig, da in vielen Fällen ein Herzgeräusch auskultierbar war, das im Rahmen der Untersuchungen U0-U9 oder bei Schuluntersuchungen entdeckt wurde. Auch kardiale Belastungszeichen treten bei ASDII-Patienten früher auf, da durch die offene interatriale Verbindung meist ein Links-Rechts-Shunt entsteht. Daher war das Alter der ASDII-Patienten besonders in den unteren Wertebereichen nicht normalverteilt, auch wenn bei Kindern für den Verschluss des Defekts das Vorschul- oder junge Erwachsenenalter abgewartet wurde, sofern der Defekt keine nachhaltigen Einflüsse auf die Hämodynamik hatte, da es innerhalb der ersten Lebensjahre noch zu einem spontanen Defektverschluss kommen kann. Dies gilt insbesondere für Defekte mit einem Durchmesser unter 7-8 mm, die innerhalb des ersten Lebensjahres diagnostiziert werden [46, 51, 54, 55]. Zudem ist die Intervention bei größeren Patienten einfacher und risikoärmer. Bis zum Defektverschluss verging bei ASDII-Patienten deshalb signifikant mehr Zeit als bei PFO-Patienten.

Diese Zusammenhänge machten sich auch bei den bei Erstdiagnose des Defekts vorliegenden Symptomen bemerkbar: Bei ASDII-Patienten war zum Zeitpunkt der Erstdiagnose in gut einem Drittel der Fälle ein Herzgeräusch auskultierbar, dass zur Diagnose geführt hatte. In einem weiteren Drittel der Fälle hatten die Patienten aufgrund kardialer Belastungszeichen ihren Arzt



aufgesucht. Hier spiegelt das durchschnittliche Alter der Patienten mit den Erstsymptomen „Herzgeräusch“ und „kardiale Belastungszeichen“ die Pathophysiologie des ASDII wider. ASDII-Patienten mit einem Herzgeräusch waren im Durchschnitt 19,4 Jahre jünger als ASDII-Patienten mit kardialen Belastungszeichen, die erst im Laufe der Jahre und auf der Grundlage einer zunehmenden Rechtsherzbelastung durch zunehmendes Shuntvolumen klinisch auffällig wurden.

Beide Symptome lagen bei PFO-Patienten deutlich seltener vor. Das PFO wurde in über 90% der Fälle erst durch die Abklärung eines neurologischen Ereignisses entdeckt. Diese Patienten haben, solange es nicht durch andere kardialen Belastungen zu einer Druckumkehr auf Vorhofebene kommt, keinen Links-Rechts-Shunt. Daher sind Herzgeräusche sowie die Entwicklung einer Rechtsherzvergrößerung und somit von kardialen Belastungszeichen bei diesen Patienten selten. Sie werden häufig erstmals klinisch auffällig, wenn sie durch paradoxe Embolien einen ischämischen Hirninfarkt erleiden.

Zusammenfassend beruhen alle herausgestellten Unterschiede auf der Pathophysiologie der jeweiligen Defekte und bieten keinen Anhalt für eine Assoziation des GATA4 SNP S377G mit den körperlichen Kenndaten, dem Alter bei Erstdiagnose bzw. Defektverschluss oder den Symptomen bei Erstdiagnose.

Eine positive Familienanamnese hinsichtlich angeborener Herzfehler konnte bei acht Patienten erhoben werden. Bei keinem dieser Patienten handelte es sich um einen Träger des GATA4 SNP S377G. In den Familien der Patienten mit dem GATA4 Polymorphismus waren bei keinem Blutsverwandten ein Vorhofseptumdefekt oder andere angeborene Herzfehler bekannt. Über die Vererbbarkeit des Polymorphismus über phänotypisch gesunde Angehörige der Indexpatienten konnten im Rahmen dieser Studie keine Aussagen getroffen werden, da deren DNA nicht gescreent wurde. Eine ausführliche Analyse und genetische Untersuchung der Blutsverwandten von Patienten mit Polymorphismus wurde noch nicht durchgeführt.

### 4.3. Elektrokardiogramm

Die mit Abstand häufigsten Lagetypen im gesamten Studienkollektiv waren Links- und Indifferenztyp. Interessant war hier, dass bei ASDII-Patienten der Indifferenztyp und bei PFO-Patienten der Linkstyp der dominierende Lagetyp war. Es gab einen deutlichen Zusammenhang zwischen Defektart und Lagetyp des Herzens im gesamten Studienkollektiv. Dies schlug sich auch in der Herzachse in Grad nieder, die bei ASDII-Patienten auch unter Berücksichtigung der Altersstruktur im Durchschnitt signifikant weiter rechts lag als bei PFO-Patienten ( $p < 0,001$ ) und Ausdruck der vermehrten Rechtsherzbelastung bei ASDII-Patienten ist. Ein solcher Zusammenhang konnte für den GATA4 SNP S377G nicht identifiziert werden. Er war weder bei den ASDII-Patienten noch bei den PFO-Patienten signifikant mit dem Vorkommen bestimmter Lagetypen assoziiert. Es fiel aber auf, dass Patienten mit der homozygoten Variante des SNP S377G stets einen normalen Lagetyp hatten, der dem jeweils häufigsten Lagetyp der eigenen Hauptgruppe entsprach. Da dies aber insgesamt nur sieben Patienten des gesamten Studienkollektivs betraf, kann hier keine valide Schlussfolgerung gezogen werden. Man darf auch hier höchstens eine mögliche Tendenz postulieren. Es müsste an einem größeren Studienkollektiv überprüft werden, ob die homozygote Variante des SNP bei ASDII-Patienten signifikant mit einem Indifferenztyp und bei PFO-Patienten mit einem Linkslagetyp assoziiert ist. oder ob es sich bei dieser Auffälligkeit um ein zufälliges Ergebnis gehandelt hat.

Die für Vorhofseptumdefekte vom Sekundumtyp typischen kompletten und inkompletten Rechtsschenkelblöcke kamen signifikant häufiger bei Patienten mit einem ASDII vor. Eine Assoziation des GATA4 SNP S377G mit inkompletten oder kompletten Rechtsschenkelblöcken gab es weder unter den ASDII-Patienten noch bei den PFO-Patienten. Andere Schenkelblöcke, wie zum Beispiel ein Linksschenkelblock kamen nur bei Patienten mit einem PFO vor. Der Anteil der über 40-jährigen Patienten war in dieser Gruppe deutlich höher, so dass man das vermehrte Auftreten anderer Blockbilder theoretisch auf andere kardiale Beeinträchtigungen wie stattgehabten Myokardinfarkt oder erworbene Klappenvitien zurückführen könnte. Die betroffenen Patienten des hier untersuchten Studienkollektivs hatten diesbezüglich jedoch eine leere Anamnese, so dass ein solcher Einfluss zunächst nicht als wahrscheinlich angenommen werden muss.

AV-Blockierungen waren im untersuchten Studienkollektiv bei ASDII-Patienten deutlich häufiger als bei PFO-Patienten ( $p = 0,001$ ). Diese Signifikanz ist so deutlich, dass trotz der sehr geringen absoluten Häufigkeit des AV-Blocks im Studienkollektiv (14/187) davon ausgegangen

werden kann, dass sich diese Assoziation auch in einem größeren Kollektiv bestätigen würde. Zwischen dem GATA4 SNP S377G und dem Auftreten eines AV-Blocks gab es weder bei den ASDII- noch bei den PFO-Patienten einen Zusammenhang. Allerdings zeigte die Auftrennung der Patienten mit dem GATA4 SNP nach homozygotem und heterozygotem Vorkommen, dass ASDII-Patienten mit der homozygoten Variante des SNP nie einen AV-Block hatten. Ob dies einen signifikanten Unterschied darstellt, muss an einem größeren Kollektiv nachvollzogen werden.

Basierend auf diesen Ergebnissen gibt es im EKG keinen sicheren Anhalt dafür, dass der GATA4 Polymorphismus S377G die Ausprägung der klinischen Auswirkungen eines ASDII oder eines PFO als Modifier-Variante beeinflusst. Es konnten bei getrennter Betrachtung der ASDII- bzw. PFO-Patienten mit der heterozygoten und der homozygoten Variante einige Auffälligkeiten identifiziert werden, die aufgrund der geringen Fallzahl aber nicht als Unterschiede bezeichnet werden können. Dies gilt besonders für die ASDII-Patienten, bei denen insgesamt nur 19 Patienten Träger des GATA4 SNP S377G waren.

#### **4.4. Echokardiografie**

Die Defekte waren in der transthorakalen Echokardiografie im vorliegenden Studienkollektiv bei ASDII-Patienten signifikant größer als bei PFO-Patienten. Dies erscheint vor allem im Hinblick auf die Pathophysiologie des Defekts logisch, da ein PFO meist funktionell verschlossen bleibt und nur indirekt durch ein Valsalva-Manöver echokardiografisch diagnostizierbar ist. So konnte auch die Defektlage nur bei wenigen PFO-Patienten bestimmt werden. Unterschiede zwischen ASDII- und PFO-Patienten wurden dabei erwartungsgemäß nicht identifiziert, da beide Defekte klassischerweise im Bereich der Fossa ovalis lokalisiert sind. Einen signifikanten Zusammenhang zwischen Defektgröße oder Defektlage und dem GATA4 SNP S377G gab es in beiden Patientengruppen nicht. Die einzige diesbezügliche Auffälligkeit war, dass alle für den SNP homozygoten ASDII-Patienten einen zentral lokalisierten Defekt hatten. Bei einer Fallzahl von drei Patienten ist dies aber nicht aussagekräftig.

Aneurysmen der Fossa ovalis kamen in allen Gruppen etwa gleich häufig vor, während Links-Rechts-Shunts bei ASDII-Patienten deutlich häufiger waren als bei PFO-Patienten ( $p < 0,001$ ). Auch dieser Zusammenhang ist pathophysiologisch erklärbar, da ein PFO im Gegensatz zum ASDII funktionell verschlossen ist und ein Shunt zum Beispiel erst durch eine Druckumkehr auf Vorhofebene entsteht. Ein Zusammenhang zwischen den beiden Merkmalen und dem GATA4 SNP S377G wurde nicht identifiziert.

Die Beurteilung der Herzhöhlen erfolgte sowohl in der zweidimensionalen Darstellung als auch im M-Mode. In der zweidimensionalen Darstellung waren rechter Vorhof und Ventrikel bei ASDII-Patienten deutlich häufiger vergrößert als bei PFO-Patienten ( $p < 0,001$ ). Die Vergrößerung von rechtem Vorhof oder Ventrikel war hingegen in beiden Patientengruppen nicht mit dem GATA4 SNP S377G assoziiert.

Der im M-Mode bestimmte enddiastolische rechtsventrikuläre Innendurchmesser (RVIDd) war bei Patienten mit ASDII im Durchschnitt deutlich höher als bei PFO-Patienten ( $p < 0,001$ ). Entsprechend hatten ASDII-Patienten signifikant häufiger einen erhöhten RVIDd ( $> 30\text{mm}$ ) als PFO-Patienten ( $p < 0,0001$ ).

Bezüglich der Trikuspidalklappeninsuffizienzen (TI), über die bei 54 ASDII- und 26 PFO-Patienten der rechtsventrikuläre Spitzendruck (RVSP) bestimmt werden konnte, gab es einen signifikanten Zusammenhang mit der Defektart. ASDII-Patienten hatten signifikant häufiger eine TI als PFO-Patienten ( $p < 0,00001$ ). Die durchschnittliche Höhe des über die TI bestimmten RVSP hing deutlich mit der Defektart zusammen und war bei ASDII-Patienten höher als bei PFO-Patienten ( $p = 0,021$ ). Bei Einteilung der Werte in erhöhten und normalen RVSP war diese Signifikanz jedoch im Gesamtkollektiv nicht mehr vorhanden ( $p = 0,056$ ). Der GATA4 SNP S377G war weder bei ASDII- noch bei PFO-Patienten mit dem Vorkommen von Trikuspidalklappeninsuffizienzen oder einem erhöhten RVSP assoziiert.

Insgesamt konnten keine Zusammenhänge zwischen der Ausprägung der echokardiografisch erhobenen Parameter und dem GATA4 SNP S377G im Sinne einer Modifier-Variante nachgewiesen werden. Bei allen Parametern scheint die Pathophysiologie der Defekte ausschlaggebend zu sein, so dass eine Prädisposition zu oder ein Schutz vor Rechtsherzvergrößerung durch den GATA4 SNP S377G, zum Beispiel im Sinne eines festeren oder lockereren Herzmuskelgefüges im vorliegenden Patientenkollektiv ausgeschlossen werden kann. Ebenso wenig hatte der SNP S377G Einfluss auf Defektgröße und -lage oder das Vorkommen eines Aneurysma der Fossa ovalis und von Links-Rechts-Shunts.

#### **4.5. Herzkatheteruntersuchung**

Die Mittelwertvergleiche der angiografisch gemessenen Drücke in den vier Herzhöhlen zeigten nur bezüglich des rechtsventrikulären Drucks (RVsys) signifikante Unterschiede. Der mittlere rechtsatriale Druck (RAmean) war bei nahezu allen Patienten im Normbereich. Gleiches galt für linksatriale und linksventrikuläre Drücke. Der durchschnittliche RVsys war im gesamten

Studienkollektiv hingegen bei PFO-Patienten signifikant niedriger als bei ASDII-Patienten ( $p < 0,001$ ). Entsprechend verhielt es sich auch bei Gruppierung der Patienten nach erhöhtem und normalem RV<sub>sys</sub> ( $p < 0,004$ ). Einen Zusammenhang zwischen RV<sub>sys</sub> und dem GATA4 SNP S377G gab es weder bei ASDII- noch bei PFO-Patienten.

Der enddiastolische Druck im rechten Ventrikel (RVEDP) war im Gesamtkollektiv bei ASDII-Patienten im Schnitt deutlich höher als bei PFO-Patienten ( $p < 0,005$ ). Es gab keinen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen des SNP S377G und der durchschnittlichen Höhe des RVEDP bei ASDII- oder PFO-Patienten. Insgesamt war der RVEDP jedoch nur bei vier Patienten erhöht.

Das Verhältnis von pulmonalem zu systemischem Blutfluss als Maß für das Ausmaß des interatrialen Shunts und somit der Compliance der Lungenstrombahn war bei ASDII-Patienten durchschnittlich signifikant höher als bei PFO-Patienten ( $p < 0,001$ ). Erhöhungen von Q<sub>p</sub>/Q<sub>s</sub> auf über 1 kamen bei ASDII-Patienten signifikant häufiger vor als bei PFO-Patienten. Werte über 2 kamen bei PFO-Patienten nie vor. Zwischen dem SNP und dem Ausmaß des interatrialen Shunts gab es in keiner der beiden Gruppen einen Zusammenhang.

Zusammenfassend können auch die hier identifizierten Unterschiede auf die Pathophysiologie der beiden Defektarten zurückgeführt werden. Beim ASDII ist der Defekt nicht strukturell gedeckt, so dass es zu einem ständigen Links-Rechts-Shunt mit zunehmender Rechtsherzbelastung kommen kann. Im Laufe der Zeit bedeutet dies sowohl eine Erhöhung der Drücke im rechten Herzen also auch eine erhöhte Belastung der Lungenstrombahn mit Zunahme des pulmonalarteriellen Drucks und Abnahme der Compliance. Bezüglich der Verhältnisse des pulmonalen zum systemischen Blutfluss standen bei den vorliegenden Untersuchungen nur die Ergebnisse einer einzigen Untersuchung zur Verfügung, so dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass es bei einigen Patienten bereits durch eine beginnende Shuntumkehr zu scheinbaren Normalisierung von Q<sub>p</sub>/Q<sub>s</sub> gekommen war. Ein solcher Rechts-Links-Shunt konnte zum Zeitpunkt des Verschlusses bei drei PFO-Patienten nachgewiesen werden. Um derartige Veränderungen im Zeitverlauf in Abhängigkeit des GATA4 SNP S377G nachzuvollziehen, müsste ein anderes Studiendesign gewählt werden.

Die Defekte der PFO-Patienten konnten deutlich häufiger interventionell verschlossen werden als die der ASDII-Patienten ( $p < 0,001$ ). Patienten mit dem Wildtyp und solche mit dem GATA4 SNP S377G unterschieden sich dabei weder in der Gruppe der ASDII-Patienten noch bei den PFO-Patienten. Auffällig war aber, dass bei allen Patienten mit der homozygoten Variante ein

interventioneller Defektverschluss möglich gewesen war. Dies korreliert damit, dass die Defekte der homozygoten Patienten in der transthorakalen Echokardiografie immer als zentral lokalisiert beschrieben wurden und somit eine für einen interventionellen Verschluss günstigere Morphologie aufwiesen. Die eigentliche Defektgröße schien hierbei keine Rolle zu spielen. Die bei der transösophagealen Echokardiografie (TEE) und im Ballon-Sizing gemessenen Defekte waren bei ASDII-Patienten im Durchschnitt signifikant größer als bei PFO-Patienten. Betrachtete man darüber hinaus die mittleren Defektgrößen bei homozygoten und heterozygoten ASDII-Patienten getrennt, so konnte man zumindest bezüglich der in der TEE gemessenen Defektgröße die Tendenz erkennen, dass die Defekte der homozygoten Patienten größer waren als die der für den SNP heterozygoten. Dies ist jedoch mit großer Vorsicht zu interpretieren, da derartige Schlussfolgerungen bei einer Fallzahl von nur vier Patienten nur als mögliche Tendenz gewertet werden dürfen. Interessant wäre auch hier eine Untersuchung an einem größeren Patientenkollektiv. Die bisherigen Ergebnisse reichen jedoch nicht aus, um für den GATA4 SNP S377G einen modifizierenden Charakter zu postulieren.

#### **4.6. Einschränkungen**

Trotz der vergleichsweise hohen Patientenzahl, die in diese Studie eingeschlossen wurde, müssen bezüglich der Ergebnisse einige Einschränkungen gemacht werden.

Für den alleinigen Vergleich des Phänotyps der ASDII- Patienten mit dem der PFO-Patienten ist die Fallzahl ausreichend hoch, um statistisch valide Aussagen treffen zu können. Betrachtet man jedoch nur den Vergleich der Subgruppen der ASDII-Patienten, so ist die Zahl der Patienten, bei denen der GATA4 SNP S377G identifiziert werden konnte, gering. Besonders beim Versuch, die Patienten mit dem SNP S377G weiter aufzuteilen, um zwischen der homozygoten und der heterozygoten Variante zu unterscheiden, wird die Fallzahl in den einzelnen Gruppen sehr klein. Bei nur vier ASDII-Patienten und drei PFO-Patienten mit der homozygoten Variante des SNP sind statistische Tests wie der Chi-Quadrat-Test nach Pearson, der T-Test für unabhängige Stichproben und auch der Mann-Whitney-Test nur bedingt aussagekräftig. Die herausgearbeiteten Auffälligkeiten können daher höchstens als mögliche Tendenz bewertet werden, müssen jedoch an einem deutlich größeren Kollektiv mit mindestens 20 Patienten pro Subgruppe überprüft werden.

Um dennoch Aussagen bezüglich des SNP S377G machen zu können und überprüfen zu können, ob das Vorhandensein des SNP mit der Ausprägung verschiedener klinischer Parameter zusammenhängt, wurden die Patienten mit der homozygoten und der heterozygoten Variante des

GATA4 Polymorphismus S377G in einer Gruppe zusammengefasst. Trotz dieser Zusammenfassung sind die Untergruppen jedoch teilweise noch immer zu klein, besonders wenn es sich nicht um metrische Variablen handelte oder eine Einteilung in mehr als zwei Kategorien erfolgte. Darüber hinaus können bei einer solchen Zusammenfassung keine Aussagen gemacht werden, ob die homozygote Variante die klinischen Parameter anders beeinflusst als die heterozygote Variante.

Ein Vergleich der Patienten mit dem GATA4 Wildtyp mit den Patienten mit dem GATA4 Polymorphismus S377G war ebenso wenig zulässig. Die Zahl der PFO-Patienten war in der Gruppe der Wildtyp-Patienten sehr hoch. Daher ist bei einer solchen Betrachtung mit einer Verzerrung der Ergebnisse zugunsten nicht pathologischer Werte in dieser Gruppe zu rechnen, da bei PFO-Patienten signifikant häufiger normale klinische Parameter vorlagen. Derartige Betrachtungen sollten an einer Gruppe mit einer gleichmäßigeren Verteilung der Defektarten durchgeführt werden.

Des Weiteren handelt es sich bei den statistischen Auswertungen größtenteils um eine Sekundärstatistik aus Werten, die alten Patientenakten und Berichten entnommen wurden. Diese sind unter Umständen lückenhaft, da nicht für jeden Patienten alle Werte erhoben bzw. dokumentiert wurden. Es wäre sinnvoll, bei zukünftigen Studien ein genaueres Studienprotokoll zu erstellen und die Patienten nur prospektiv in die Studie aufzunehmen, so dass die zu untersuchenden Parameter bei allen Patienten vollständig erhoben werden können.

Besonders bei den echokardiografischen Befunden waren die Datensätze nicht immer vollständig. Einzelne Daten, wie zum Beispiel Defektlage, RVIDd und RVSP wurden im Mittel nur bei 55,6% der ASDII-Patienten und 24,4% der PFO-Patienten dokumentiert, da bei manchen Patienten der Defekt schlecht oder gar nicht darstellbar war oder die Schallbedingungen zum Beispiel aufgrund von Adipositas eingeschränkt waren. Die Ergebnisse wären eventuell bei vollständigerer Erhebung der einzelnen Parameter zuverlässiger. Die Defektgröße konnte hingegen bei 81,3% der ASDII-Patienten und bei 7,8% der PFO-Patienten dargestellt werden. Die diesbezüglichen Auswertungen können daher vor allem in Bezug auf die ASDII-Patienten als valide betrachtet werden. Gleiches gilt für die Angaben bezüglich Aneurysmen der Fossa ovalis, interatrialen Shunts und dem Vorkommen von Trikuspidalklappeninsuffizienzen. Diese Angaben waren bei allen 181 Patienten vorhanden.

In einer Autopsie-Studie wurde die Prävalenz für ein PFO in der Bevölkerung mit über 27,3% angegeben. Gleichzeitig zeigte sich, dass Defekte mit einem größeren Durchmesser als 10mm nur in ca. 2% der Fälle vorlagen [4]. Diese größeren Defekte gehen jedoch mit einem höheren Risiko

für thrombembolische Ereignisse durch paradoxe Embolien einher. Im untersuchten Patientenkollektiv lag die durchschnittliche Defektgröße der PFO-Patienten im TTE bei 6,6 mm, im TEE jedoch bei 11,6 mm. Für beide Messmethoden zusammen lag der Mittelwert bei 10,4 mm, wobei nur bei einem Patienten Werte aus beiden Untersuchungen vorlagen. Darüber hinaus war der Defekt bei 92,6% der PFO-Patienten (93%) nach einem neurologischen Ereignis diagnostiziert worden. Die Gruppe der PFO-Patienten der vorliegenden Arbeit scheint vor diesem Hintergrund keinen repräsentativen Querschnitt durch PFO-Patienten in der Bevölkerung darzustellen. Sie ist zugunsten von Patienten mit einem großen PFO, die in der Bevölkerung nur 1,3% aller PFO-Patienten darstellen, verfälscht. Folglich kann zunächst nur die Assoziation des GATA4 Polymorphismus S377G mit dem Auftreten eines großen PFO postuliert werden.

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde Leukozyten-DNA extrahiert und analysiert. Die Entnahme von Biopsien aus den Randbereichen des jeweiligen Defektes, zum Beispiel während des interventionellen oder operativen Verschlusses war nicht möglich. Daher können keine Aussagen über Mutationen in der DNA des septalen Gewebes im Sinne eines Genmosaiks getroffen werden. *Reamon-Buettner et al.* führten genetische Untersuchungen an Gewebeproben aus formalinfixierten Herzen mit angeborenen Herzfehlern und Leukozyten-DNA aus Blutproben durch. Sie identifizierten bis zu 23 Mutationen in GATA4 in betroffenem Gewebe des jeweiligen Herzens, aber nicht in den gesunden Gewebeanteilen [56]. Die hohe Prävalenz von Sequenzvariationen im Rahmen dieser und zweier weiterer Analysen [56] wurde als Hinweis auf die Beteiligung somatischer Mutationen im Sinne genetischer Mosaik an angeborenen Herzfehlern gewertet. Teilweise wurden bei einem Patienten mehrere SNPs identifiziert, was die Hypothese eines kumulativen Effekts von Mutationen im betroffenen Gewebe und multiplen Mutationen als Ursache angeborener Herzfehler stützt.

Für die Fragestellungen dieser Arbeit wären die Ergebnisse einer Untersuchung von den Defekten angrenzendem septalem Gewebe nach Sequenzvariationen eine Möglichkeit gewesen, die Trefferquote zu erhöhen. Somatische Mutationen erklären aber nicht die Vererbung angeborener Herzfehler, sondern sind ein Erklärungsansatz für ihre multifaktorielle Genese. Eine Aussage über Keimbahnmutationen und Vererbung von Vorhofseptumdefekten vom Sekundumtyp und persistierendem Foramen ovale, um die es in dieser Arbeit ging, wäre nicht möglich, so dass die Aufarbeitung septalen Gewebes nach der aktuellen Studienlage keine zusätzliche Information gebracht hätte.



## 4.7. Fazit und Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte eine signifikante Assoziation des GATA4 Polymorphismus S377G mit dem Auftreten von großen persistierenden Foramina ovalia nachgewiesen werden. Die systematische Analyse der klinischen Parameter der Patienten zeigte jedoch keine Assoziation des Polymorphismus mit einem bestimmten Phänotyp für ASDII- oder PFO-Patienten. Dennoch weisen die Ergebnisse dieser Arbeit stark darauf hin, dass es sich auch beim PFO um einen genetisch determinierten strukturellen Defekt des Herzens handelt, insbesondere vor dem Hintergrund der erstmals bei einer PFO-Patientin identifizierten Mutationen im GATA4 Gen.

Die signifikanten Unterschiede des Phänotyps von ASDII- und PFO-Patienten waren zwar in Anbetracht der unterschiedlichen Pathophysiologie der beiden Defektarten zu erwarten, wurden aber erstmals systematisch und statistisch valide an einem großen Patientenkollektiv untersucht. Die meisten Studien konzentrieren dabei auf einen der beiden Defekte. Sie vergleichen nicht die Defektauswirkungen bei ASDII- und PFO-Patienten. Es wird zwar häufig auf einzelne Aspekte der Defekte verwiesen, eine umfassende Übersicht über den Phänotyp des jeweils untersuchten Patientenkollektivs gibt es jedoch ebenfalls nicht.

Um die Aussagen und Hypothesen dieser Arbeit zu bestätigen, sollten prospektive Untersuchungen an größeren Patientenkollektiven erfolgen. 19 von 92 ASDII-Patienten und 64 von 95 PFO-Patienten hatten einen homozygoten (vier bzw. drei) oder heterozygoten (15 bzw. 64) Polymorphismus in GATA4. Ausgehend von diesen Prävalenzen müsste ein Kollektiv von mindestens 184, besser aber 276 konsekutiven ASDII-Patienten und 190 bis 285 konsekutiven PFO-Patienten mit isoliertem ASDII oder PFO rekrutiert und bezüglich des GATA4 SNP S377G untersucht werden, um in jeder Subgruppe mindestens fünf Individuen zu haben, so dass statistisch valide Aussagen getroffen werden können. Der zu erhebende Datensatz sollte im Vorhinein auf klinische Merkmale beschränkt werden, bei denen im Rahmen dieser Arbeit Unterschiede festgestellt wurden, um eine vollständigere Erhebung der Parameter zu erreichen und das Problem der unvollständigen Sekundärstatistik zu vermeiden.

Darüber hinaus scheint eine Aufarbeitung der Stammbäume inklusive Linkage Analyse oder direkter Sequenzierung von GATA4 aller Indexpatienten mit positiver Familienanamnese in mindestens zwei Generationen sinnvoll, um eventuell weitere Kandidatengene für die Entstehung von Vorhofseptumdefekten und persistierenden Foramen ovale zu identifizieren. Besonders interessant erscheint in diesem Zusammenhang die Familie eines Indexpatienten dieser Studie, in der über mehrere Generationen ASDII und PFO bekannt sind. Eine Analyse

dieser und ähnlicher Familien wird zurzeit in einer aus der vorliegenden Promotion entstehenden Arbeit durch die Arbeitsgruppe von Dr. med. M. Posch und Dr. med. C. Özcelik, Kardiogenetisches Labor, Experimental and Clinical Research Center, (*Lindenberger Weg 80, 13125 Berlin*) durchgeführt und führte bereits zur Identifizierung eines weiteren Kandidatengens für das Auftreten von ASDII und PFO. Darüber hinaus wird der Stammbaum der PFO-Patientin mit den Mutationen A346V und D425N in GATA4 ebenfalls durch die Arbeitsgruppe von Posch und Özcelik aufgearbeitet. Nach Möglichkeit soll die DNA aller noch lebenden Angehörigen auf die Mutation hin untersucht werden. Eine echokardiografische Untersuchung der Angehörigen erfolgte bereits. Die Ergebnisse wurden von *Posch et al.* bei Cardiovascular Research eingereicht.

## 5. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein großes homogenes Kollektiv von Patienten mit isoliertem Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp (ASDII) oder isoliertem persistierendem Foramen ovale (PFO) zu phänotypisieren und auf den GATA4 Polymorphismen S377G zu untersuchen. Anhand der vorliegenden Daten wurde die Prävalenz des Polymorphismus im Gesamtkollektiv und unter den ASDII- bzw. PFO-Patienten bestimmt. Es sollte geklärt werden, ob dieser SNP mit dem Auftreten einer Defektart vergesellschaftet ist und somit eine Risikovariante darstellt und ob er als Modifier-Variante die Ausprägung bestimmter klinischer Parameter beeinflusst. In diesem Zusammenhang sollte diskutiert werden, ob es sich bei PFO ebenfalls um einen genetisch determinierten Strukturdefekt des Herzens handeln könnte und nicht wie bisher angenommen um einen strukturellen Defekt ohne genetische Ursache.

In einer retrospektiven Querschnittsstudie wurden dafür in der Abteilung für angeborene Herzfehler und Kinderkardiologie des DHZB 92 Patienten mit isoliertem ASDII und 95 Patienten mit isoliertem PFO rekrutiert. Die Patienten wurden systematisch mittels einer dafür erstellten Datenbank phänotypisiert. Die Auswertung der klinischen Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS für Windows, Version 15.1 und 17.0 in Form einer Sekundärstatistik. Die Genotypisierung im GATA4 Gen wurde durch die Arbeitsgruppe von Dr. med. M. Posch und Dr. med. C. Özcelik Kardiogenetisches Labor, Experimental and Clinical Research Center, Berlin, mittels Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) Analyse [32] durchgeführt.

Der GATA4 Polymorphismus S377G kam sowohl bei Patienten mit einem Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp als auch bei Patienten mit einem persistierenden Foramen ovale vor. Er war jedoch signifikant mit dem Auftreten eines PFO assoziiert ( $p < 0,0001$ ). Die Prävalenz des G-Allels war bei PFO-Patienten signifikant höher als bei ASDII-Patienten ( $p < 0,00001$ ) und in Kontrollen ( $p < 0,00001$ ). Die ASDII-Patienten unterschieden sich diesbezüglich nicht von den Kontrollen ( $p = 0,73$ ). Der SNP S377G wurde somit als Risikovariante für das Auftreten eines großen PFO identifiziert.

Als Nebenergebnis dieser Studie wurden bei einer PFO-Patientin die GATA4 Mutationen A346V und D425N identifiziert, die im Rahmen einer Studie bereits bei einem ASDII-Patienten nachgewiesen worden waren.

Die Phänotypisierung des Patientenkollektivs zeigte signifikante Unterschiede bezüglich der klinischen Auswirkungen der beiden Vitien, die in erster Linie von der Defektart abhängig waren. Dabei war stets die dem jeweiligen Defekt zu Grunde liegende Pathophysiologie

entscheidend. So waren zum Beispiel Zeichen der Rechtsherzbelastung wie ein vergrößerter rechter Vorhof bzw. Ventrikel oder ein erhöhter rechtsventrikulärer Druck bei ASDII-Patienten durch den bereits von Geburt an vorhandenen Links-Rechts-Shunt signifikant häufiger als bei PFO-Patienten. Auch die Symptome, die zur Diagnose der Defekte führten, waren in beiden Gruppen zwar verschieden, aber pathophysiologisch erklärbar. ASDII-Patienten hatten häufiger eine nach rechts verschobene elektrische Herzachse sowie inkomplette und komplette Rechtsschenkelblöcke. Diese Charakteristika sind zwar allgemein bekannt, bislang gibt es aber nur wenige systematische Untersuchungen dazu.

Eine signifikante Assoziation des GATA4 SNP S377G mit einem oder mehreren klinischen Parametern bei ADSII- oder PFO-Patienten im Sinne einer Modifier-Variante wurde im Studienkollektiv nicht nachgewiesen. Die ASDII-Patienten mit und ohne den Polymorphismus unterschieden sich ebenso wenig voneinander wie die PFO-Patienten mit und ohne den Polymorphismus. Es gab lediglich einige Auffälligkeiten bei Patienten mit der homozygoten Variante des SNP, die aufgrund der geringen Fallzahl aber nur als mögliche Tendenz gewertet werden durften. Ihre Defekte waren immer zentral im interatrialen Septum lokalisiert und ließen sich immer interventionell verschließen. AV-Blöcke kamen bei diesen Patienten nicht vor.

Der GATA4 Polymorphismus S377G wurde in der vorliegenden Studie als Risikovariante für das Auftreten eines großen PFO identifiziert. Zusätzlich wurden erstmals Mutationen im GATA4 Gen bei einer Patientin mit PFO nachgewiesen. Diese Ergebnisse stützen die bereits von einigen Autoren aufgestellte Hypothese einer möglichen genetischen Prädisposition für ein PFO. Für eine Funktion des Polymorphismus als Modifier-Variante gab es zwar keine signifikanten Hinweise, einige Ergebnisse bergen aber die Möglichkeit einer Tendenz, so dass eine solche Funktion auch nicht gänzlich ausgeschlossen werden konnte. Dies sollte im Rahmen einer neuen, prospektiven Studie mit genau kalkulierter Fallzahl anhand ausgewählter Parameter nochmals überprüft werden. Als Grundlagen für die Planung einer solchen Studie können die Ergebnisse dieser Arbeit verwendet werden.

## 6. Abkürzungsverzeichnis

AHF	Angeborene Herzfehler
AI	Aortenklappeninsuffizienz
AK	Aortenklappe
ASDII	Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp (atrial septal defect)
AVB	Atrioventrikularblock (AV-Block)
AVSD	Atrioventrikulärer Septumdefekt
BMI	Body-Mass-Index
CBF	Charité – Campus Benjamin Franklin
CVK	Charité – Campus Virchow Klinikum
DHZZB	Deutsches Herzzentrum Berlin
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EF	Ejektionsfraktion
ESC	European Society of Cardiology
FS	Fractional Shortening (Verkürzungsfraktion)
IMISE	Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie
iRSB	Inkompletter Rechtsschenkelblock
IVSd/s	Interventrikuläres Septum diastolisch/systolisch
KG	Körpergewicht
KKSL	Institut für Koordination Klinischer Studien Leipzig
KL	Körperlänge
KOF	Körperoberfläche
LAD	Linksatrialer Durchmesser
LVIDd/s	Linksventrikulärer Innendurchmesser diastolisch/systolisch
LVPWd/s	Linksventrikuläre Hinterwand (posterior wall) diastolisch/systolisch
MI	Mitralklappeninsuffizienz
MK	Mitralklappe
PDA	Persistierender Ductus Arteriosus (Botalli)
PaVS	Pulmonalklappenstenose
PFO	Persistierendes Foramen ovale
(s)PHT	(sekundärer) Pulmonaler Hypertonus
PI	Pulmonalklappeninsuffizienz
PK	Pulmonalklappe
RAmean	Rechtsatrialer Mitteldruck (Herzkatheter)
RSB	Rechtsschenkelblock
RVEDP	Enddiastolischer rechtsventrikulärer Druck
RVIDd/s	Rechtsventrikulärer Innendurchmesser diastolisch/systolisch
RVSP	Rechtsventrikulärer Spitzendruck
RVsys	Systolischer rechtsventrikulärer Druck (im Herzkatheter)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Einzelnukleotid-Polymorphismus)
SSCP	Single-Strand Conformation Polymorphism

SVES	Supraventrikuläre Extrasystolen
TEE	Transösophageale Echokardiografie
TGA	Transposition der großen Gefäße
TI	Trikuspidalklappeninsuffizienz
TIA	Transitorische Ischämische Attacke
TK	Trikuspidalklappe
TTE	Transthorakale Echokardiografie
VES	Ventrikuläre Extrasystolen

## 7. Literaturverzeichnis

1. Gruber, P.J. and J.A. Epstein, *Development gone awry: congenital heart disease*. Circ Res, 2004. **94**(3): p. 273-83.
2. Hoffman, J.I. and S. Kaplan, *The incidence of congenital heart disease*. J Am Coll Cardiol, 2002. **39**(12): p. 1890-900.
3. Fisher, D.C., et al., *The incidence of patent foramen ovale in 1,000 consecutive patients. A contrast transesophageal echocardiography study*. Chest, 1995. **107**(6): p. 1504-9.
4. Hagen, P.T., D.G. Scholz, and W.D. Edwards, *Incidence and size of patent foramen ovale during the first 10 decades of life: an autopsy study of 965 normal hearts*. Mayo Clin Proc, 1984. **59**(1): p. 17-20.
5. Schneider, B., et al., *Diagnosis of patent foramen ovale by transesophageal echocardiography and correlation with autopsy findings*. Am J Cardiol, 1996. **77**(14): p. 1202-9.
6. Fleischhauer, K., *10.3 Das Herz - Entwicklung des Herzens*, in *Benninghoff Anatomie - Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen*, D. Drenckhahn and W. Zenker, Editors. 1994, Urban und Schwarzenberg: München; Wien; Baltimore. p. 617 - 623.
7. Jacobs, J.P., et al., *Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project: atrial septal defect*. Ann Thorac Surg, 2000. **69**(4 Suppl): p. S18-24.
8. Berger, F., *Die interventionelle Therapie von Vorhofseptumdefekten vom Secundumtyp mit dem Amplatzer Septal Occluder™*, in *Pädiatrische Kardiologie*. 2003, Universität Zürich: Zürich.
9. Schulze-Neick, I., *Postoperative pulmonale Hypertension nach Korrektur angeborener Herzfehler - Behandlung, Pathophysiologie und vaskulo-bronchiale Interaktionen*, in *Abteilung für angeborene Herzfehler*. 2002, Humboldt-Universität zu Berlin, Medizinische Fakultät - Universitätsklinikum Charité: Berlin.
10. Kasahara, H., et al., *Progressive atrioventricular conduction defects and heart failure in mice expressing a mutant Csx/Nkx2.5 homeoprotein*. J Clin Invest, 2001. **108**(2): p. 189-201.
11. McGaw, D. and R. Harper, *Patent foramen ovale and cryptogenic cerebral infarction*. Intern Med J, 2001. **31**(1): p. 42-7.
12. McGaw, D.J. and A.M. Ugoni, *Patent foramen ovale and cryptogenic stroke: the controversy continues*. Circulation, 2003. **107**(7): p. e51; author reply e51.
13. Hara, H., et al., *Patent foramen ovale: current pathology, pathophysiology, and clinical status*. J Am Coll Cardiol, 2005. **46**(9): p. 1768-76.
14. Gupta, V.K., *ASD closure for migraine: is there a scientific basis?* Eur Heart J, 2005. **26**(14): p. 1446; author reply 1446-7.
15. Gupta, V.K., *Closure of ASD: what aggravates the migrainous diathesis?* Eur Heart J, 2006. **27**(14): p. 1756-7.
16. Anzola, G.P., et al., *Potential source of cerebral embolism in migraine with aura: a transcranial Doppler study*. Neurology, 1999. **52**(8): p. 1622-5.
17. Reisman, M., et al., *Migraine headache relief after transcatheter closure of patent foramen ovale*. J Am Coll Cardiol, 2005. **45**(4): p. 493-5.
18. Azarbal, B., et al., *Association of interatrial shunts and migraine headaches: impact of transcatheter closure*. J Am Coll Cardiol, 2005. **45**(4): p. 489-92.
19. Moorman, A.F. and V.M. Christoffels, *Cardiac chamber formation: development, genes, and evolution*. Physiol Rev, 2003. **83**(4): p. 1223-67.
20. Srivastava, D. and E.N. Olson, *A genetic blueprint for cardiac development*. Nature, 2000. **407**(6801): p. 221-6.

21. Molkentin, J.D., *The zinc finger-containing transcription factors GATA-4, -5, and -6. Ubiquitously expressed regulators of tissue-specific gene expression.* J Biol Chem, 2000. **275**(50): p. 38949-52.
22. Pikkarainen, S., et al., *GATA transcription factors in the developing and adult heart.* Cardiovasc Res, 2004. **63**(2): p. 196-207.
23. Kuo, C.T., et al., *GATA4 transcription factor is required for ventral morphogenesis and heart tube formation.* Genes Dev, 1997. **11**(8): p. 1048-60.
24. Molkentin, J.D., et al., *Requirement of the transcription factor GATA4 for heart tube formation and ventral morphogenesis.* Genes Dev, 1997. **11**(8): p. 1061-72.
25. Bruneau, B.G., *Transcriptional regulation of vertebrate cardiac morphogenesis.* Circ Res, 2002. **90**(5): p. 509-19.
26. Garg, V., et al., *GATA4 mutations cause human congenital heart defects and reveal an interaction with TBX5.* Nature, 2003. **424**(6947): p. 443-7.
27. Nemer, G., et al., *A novel mutation in the GATA4 gene in patients with Tetralogy of Fallot.* Hum Mutat, 2006. **27**(3): p. 293-4.
28. Schluterman, M.K., et al., *Screening and biochemical analysis of GATA4 sequence variations identified in patients with congenital heart disease.* Am J Med Genet A, 2007. **143**(8): p. 817-23.
29. Hirayama-Yamada, K., et al., *Phenotypes with GATA4 or NKX2.5 mutations in familial atrial septal defect.* Am J Med Genet A, 2005. **135**(1): p. 47-52.
30. Poirier, O., et al., *Polymorphisms of genes of the cardiac calcineurin pathway and cardiac hypertrophy.* Eur J Hum Genet, 2003. **11**(9): p. 659-64.
31. Tomita-Mitchell, A., et al., *GATA4 sequence variants in patients with congenital heart disease.* J Med Genet, 2007. **44**(12): p. 779-83.
32. Posch, M.G., et al., *Mutations in GATA4, NKX2.5, CRELD1, and BMP4 are infrequently found in patients with congenital cardiac septal defects.* Am J Med Genet A, 2008. **146**(2): p. 251-3.
33. Rajagopal, S.K., et al., *Spectrum of heart disease associated with murine and human GATA4 mutation.* J Mol Cell Cardiol, 2007. **43**(6): p. 677-85.
34. Okubo, A., et al., *A novel GATA4 mutation completely segregated with atrial septal defect in a large Japanese family.* J Med Genet, 2004. **41**(7): p. e97.
35. Sherin, C., et al., *Investigation Between the S377G3 GATA-4 Polymorphism and Migraine.* Open Neurol J, 2008. **2**: p. 35-8.
36. Mosteller, R.D., *Simplified calculation of body-surface area.* N Engl J Med, 1987. **317**(17): p. 1098.
37. Sharifi, M. and J. Burks, *Efficacy of clopidogrel in the treatment of post-ASD closure migraines.* Catheter Cardiovasc Interv, 2004. **63**(2): p. 255.
38. Arquizan, C., et al., *Is patent foramen ovale a family trait? A transcranial Doppler sonographic study.* Stroke, 2001. **32**(7): p. 1563-6.
39. Kirk, E.P., et al., *Quantitative trait loci modifying cardiac atrial septal morphology and risk of patent foramen ovale in the mouse.* Circ Res, 2006. **98**(5): p. 651-8.
40. Rijnbeek, P.R., et al., *New normal limits for the paediatric electrocardiogram.* Eur Heart J, 2001. **22**(8): p. 702-11.
41. Schwartz, P.J., et al., *Guidelines for the interpretation of the neonatal electrocardiogram. A task force of the European Society of Cardiology.* Eur Heart J, 2002. **23**(17): p. 1329-44.
42. Ewert, P., et al., *Transcatheter closure of atrial septal defects without fluoroscopy: feasibility of a new method.* Circulation, 2000. **101**(8): p. 847-9.
43. Ewert, P., et al., *Transcatheter closure of atrial septal defects under echocardiographic guidance without X-ray: initial experiences.* Cardiol Young, 1999. **9**(2): p. 136-40.



44. Ewert, P., *Interventioneller Verschluss von Vorhofseptumdefekten: Besondere Indikationen und neue therapeutische Strategien*, in *Deutsches Herzzentrum Berlin, Abteilung für angeborene Herzfehler*. 2002, Medizinische Fakultät Charité, Humboldt-Universität zu Berlin: Berlin. p. 58.
45. Pascual, J.C., et al., *What syndrome is this? Dubowitz syndrome*. *Pediatr Dermatol*, 2005. **22**(5): p. 480-1.
46. Helgason, H. and G. Jonsdottir, *Spontaneous closure of atrial septal defects*. *Pediatr Cardiol*, 1999. **20**(3): p. 195-9.
47. Roelandt, J. and R. Erbel, *Cardiac Ultrasound*, in *ESC Textbook of Cardiovascular Medicine*, A.J. Camm, T.F. Lüscher, and P.W. Serruys, Editors. 2006, European Society of Cardiology.
48. Biben, C., et al., *Cardiac septal and valvular dysmorphogenesis in mice heterozygous for mutations in the homeobox gene Nkx2-5*. *Circ Res*, 2000. **87**(10): p. 888-95.
49. Wilmschurst, P.T., et al., *Inheritance of persistent foramen ovale and atrial septal defects and the relation to familial migraine with aura*. *Heart*, 2004. **90**(11): p. 1315-20.
50. Brassard, M., et al., *Outcome of children with atrial septal defect considered too small for surgical closure*. *Am J Cardiol*, 1999. **83**(11): p. 1552-5.
51. McMahan, C.J., et al., *Natural history of growth of secundum atrial septal defects and implications for transcatheter closure*. *Heart*, 2002. **87**(3): p. 256-9.
52. Riggs, T., et al., *Spontaneous closure of atrial septal defects in premature vs. full-term neonates*. *Pediatr Cardiol*, 2000. **21**(2): p. 129-34.
53. Gupta, V., et al., *Patent foramen ovale in a large population of ischemic stroke patients: diagnosis, age distribution, gender, and race*. *Echocardiography*, 2008. **25**(2): p. 217-27.
54. Hanslik, A., et al., *Predictors of spontaneous closure of isolated secundum atrial septal defect in children: a longitudinal study*. *Pediatrics*, 2006. **118**(4): p. 1560-5.
55. Radzik, D., et al., *Predictive factors for spontaneous closure of atrial septal defects diagnosed in the first 3 months of life*. *J Am Coll Cardiol*, 1993. **22**(3): p. 851-3.
56. Reamon-Buettner, S.M. and J. Borlak, *Genetic analysis of cardiac-specific transcription factors reveals insight into congenital heart disease*. *Monatsschr Kinderheilkd* 2004. **152**(1): p. 1183-1188.



## 8. Publikationsliste

### Paper

Posch, M.G., Perrot, A., Schmitt, K., Mittelhaus, S., Esenwein, E.M. et al., *Mutations in GATA4, NKX2.5, CRELD1, and BMP4 are infrequently found in patients with congenital cardiac septal defects*. Am J Med Genet A, 2008. **146**(2): p. 251-3

Posch MG, Berger F, Perrot A, Ozcelik C, *We need a detailed phenomene in the phenomenon of genetics and congenital heart disease*. [Letter of correspondence] J Med Genet, 2008 May; **45**(5): 320

Posch MG, Gramlich M, Sunde M, Schmitt K et al., *A Gain-of-Function TBX20 Mutation Causes Congenital Atrial Septal Defects, Patent Foramen Ovale and Cardiac Valve Defects*. J Med Genet, 2009 Sep 16. [Epub ahead of print]

### Poster

Posch MG, Schmitt K, Esenwein EM, et al., *Mutational analysis of CRELD1 and GATA4 genes in patients with atrial septal defects*. [World Congress of Cardiology Barcelona, 2.-6.9.2006] Eur Heart J, 2006; 27(Abstr-Suppl): 809

Posch MG, Esenwein EM, Mittelhaus S, Schmitt KR et al., *Mutationsanalyse in Krankheits- und Kandidatengen bei 192 Patienten mit Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp*. [73. Jahrestagung DGK Mannheim, 12.-14.4.2007] Clin Res Cardiol, 2007; 96(Suppl 1): P936

Schmitt KR, Posch MG, Esenwein EM, Stiller B et al., *Mutationsanalysen in Krankheits- und Kandidatengen bei 105 Patienten mit ASDII*. [39. Jahrestagung DGPK Neu-Ulm, 6.-9.10.2007] Clin Res Cardiol, 2007; 96(9): 680



## 9. Erklärung

„Ich, Eva-Maria Gwendolyn Roth, geb. Esenwein, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Die ‚GATA binding protein 4‘ (GATA4) Sequenzvariation S377G bei Patienten mit isoliertem Vorhofseptumdefekt im Herzen – Determination eines Phänotyps?“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

---

Datum

Unterschrift



## **10. Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.





## **11. Danksagung**

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. F. Berger, danke ich für die Überlassung des Themas und für die dauerhafte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Frau Dr. Katharina R.L. Schmitt gilt mein herzlicher Dank für die viele engagierte inhaltliche und nicht zuletzt auch moralische Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit. Sie hat mich immer wieder motiviert und sich für das Thema eingesetzt. Ein ganz besonderer Dank für deine Beharrlichkeit.

Allen Kolleginnen und Kollegen der Ambulanz für angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie und der Station für angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie H4 des DHZB ein herzliches Dankeschön für die Unterstützung bei der Rekrutierung der Patienten und bei der Probengewinnung.

Frau Julia Stein danke ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Herrn Dr. Maximilian G. Posch und Herrn Dr. C. Özcelik mit ihrer Arbeitsgruppe Dank für die Genotypisierung des Patientenkollektivs und die Beratung in genetischen Fragen.

Dem Koordinierungszentrum für Klinische Studien Leipzig, insbesondere Herrn André Rothe und Frau Regine Werner herzlichen Dank für die Unterstützung und Zusammenarbeit bei der Erstellung der Datenbank.

Meinem Mann Olav und meiner gesamten Familie gilt ein besonderer Dank für die immerwährende Unterstützung bei der Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit, für die motivierenden Gespräche, die Geduld und nicht zuletzt auch für inhaltliche Anregungen.



## **12. Anhang**

- Patienteninformation Erwachsene
- Patienteninformation Eltern
- Patienteninformation Jugendliche
- Patienteninformation Kinder
- Einwilligungserklärung Erwachsene
- Einwilligungserklärung Eltern
- Einwilligungserklärung Jugendliche
- Einwilligungserklärung Kinder





Deutsches Herzzentrum Berlin  
Klinik für Angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie  
Augustenburger Platz  
13353 Berlin

## Patienteninformation

### „Ätiologie angeborener Herzfehler: Klinische, genetische und zelluläre Aspekte“

Verantwortlicher Abteilungsleiter:	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
Studienleiter:	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
Studienärztinnen:	Dr. K. Schmitt	
	Eva-Maria Esenwein (Doktorandin)	

#### **Sehr geehrter Patient, sehr geehrte Patientin,**

Ihr behandelnde/r Arzt/Ärztin hat Sie gebeten Ihre Einwilligung zur Teilnahme an der o.g. Studie zu geben. Unsere zuständige Ethikkommission hat dieses Projekt überprüft und eine positive Beurteilung zur Durchführung der Studie abgegeben. Bitte lesen Sie die folgenden Informationen in Ruhe durch. Sie werden anschließend Zeit haben, alle noch offenen Fragen zu stellen.

Auf den nachfolgenden Seiten bitten wir Sie um einige Milliliter Blut zur Untersuchung bestimmter Gene, die im Zusammenhang mit Ihrem Herzfehler stehen.

#### **Hintergrund und Ziele der Studie**

Im Rahmen dieser Studie werden bei Kindern und Erwachsenen mit einem angeborenen, isolierten Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp des Herzens drei Gene auf Mutationen untersucht, die für die Entwicklung des Herzens während der Embryonalphase von Bedeutung sind. Ziel hierbei ist die Entdeckung von genetischen Ursachen von Herzfehlbildungen. Dies ist von großer Bedeutung für die kardiale und nicht kardiale Langzeitprognose von Patienten mit angeborenen Herzfehlern.

Dabei ist das komplexe Wechselspiel zwischen primär genetischer Läsion und modifiziert genetischen und nichtgenetischen Einflüssen aufzuklären.

#### **Studienablauf, zeitlicher Ablauf und Dauer der Studie**

Wenn Sie Ihre Einwilligung zur Teilnahme an dieser Studie geben, werden wir Ihnen während einer routinemäßigen Untersuchung (z.B. eine reguläre Blutentnahme oder eine Herzkatheteruntersuchung) – zwei zusätzliche Röhrchen Blut zu je neun Millilitern abnehmen. Sie werden danach in ein genetisches Labor zur weiteren Aufarbeitung versendet und ausschließlich im Rahmen der o.g. Studie verwendet.

Neben der genetischen Screeninguntersuchung erfolgt die Dokumentation verschiedener Parameter und Untersuchungsbefunde, die im Rahmen der Routineuntersuchungen erhoben werden.

#### **Risiken und Nutzen**

Bei der hier beschriebenen Studie handelt es sich um eine reine Beobachtungsstudie.

Es bestehen keine durch die Studie hervorgerufene Risiken, da lediglich Blutentnahmen im Rahmen der Routineuntersuchungen und -kontrollen erfolgen. Die im Rahmen eines Vorhofseptumdefekts vom Sekundumtyp üblichen diagnostischen und therapeutischen Interventionen werden durch die Studie nicht beeinflusst.

#### **Kosten und Vergütungen**

Durch die Teilnahme an dieser Studie entstehen weder Ihnen noch der Klinik oder den Krankenkassen über die üblichen Behandlungskosten hinausgehende zusätzliche Kosten. Sie erhalten für die Teilnahme keine Vergütung.

### **Teilnahmevoraussetzungen**

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Während der Teilnahme an der Studie sollten Sie sich an die Anweisungen des/der Studienarztes/-ärztin halten. Sie können ohne Angabe von Gründen eine Teilnahme ablehnen oder Ihre Einwilligung jederzeit zurückziehen, ohne dass Ihnen dadurch Nachteile entstehen. Ebenso kann Ihr/e Arzt/Ärztin die Teilnahme an der klinischen Studie aus Sicherheitsgründen jederzeit beenden.

### **Information zum Datenschutz**

Die im Rahmen dieser klinischen Studie erhobenen personenbezogenen Daten und Gesundheits- bzw. Krankheitsdaten sowie die Ergebnisse der im Rahmen der Studienteilnahme erfolgten Untersuchungen werden im Falle Ihrer Studienteilnahme zu diesem Zweck folgendermaßen verarbeitet:

Die persönlichen Daten (Name, Vorname, Geschlecht, Geburtsdatum und Adresse) werden durch den/die Sie aufklärende/n Studienarzt/-ärztin erhoben und von diesem auf der Einwilligungserklärung vermerkt. Die Einwilligungserklärung mit diesen unverschlüsselten personenbezogenen Angaben bleibt bei dem/der Studienarzt/-ärztin. Die im Rahmen dieser Studie erhobenen und gewonnenen Gesundheits- bzw. - Krankheitsdaten sowie die Ergebnisse der klinischen Studie werden verschlüsselt und in dieser Form elektronisch gespeichert.

Die Entnahme, Herauslösung, Verschlüsselung, Untersuchung sowie verschlüsselten Lagerung des im Rahmen dieser Studie entnommenen Blutes und der hieraus ggf. entnommenen genetischen Materialien für den Zweck der Studie erfolgt durch den/die Studienarzt/-ärztin bzw. das Institut für Laboratoriumsmedizin & Pathobiochemie der Charité, Universitätsmedizin Berlin, CVK (*Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin*) ) und das Kardiogenetische Labor der Charité, Campus Buch (*Haus 129, Wiltbergstr. 50, 13125 Berlin*).

Die verschlüsselten Daten können nur durch den Studienarzt/-ärztin mit Ihren persönlichen Daten in Verbindung gebracht werden. Die Ergebnisse der Studie werden ohne Nennung Ihres Namens oder anderer Ihre Person erkennen lassender Angaben (d.h. anonym) veröffentlicht und weitergegeben an:

- das *Institut für Laboratoriumsmedizin & Pathobiochemie der Charité*, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin und das *Kardiogenetische Labor der Charité*, Campus Buch, Haus 129, Wiltbergstr. 50, 13125 Berlin zur wissenschaftlichen Aufarbeitung und Auswertung der entnommenen Blutproben,
- die zuständige(n) Überwachungsbehörde(n) (*Landesamt oder Bezirksregierung*), Bundesoberbehörde (*Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn*), Ethik-Kommission und ausländischen Behörden und europäische Datenbank zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Studie, zur Bewertung von Studienergebnissen und unerwünschter Ereignisse.

Zur Überwachung der Studie kann ein autorisierter und zur Verschwiegenheit verpflichteter Beauftragter des Auftraggebers, der zuständigen inländischen und ausländischen Überwachungs- und Zulassungsbehörden in personenbezogenen Daten Einsicht einnehmen, soweit dies für die Überprüfung der Studie notwendig ist. Für diese Maßnahme ist der Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht entbunden.

Die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung der Angaben ist unwiderruflich.

Die gespeicherten oder sonst aufgezeichneten Daten und personenbezogenen Angaben sowie der Schlüssel zu ihrer Entschlüsselung werden gemäß der gesetzlichen Aufbewahrungsfristen gespeichert/archiviert und danach gelöscht/ vernichtet.

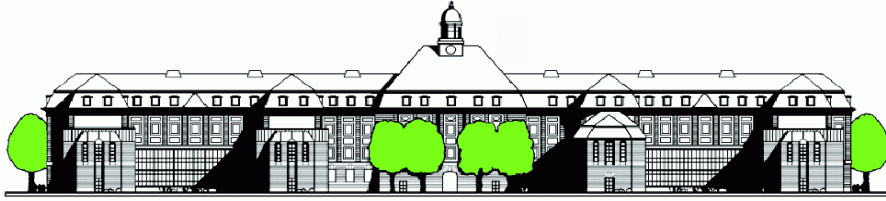
**Die Teilnahme an der Studie kann jederzeit beendet werden. Im Fall dieses Widerrufs werden die bis zu diesem Zeitpunkt gespeicherten Daten ohne Namensnennung weiterhin verwendet, soweit dies erforderlich ist.**

**Wir wünschen Ihnen alles Gute.**

Prof. Dr. F. Berger

Dr. K. Schmitt

Eva-Maria Esenwein



Deutsches Herzzentrum Berlin  
Klinik für Angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie  
Augustenburger Platz  
13353 Berlin

## Patienteninformation für Eltern

### „Ätiologie angeborener Herzfehler: Klinische, genetische und zelluläre Aspekte“

Verantwortlicher Abteilungsleiter:	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
Studienleiter:	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
Studienärztinnen:	Dr. K. Schmitt	
	Eva-Maria Esenwein (Doktorandin)	

#### Sehr geehrte Eltern,

der/die behandelnde Arzt/Ärztin Ihres Kindes hat Sie gebeten Ihre Einwilligung zur Teilnahme an der o.g. Studie zu geben. Unsere zuständige Ethikkommission hat dieses Projekt überprüft und eine positive Beurteilung zur Durchführung der Studie abgegeben. Bitte lesen Sie die folgenden Informationen in Ruhe durch. Sie werden anschließend Zeit haben, alle noch offenen Fragen zu stellen.

Auf den nachfolgenden Seiten bitten wir Sie um die Erlaubnis zur Entnahme einiger Milliliter Blut Ihres Kindes, um bestimmte Gene zu untersuchen, die im Zusammenhang mit seinem Herzfehler stehen.

#### Hintergrund und Ziele der Studie

Im Rahmen dieser Studie werden bei Kindern und Erwachsenen mit einem angeborenen, isolierten Vorhofseptumdefekt vom Sekundumtyp des Herzens drei Gene auf Mutationen untersucht, die für die Entwicklung des Herzens während der Embryonalphase von Bedeutung sind. Ziel hierbei ist die Entdeckung von genetischen Ursachen von Herzfehlbildungen. Dies ist von großer Bedeutung für die kardiale und nicht kardiale Langzeitprognose von Patienten mit angeborenen Herzfehlern.

Dabei ist das komplexe Wechselspiel zwischen primär genetischer Läsion und modifiziert genetischen und nichtgenetischen Einflüssen aufzuklären.

#### Studienablauf, zeitlicher Ablauf und Dauer der Studie

Wenn Sie Ihre Einwilligung zur Teilnahme an dieser Studie geben, werden Ihrem Kind – während einer routinemäßigen Untersuchung (z.B. eine reguläre Blutentnahme oder eine Herzkatheteruntersuchung) – zwei zusätzliche Röhrchen Blut zu je neun Millilitern abgenommen und danach in ein genetisches Labor zur weiteren Aufarbeitung versendet. Die Blutproben werden ausschließlich im Rahmen der o.g. Studie verwendet.

Neben der genetischen Screeninguntersuchung erfolgt die Dokumentation verschiedener Parameter und Untersuchungsbefunde (Echokardiographie, Medikation, etc.), die im Rahmen der Routineuntersuchungen erhoben werden.

#### Risiken und Nutzen

Bei der hier beschriebenen Studie handelt es sich um eine reine Beobachtungsstudie.

Es bestehen keine durch die Studie hervorgerufene Risiken, da lediglich Blutentnahmen im Rahmen der Routineuntersuchungen und -kontrollen erfolgen. Die im Rahmen eines Vorhofseptumdefekts vom Sekundumtyp üblichen diagnostischen und therapeutischen Interventionen werden durch die Studie nicht beeinflusst.

#### Kosten und Vergütungen

Durch die Teilnahme an dieser Studie entstehen weder Ihnen noch der Klinik oder den Krankenkassen über die üblichen Behandlungskosten hinausgehende zusätzliche Kosten. Sie erhalten für die Teilnahme keine Vergütung.

### **Teilnahmevoraussetzungen**

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Während der Teilnahme an der Studie sollten Sie sich an die Anweisungen des/der Studienarztes/-ärztin halten. Sie können ohne Angabe von Gründen eine Teilnahme ablehnen oder Ihre Einwilligung jederzeit zurückziehen, ohne dass Ihnen dadurch Nachteile entstehen. Ebenso kann Ihr/e Arzt/Ärztin die Teilnahme an der klinischen Studie aus Sicherheitsgründen jederzeit beenden.

### **Information zum Datenschutz**

Die im Rahmen dieser klinischen Studie erhobenen personenbezogenen Daten und Gesundheits- bzw. Krankheitsdaten sowie die Ergebnisse der im Rahmen der Studienteilnahme erfolgten Untersuchungen werden im Falle Ihrer Studienteilnahme zu diesem Zweck folgendermaßen verarbeitet:

Die persönlichen Daten (Name, Vorname, Geschlecht, Geburtsdatum und Adresse) werden durch den/die Sie aufklärende/n Studienarzt/-ärztin erhoben und von diesem auf der Einwilligungserklärung vermerkt. Die Einwilligungserklärung mit diesen unverschlüsselten personenbezogenen Angaben bleibt bei dem/der Studienarzt/-ärztin. Die im Rahmen dieser Studie erhobenen und gewonnenen Gesundheits- bzw. - Krankheitsdaten sowie die Ergebnisse der klinischen Studie werden verschlüsselt und in dieser Form elektronisch gespeichert.

Die Entnahme, Herauslösung, Verschlüsselung, Untersuchung sowie verschlüsselten Lagerung des im Rahmen dieser Studie entnommenen Blutes und der hieraus ggf. entnommenen genetischen Materialien für den Zweck der Studie erfolgt durch den/die Studienarzt/-ärztin bzw. das Institut für Laboratoriumsmedizin & Pathobiochemie der Charité, Universitätsmedizin Berlin, CVK (*Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin*) und das Kardiogenetische Labor der Charité, Campus Buch (*Haus 129, Wiltbergstr. 50, 13125 Berlin*).

Die verschlüsselten Daten können nur durch den Studienarzt/-ärztin mit Ihren persönlichen Daten in Verbindung gebracht werden. Die Ergebnisse der Studie werden ohne Nennung Ihres Namens oder anderer Ihre Person erkennen lassender Angaben (d.h. anonym) veröffentlicht und weitergegeben an:

- das *Institut für Laboratoriumsmedizin & Pathobiochemie der Charité*, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin und das *Kardiogenetische Labor der Charité*, Campus Buch, Haus 129, Wiltbergstr. 50, 13125 Berlin zur wissenschaftlichen Aufarbeitung und Auswertung der entnommenen Blutproben,
- die zuständige(n) Überwachungsbehörde(n) (*Landesamt oder Bezirksregierung*), Bundesoberbehörde (*Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn*), Ethik-Kommission und ausländischen Behörden und europäische Datenbank zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Studie, zur Bewertung von Studienergebnissen und unerwünschter Ereignisse.

Zur Überwachung der Studie kann ein autorisierter und zur Verschwiegenheit verpflichteter Beauftragter des Auftraggebers, der zuständigen inländischen und ausländischen Überwachungs- und Zulassungsbehörden in personenbezogenen Daten Einsicht einnehmen, soweit dies für die Überprüfung der Studie notwendig ist. Für diese Maßnahme ist der Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht entbunden.

Die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung der Angaben ist unwiderruflich.

Die gespeicherten oder sonst aufgezeichneten Daten und personenbezogenen Angaben sowie der Schlüssel zu ihrer Entschlüsselung werden gemäß der gesetzlichen Aufbewahrungsfristen gespeichert/archiviert und danach gelöscht/ vernichtet.

**Die Teilnahme an der Studie kann jederzeit beendet werden. Im Fall dieses Widerrufs werden die bis zu diesem Zeitpunkt gespeicherten Daten ohne Namensnennung weiterhin verwendet, soweit dies erforderlich ist.**

**Wir wünschen Ihnen und Ihrem Kind alles Gute.**

Prof. Dr. F. Berger

Dr. K. Schmitt

Eva-Maria Esenwein





Deutsches Herzzentrum Berlin  
Klinik für Angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie  
Augustenburger Platz  
13353 Berlin

## Patienteninformation für Jugendliche (14 - 17 Jahre)

### „Ätiologie angeborener Herzfehler: Klinische, genetische und zelluläre Aspekte“

Verantwortlicher Abteilungsleiter:	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
Studienleiter:	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
Studienärztinnen:	Dr. K. Schmitt Eva-Maria Esenwein (Doktorandin)	

#### Liebe/r

Dein/e behandelnde/r Arzt/Ärztin hat dich gebeten deine Einwilligung zur Teilnahme an der o.g. Studie zu geben. Unsere zuständige Ethikkommission hat dieses Projekt überprüft und eine positive Beurteilung zur Durchführung der Studie abgegeben. Bitte lies dir die folgenden Informationen in Ruhe durch. Du wirst anschließend Zeit haben, alle noch offenen Fragen zu stellen.

Auf den nachfolgenden Seiten bitten wir dich um einige Milliliter Blut zur Untersuchung nach Veränderungen auf bestimmten für die Herzentwicklung wichtigen Genen.

#### Hintergrund und Ziele der Studie

Im Rahmen dieser Studie werden bei Kindern und Erwachsenen mit einem angeborenen, isolierten Loch in der Vorhofscheidewand des Herzens verschiedene Gene auf Mutationen untersucht, die einen Einfluss auf die Entwicklung des Herzens haben. Ziel hierbei ist die Entdeckung von genetischen Ursachen von Herzfehlbildungen.

#### Studienablauf, zeitlicher Ablauf und Dauer der Studie

Wenn du deine Einwilligung zur Teilnahme an dieser Studie gibst, wird dir einmal - Blut abgenommen. Dieses Blut wird genauer in speziellen Geräten im Labor untersucht. Zur weiteren Beschreibung deines angeborenen Herzfehlers werden Daten, die während der normalen Kontrolluntersuchung bei dir erhoben werden, in einem zentralen Computer gespeichert. Dazu gehören verschiedene Parameter und Untersuchungsbefunde (Echokardiographie, Medikation, etc.), die im Rahmen der Routineuntersuchungen erhoben werden.

#### Risiken und Nutzen

Bei der hier beschriebenen Studie handelt es sich um eine reine Beobachtungsstudie. Alle Patienten, die in diese Studie eingeschlossen werden haben den gleichen Herzfehler wie du. Ziel dieser Studie ist es deshalb, eine mögliche genetische Ursache dafür zu finden. In weiterer Zukunft können dann die behandelnden Ärzte früher schon Aussagen über den Herzfehler, seinen Verlauf und eventuelle Ausprägung bei Geschwisterkindern geben.

Durch die Studie hervorgerufene Risiken bestehen nicht, da lediglich Blutentnahmen im Rahmen der Routinekontrollen (in den meisten Fällen über einen noch liegenden Venenkatheter) erfolgen. Es erfolgt keine Therapie.

#### Kosten und Vergütungen

Durch die Teilnahme an dieser Studie entstehen weder deinen Eltern noch der Klinik oder den Krankenkassen über die üblichen Behandlungskosten hinausgehende zusätzliche Kosten. Du erhältst für die Teilnahme keine Vergütung.

### **Teilnahmevoraussetzungen**

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Während der Teilnahme an der Studie solltest du dich an die Anweisungen des/der Studienarztes/-ärztin halten. Du kannst ohne Angabe von Gründen eine Teilnahme ablehnen oder deine Einwilligung jederzeit zurückziehen, ohne dass dir dadurch Nachteile entstehen. Ebenso kann dein Arzt die Teilnahme an der klinischen Studie aus Sicherheitsgründen jederzeit beenden.

### **Information zum Datenschutz**

Die im Rahmen dieser klinischen Studie erhobenen personenbezogenen Daten und Gesundheits- bzw. Krankheitsdaten sowie die Ergebnisse der im Rahmen der Versuchsteilnahme erfolgten Untersuchungen werden im Falle Deiner Studienteilnahme zu diesem Zweck folgendermaßen verarbeitet:

Die persönlichen Daten (Name, Vorname, Geschlecht, Geburtsdatum und Adresse) werden durch den/die dich aufklärende/n Studienarzt/-ärztin erhoben und von diesem auf der Einwilligungserklärung vermerkt. Die Einwilligungserklärung mit diesen unverschlüsselten personenbezogenen Angaben bleibt bei dem/der Studienarzt/-ärztin. Die im Rahmen dieser Studie erhobenen und gewonnenen Gesundheits- bzw. - Krankheitsdaten sowie die Ergebnisse der klinischen Studie werden verschlüsselt und in dieser Form elektronisch gespeichert.

Die Entnahme, Herauslösung, Verschlüsselung, Untersuchung sowie verschlüsselten Lagerung des im Rahmen dieser Studie entnommenen Blutes und der hieraus ggf. entnommenen genetischen Materialien für den Zweck der Studie erfolgt durch den/die Studienarzt/-ärztin bzw. das Institut für Laboratoriumsmedizin & Pathobiochemie der Charité, Universitätsmedizin Berlin, CVK (*Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin*) und das Kardiogenetische Labor der Charité, Campus Buch (*Haus 129, Wiltbergstr. 50, 13125 Berlin*).

Die verschlüsselten Daten können nur durch den Studienarzt/-ärztin mit deinen persönlichen Daten in Verbindung gebracht werden. Die Ergebnisse der Studie werden ohne Nennung deines Namens oder andere deine Person erkennen lassende Angaben (d.h. anonym) veröffentlicht.

Die gespeicherten oder sonst aufgezeichneten Daten und personenbezogenen Angaben sowie der Schlüssel zu ihrer Entschlüsselung werden gemäß der gesetzlichen Aufbewahrungsfristen gespeichert/archiviert und danach gelöscht/ vernichtet.

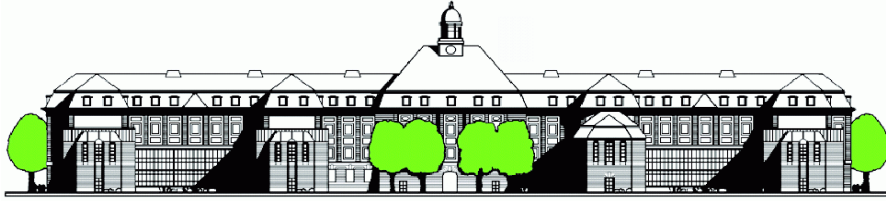
Du kannst jederzeit einer Weiterverarbeitung der Daten widersprechen. In diesem Fall werden die über dich gespeicherten persönlichen Angaben und der dazugehörige Schlüssel gelöscht/vernichtet, soweit nicht gesetzliche oder berufsrechtliche Aufbewahrungspflichten dem entgegenstehen. Auf deinen Antrag bzw. einen Antrag deiner Eltern hin werden dir die Ergebnisse der im Rahmen dieser Studie vorgenommenen Untersuchungen mitgeteilt.

Wir wünschen dir alles Gute und freuen uns, wenn du an der Studie teilnimmst.

Prof. Dr. F. Berger

Dr. K. Schmitt

Eva-Maria Esenwein



Deutsches Herzzentrum Berlin  
Klinik für Angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie  
Augustenburger Platz  
13353 Berlin

## Patienteninformation für Kinder (10 - 13 Jahre)

### „Ätiologie angeborener Herzfehler: Klinische, genetische und zelluläre Aspekte“

Verantwortlicher Abteilungsleiter:	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
Studienleiter:	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
Studienärztinnen:	Dr. K. Schmitt	
	Eva-Maria Esenwein (Doktorandin)	

#### Liebe/r

Dein behandelnder Arzt Dr. \_\_\_\_\_ hat dich gebeten, deine Zustimmung zur Teilnahme an einer Forschungsstudie zu geben.

Bitte lies dir die folgenden Informationen in Ruhe durch oder frage jemanden, ob er es dir vorliest. Du kannst das Blatt auch behalten und mit nach Hause nehmen. Du wirst anschließend Zeit haben, alle noch offenen Fragen zu stellen.

#### Was ist eine Zustimmung?

Mit einer Zustimmung sagst du, dass du einverstanden bist, etwas zu tun oder bei etwas mitzumachen, ohne dass dich jemand dazu zwingt.

#### Was ist eine Forschungsstudie?

Bei einer Forschungsstudie versucht man, mit einem sorgfältig geplanten Versuch die Antwort auf eine wichtige Frage zu finden. Bei dieser Forschungsstudie wollen wir herausfinden, ob bestimmte vererbte Anlagen verantwortlich für deinen angeborenen Herzfehler sind und eventuell ein Geschwisterkind von dir auch erkranken könnte. Du hast ein Loch in der Scheidewand deines Herzens und wir möchten im Rahmen dieser Studie herausfinden, was dafür die Ursache sein könnte. Dazu benötigen wir etwas Blut, um dieses genau untersuchen zu können.

Wir bitten dich, bei dieser Studie mitzumachen, weil du genau den Herzfehler hast, den wir untersuchen wollen. Du musst aber nicht mitmachen, wenn du nicht willst. Außer dir werden noch über 100 andere Kinder bei dieser Studie mitmachen.

Wir bitten dich nur um einige Milliliter Blut (weniger als 1 Esslöffel voll).

Alle Aufzeichnungen über deine Krankheit sind vertraulich. Die für die Auswertung der Forschungsstudie wichtigen Daten werden alle anonym, d.h. ohne deinen Namen, gespeichert und ausgewertet. Die Ergebnisse können – ohne Nennung deines Namens – weitergegeben und in einer Zeitschrift veröffentlicht werden.

#### Musst du bei dieser Studie mitmachen?

Nein! Du kannst selbst entscheiden, ob du mitmachen möchtest. Niemand wird dir böse sein, wenn du nicht mitmachen willst. An deiner Behandlung durch deinen Arzt wird sich nichts ändern. Auch wenn die Studie schon begonnen hat, kannst du jederzeit damit aufhören – du musst es nur deinen Eltern oder deinem Arzt sagen.

#### Wie läuft die Studie ab, wenn du dich zum Mitmachen entscheidest?

Wenn du deine Einwilligung zur Teilnahme an dieser Studie gibst, wird dir ein wenig Blut abgenommen und es werden verschiedene Untersuchungsergebnisse vom Herzultraschall, deine Größe, Gewicht, etc., die bei den normalen Kontrolluntersuchungen aufgeschrieben werden in einer großen Tabelle zusammengefasst.

**Wenn du mitmachst, kann es Nebenwirkungen geben?**

Nein! Die Blutentnahmen werden nur im Rahmen der Routinekontrollen (in den meisten Fällen über einen noch liegenden Zugang) erfolgen. Du bekommst nicht extra Medikamente oder andere Untersuchungen.

**Was ist das Gute daran, wenn du mitmachst?**

Wir hoffen, dass wir anhand deines Blutes in Zukunft früher und einfacher wissen, ob das Herz eine Besonderheit, vielleicht sogar genau so ein Loch in der Herzscheidewand wie bei dir, aufweist.

**Wir wünschen dir alles Gute.**

Prof. Dr. F. Berger

Dr. K. Schmitt

Eva-Maria Esenwein



Deutsches Herzzentrum Berlin  
Klinik für Angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie  
Augustenburger Platz  
13353 Berlin

## Einwilligungserklärung

### „Ätiologie angeborener Herzfehler: Klinische, genetische und zelluläre Aspekte“

<b>Verantwortlicher Abteilungsleiter:</b>	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
<b>Studienleiter:</b>	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
<b>Studienärztinnen:</b>	Dr. K. Schmitt Eva-Maria Esenwein (Doktorandin)	

Patientenaufkleber

Hiermit bestätige ich, dass ich durch Herrn/Frau Dr. \_\_\_\_\_ mündlich und schriftlich über das Wesen, die Bedeutung, Tragweite und Risiken der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der o.g. Studie die von der Klinik für Angeborene Herzfehler / Kinderkardiologie des Deutschen Herzzentrums Berlin, DHZB, durchgeführt wird, informiert wurde und ausreichend Gelegenheit hatte, meine Fragen mit dem/der Prüfarzt/-ärztin zu klären.

Ich habe die mir vorgelegte Patienteninformation vom 20.07.2005 verstanden und je eine Ausfertigung derselben und dieser Einwilligungserklärung erhalten. Ich befürworte meine Teilnahme an der o.g. Studie.

Mir ist bekannt, dass ich meine Einwilligung jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich zurückziehen und einer Erhebung und Weiterverarbeitung meiner Daten jederzeit widersprechen kann.

Ich bin damit einverstanden, dass Daten, die im Rahmen der Behandlung routinemäßig erhoben werden, auch im Rahmen der Studie verwendet werden dürfen.

Ich wurde über den bestehenden Versicherungsschutz und die damit für mich verbundenen Verpflichtungen informiert.

Ich weiß, dass die Ergebnisse dieser Studie veröffentlicht werden.

## Einwilligungserklärung zur Datenverarbeitung

Ich willige ein, dass das Deutsches Herzzentrum Berlin personenbezogene Daten und Gesundheits- bzw. Krankheitsdaten meiner Person im Rahmen und zum Zweck des o.g. Forschungsvorhabens verarbeitet.

Ich willige ein, dass diese im Rahmen der o.g. Studie erhobenen Krankheitsdaten aufgezeichnet und in pseudonymisierter Form gespeichert werden.

Ich erkläre mich auch mit einer Information meines Hausarztes durch den Studienarzt über die Teilnahme an der o.g. Studie einverstanden.

Berlin, \_\_\_\_\_  
Ort, Datum Uhrzeit

\_\_\_\_\_  
Unterschrift Studienteilnehmer/-nehmerin

\_\_\_\_\_  
Name in Druckbuchstaben

Hiermit erkläre ich, den/die Studienteilnehmer/-teilnehmerin am \_\_\_\_\_ über Wesen, Bedeutung, Tragweite und Risiken der o.g. Studie mündlich und schriftlich aufgeklärt und ihm/ihr eine Ausfertigung der Information sowie dieser Einwilligungserklärung übergeben zu haben.

Berlin, \_\_\_\_\_  
Ort, Datum Aufklärende/r Prüfarzt/-ärztin



Deutsches Herzzentrum Berlin  
Klinik für Angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie  
Augustenburger Platz  
13353 Berlin

## Einwilligungserklärung für Eltern / Erziehungsberechtigte

### „Ätiologie angeborener Herzfehler: Klinische, genetische und zelluläre Aspekte“

<b>Verantwortlicher Abteilungsleiter:</b>	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
<b>Studienleiter:</b>	Prof. Dr. F. Berger	Tel.: 030/4593-2800
<b>Studienärztinnen:</b>	Dr. K. Schmitt Eva-Maria Esenwein (Doktorandin)	

Patientenaufkleber

Hiermit bestätige/n ich/wir, dass ich/wir durch Herrn/Frau Dr. \_\_\_\_\_ mündlich und schriftlich über das Wesen, die Bedeutung, Tragweite und Risiken der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der o.g. Studie die von der Klinik für Angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie des Deutschen Herzzentrums Berlin, DHZB, durchgeführt wird, informiert wurde/n und ausreichend Gelegenheit hatte/n, meine/unsere Fragen hierzu in einem Gespräch mit dem/der Prüfartz/-ärztin zu klären.

Ich/Wir habe/n insbesondere die mir/uns vorgelegte Patienteninformation vom 20.07.2005 verstanden und eine Ausfertigung derselben und dieser Einwilligungserklärung erhalten. Ich/Wir befürworte/n, dass mein/unser Kind an der o.g. Studie teilnimmt.

Mir/Uns ist bekannt, dass ich/wir meine/unsere Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich/uns bzw. mein/unser Kind zurückziehen und einer Erhebung und Weiterverarbeitung der Daten meines/unseres Kindes jederzeit widersprechen kann/können.

Ich/Wir sind damit einverstanden, dass Daten, die im Rahmen der Behandlung routinemäßig erhoben werden auch im Rahmen der Studie verwendet werden dürfen.

Ich/Wir wurde/n über den bestehenden Versicherungsschutz und die damit für mich/uns verbundenen Verpflichtungen informiert.

Ich/Wir weiß/wissen, dass die Ergebnisse dieser Studie publiziert werden.

## Einwilligungserklärung zur Datenverarbeitung

Ich/Wir willige/n ein, dass das Deutsches Herzzentrum Berlin personenbezogene Daten und Gesundheits- bzw. Krankheitsdaten meines/unseres Kindes im Rahmen und zum Zweck des o.g. Forschungsvorhabens verarbeitet.

Ich/Wir willige/n ein, dass diese im Rahmen der o.g. Studie erhobenen Krankheitsdaten aufgezeichnet und in pseudonymisierter Form gespeichert werden.

Ich/Wir erkläre/n mich/uns auch mit einer Information des/der Hausarztes/-ärztin durch den/die Studienarzt/-ärztin über die Teilnahme an der o.g. Studie einverstanden.

Berlin,

Ort, Datum

Uhrzeit

\_\_\_\_\_  
Unterschrift Eltern (oder gesetzliche/r Vertreter/-in, Vormund, Betreuer/-in)

\_\_\_\_\_  
Name in Druckbuchstaben (wenn abweichend von Studienteilnehmer/-in)

Hiermit erkläre ich, den/die o.g. Versuchsteilnehmer/in am \_\_\_\_\_ über Wesen, Bedeutung, Tragweite und Risiken der o.g. Studie mündlich und schriftlich aufgeklärt und ihm/ihr eine Ausfertigung der Information sowie dieser Einwilligungserklärung übergeben zu haben.

Berlin,

Ort, Datum

Aufklärende/r Prüfarzt/-ärztin





Deutsches Herzzentrum Berlin  
Klinik für Angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie  
Augustenburger Platz  
13353 Berlin

## Einwilligungserklärung für Jugendliche (14 - 17 Jahre)

„Ätiologie angeborener Herzfehler: Klinische, genetische und zelluläre Aspekte“

**Verantwortlicher Abteilungsleiter:**

Prof. Dr. F. Berger

Tel.: 030/4593-2800

**Studienleiter:**

Prof. Dr. F. Berger

Tel.: 030/4593-2800

**Studienärztinnen:**

Dr. K. Schmitt

Eva-Maria Esenwein (Doktorandin)

Patientenaufkleber

Hiermit bestätige ich, dass ich durch Herrn/Frau Dr. \_\_\_\_\_ mündlich und schriftlich über das Wesen, die Bedeutung, Tragweite und Risiken der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der o.g. Studie die von der Klinik für Angeborene Herzfehler / Kinderkardiologie des Deutschen Herzzentrums Berlin, DHZB, durchgeführt wird, informiert wurde und ausreichend Gelegenheit hatte, meine Fragen mit dem/der Prüfarzt/-ärztin zu klären.

Ich habe die mir vorgelegte Patienteninformation vom 20.07.2005 verstanden und je eine Ausfertigung derselben und dieser Einwilligungserklärung erhalten. Ich befürworte meine Teilnahme an der o.g. Studie.

Mir ist bekannt, dass ich meine Einwilligung jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich zurückziehen und einer Erhebung und Weiterverarbeitung meiner Daten jederzeit widersprechen kann.

Ich bin damit einverstanden, dass Daten, die im Rahmen der Behandlung routinemäßig erhoben werden, auch im Rahmen der Studie verwendet werden dürfen.

Ich wurde über den bestehenden Versicherungsschutz und die damit für mich verbundenen Verpflichtungen informiert.

Ich weiß, dass die Ergebnisse dieser Studie veröffentlicht werden.

## Einwilligungserklärung zur Datenverarbeitung

Ich willige ein, dass das Deutsches Herzzentrum Berlin personenbezogene Daten und Gesundheits- bzw. Krankheitsdaten meiner Person im Rahmen und zum Zweck des o.g. Forschungsvorhabens verarbeitet.

Ich willige ein, dass diese im Rahmen der o.g. Studie erhobenen Krankheitsdaten aufgezeichnet und in pseudonymisierter Form gespeichert werden.

Ich erkläre mich auch mit einer Information meines Hausarztes durch den Studienarzt über die Teilnahme an der o.g. Studie einverstanden.

Berlin,

Ort, Datum

Uhrzeit

\_\_\_\_\_  
Unterschrift (minderjährige/r) Studienteilnehmer/-nehmerin

\_\_\_\_\_  
Name in Druckbuchstaben

\_\_\_\_\_  
Unterschrift der/des Erziehungsberechtigten

Hiermit erkläre ich, den/die Studienteilnehmer/-teilnehmerin am \_\_\_\_\_ über Wesen, Bedeutung, Tragweite und Risiken der o.g. Studie mündlich und schriftlich aufgeklärt und ihm/ihr eine Ausfertigung der Information sowie dieser Einwilligungserklärung übergeben zu haben.

Berlin,

Ort, Datum

\_\_\_\_\_  
Aufklärende/r Prüfarzt/-ärztin



Deutsches Herzzentrum Berlin  
Klinik für Angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie  
Augustenburger Platz  
13353 Berlin

## Einwilligungserklärung für Kinder (10 - 13 Jahre)

### „Ätiologie angeborener Herzfehler: Klinische, genetische und zelluläre Aspekte“

- ♥ Hast du alles über diese Studie gelesen oder gehört? Ja / Nein
- ♥ Hast du verstanden, warum diese Studie gemacht wird? Ja / Nein
- ♥ Hast du alle Fragen gestellt, die du stellen wolltest? Ja / Nein
- ♥ Hast du Zeit gehabt nachzudenken, ob du mitmachen möchtest? Ja / Nein
- ♥ Möchtest du mitmachen? Ja / Nein

Wenn du mitmachen möchtest, schreibe bitte deinen richtigen Namen unten hin:

Dein Name: \_\_\_\_\_

Heutiges Datum und Uhrzeit: \_\_\_\_\_

#### Erster Elternteil/Vormund

Name in Druckschrift: \_\_\_\_\_

Datum und Uhrzeit: \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_

#### Zweiter Elternteil/Vormund

Name in Druckschrift: \_\_\_\_\_

Datum und Uhrzeit: \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_

Prüfarzt:

Name in Druckschrift: \_\_\_\_\_

Datum und Uhrzeit: \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_