

**Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik  
Tübingen  
Abteilung Innere Medizin III  
(Schwerpunkte Kardiologie und Kreislauferkrankungen)  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. M. Gawaz**

**Risikostratifizierung des plötzlichen Herztodes mit Hilfe  
genetischer Einzelbasenpolymorphismen im Apelin-  
und Angiotensinogen-Gen**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Conrad Beckert  
aus  
Zittau**

**2012**

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. J. Schrieck

2. Berichterstatter: Professor Dr. N. Stefan

*Für meine Familie*

## Inhaltsverzeichnis

|          |   |          |
|----------|---|----------|
| <b>1</b> | <b>Einleitung</b>   | <b>7</b> |
| 1.1      | Definition, Epidemiologie und Ätiologie des SCD                           | 7        |
| 1.2      | Pathophysiologie des SCD  | 8        |
| 1.3      | Therapie des SCD  | 9        |
| 1.4      | Bedeutung der Risikostratifikation  | 9        |
| 1.5      | Studienlage   | 10       |
| 1.5.1    | Sekundärprävention  | 10       |
| 1.5.2    | Primärprävention  | 12       |
| 1.5.3    | Empfehlungen der DGK  | 14       |
| 1.5.4    | Hereditäre Erkrankungen   | 14       |
| 1.6      | nicht-invasive elektrophysiologische Risikostratifizierung                | 15       |
| 1.6.1    | T-Wellen-Alternans (TWA)  | 15       |
| 1.6.2    | Signalmittlungs-EKG (SAECG)   | 16       |
| 1.6.3    | QRS-Dauer   | 16       |
| 1.6.4    | Herzfrequenzvariabilität (HRV)  | 17       |
| 1.6.5    | Baro Rezeptor Sensitivität (BRS)  | 17       |
| 1.6.6    | Heart Rate Turbulence (HRT)   | 17       |
| 1.7      | Invasive elektrophysiologische Risikostratifizierung                      | 18       |
| 1.7.1    | Elektrophysiologische Untersuchung und programmierte Ventrikelstimulation | 18       |
| 1.8      | Genetische Analysen zur Risikostratifizierung                             | 19       |
| 1.9      | Hintergrund und Ziel der vorliegenden Arbeit                              | 19       |
| 1.9.1    | Das RAAS – Ein altbekannter kardiovaskulärer Signalweg                    | 20       |
| 1.9.2    | Das Apelin/APJ-System – Ein neuer Signalweg                               | 20       |
| 1.9.3    | Ziele der Studie  | 21       |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>2</b> | <b><i>Patientenkollektiv und Methoden</i></b> ..... | <b>22</b> |
| 2.1      | Überblick .....                                     | 22        |
| 2.2      | Studiendesign und Aufarbeitung der Daten.....       | 22        |
| 2.2.1    | Einschlusskriterien.....                            | 23        |
| 2.2.2    | Ausschlusskriterien.....                            | 23        |
| 2.2.3    | Patientenkollektiv.....                             | 24        |
| 2.2.4    | Studienendpunkte.....                               | 25        |
| 2.2.5    | Genehmigungspflichtige Untersuchungen .....         | 25        |
| 2.3      | Molekularbiologische Methoden.....                  | 25        |
| 2.3.1    | Material.....                                       | 25        |
| 2.3.2    | DNA-Isolierung .....                                | 25        |
| 2.3.3    | Quantifizierung der DNA.....                        | 27        |
| 2.3.4    | Puffer und Lösungen .....                           | 29        |
| 2.3.5    | Gerätschaften und Primer.....                       | 30        |
| 2.4      | Qualitätssicherung.....                             | 30        |
| 2.5      | Statistik.....                                      | 30        |
| <b>3</b> | <b><i>Ergebnisse</i></b> .....                      | <b>32</b> |
| 3.1      | Einfluss des APLN RS3115840 SNP auf VT .....        | 32        |
| 3.2      | Einfluss des AGT RS943580 SNP auf VT.....           | 36        |
| 3.3      | Einfluss des AGT RS2493134 SNP auf VT.....          | 38        |
| 3.4      | Einfluss des AGT RS11122576 SNP auf VT .....        | 40        |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>4</b> | <b><i>Diskussion</i></b> .....                                | <b>42</b> |
| 4.1      | Apelin, ein „neues“ Protein und sein APJ-Rezeptor .....       | 43        |
| 4.1.1    | Auswirkungen auf die kardiale Elektrophysiologie .....        | 45        |
| 4.1.2    | Auswirkung des APLN RS3115840 SNP auf VT .....                | 46        |
| 4.2      | Polymorphismen im RAAS und kardiovaskuläre Erkrankungen ..... | 48        |
| 4.2.1    | Der ACE-I/D Polymorphismus .....                              | 48        |
| 4.2.2    | Der AGT a-20c Polymorphismus .....                            | 48        |
| 4.2.3    | Der AGT M235T Polymorphismus .....                            | 49        |
| 4.2.4    | Der AT-1 Rezeptor-Gen A1166C Polymorphismus .....             | 49        |
| 4.2.5    | Auswirkung des AGT RS943580 SNP auf VT .....                  | 49        |
| 4.2.6    | Auswirkung der AGT RS2493134/RS11122576 SNPs auf VT .....     | 50        |
| 4.3      | Methodische Einschränkungen .....                             | 51        |
| <b>5</b> | <b><i>Zusammenfassung</i></b> .....                           | <b>52</b> |
| <b>6</b> | <b><i>Verzeichnisse</i></b> .....                             | <b>53</b> |
| 6.1      | Abkürzungen .....   | 53        |
| 6.2      | Abbildungen .....   | 57        |
| 6.3      | Tabellen .....  | 58        |
| 6.4      | Literatur .....   | 59        |
| <b>7</b> | <b><i>Danksagung</i></b> .....                                | <b>80</b> |
| <b>8</b> | <b><i>Lebenslauf</i></b> .....                                | <b>81</b> |

# **1 Einleitung**

Der plötzliche Herztod (SCD) fordert in den westlichen Industriestaaten wie den USA mehr Todesfälle als Schlaganfall, Lungen- und Brustkrebs sowie AIDS zusammen [3; 31]. Er stellt somit eine große Herausforderung sowohl für den Arzt als auch das Gesundheitssystem dar. Dass der SCD bei 15% - 20% aller Personen die Erstmanifestation einer koronaren Herzkrankheit ist, hebt schon für sich alleine die immense Bedeutung hervor [182]. Durch die Veränderung der Altersstruktur mit dem zu erwartenden steigenden Anteil der älteren Bevölkerung wird sich dieses Problem noch verschärfen.

## **1.1 Definition, Epidemiologie und Ätiologie des SCD**

Die Definition ist bis heute uneinheitlich. Überwiegend wird der plötzliche Herztod als ein natürlicher, unerwarteter Tod kardialer Genese mit einem Zeitintervall von weniger als einer Stunde zwischen Beginn der Symptome und Eintritt des Todes definiert [14; 56; 134; 193; 195].

Es wird geschätzt, dass die Inzidenz des plötzlichen Herztodes bei 0,1 – 0,2% pro Jahr in der Gesamtbevölkerung liegt. Die exakte Zahl ist in Deutschland nicht bekannt, da es hierzulande keine genaue und quantitative Katalogisierung der Todesfälle mit Berücksichtigung der in der Definition des plötzlichen Herztodes gegebenen Umstände gibt. Seine Häufigkeit kann folglich nur grob geschätzt werden, indem Stichproben und/oder Untersuchungen aus anderen Industriestaaten herangezogen werden. So wird in den USA die Inzidenz mit 1-2 Fällen auf 1000 Einwohner pro Jahr (0,1-0,2%) angegeben, was einer absoluten Anzahl von 300.000 bis 500.000 entspricht [61; 73; 102; 184; 193]. Eine Arbeitsgruppe in den Niederlanden fand eine ähnliche jährliche Inzidenz von 0,1% [48]. In der Bundesrepublik Deutschland geht man somit davon aus, dass jährlich etwa 100.000 bis 120.000 Menschen an einem plötzlichen Versagen der Herzfunktion versterben [133]. Vorrangig tritt dieses Ereignis zwischen dem 75. und 85. Lebensjahr auf [30]. Männer sind häufiger als Frauen

betroffen [95], bei ihnen wurde ein dreifach höheres Risiko beobachtet [102]. Bezogen auf alle Todesfälle hat der plötzliche Herztod einen Anteil von etwa 10-20% [48; 195]. Zwei Drittel ereignen sich außerhalb von Krankenhäusern und machen damit 60-70% der kardialen Sterblichkeit aus [162].

Die koronare Herzkrankheit ist mit 80% die mit Abstand häufigste Ursache für den plötzlichen Herztod [28; 56; 162; 193]. Als zweite Gruppe folgen die dilatative und die hypertrophe Kardiomyopathie. Zu den weitaus selteneren Ursachen gehören angeborene Vitien, entzündliche Erkrankungen wie Myokarditis, arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie, linksventrikuläre Hypertrophie, Amyloidose oder Sarkoidose. Daneben primär elektrische Erkrankungen und genetisch determinierte Ionen-Kanal-Pathologien wie Long-QT-Syndrom, Short-QT-Syndrom, das Brugada-Syndrom oder die katecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie [16; 134; 136; 195]. Hier ist hervorzuheben, dass die Ionenkanal-Erkrankungen bei jungen Menschen mit strukturell unauffälligem Herzen zu mindestens 30% Ursache des SCD sein können [43; 100].

## **1.2 Pathophysiologie des SCD**

Klassischerweise wurden vor allem ventrikuläre Tachyarrhythmien als Auslöser angenommen, jedoch müssen auch andere Gründe wie rupturiertes Aortenaneurysma, Lungenembolie oder der akute Myokardinfarkt in Betracht gezogen werden [149]. Folglich stellen die Arrhythmien nur eine Untergruppe des plötzlichen Herztodes dar [174]. Zu diesen Arrhythmien lassen sich das Kammerflimmern, Kammertachykardien und Torsade-de-pointes bei Patienten mit oder ohne bekannter struktureller Herzerkrankung zählen.

Lebensbedrohliche VT/VF entstehen durch morphologische und elektrophysiologische Veränderungen der Ventrikel. Durch Dilatation des linken respektive beider Ventrikel, Hypertrophie und Narbenbildung (insbes. nach Myokardinfarkt) mit regionalen Wandbewegungsstörungen, kommt es zu einem mechanischen bzw. „strukturellen Remodeling“. Die akute oder chronische



Ischämie spielt dabei die größte Rolle [135]. Veränderungen der Ionenkanalfunktion, Störung von Depolarisation/Repolarisation und veränderte Leitungsgeschwindigkeiten führen zu einem „elektrischen Remodeling“. In beiden Fällen besteht ein Ungleichgewicht des autonomen Nervensystems mit einer verminderten Aktivität des Parasympathikus und einem erhöhten Einfluss des Sympathikus [85].

Bei Erwachsenen tritt initial in 75% - 80% aller Fälle beim plötzlichen Herztod eine ventrikuläre Tachykardie auf. Besonders bei Patienten mit stark beeinträchtigter linksventrikulärer Funktion [85] kann die VT in Kammerflimmern degenerieren und schließlich nach wenigen Minuten in der Asystolie enden [15; 40]. Primäre Bradyarrhythmien, einschließlich AV-Block und Sinusknoten-Arrest, sind mit 15%-20% wesentlich seltener [15; 120].

### ***1.3 Therapie des SCD***

Die Therapie der Wahl bei Kammerflimmern und pulsloser ventrikulärer Tachykardie ist, neben der kardiopulmonalen Reanimation, die Defibrillation [75]. 1980 wurden die ersten implantierbaren Kardioverter/Defibrillatoren (ICDs) in die klinische Medizin eingeführt [127]. Sie sind in der Lage, ventrikuläre Tachykardien oder Kammerflimmern präzise zu erkennen und effektiv zu beenden [127; 190].

### ***1.4 Bedeutung der Risikostratifikation***

Eine ICD-Implantation ist als invasives Verfahren mit potentiellen Risiken und Nebenwirkungen für den Patienten verbunden. Des Weiteren ist die inadäquate Schockabgabe zu nennen, welche neben den entstehenden Schmerzen eine große psychische Belastung für den Patienten darstellt.

Aufgrund dieser möglichen Komplikationen und des finanziellen Aufwandes in Höhe von etwa 20.000€ für die Implantation des Gerätes sowie die im weiteren anfallenden etwa halbjährlichen Nachkontrollen ist es wichtig, die Implantation

nur bei solchen Patienten vorzunehmen, welche ansonsten mit einiger Wahrscheinlichkeit auch einen plötzlichen Herztod erleiden würden und somit profitieren können. Für die Realisierung einer solchen Risikostratifizierung stehen dem behandelnden Arzt gegenwärtig schon mehrere Parameter zur Verfügung. Diese fanden jedoch, wenn überhaupt, in einem ausgesprochen unterschiedlichen Ausmaß Einzug in die klinische Routine.

## **1.5 Studienlage**

Zahlreiche Studien untersuchten in den letzten Jahren, ob der ICD den klinischen Erwartungen tatsächlich gerecht wird. Hierbei muss zwischen Primär- und Sekundärprophylaxe des plötzlichen Herztodes unterschieden werden.

Die Primärprophylaxe bezieht sich auf Patienten, bei denen zwar noch keinerlei lebensbedrohliche ventrikuläre Rhythmusstörungen aufgetreten sind, aber ein gewisses Risikopotential besteht.

Die Sekundärprophylaxe betrifft Patienten, die bereits maligne ventrikuläre Tachyarrhythmien erlitten haben.

### **1.5.1 Sekundärprävention**

Patienten, die nach einem Herzstillstand erfolgreich reanimiert wurden, haben ein sehr hohes Risiko an einem plötzlichen Herztod zu versterben. Die Mortalitätsrate beträgt immerhin 45% in 2 Jahren [162].

Um die Effektivität des ICD im Rahmen der Sekundärprophylaxe zu ermitteln, wurden in verschiedenen Ländern entsprechende Untersuchungen vorgenommen. Die wichtigsten sind nachfolgend zusammenfassend aufgeführt:

*DUTCH-Studie, 1995 [185]*

Bei 60 Patienten mit überlebtem Herzstillstand durch VF/VT, altem Myokardinfarkt und induzierbarer VT in der EPU wurde der Einsatz eines ICD gegenüber einer konventionellen therapeutischen Strategie untersucht. Mit dem ICD gelang eine signifikante Reduktion ( $p=0,02$ ) der primären Endpunkte Tod, wiederholter Herzstillstand und Herztransplantation.

*AVID-Studie (Antiarrhythmics Versus Implantable Defibrillators, 1997) [178]*

Bei 1016 Patienten mit überlebtem Herzstillstand bei VT/VF oder VT mit Synkope bzw. VT mit LVEF  $\leq 40\%$  wurde der ICD mit einer rein medikamentösen Therapie (Amiodaron, Sotalol) verglichen. Es zeigte sich eine Reduktion der Sterblichkeit mit ICD-Therapie um 31% in 3 Jahren gegenüber dem konventionellen Regime.

*CASH-Studie (Cardiac Arrest Study Hamburg, 2000) [108]*

288 Patienten nach Wiederbelebung infolge VT/VF wurden mit ICD respektive Gabe von Antiarrhythmika (Amiodaron, Metoprolol, Propafenon) behandelt. Es wurde eine nicht-signifikante ( $p=0,08$ ) 23%ige Reduktion der Mortalität jeglicher Ursache im ICD-Studienarm gefunden. Beim plötzlichen Herztod ließ sich sogar eine Reduktion um 61% nachweisen.

*CIDS-Studie (Canadian Implantable Defibrillator Study, 2000) [41]*

Diese Studie verglich die ICD-Therapie mit Amiodaron bei 659 Patienten nach überlebten ventrikulären Arrhythmien. Es wurde eine nicht-signifikante ( $p=0,14$ ) Reduktion um 19,7% der Gesamtmortalität und eine nicht-signifikante 33%ige Reduktion der Todesfälle durch Arrhythmien bei den ICD-Patienten ermittelt.

Eine Metaanalyse [42] von CASH, AVID und CIDS verglich die ICD- mit Amiodaron-Therapie und konnte mit ICD einen signifikanten ( $p=0,0006$ ) Überlebensvorteil zeigen.

Auf Grund der Studienlage gab die Deutsche Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung e.V. (DGK) 2006 Indikationsempfehlungen zur

ICD-Implantation [92] heraus. Danach sollten Patienten, welche einen Herz-Kreislauf-Stillstand durch eine VT/VF überlebt haben oder unter hämodynamisch wirksamen ventrikulären Tachykardien leiden (jeweils ohne einmalige bzw. vermeidbare Ursache) der ICD-Implantation zugeführt werden.

### **1.5.2 Primärprävention**

Der Primärprävention kommt eine besondere Bedeutung zu, da schon die erstmalig auftretende ventrikuläre Tachykardie oder das Kammerflimmern wegen der meist zu spät eintreffenden Hilfe mit einer sehr hohen Letalität einhergeht. Deshalb wurden unter der Vorstellung, dass der ICD in der Primärprophylaxe des plötzlichen Herztodes bei sorgfältig ausgewählten Patienten hilfreich sein könnte, ab Mitte der 90er Jahre entsprechende Studien durchgeführt.

*MADIT-Studie (Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial, 1996) [130]*

In dieser ersten Studie wurden 196 Patienten mit einer LVEF  $\leq 35\%$ , Z.n. Myokardinfarkt, asymptomatischer nicht-anhaltender VT, NYHA Stadium I-III der Herzinsuffizienz und induzierbarer VT in der EPU eingeschlossen. Ziel war der Vergleich einer ICD-Therapie mit der konventionellen Therapie. Das Ergebnis war eine 54%ige ( $p=0,009$ ) Reduktion der Gesamtmortalität bei ICD-Therapie. Amiodaron, Betarezeptorenblocker oder andere Antiarrhythmika hatten keinen signifikanten Einfluss.

Als Konsequenz von MADIT wurden damals die ACC/AHA Leitlinien für die ICD Implantation als Primärprophylaxe bei Patienten mit MADIT-Kriterien angepasst.

*MUSTT-Studie (Multicenter Unsustained Tachycardia Trial, 1999) [26]*

Hier erhielten 704 Patienten (LVEF  $\leq$ 40%, NSVT, induzierbare VT in EPU) entweder eine antiarrhythmische Behandlung (ICD bzw. Medikamente) oder keinerlei antiarrhythmische Therapie. Auch hier ergab sich mit ICD eine 51%ige Reduktion der Gesamtmortalität.

*CABG-Patch-Studie (Coronary Artery Bypass Graft Patch, 1997) [18]*

900 Patienten (LVEF  $\leq$ 35%; elektive koronare Bypass-Operation, positives Signalmittelungs-EKG) wurde entweder ein ICD im Zuge einer Bypass-OP implantiert oder nicht. Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen ICD- und Kontrollgruppe.

*MADIT II-Studie (Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial II, 2002) [131]*

Untersucht wurden 1232 Patienten mit früherem Myokardinfarkt und einer LVEF  $\leq$ 30%. Die Randomisierung erfolgte in Patienten mit konventioneller Therapie oder eine ICD-Gruppe. Man konnte eine Reduktion der Gesamtsterblichkeit mit ICD um 31% ( $p=0,016$ ) nachweisen.

*DEFINITE-Studie (Defibrillators in Non-Ischemic Cardiomyopathy Treatment Evaluation, 2004) [93]*

Diese Studie mit 229 Patienten (EF < 36%, nicht-ischämische dilatative Kardiomyopathie, nicht-anhaltende ventrikuläre Tachykardie oder ventrikuläre Extrasystolen im Langzeit-EKG) verglich die rein konventionelle Therapie mit einer konventionellen Therapie inklusive ICD. Mit ICD wurde die Gesamtsterblichkeit nicht signifikant ( $p=0,08$ ) gesenkt (7,9% vs. 14% nach 2 Jahren). In den Subgruppen Männer und Patienten mit NYHA Klasse III zeigte sich jedoch eine signifikante ( $p=0,018$  bzw.  $p=0,02$ ) Reduktion der Mortalität.

*SCD-HeFT-Studie (Sudden Cardiac Death in Heart Failure Trial, 2005 )*[10]

2521 Patienten mit ischämischer oder nicht-ischämischer Herzkrankheit, Herzinsuffizienz und LVEF  $\leq 35\%$  erhielten entweder Amiodaron, ein Placebo oder einen ICD. In der Gruppe mit ICD-Implantation konnte eine 23%ige Reduktion der Gesamtsterblichkeit beobachtet werden.

*COMPANION-Studie (Comparison of Medical Therapy, Pacing and Defibrillation in Heart Failure, 2004 )*[23]

1520 Patienten mit Herzinsuffizienz (NYHA Stadium III-IV, ischämische oder nicht-ischämische KM, QRS-Dauer  $\geq 120$  ms) erhielten entweder eine alleinige optimale medikamentöse Therapie oder diese in Verbindung mit einem biventrikulären Schrittmacher mit bzw. ohne ICD. Die Therapie mit Schrittmacher plus ICD reduzierte das Mortalitätsrisiko um 36%.

### **1.5.3 Empfehlungen der DGK**

Die Deutsche Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung [92] empfiehlt die Primärprophylaxe mittels ICD-Implantation bei Patienten, die innerhalb der ersten 4 Wochen nach Myokardinfarkt eine LVEF  $\leq 35\%$  bei reduziertem autonomen Tonus oder nach mindestens 4 Wochen zurückliegendem Myokardinfarkt eine LVEF  $\leq 30\%$  aufweisen. Zudem wird eine Implantation bei DCM mit einer LVEF  $< 35\%$  und bei Herzinsuffizienz der NYHA Stadien II und III mit einer LVEF  $\leq 35\%$  befürwortet.

Dies gilt auch für nicht aufgezeichnete Synkopen, wenn die LVEF  $\leq 40\%$  beträgt, induzierbare VTs bestehen und andere Ursachen ausgeschlossen sind. Die Empfehlung gilt mit geringerer Evidenz auch für Patienten mit hämodynamisch stabilen Kammertachykardien.

### **1.5.4 Hereditäre Erkrankungen**

Eine große Anzahl erblicher Krankheiten, hauptsächlich myokardiale oder primär elektrische Erkrankungen, gehen mit einem erhöhten Risiko für maligne ventrikuläre Arrhythmien einher. Da diese sehr selten sind, fehlen prospektive, randomisierte Studien dazu. In Übereinstimmung sollten diese Patienten jedoch

nach überlebtem plötzlichem Herzstillstand zur Sekundärprophylaxe ebenfalls einen ICD erhalten [5] .

## **1.6 nicht-invasive elektrophysiologische Risikostratifizierung**

### **1.6.1 T-Wellen-Alternans (TWA)**

Der TWA ist ein EKG-Phänomen, welches 1909 erstmals beschrieben wurde [76]. Er ist eine von Schlag zu Schlag auftretende Schwankung in der Amplitude oder Morphologie der T-Welle im Oberflächen-EKG und repräsentiert eine Abweichung der intrazellulären Kalziumhomöostase, welche für ventrikuläre Tachyarrhythmien prädisponiert [7; 112; 158; 168]. Heute ist es möglich, den TWA-Nachweis auf Mikrovoltebene (sog. Mikrovolt T-Wellen-Alternans, MTWA) und komplett nichtinvasiv im Rahmen eines Routine-Belastungs-EKG zu führen [139]. Der MTWA wird als krankhaft eingestuft, wenn die Höhe der Alternans-Spannung  $\geq 1,9\mu\text{V}$  bei einer HF  $< 110/\text{min}$  beträgt [109]. Andernfalls spricht man von einem normalen oder „unbestimmten“ Ergebnis.

Studien zufolge weisen Patienten nach Myokardinfarkt und positiven TWA ein hohes Risiko für kardiale Ereignisse unabhängig von ihrer LVEF auf, wohingegen Patienten mit negativen TWA eine sehr gute Prognose haben. Dies lässt auf ein effektives Werkzeug zur Identifizierung von Hochrisikopatienten nach MI schließen [38; 82; 84]. Ähnliche Ergebnisse gab es sowohl bei Patienten mit ischämischer als auch mit nicht-ischämischer KM [19; 78; 79]. Hervorzuheben ist der negativ prädiktive Wert für SCD und lebensbedrohliche Arrhythmien von mehr als 95% [139; 159] im Gegensatz zu einem schlechten positiv prädiktiven Wert von nur 9%-15% [20; 159].

In Kombination mit anderen EKG Modalitäten steigt die Aussagekraft des TWA in der Vorhersage von ventrikulären Arrhythmien und des SCD [82; 83]. Ein direkter Vergleich mit SAECG und EPU zeigte einen besseren prädiktiven Wert der MTWA [68; 82; 106].

Eine weitere interessante Strategie stellt statt einer binären („krankhaft“ bzw. „normal/negativ“) die quantitative Beurteilung der TWA dar [180]. So wiesen Patienten mit ventrikulären Tachyarrhythmien und Herzinsuffizienz wegen dilatativer KM höhere TWA-Niveaus als mit ischämischer KM auf [105].

### **1.6.2 Signalmittelungs-EKG (SAECG)**

Das SAECG verbessert das Verhältnis vom Signal zum Hintergrundrauschen eines Oberflächen-EKGs. Hierbei können Signale mit niedriger Amplitude am Ende des QRS-Komplexes identifiziert werden, welche auf Regionen mit krankhaftem Myokard hinweisen (sog. verspätete Potentiale, late potentials, LP). Studien haben gezeigt, dass das Vorhandensein von LPs das Risiko für Arrhythmien nach MI erhöht [22; 170]. Dies zeigte sich auch in einer MUSTT-Studien Population [69].

Im Zeitalter der aggressiven und frühen Reperfusionstherapie ist der prädiktive Wert des SAECG jedoch vermindert [50; 171]. Gleichwohl behält ein negatives Ergebnis von allen 3 Zeitbereichen im SAECG einen hohen negativen prädiktiven Wert und könnte auch hier in Verbindung mit anderen Markern zur Selektion von Patienten mit niedrigem Risiko nützlich sein [109].

### **1.6.3 QRS-Dauer**

Die Rolle der QRS-Dauer für die Risikostratifizierung des SCD ist bisher nicht eindeutig geklärt. Laut einiger Studien repräsentiert sie einen unabhängigen Prädiktor [71; 150; 194], andere konnten dagegen keinen signifikanten Zusammenhang nachweisen [70; 130]. Übereinstimmender ist die Datenlage für die nicht-ischämischen KM, wo kein signifikant prädiktiver Wert nachgewiesen werden konnte [72; 77; 93].



#### **1.6.4 Herzfrequenzvariabilität (HRV)**

Die HRV ist eine Variation von Schlag zu Schlag im Herzzyklus und unterliegt dem autonomen Einfluss auf den Sinusknoten. Bei einer Reduktion repräsentiert sie eine autonome Fehlregulation und prognostiziert eine gesteigerte kardiale Mortalität [85]. Die Standardabweichung der normal zu normal RR Intervalle (SDNN) ist dabei der nützlichste Wert zur Risikostratifizierung. Hier wurde gezeigt, dass eine eingeschränkte SDNN das Risiko für SCD sowie die Gesamtmortalität bei Patienten nach MI mit oder ohne eingeschränkter LV-Funktion unabhängig vorhersagen kann [29; 111; 121; 196].

#### **1.6.5 Baro Rezeptor Sensitivität (BRS)**

Die BRS beschreibt die Empfindlichkeit der Barorezeptoren auf Schwankungen von Blutdruck und Herzfrequenz und dient zur quantitativen Beurteilung des autonomen Nervensystems [12; 13; 49]. Im Aortenbogen und im Carotissinus befindliche Barorezeptoren messen den Blutdruck und die Druckanstiegsgeschwindigkeit. Ein Blutdruckanstieg bewirkt hierbei über den Baroreflex eine Hemmung des Sympathikus und Aktivierung des Parasympathikus mit konsekutiver Abnahme des arteriellen peripheren Widerstandes und der Herzfrequenz. Der BRS wird in ms/mmHg angegeben und sagt aus, um wie viel Millisekunden sich das RR-Intervall im EKG bei einer Blutdruckänderung von 1mmHg verlängert oder verkürzt. Eine niedrige BRS weist auf ein hohes Risiko für Arrhythmien nach MI hin [111]. Der prädiktive Wert lässt sich hierbei in Kombination mit einer EPU [58] und einem TWA [80] erhöhen. Der klinische Nutzen zur Vorhersage von Arrhythmien ist noch nicht bestätigt worden und somit sind weitere Untersuchungen notwendig.

#### **1.6.6 Heart Rate Turbulence (HRT)**

Die HRT ist eine relativ neue Methode zur Bestimmung der Funktion des autonomen Nervensystems und spiegelt die physiologische Reaktion des

Sinusknotens auf ventrikuläre Extrasystolen wider: einer kurzen initialen Beschleunigung folgt eine Verlangsamung der Herzfrequenz. Zwei Parameter (Turbulence Onset und Turbulence Slope) dienen hierbei zur Quantifizierung des Baroreflexes [164], der auf den kurzen Blutdruckabfall reagiert und dadurch die HRT erzeugt [47; 117; 132; 181; 186].

Für Patienten nach Myokardinfarkt oder mit DCM wurde eine prognostische Relevanz gezeigt [11; 164].

## ***1.7 Invasive elektrophysiologische Risikostratifizierung***

### **1.7.1 Elektrophysiologische Untersuchung und programmierte Ventrikelstimulation**

Diese Untersuchungen werden zur Risikostratifizierung des plötzlichen Herztodes häufig verwendet. So haben Patienten im Falle einer Induzierbarkeit von monomorphen VT ein hohes Risiko für weitere arrhythmische Ereignisse, wenn sie anamnestisch einen Myokardinfarkt mit reduzierter LVEF [26; 130; 183], eine ischämische KM mit Synkope [128], eine asymptomatische nicht-anhaltende VT haben [188] oder nach einem Herzstillstand wiederbelebt wurden [41; 108; 178; 187]. Jedoch besteht für Patienten mit ischämischer KM bei negativer Induzierbarkeit weiterhin ein hohes Risiko des SCD [26; 131]. Bei Patienten mit nicht-ischämischer oder hypertropher KM ist der prädiktive Wert der EPS wegen geringer Induzierbarkeitsrate eingeschränkt [126; 148].

Trotz der aussagekräftigen Ergebnisse der ICD-Studien ist noch nicht der optimale Weg zur Risikostratifizierung gefunden worden. Es wurde zwar gezeigt, dass die LVEF bis heute der beste Prädiktor für das Mortalitätsrisiko ist [162], sie stellt jedoch für eine adäquate Risikostratifizierung keinen ausreichenden Parameter dar. Denn obwohl es in der Gruppe mit eingeschränkter LVEF eine große Anzahl an plötzlichen Herztoden gibt, so ist die absolute Anzahl im Vergleich mit der Normalbevölkerung gering.

Für die optimale Therapie der Patienten, bzw. der meist klinisch stummen Risikoträger müssen deswegen weitere Wege gefunden werden, wobei eine Lösung in der genetischen Analyse liegen könnte.

### **1.8 Genetische Analysen zur Risikostratifizierung**

In Bezug auf das SCD-Risiko sind genetische Einflüsse bekannt, die jedoch mehrheitlich seltene Mutationen darstellen und somit auch nur kleine Patientenkollektive repräsentieren. Hierzu zählen das Brugada-Syndrom [24; 34], das idiopathische Kammerflimmern [36], das lange [192] und kurze QT-Syndrom [25] und die katecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie [151]. Eine genetische Analyse kann hierbei zur Identifizierung von Trägern unerkannter Mutationen nützlich sein, trägt jedoch momentan bei diesen Krankheiten wegen fehlender klinischer Evidenz nicht zur Risikostratifizierung bei. Dessen ungeachtet scheint sie bei HCM in der Familie sinnvoll zur präsymptomatischen Diagnose [85]. Bei Familien mit DCM oder arrhythmogener rechtsventrikulärer KM muss der Nutzen erst bestätigt werden.

Neben den seltenen monogenen Erkrankungen durch einen einzigen Gendefekt unterliegen viele Krankheitsbilder multifaktoriellen genetischen Einflüssen. Somit scheint die genetische Ausstattung des Menschen ein für die Prognose komplexer Krankheiten mitbestimmender Faktor zu sein. Mittels heutzutage ohne Probleme durchführbarer genetischer Analysen können klinisch definierte genetische Erkrankungen diagnostiziert werden oder für „stumme“ Träger Risikofaktoren gefunden werden. Erst kürzlich wurden z.B. mehrere genetische Loci identifiziert, welche das Risiko, eine koronare Herzkrankheit zu entwickeln, wesentlich beeinflussen [160].

### **1.9 Hintergrund und Ziel der vorliegenden Arbeit**

Für die genetische Untersuchung von polygenen multifaktoriellen Krankheiten ist es sinnvoll, sich zunächst auf Gene zu konzentrieren, deren Produkte erfahrungsgemäß eine physiologische Bedeutung für den Phänotyp haben.

Besonders aussichtsreiche Kandidaten für eine genetische Risikostratifikation des plötzlichen Herztodes sind Gene, die am myokardialen Remodeling beteiligt sind (RAAS,  $\beta$ -adrenerges System, natriuretische Peptide, Kallikrein-Kinin-System, Matrix-Metalloproteasen, Endothelin, TNF). Ebenfalls Mutationen von Ionenkanälen, besonders nachdem hier zuvor interessante Assoziationen mit anderen kardiovaskulären Krankheiten ausgemacht wurden [1; 2; 6; 44; 52; 57; 64; 110; 144; 145; 147; 165; 172; 173; 179; 191].

### **1.9.1 Das RAAS – Ein altbekannter kardiovaskulärer Signalweg**

#### *Genetische Polymorphismen im Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)*

Innerhalb des RAAS konnten bisher einige Polymorphismen identifiziert und mit einer Vielzahl an kardiovaskulären Krankheiten in Verbindung gebracht werden. Dazu gehören der ACE-I/D Polymorphismus, der Angiotensinogen-Gen M235T Polymorphismus und der Angiotensin II Typ 1 Rezeptor-Gen A1166C Polymorphismus. Im Diskussionsteil dieser Arbeit soll auf diese Mutationen und ihre Verbindungen zu Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems näher eingegangen werden.

### **1.9.2 Das Apelin/APJ-System – Ein neuer Signalweg**

Apelin ist ein endogener Ligand des G-Protein gekoppelten APJ-Rezeptors [113; 176] und u.a. ein physiologischer Bestandteil des Angiotensin/Vasopressin-Systems.

Für die Risikostratifikation des SCD könnte das Apelin/APJ-System äußerst interessant sein, da es wahrscheinlich in der Pathophysiologie von kardiovaskulären Krankheiten eine Rolle spielt [32; 104; 114; 124]. Die bisher bekannten Zusammenhänge werden im Diskussionsteil näher erläutert.

### **1.9.3 Ziele der Studie**

Diese Pilotstudie soll die Bedeutung von bestimmten Einzelbasenpolymorphismen (SNPs) des Apelin- und Angiotensinogen-Gens in Bezug auf ein vermehrtes Auftreten von ventrikulären Tachyarrhythmien bei Trägern von implantierbaren Kardiovertern/Defibrillatoren untersuchen.

Um genetische Alterationen zu finden, sollen Patienten, welche entsprechend ihres Auftretens von Arrhythmien phänotypisiert werden können, diesbezüglich genotypisiert werden. Dies lässt sich bei Trägern von ICDs mit Hilfe der Aufzeichnungsfunktion bewerkstelligen. Die Genotypen werden anschließend mit dem Auftreten von ventrikulären Tachyarrhythmien assoziiert. Würden bestimmte Genotypen als gute Risikofaktoren ausgemacht, könnte nach Validierung durch kontrollierte klinische Studien neben den bereits etablierten Faktoren ein weiteres Hilfsmittel der Risikostratifikation zur Verfügung stehen, um die bisher schwierige Indikationsstellung zur ICD-Implantation exakter gestalten zu können.

Die Entscheidung zur Implantation könnte dann zusätzlich durch den Apelin- oder Angiotensinogen-Genotypus begründet werden. Ein großer klinischer Vorteil wäre dabei die einfache Bestimmung mittels Blutabnahme ohne aufwändige invasive Diagnostik bzw. teure apparative Verfahren.

## **2 Patientenkollektiv und Methoden**

### **2.1 Überblick**

Bei ICD-Trägern wurden genetische Polymorphismen im Apelin- und Angiotensinogen-Gen bestimmt. Nach Erfassung und Auswertung klinischer Parameter wurden die Genotypen der Zeit bis zum Auftreten einer ventrikulären Tachykardie gegenübergestellt.

### **2.2 Studiendesign und Aufarbeitung der Daten**

In dieser Studie wurden Patienten mit ICD eingeschlossen, welche die routinemäßige halb- beziehungsweise jährliche Kontrolluntersuchung in der ICD-/Schrittmacherambulanz der medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Tübingen durchführen ließen.

Alle Patienten haben ihr schriftliches Einverständnis zu den durchgeführten genetischen Untersuchungen und den wissenschaftlichen Auswertungen ihrer klinischen und persönlichen Daten gegeben. Diese Studie wurde von der lokalen Ethikkommission geprüft und genehmigt.

Die Datenerhebung erfolgte dabei im Rahmen dieser Untersuchungen durch Auslesen des ICD-/Schrittmacherspeichers.

Anhand der HapMap-Daten wurden für Angiotensinogen und Apelin folgende tagging-SNPs identifiziert: Apelin RS3115840 und die RS2493134, RS943580 und RS11122576 SNPs des Angiotensinogens. Diese wurden aus dem peripheren venösen Blut der Patienten bestimmt.

Die Krankengeschichte, Medikation sowie für die Studie relevante klinische Daten wurden aus den Patientenakten erhoben und in eine Datenbank eingegeben.

Folgende klinische Daten wurden erfasst:

- Name, Geburtsdatum und Geschlecht
- ICD-Trägerstatus
- Zeitpunkt der Implantation
- Implantation zur Primär- oder Sekundärprophylaxe
- Potentielles Auftreten einer behandlungsbedürftigen VT
- Zeitpunkt dieser erstmaligen VT-Episode
- Zeitdauer von der Implantation bis zum erstmaligen Ereignis
- Aktuelles Elektrokardiogramm (Rhythmus, HF, QT-Zeit, QTc, QRS-Dauer)
- Vorliegen einer KHK und etwaige Interventionen
- Befunde einer evtl. durchgeführten Koronarangiographie
- Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
- Stattgehabter Myokardinfarkt (STEMI/NSTEMI)
- Medikation (Klasse I Antiarrhythmika, Amiodaron, Sotalol, ACE-Hemmer/AT-1-Antagonisten, Digitalis, Aldosteron-Antagonisten)

### **2.2.1 Einschlusskriterien**

- Träger eines ICD bzw. eines Schrittmachers mit der Möglichkeit der Detektion und Speicherung ventrikulärer Arrhythmien
- Alter > 18 Jahre

### **2.2.2 Ausschlusskriterien**

- Einwilligungsunfähigkeit, die die Einrichtung einer gesetzlichen Betreuung erforderlich macht
- Geplante Explantation oder Stilllegung des ICD-/SM-Systems
- Manifeste Hyper- oder Hypothyreose
- Manifeste Elektrolytstörung

### 2.2.3 Patientenkollektiv

**Tabelle 2-1: Patientenkollektiv**

|                                       | Patientenkollektiv n=135 |
|---------------------------------------|--------------------------|
| Durchschnittsalter [Jahre]            | 63 (19-83)               |
| Männliches Geschlecht                 | 81,5% n=110              |
| Ejektionsfraktion [%]                 | 32 (15-65)               |
| ICD zur Primärprävention              | 63,0% n=85               |
| KHK                                   | 64,4% n=87               |
| Vorhofflimmern                        | 21,5% n=29               |
| Ruhepulsfrequenz [Schläge pro Minute] | 67,3 (44-101)            |
| QRS-Dauer [ms]                        | 123 (70-240)             |
| QT-Dauer [ms]                         | 425,5 (334-570)          |
| Antiarrhythmische Therapie:           |                          |
| Klasse I                              | 0% n=0                   |
| Amiodaron                             | 10,4% n=14               |
| Sotalol                               | 1,5% n=2                 |
| Beta-Blocker                          | 94,1% n=127              |
| Digitalis                             | 23% n= 31                |
| ACE-Hemmer,AT1-Rezeptorblocker        | 87,4% n=118              |
| Spirolacton/Eplerenon                 | 48,1% n=65               |



#### **2.2.4 Studienendpunkte**

Die festgelegten Endpunkte der Studie waren eine im ICD-Speicher nachgewiesene und validierte Episode einer anhaltenden ventrikulären Tachykardie, Explantation des ICD, das sogenannte „lost to follow-up“, Tod des Patienten und das Ende des Beobachtungszeitraums.

#### **2.2.5 Genehmigungspflichtige Untersuchungen**

Die Datenerhebung erfolgte wie oben beschrieben im Rahmen von routinemäßigen Kontrolluntersuchungen. Studienbedingt war lediglich eine zusätzliche Blutentnahme zur Genotypisierung notwendig.

Die Ethikkommission Tübingen gab ein positives Votum zur Durchführung der Studie einschließlich der studienbedingten Blutentnahme (172/2005V).

### **2.3 Molekularbiologische Methoden**

#### **2.3.1 Material**

Für die molekularbiologischen Bestimmungen wurde venöses EDTA-Blut verwendet. Nach Zentrifugation (5 min bei 4000 U/min) und Abnahme des Buffy-Coat sowie Überführung in ein Polypropylen-Röhrchen (Falcon) wurde dieses bei -80°C eingefroren.

#### **2.3.2 DNA-Isolierung**

Das Prinzip der Gewinnung von DNA aus peripheren Leukozyten ist die Zerstörung der Zell- und Kernmembran durch Detergentien und die anschließende Reinigung der DNA mittels Alkohol und Extraktion.

*Die DNA-Extraktion aus peripheren Leukozyten erfolgte nach folgendem Protokoll:*

Die Proben wurden bei 37°C aufgetaut.

Das Röhrchen wurde mit RCLB (Red Cell Lysis Buffer) aufgefüllt und 45 min auf dem Drehrad rotiert. RCLB als hypotone Salzlösung führt zum Einströmen von Wasser in die Erythrozyten und bringt sie zum Platzen. Nach 10-minütiger Zentrifugation bei 4000 U/min wurde der Überstand abgekippt und 10 min auf dem Drehrad rotiert. Dieser Vorgang wurde 3-4-mal wiederholt, bis das Pellet frei von Erythrozyten war. Der Zentrifugationsschritt wurde beendet und der letzte Überstand vorsichtig abgeschüttelt.

Auf das Pellet wurden 2150µl WCLB (White Cell Lysis Buffer) und 350µl RCLB gegeben und das Röhrchen auf dem Vortex geschüttelt. Anschließend wurde die Probe eingefroren oder weiter gearbeitet, indem das Röhrchen bei 42°C für mindestens 6h im Hybridisierungssofen schüttelnd inkubiert wurde.

Nach dem Inkubationsschritt wurde die Probe mit 625 µl gesättigter, bei Raumtemperatur gelagerter, Na-Acetatlösung aufgefüllt und für mindestens 30s kräftig geschüttelt.

Die Proteinfällung erfolgte durch 20-minütige Zentrifugation bei 4000 U/min. Der Überstand wurde in ein neues Polypropylen-Röhrchen überführt und mit dem gleichen Volumen, bei Raumtemperatur gelagertem, Isopropanol aufgefüllt.

Die Probe wurde bis zur Herausbildung von DNA-Fäden vorsichtig über Kopf geschwenkt. Nach einer Wartezeit von 30 min wurde sie für 10 min mit 4000 U/min zentrifugiert.

Der Überstand wurde abgekippt und es wurde 1 ml 70% Ethanol (bei RT gelagert) auf das Pellet pipettiert. Pellet und Ethanol wurden in ein 1,5 ml Eppendorf-Cup überführt und 5 min bei 10000 U/min zentrifugiert. Dieser Waschschrift wurde zweimal wiederholt und der Überstand abgekippt. Nach ca. 30 min war das Pellet gut angetrocknet und wurde je nach Größe in 100-300µl steriles Wasser pipettiert.

Am nächsten Tag wurde die Konzentration gemessen.

### 2.3.3 Quantifizierung der DNA

Die Bestimmung der Polymorphismen erfolgte mit der Polymerase-Kettenreaktion und dem TaqMan-Assay.

Die PCR ist ein zyklisches Verfahren zur in vitro Amplifikation von spezifischen Nukleinsäure-Fragmenten. Dieser Vorgang besteht aus 25 bis 50 Zyklen mit jeweils drei Schritten, welche im sog. Thermozykler durchgeführt werden.

1. *Denaturieren*: Durch Temperaturerhöhung auf etwa 95°C trennt sich die doppelsträngige DNA in Einzelstränge auf.

2. *Primerhybridisierung (primer annealing)*: Abkühlen des Gemisches, so dass sich zwei synthetisch hergestellte, spezifische Oligonukleotide, die Primer, an die einzelnen DNA-Stränge anlagern können.

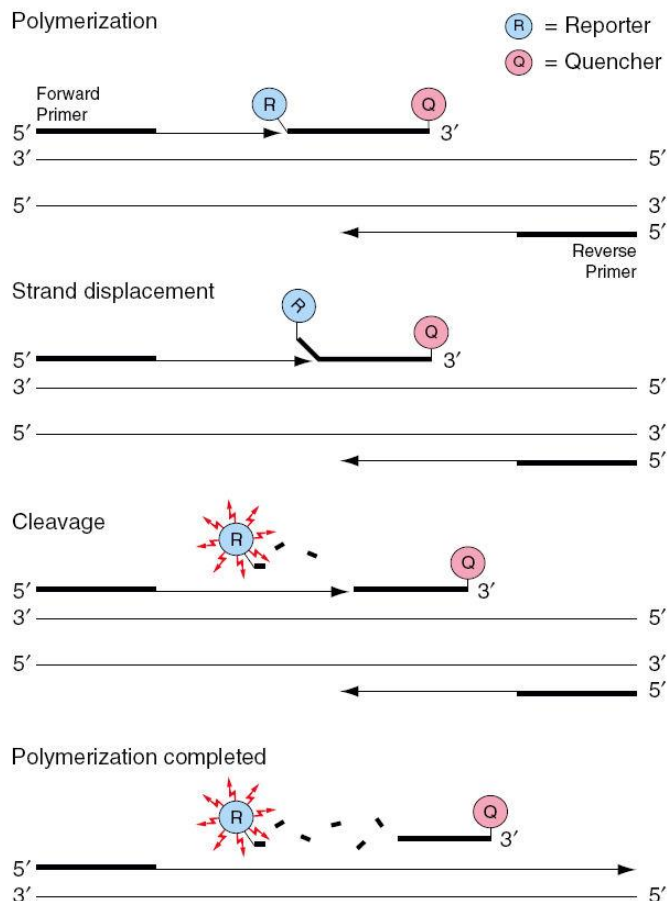
3. *Amplifikation (Elongation)*: Die hitzestabile Taq-(DNA-)Polymerase, die durch Temperaturerhöhung nicht denaturiert wird, füllt schließlich die fehlenden Stränge mit freien Nukleotiden auf. Dieser Vorgang beginnt am 3'-Ende des angelagerten Primers und setzt sich von dort aus auf dem DNA-Strang fort.

Durch die Wiederholung der Zyklen lässt sich ein exponentieller Anstieg der amplifizierten DNA-Moleküle erreichen. Ein Reaktionsansatz besteht aus den spezifischen Primern, der hitzestabilen Taq-Polymerase, den vier Desoxynukleosidtriphosphaten dATP, dCTP, dGTP und dTTP, dem DNA-Template und geeigneten Pufferbedingungen.

Die Genotypbestimmung wurde mit dem TaqMan-Verfahren durchgeführt, welches die PCR mit der 5'-Nuklease-Reaktion kombiniert und dadurch das Unterscheiden von Allelen durch allelspezifische Sonden ermöglicht. Das Material für das TaqMan-Verfahren wurde von Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland bezogen.

Für dieses Verfahren sind ein Primerpaar und zwei spezifische DNA-Sonden notwendig. Die Sonden bestehen aus Oligonukleotiden, welche jeweils zum

DNA-Abschnitt der polymorphen Stelle komplementär sind. Sie werden mit zwei unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen, am 5'-Ende mit einem sog. Reporterfarbstoff und am 3'-Ende mit einem sog. Quencherfarbstoff, markiert.



**Abbildung 2-1: Schematische Darstellung des TaqMan®-Verfahrens im Protokoll „TaqMan® Universal PCR Master Mix“ (Applied Biosystems)**

Während der PCR wird durch die Taq-DNA-Polymerase mit 5'-3'-Exonuklease-Aktivität eine an einen DNA-Strang hybridisierte, komplementäre Sonde geschnitten und damit zerstört. Durch die folgende räumliche Trennung der beiden Farbstoffe der Sonde kommt es zu einem Anstieg der Fluoreszenzintensität des Reporterfarbstoffes. Durch die Nähe des Quencherfarbstoffes zum Reporterfarbstoff wird die Fluoreszenz bei der nicht

komplementären, freien und intakten Sonde unterdrückt. Nach Entfernen der Sondenfragmente wird die PCR fortgesetzt. Die Bestimmung des Genotyps erfolgte dann durch Auswertung der allelspezifischen Fluoreszenzsignale.

### 2.3.4 Puffer und Lösungen

Tabelle 2-2: Zusammensetzung RCLB

| Inhaltsstoffe    | Konzentration | Menge                 |
|------------------|---------------|-----------------------|
| Tris pH 7,6      | 1 M           | 50 ml                 |
| Magnesiumchlorid | 1 M           | 25 ml                 |
| Natriumchlorid   | 5 M           | 10 ml                 |
| Aqua bidest.     |               | auf 500 ml aufgefüllt |

Die Lösung wurde durch Einsetzen in die Isolierung 1:10 verdünnt, danach erfolgte eine sterile Filtration.

Tabelle 2-3: Zusammensetzung WCLB

| Inhaltsstoffe | Konzentration | Menge |
|---------------|---------------|-------|
| Tris pH 7,6   | 1 M           | 1 ml  |
| NaCl          | 5 M           | 1 ml  |
| EDTA pH 8,0   | 0,5 M         | 2 ml  |
| SDS           | 10 %          | 2 ml  |
| Proteinase K  | 20 mg/ml      |       |

Die Lösung wurde steril filtriert.

### **2.3.5 Gerätschaften und Primer**

ABL Prism 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems)

ABL Prism 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems)

Custom-made Primer (Applied Biosystems)

## **2.4 Qualitätssicherung**

Durch Handschuhpflicht während der Blutentnahme und der gesamten Aufarbeitung der Proben wurde das Risiko einer DNA-Kontamination mit Fremd-DNA vermindert. Negative Kontrollen wurden benutzt, um eventuelle Verunreinigungen rechtzeitig zu erkennen.

DNA-Isolierung, PCR und DNA-Messung erfolgten an separaten Arbeitsplätzen, an denen sterile Pipettenspitzen zur Verfügung standen.

## **2.5 Statistik**

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS für Windows Version 13. Nach deskriptiver Analyse mit Berechnung der Mittelwerte wurde der Vergleich der klinischen Charakteristika zwischen den Gruppen mit dem Mann-Whitney-Test durchgeführt.

Die Schätzung der Wahrscheinlichkeit des ereignisfreien Überlebens (keine ventrikulären Tachykardien im ICD-Speicher) in Abhängigkeit der einzelnen Genotypen ab dem Zeitpunkt der Implantation erfolgte mittels Kaplan-Meier-Methode [96]. Der statistische Vergleich zwischen den Gruppen erfolgte durch den Logrank-Test [146].

Alle statistischen Tests wurden 2-seitig durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf 0,05 festgelegt. Ein p-Wert von <0,10 wurde als Kriterium zur Annahme einer Tendenz angesehen.

Soweit nicht anders angegeben, werden die Einzelergebnisse und Parameter im Text als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes ( $M \pm SEM$ ) dargestellt.

Hetero- und homozygote Träger der jeweiligen untersuchten Polymorphismen wurden jeweils zu einer Gruppe im Sinne einer dominanten Merkmalsausprägung des SNP zusammengefasst.

Die Prävalenz ventrikulärer Arrhythmien im Patientenkollektiv der Schrittmacher-/ICD-Ambulanz der Universitätsklinik Tübingen liegt bei etwa 30-40%.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Einfluss des APLN RS3115840 SNP auf VT

Der APLN RS3115840 SNP konnte bei n=135 Patienten bestimmt werden. Bei 68,9% (n=93) wurde das homozygote C-Allel nachgewiesen, während das heterozygote polymorphe CG-Allel mit einer Häufigkeit von 8,9% (n=12) auftrat. Die Allelfrequenz des homozygoten Polymorphismus (GG) betrug 22,2% (n=30).

Episoden von anhaltenden VT traten bei den CC-Genotypen in 44,1% (n=41) und bei den heterozygoten Patienten in 8,3% (n=1) auf. Homozygote Polymorphismusträger hatten in 26,7% (n=8) eine VT.

**Tabelle 3-1: APLN RS3115840 Genotypen und Anzahl VT-Episoden**

| APLN RS3115840 SNP | n Genotypen | n mit VT | Anteil mit VT |
|--------------------|-------------|----------|---------------|
| CC                 | 93          | 41       | 44,1%         |
| CG                 | 12          | 1        | 8,3%          |
| GG                 | 30          | 8        | 26,7%         |
| Gesamt             | 135         | 50       | 37,0%         |

(CC = homozygoter C-Genotyp, CG = heterozygoter Polymorphismusträger, GG=homozygoter G-Genotyp = homozygoter Polymorphismusträger)

#### Pooling der GG- und CG-Genotypen

Werden die homozygoten und heterozygoten Allelträger des SNP (GG+CG) im Sinne einer dominanten Merkmalsausprägung des Polymorphismus zusammengefasst und dann mit den homozygoten C-Genotypen verglichen, zeigt sich folgendes Ergebnis:



**Tabelle 3-2: APLN RS3115840 Genotypen und Anzahl VT-Episoden (GG+CG)**

| APLN RS3115840 SNP | n Genotypen | n mit VT | Anteil mit VT |
|--------------------|-------------|----------|---------------|
| GG/CG              | 42          | 9        | 21,4%         |
| CC                 | 93          | 41       | 44,1%         |
| Gesamt             | 135         | 50       | 37,0%         |

(CC = homozygoter C-Genotyp, CG = heterozygoter Polymorphismusträger, GG=homozygoter G-Genotyp = homozygoter Polymorphismusträger)

Zwischen den Gruppen gab es keinen statistischen Unterschied in Hinblick auf Alter, LVEF, KHK-Status, EKG-Parameter sowie den meisten Medikamenten. Es zeigte sich ein Trend zu einem höheren Anteil männlicher Patienten und einer Medikation mit Amiodaron in der CC-Gruppe.

**Tabelle 3-3: Klinische Charakteristika**

|  | CC-Genotyp<br>n=93 | GG/CG-Genotyp<br>n=42 | Signifikanzniveau |
|--|--------------------|-----------------------|-------------------|
| Alter [Jahre]                            | 62 (19-80)         | 64 (38-83)            | p=0,185           |
| Männliches Geschlecht                    | 86%                | 71%                   | p=0,056*          |
| Ejektionsfraktion [%]                    | 34 (15-65)         | 30 (15-62)            | p=0,256           |
| ICD zur<br>Primärprävention              | 62,4%              | 63,7%                 | p=0,696           |
| KHK                                      | 64,5%              | 64,3%                 | p=1,000           |
| Vorhofflimmern                           | 20,5%              | 24,2%                 | p=0,801           |
| Ruhepulsfrequenz<br>[Schläge pro Minute] | 66,5 (44-101)      | 68 (51-94)            | p=0,597           |
| QRS-Dauer [ms]                           | 118 (70-240)       | 128 (70-230)          | p=0,752           |
| QT-Dauer [ms]                            | 426 (334-570)      | 425 (370-492)         | p=0,775           |
| Antiarrhythmika:                         |                    |                       |                   |
| Klasse I                                 | 0%                 | 0%                    |                   |
| Amiodaron                                | 14,0%              | 2,4%                  | p=0,063*          |
| Sotalol                                  | 1,1%               | 2,4%                  | p=0,527           |
| Beta-Blocker                             | 93,5%              | 95,2%                 | p=1,000           |
| Digitalis                                | 25,8%              | 16,7%                 | p=0,277           |
| ACE-Hemmer,AT1-<br>Rezeptorblocker       | 86,0%              | 90,5%                 | p=0,582           |
| Spironolacton/<br>Eplerenon              | 45,2%              | 54,8%                 | p=0,354           |

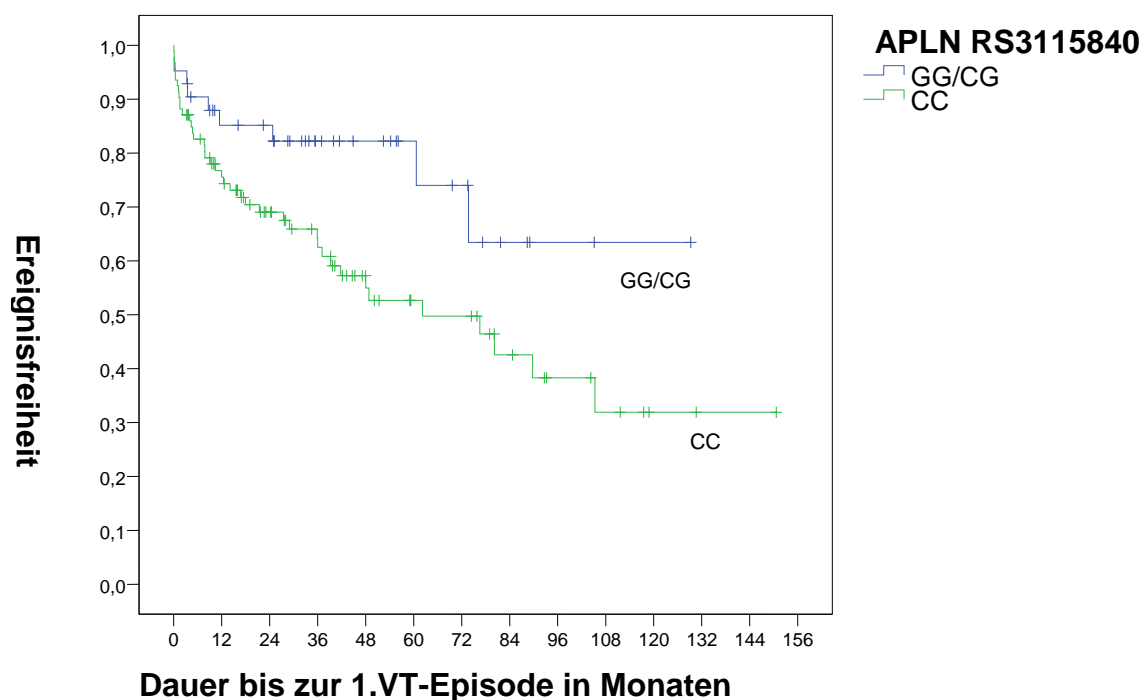
In Bezug auf die mittlere Zeitdauer bis zum Auftreten einer erstmaligen Episode einer ventrikulären Tachykardie liegen für diese Gruppen folgende Daten vor:

**Tabelle 3-4: APLN RS3115840: Mittlere Dauer bis zur ersten VT-Episode (GG+CG)**

| APLN RS3115840 SNP | Mittelwert [Monate] | 95 %-Konfidenzintervall |
|--------------------|---------------------|-------------------------|
| GG/CG              | 96,2 ± 9,7          | 77,1 – 115,3            |
| CC                 | 74,5 ± 8,0          | 58,8 – 90,3             |
| Gesamt             | 83,6 ± 7,1          | 69,6 – 97,5             |

(CC = homozygoter C-Genotyp, CG = heterozygoter Polymorphismusträger, GG=homozygoter G-Genotyp = homozygoter Polymorphismusträger)

Die Zeit bis zum erstmaligen Auftreten einer ventrikulären Tachyarrhythmie in Abhängigkeit des Polymorphismus wurde in einem Diagramm nach Kaplan-Meier aufgetragen und stellt sich wie folgt dar:



**Abbildung 3-1: Kaplan-Meier-Analyse: Ereignisfreiheit in Abhängigkeit von der Zeit bis zur ersten VT bei APLN RS3115840**

Hier zeigt sich eine, mittels Logrank-Test berechnete, statistisch signifikante ( $p=0,031$ ) bessere Prognose für homo- und heterozygote Träger des APLN RS3115840 SNP gegenüber dem unmutierten Gen.

Träger des CC-Genotypus hatten ein 2,2fach erhöhtes Risiko (95%-Konfidenzintervall 1,1-4,5) für ventrikuläre Arrhythmien im Vergleich zu den RS3115840 Trägern.

### 3.2 Einfluss des AGT RS943580 SNP auf VT

Eine Bestimmung des AGT RS943580 SNP konnte bei  $n=134$  Patienten durchgeführt werden, wobei sich folgende Häufigkeiten aufzeigen lassen:

**Tabelle 3-5: AGT RS943580 Genotypen und Anzahl VT-Episoden**

| AGT RS943580 SNP | n Genotypen | n mit VT | Anteil mit VT |
|------------------|-------------|----------|---------------|
| GG               | 48          | 13       | 27,1%         |
| AG               | 61          | 25       | 41,0%         |
| AA               | 25          | 11       | 44,0%         |
| Gesamt           | 134         | 49       | 36,6%         |

(GG = homozygot für G-Allel, AG = heterozygoter Polymorphismusträger, AA=homozygot für A-Allel = homozygoter Polymorphismusträger)

#### Pooling der AA- und AG-Genotypen

Nach Zusammenschluss der Patientengruppen unter dominanten Gesichtspunkten des AGT RS943580 SNP kann folgendes festgestellt werden:

**Tabelle 3-6: AGT RS943580 Genotypen und Anzahl VT-Episoden (AA+AG)**

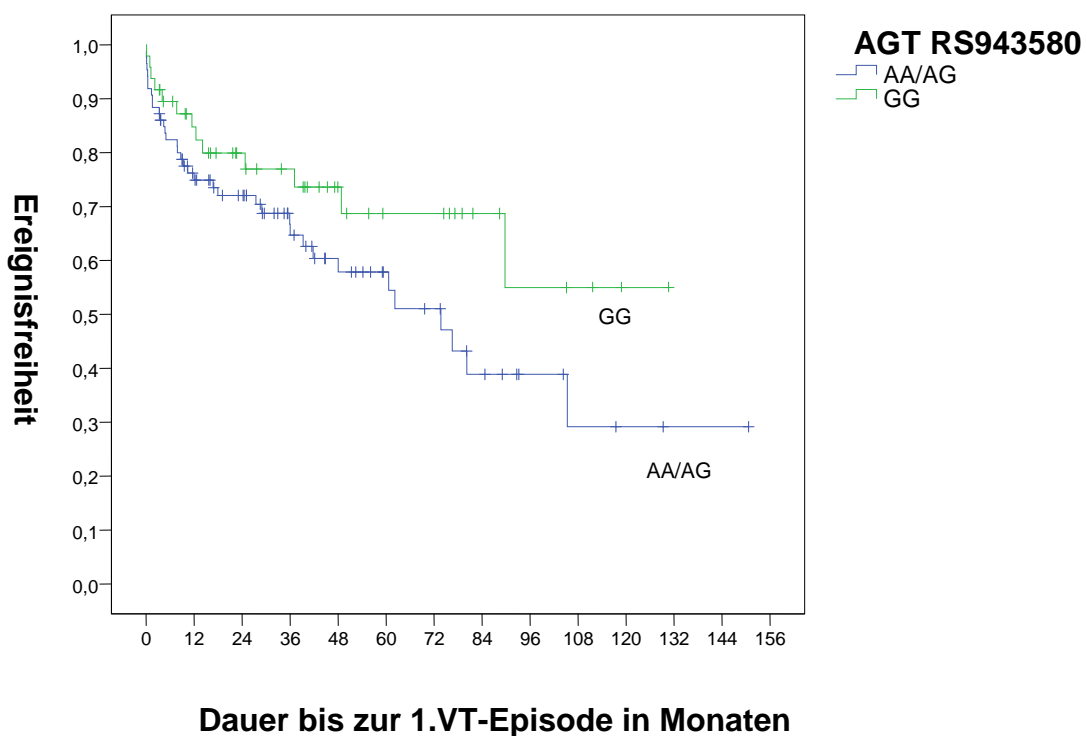
| AGT RS943580 SNP | n Genotypen | n mit VT | Anteil mit VT |
|------------------|-------------|----------|---------------|
| AA/AG            | 86          | 36       | 41,9%         |
| GG               | 48          | 13       | 27,1%         |
| Gesamt           | 134         | 49       | 36,6%         |

(GG = homozygot für G-Allel, AG = heterozygoter Polymorphismusträger, AA=homozygot für A-Allel = homozygoter Polymorphismusträger)

**Tabelle 3-7: AGT RS943580: Mittlere Dauer bis zur ersten VT (AA+AG)**

| AGT SNP | Mittelwert [Monate] | 95%-Konfidenzintervall |
|---------|---------------------|------------------------|
| AA/AG   | 74,6 ± 8,7          | 57,6 – 91,6            |
| GG      | 89,8 ± 9,5          | 71,1 – 108,4           |
| Gesamt  | 84,1 ± 7,2          | 70,1 – 98,2            |

(GG = homozygot für G-Allel, AG = heterozygoter Polymorphismusträger, AA=homozygot für A-Allel = homozygoter Polymorphismusträger)



**Abbildung 3-2: Kaplan-Meier-Analyse: Ereignisfreiheit in Abhängigkeit von der Zeit bis zur ersten VT bei AGT RS943580**

Der globale Unterschied bezüglich der Zeit bis zur ersten Episode einer VT zeigt im Logrank-Test mit  $p=0,097$  einen Trend im Sinne eines Risikofaktors des AGT RS943580 Einzelbasenpolymorphismus. Dieser erreicht jedoch keine statistische Signifikanz.

### 3.3 Einfluss des AGT RS2493134 SNP auf VT

Die Bestimmung des AGT RS2493134 SNP konnte bei n=134 Patienten durchgeführt werden. Die Häufigkeiten bei den Studienteilnehmern verhielten sich wie folgt:

**Tabelle 3-8: AGT RS2493134 Genotypen und Anzahl VT-Episoden**

| AGT RS2493134 SNP | n Genotypen | n mit VT | Anteil mit VT |
|-------------------|-------------|----------|---------------|
| CC                | 22          | 11       | 50,0%         |
| CT                | 68          | 26       | 38,2%         |
| TT                | 44          | 12       | 27,3%         |
| Gesamt            | 134         | 49       | 36,6%         |

(CC = homozygot für C-Allel, CT = heterozygoter Polymorphismusträger, TT=homozygot für T-Allel = homozygoter Polymorphismusträger)

#### Pooling der TT- und CT-Genotypen

Ein Zusammenschluss der homo- und heterozygoten SNP-Träger offenbart folgendes Resultat:

**Tabelle 3-9: AGT RS2493134 Genotypen und Anzahl VT-Episoden (TT+CT)**

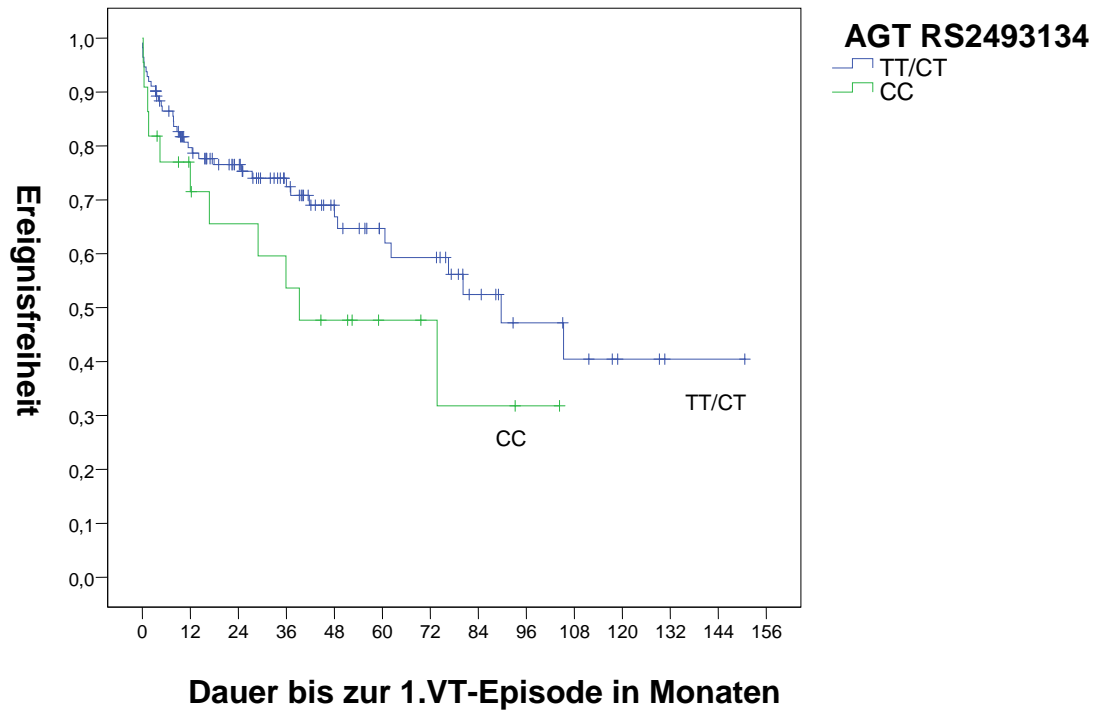
| AGT RS2493134 SNP | n Genotypen | n mit VT | Anteil mit VT |
|-------------------|-------------|----------|---------------|
| TT/CT             | 112         | 38       | 33,9%         |
| CC                | 22          | 11       | 50,0%         |
| Gesamt            | 134         | 49       | 36,6%         |

(CC = homozygot für C-Allel, CT = heterozygoter Polymorphismusträger, TT=homozygot für T-Allel = homozygoter Polymorphismusträger)

**Tabelle 3-10: AGT RS2493134: Mittlere Dauer bis zur ersten VT (TT+CT)**

| AGT SNP | RS2493134 | Mittelwert [Monate] | 95%-Konfidenzintervall |
|---------|-----------|---------------------|------------------------|
| TT/CT   |           | 87,5 ± 7,9          | 72,0 – 102,9           |
| CC      |           | 53,1 ± 10,1         | 33,3 – 72,9            |
| Gesamt  |           | 84,1 ± 7,2          | 70,1 – 98,2            |

(CC = homozygot für C-Allel, CT = heterozygoter Polymorphismusträger, TT=homozygot für T-Allel = homozygoter Polymorphismusträger)



**Abbildung 3-3: Kaplan-Meier-Analyse: Ereignisfreiheit in Abhängigkeit von der Zeit bis zur ersten VT bei AGT RS2493134**

Der Vergleich der Gruppen ergibt keinen statistisch signifikanten Unterschied (p=0,151, Logrank-Test).

### 3.4 Einfluss des AGT RS11122576 SNP auf VT

Bei n=134 Patienten konnte der AGT RS11122576 SNP bestimmt werden. Es zeigten sich folgende Häufigkeitsverteilungen:

**Tabelle 3-11: AGT RS11122576 Genotypen und Anzahl VT-Episoden**

| AGT RS11122576 SNP | n Genotypen | n mit VT | Anteil mit VT |
|--------------------|-------------|----------|---------------|
| AA                 | 112         | 39       | 34,8%         |
| AG                 | 21          | 10       | 47,6%         |
| GG                 | 1           | 0        | 0,0%          |
| Gesamt             | 134         | 49       | 36,6%         |

(AA = homozygot für A-Allel, AG = heterozygoter Polymorphismusträger, GG=homozygot für G-Allel = homozygoter Polymorphismusträger)

#### Pooling der GG- und AG-Genotypen

Nach Zusammenschluss im Sinne einer dominanten Merkmalsausprägung des AGT RS1112257 SNP lässt sich nachfolgendes feststellen:

**Tabelle 3-12: AGT RS11122576 Genotypen und Anzahl VT-Episoden (GG+AG)**

| AGT RS11122576 SNP | n Genotypen | n mit VT | Anteil mit VT |
|--------------------|-------------|----------|---------------|
| GG/AG              | 22          | 10       | 45,5%         |
| AA                 | 112         | 39       | 34,8%         |
| Gesamt             | 134         | 49       | 36,6%         |

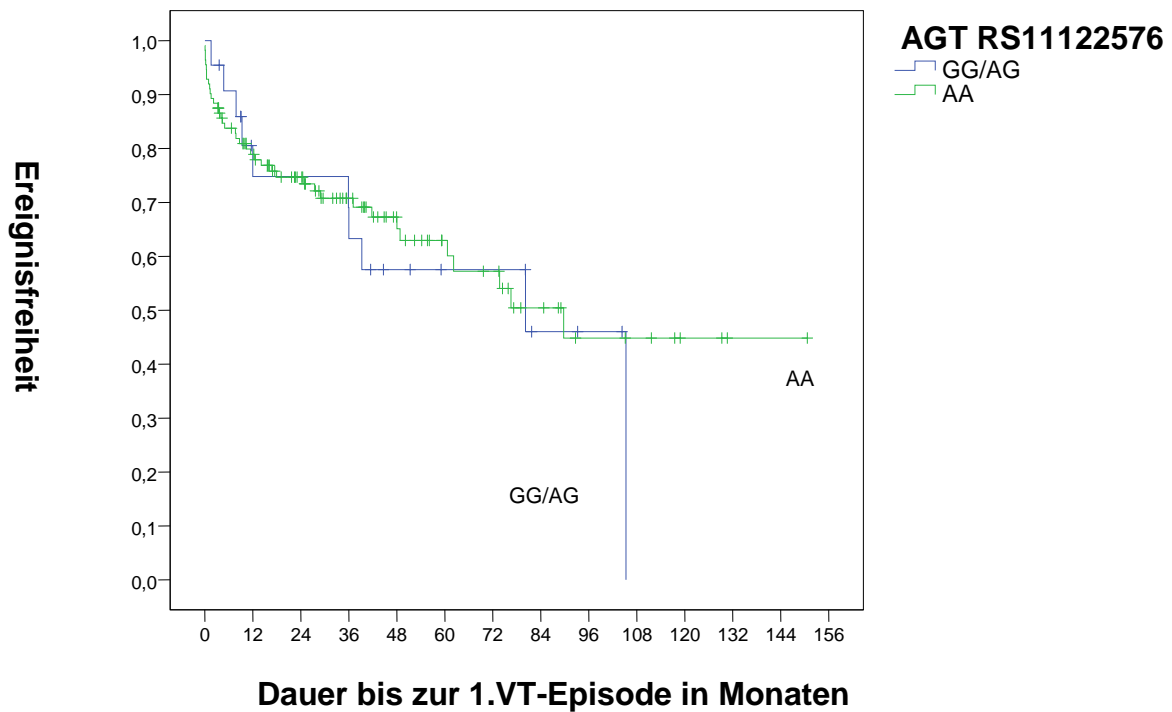
(AA = homozygot für A-Allel, AG = heterozygoter Polymorphismusträger, GG=homozygot für G-Allel = homozygoter Polymorphismusträger)



**Tabelle 3-13: AGT RS11122576: Mittlere Dauer bis zur ersten VT (GG+AG)**

| AGT SNP | RS11122576 | Mittelwert [Monate] | 95%-Konfidenzintervall |
|---------|------------|---------------------|------------------------|
| GG/AG   |            | 66,0 ± 10,4         | 45,7 – 86,3            |
| AA      |            | 87,1 ± 8,0          | 71,5 – 102,7           |
| Gesamt  |            | 84,1 ± 7,2          | 70,1 – 98,2            |

(AA = homozygot für A-Allel, AG = heterozygoter Polymorphismusträger, GG=homozygot für G-Allel = homozygoter Polymorphismusträger)



**Abbildung 3-4: Kaplan-Meier-Analyse: Ereignisfreiheit in Abhängigkeit von der Zeit bis zur ersten VT bei AGT RS11122576**

Zwischen den Gruppen besteht kein statistisch signifikanter Unterschied ( $p=0,740$ , Logrank-Test).

## 4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden Patienten auf das Vorliegen von bestimmten Einzelbasenpolymorphismen (SNP) des Apelin und Angiotensinogens hin untersucht. Anschließend wurde versucht, mögliche Korrelationen zwischen diesen Genvarianten und ventrikulären Tachyarrhythmien aufzudecken.

Das Ziel dieser Studie war es, einen genetischen Marker zu identifizieren, der zur Risikoeinschätzung des plötzlichen Herztodes und zur Indikationsstellung für einen implantierbaren Kardioverter/Defibrillator hinzugezogen werden kann. Zum jetzigen Zeitpunkt ist der goldene Weg zur Risikostratifizierung des SCD noch nicht gefunden worden und die Indikationskriterien zur Primärprophylaxe befinden sich weiterhin im wissenschaftlichen Fluss.

Trotz der, in der Einleitung bereits ausführlich vorgestellten, vielfältigen invasiven und nicht-invasiven Techniken und Untersuchungsmöglichkeiten, hat in die klinische Routine nur ein kleiner Teil Einzug gefunden. Hierbei haben sich vor allem die linksventrikuläre Auswurffraktion (LVEF), die elektrophysiologische Untersuchung sowie die Klinik bzw. Vorgeschichte des Patienten (z.B. Zustand nach Myokardinfarkt, NYHA-Klasse der Herzinsuffizienz) etabliert.

Zudem ist es denkbar, dass EKG-basierte Marker (T-Wellen-Alternans, Signalmittelungs-EKG, QRS-Dauer, Herzfrequenzvariabilität etc.) dem Einfluss von Medikamenten oder anderen äußeren Faktoren unterliegen. Durch ein Absetzen dieser Medikamente vor dem Test würde jedoch in das therapeutische Regime des Patienten eingegriffen werden.

Ein genetischer Marker für ein erhöhtes Risiko maligner ventrikulärer Tachykardien wäre ein idealer Kandidat, um die Risikostratifizierung dieser Patienten zu verbessern. Sein Vorteil läge in der schnellen, nicht invasiven und einfachen Bestimmbarkeit mittels Blutabnahme, welche in der klinischen oder hausärztlichen Routine ohnehin durchgeführt wird. Außerdem ist für die genetische Untersuchung weder ein stationärer Aufenthalt bzw. eine Fahrt in ein Zentrum nötig. Des Weiteren ist die Analyse uneingeschränkt

reproduzierbar und nicht von der Qualifikation und Erfahrung des Untersuchers abhängig.

Weil genetische Polymorphismen, insbesondere des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems oder der daran beteiligten Signalwege, an der Pathogenese von kardiovaskulären Erkrankungen beteiligt sind, sind auch die untersuchten SNPs aussichtsreiche Kandidaten mit möglichen Beeinflussungen.

Dies ist die erste Studie, in der der Einfluss sowohl des Apelin RS3115840 SNP, als auch bestimmte SNPs des Angiotensinogens (RS2493134, RS943580, RS11122576) auf die Häufigkeit von anhaltenden ventrikulären Tachyarrhythmien untersucht wurde. Auf Grund dieser Tatsache finden sich zum gegenwärtigen Zeitpunkt auch keine Literaturangaben, die mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie verglichen werden könnten.

Jedoch ist in der Literatur eine Vielzahl von Verbindungen des Apelin/APJ-Systems und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems mit anderen kardiovaskulären Erkrankungen beschrieben worden. Der folgende Teil soll dabei einen Überblick geben.

#### ***4.1 Apelin, ein „neues“ Protein und sein APJ-Rezeptor***

1993 identifizierten O'Dowd et al. Gene für einen G-Protein gekoppelten Rezeptor namens APJ [143]. Er besteht aus 377 Aminosäuren und 7 Transmembrandomänen.

Seine Gene sind auf dem langen Arm des Chromosoms 11 lokalisiert. APJ ist zu etwa 30% mit dem Angiotensin II Rezeptor (AT-1) identisch, bindet jedoch im Gegensatz dazu kein Angiotensin II [143].

Die ersten Jahre war der Rezeptor „verwaist“, bis 1998 mit dem Apelin (**APJ endogenous ligand**) sein endogener Ligand entdeckt wurde [176]. Apelin wird als Präproprotein mit 77 Aminosäuren synthetisiert. Die post-translationale

Verarbeitung führt zur Produktion von mehreren Isoformen (Apelin-12,-13,-17,-36).

G-Protein gekoppelte Rezeptorensysteme als wichtige Regler in der kardiovaskulären Physiologie machen den größten Anteil an bekannten therapeutischen Zielen aus. So ist die Biologie des Renin-Angiotensin- Systems (RAAS) ausführlich untersucht worden und dient als Modell für weitere, das kardiovaskuläre System betreffende endokrine Signalwege.

Der Zusammenhang zwischen einem solchen neu entdeckten Protein und seinen Signalwegen mit Erkrankungen ist somit von herausragender Bedeutung.

Ein Hinweis auf eine mögliche Beteiligung des Apelin/APJ-Systems an den kardiovaskulären Regelkreisen, evtl. sogar mit Verbindungen zum RAAS, ist seine Verteilung im Körper. So zeigt sich eine starke Expression von Apelin bzw. seinem APJ-Rezeptor im Herz und Blutgefäßen von Mensch und Ratte [51; 53; 74; 81; 99; 101; 103; 113; 142].

Ein reichliches Vorkommen des Apelin-Rezeptors im ZNS [74; 101; 113; 115; 125], insbesondere im Ncl. paraventricularis, Ncl. supraopticus und im Hypophysenvorderlappen, könnte auf eine Funktion bei zentralen Regulationsvorgängen wie der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse hinweisen [140; 141]. Er ist außerdem weitverbreitet im gastrointestinalen Trakt, Fettgewebe, Niere, Leber und Lunge [74; 101; 113].

Welche Effekte und Auswirkungen das Apelin/APJ-System hat, ist momentan im Fokus einiger Studien:

So stellt es eine der potentesten endogenen Substanzen zur Steigerung der Inotropie bei gesunden [175] und vorgeschädigten [45] Herzen dar. Eine CRT-Therapie über längere Zeit erhöht die Plasmakonzentration von Apelin bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz [63]. Außerdem zeigen die Plasmaspiegel einen Anstieg in frühen Stadien der Herzinsuffizienz, jedoch eine

Verminderung in schweren und chronischen Fällen [35; 37; 62]. Im Tierversuch konnte verabreichtes Apelin myokardiale Schäden und eine durch Isoproterenol induzierte Herzinsuffizienz signifikant verbessern [91]. Bei der ischämischen Kardiomyopathie konnte ein Anstieg der myokardialen APJ-Rezeptoren und der Gesamt-Apelin Konzentration nachgewiesen werden [9]. Eine weitere Wirkung besteht in einer NO-abhängigen, möglicherweise zentral bedingten Blutdrucksenkung [167; 177] und einer Reduktion des linksventrikulären Preload und Afterload. Außerdem führt es zu einer Erhöhung der kontraktile Reserven ohne Nachweis von Hypertrophien [8] und hat Auswirkungen auf die Wasserhomöostase [140].

Zusammen mit der Erkenntnis, dass durch Apelin die zentrale Vasopressinausschüttung vermindert wird, kann man dem Apelin/APJ-System eine wichtige Rolle in der kardiovaskulären Homöostase zusprechen [155].

Betrachtet man die Ergebnisse der aufgeführten Untersuchungen, so scheint zum gegenwärtigen Zeitpunkt vieles darauf hin zu deuten, dass die Apelin/APJ-Achse eine wichtige gegenregulative Funktion hinsichtlich des Angiotensin II einnimmt [87]. Apelin/APJ könnte dessen bekannte negative Auswirkungen, wie u.a. das Angiotensin II induzierte (elektrische) Remodeling des Myokards abmildern.

So zeigt eine aktuelle Studie einen Zusammenhang zwischen dem 212A Polymorphismus im APJ-Rezeptor Gen und einer günstigeren Prognose für die idiopathische dilatative Kardiomyopathie [163]. Dies scheint ein weiterer Hinweis dafür zu sein, dass APJ ein Modifikator dieser komplexen Pathophysiologie darstellt.

#### **4.1.1 Auswirkungen auf die kardiale Elektrophysiologie**

Für die Risikoeinschätzung des plötzlichen Herztodes hat das Apelin/APJ-System bisher keine Bedeutung und auch eine Assoziation mit ventrikulären Tachyarrhythmien ist bisher nicht untersucht worden.

Das Vorhofflimmern als häufigste kardiale Arrhythmie ist mit einer bedeutenden Morbidität und Mortalität verbunden [39]. Hier konnte ein Zusammenhang nachgewiesen werden: So waren die Apelin-Spiegel bei Patienten mit VHF im Vergleich mit einer gesunden Kontrollgruppe signifikant geringer [55], ein Faktor, der eine arrhythmische Diathese bedeuten könnte.

Auch konnte in Tierversuchen gezeigt werden, dass Apelin Auswirkungen sowohl auf den Sinusknoten als auch den AV-Knoten haben kann [33]. Elektrokardiographisch konnten vorwiegend AV-Blöcke verschiedener Ausprägung nachgewiesen werden [32].

#### **4.1.2 Auswirkung des APLN RS3115840 SNP auf VT**

Im untersuchten Kollektiv lag die mittlere Dauer bei Trägern des APLN RS3115840 SNP bis zum erstmaligen Auftreten einer Tachyarrhythmie bei  $96,2 \pm 9,7$  Monaten im Vergleich zu  $74,5 \pm 8,0$  Monaten bei Patienten mit dem Wildtyp-Allel ( $p=0,031$ ).

Diese Ergebnisse weisen auf einen protektiven Effekt dieses Polymorphismus gegenüber lebensbedrohlichen ventrikulären Herzrhythmusstörungen hin.

Ein möglicher Erklärungsansatz dafür liefert die o.g. Hypothese, dass Apelin/APJ den negativen Auswirkungen des Angiotensin II (Remodeling und Fibrosierung des Myokards) entgegensteht und für die Erregungsbildung und -leitung sowie das kardiovaskuläre System ein schützender Mechanismus ist.

Für die Zukunft ist eine kontrollierte Therapiestudie vorstellbar, in der die Indikation zur ICD-Implantation, außer durch bereits etablierte Faktoren, wie zum Beispiel die LVEF, durch den APLN RS3115840 Genotypus begründet wird.

Nach Validierung könnte mit diesem Polymorphismus, besonders auch wegen seiner relativ einfachen Bestimmung durch Blutabnahme, dem behandelnden Arzt ein weiteres Hilfsmittel zur Risikoeinschätzung des Patienten in die Hand gegeben werden. Die Indikationsstellung zur Implantation könnte so

individueller gestaltet werden und die Genotypisierung dieses SNP zu einem festen Bestandteil der Risikostratifizierung des SCD werden.

Die untersuchten tagging-SNPs liegen in nicht-kodierenden Genabschnitten und führen somit auch zu keiner Änderung in der Aminosäuresequenz der Proteine. Auf Grund der HapMap-Daten ist bekannt, dass die ausgesuchten SNPs mit vielen anderen assoziiert sind. Mittels fine-mapping könnte durch Untersuchung dieser einzelnen SNPs in größeren Kollektiven nach kausalen Varianten gesucht werden. Diese die Aminosäuresequenz beeinflussenden Polymorphismen führen möglicherweise zu Veränderungen bei der Interaktion der Liganden mit ihren Rezeptoren. Die kardiale Elektrophysiologie oder andere Bereiche könnten daher im Vergleich zu dem unmutierten Genotyp verändert sein und so die Ausprägung von Krankheiten beeinflusst werden.

Dadurch käme man den (patho-)physiologischen Auswirkungen von Apelin einen Schritt näher und könnte diese Erkenntnisse zur Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten zur Prophylaxe des plötzlichen Herztodes oder anderen kardiovaskulären Erkrankungen nutzen.

Ein zukunftsweisender Weg ist die Pharmakogenomik, welche sich als Forschungszweig der Pharmakologie mit dem Einfluss des Genoms auf die Wirksamkeit von Medikamenten befasst und sich momentan in einem Zustand rasanter Entwicklung befindet. Ihr Ziel ist es, eine individualisierte und auf das Genom des Patienten maßgeschneiderte pharmakologische Therapie zu ermöglichen.

Mit Hilfe des pharmakogenomischen Ansatzes sind neue medikamentöse Therapieoptionen wie z.B. ein selektiver APJ-Rezeptorblocker mit genotypspezifischer Wirkungsweise denkbar.

In unserem Kollektiv erhielten alle Patienten eine begleitende Arzneimitteltherapie und deshalb ist es nicht auszuschließen, dass die nachgewiesenen Effekte gegebenenfalls durch unterschiedliches pharmakologisches Ansprechen bedingt sind.

## **4.2 Polymorphismen im RAAS und kardiovaskuläre Erkrankungen**

In der Literatur sind einige, das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System betreffende Polymorphismen beschrieben und mit einer Vielzahl von kardiovaskulären Erkrankungen in Verbindung gebracht worden. Deswegen erscheint eine Untersuchung von genetischen Variablen innerhalb der RAAS-Gene interessant. Beispielhaft werden einige Polymorphismen mit ihren vielfältigen Auswirkungen aufgeführt.

### **4.2.1 Der ACE-I/D Polymorphismus**

Im Jahr 1990 wurde ein Polymorphismus am Intron 16 des ACE-Gens gefunden. Eine 287 Basenpaare lange Sequenz kann hierbei entweder anwesend sein („Insertion“, I-Allel) oder fehlen („Deletion“, D-Allel) [156].

Es wurde festgestellt, dass Träger des D-Allels eine erhöhte Aktivität des ACE im Serum und Herz zeigen und somit möglicherweise einer höheren RAAS Aktivierung unterliegen [46; 156]. Außerdem konnte das D-Allel mit verschiedenen kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert werden. Nachgewiesen wurde ein erhöhtes Risiko für koronare Herzkrankheit [17; 137; 169], Myokardinfarkt [27; 119; 154; 161; 169], kongestive Herzinsuffizienz [4] und Hirninfarkt [97; 123] sowie eine Erhöhung der QT-Dispersion [118]. Weitere Korrelationen bestehen bei dilatativer Kardiomyopathie [154] und linksventrikulärer Hypertrophie [65; 89; 129; 166]. Bei Patienten mit hypertropher Kardiomyopathie ist das D-Allel im Vergleich zu gesunden Verwandten häufiger und korreliert auch mit der Inzidenz des plötzlichen Herztodes in diesen Familien [122].

### **4.2.2 Der AGT a-20c Polymorphismus**

Der Angiotensinogen a-20c Polymorphismus prognostiziert alleine oder in Kombination mit dem ACE I/D Polymorphismus das Risiko für Vorhofflimmern [153].



#### **4.2.3 Der AGT M235T Polymorphismus**

Zugrunde liegt eine Punktmutation im Angiotensinogen-Gen (Substitution von Thymin durch Cytosin). Dies führt bei der Translation zu einer veränderten Primärstruktur des Angiotensinogens, da bei der Aminosäure 235 Methionin (M) gegen Threonin (T) ausgetauscht wird. Dieser Polymorphismus ist mit einem erhöhten Risiko für koronare Herzkrankheit [88; 98; 189], Myokardinfarkt [94] sowie arterielle Hypertonie und höheren AGT-Spiegeln in Verbindung gebracht worden [90].

#### **4.2.4 Der AT-1 Rezeptor-Gen A1166C Polymorphismus**

Im menschlichen AT1-Rezeptor-Gen, dessen Produkt für die meisten Wirkungen des Angiotensin II zuständig ist, wurde der A1166C Polymorphismus (Ersatz von Adenosin durch Cytosin an Position 1166) gefunden und mit dem Manifestationsalter und Schweregrad der arteriellen Hypertonie assoziiert [21]. Außerdem führt dieser Polymorphismus zu einer Verlängerung der herzfrequenzkorrigierten QT-Zeit (QTc) bei einer Mehrheit von Patienten mit Nierenversagen im Endstadium [152] und beeinflusst Entwicklung und Schweregrad der KHK [59; 138]. Daneben wurde bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit berichtet, dass homozygote Träger des AT1R C-Allels ein erhöhtes Risiko für ventrikuläre Arrhythmien haben [6]. Die Häufigkeit der Arrhythmien steigt mit zunehmenden Alter an und hängt vermutlich mit degenerativen Veränderungen im Erregungsleitungssystem und myokardialer Fibrose zusammen [60].

#### **4.2.5 Auswirkung des AGT RS943580 SNP auf VT**

Im untersuchten Patientenkollektiv trat dieser Polymorphismus bei 64% (n=86) auf. Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass die mittlere Zeit bis zum erstmaligen Interventionsbedürfnis des ICD bei diesen Patienten bei  $74,6 \pm 8,7$  Monaten liegt. Bei der Gruppe mit dem nicht mutierten, homozygoten Allel liegt der Mittelwert bei  $89,8 \pm 9,5$  Monaten. Diese Ergebnisse erlangten zwar keine statistische Signifikanz, zeigen jedoch einen Trend auf ( $p=0,097$ ).

Dieser Polymorphismus stellt somit einen möglichen Risikofaktor für ventrikuläre Tachyarrhythmien dar.

Eine denkbare Erklärung wäre, dass Patienten mit diesem Polymorphismus auf Grund eines Anstiegs des Angiotensinogen-Spiegels eine konsekutiv erhöhte Aktivität des RAAS durch erhöhte Konzentration von Angiotensin II aufweisen. In der Literatur ist diese Vermutung bisher nicht beschrieben worden, jedoch wurde ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten Risiko für Vorhofflimmern und erhöhter Aktivität des RAAS diskutiert [54; 66; 67; 157].

Angiotensin II steigert bekanntermaßen die Sekretion von Aldosteron und dem antidiuretischen Hormon. Für die Pathogenese von Herzrhythmusstörungen im Allgemeinen und ventrikulären Tachyarrhythmien im Speziellen könnte jedoch die durch Angiotensin II verursachte myokardiale Fibrosierung und das (elektrische) Remodeling ein ausschlaggebender Faktor sein. Eine Erklärung hierfür ist, dass Angiotensin II ein Auslöser des Signalwegs einer mitogen-aktivierten Proteinkinase ist [67; 116], welcher für die Fibroblastenproliferation und Ventrikelhypertrophie verantwortlich ist [107] und dadurch das Remodeling induzieren könnte.

Der AGT RS943580 SNP wäre somit ein idealer Kandidat, um in weiteren Studien mit einem größeren oder anderen Patientenkollektiv untersucht zu werden.

#### **4.2.6 Auswirkung der AGT RS2493134/RS11122576 SNPs auf VT**

Diese Polymorphismen lassen im untersuchten Patientenkollektiv keinerlei protektive oder schädigende Einflüsse erkennen, die statistische Signifikanz erreichen bzw. einen Trend aufzeigen. Man kann diesen Varianten deshalb für das vorliegende Kollektiv keine ausschlaggebende Bedeutung beimessen. Jedoch ist trotz unseres negativen Ergebnisses ein Zusammenhang keinesfalls ausgeschlossen. Die komplexen Mechanismen der kardialen Arrhythmogenese bedürfen der weiteren Forschung und zeigen möglicherweise bei anderen Kohorten abweichende Resultate.

### **4.3 Methodische Einschränkungen**

Die Größe des untersuchten Patientenkollektivs spielt eine wichtige, besonders für die Auslegung von Resultaten ausschlaggebende Rolle.

Für genetische Untersuchungen und die Analyse von Einflussfaktoren ist das vorliegende Patientenkollektiv eher klein. Aufgrund des seltenen Vorkommens ist es schwierig, Größenordnungen von epidemiologischen Studien zu erreichen.

Mit Hilfe der Kartographierung von Haplotypen [86] wäre eine umfassendere, genweite Untersuchung der Einflüsse im Apelin- oder Angiotensinogen-Gen auf das SCD-Risiko möglich. Prinzipiell kann auch eine chipbasierte, genomweite Analyse erwogen werden, jedoch ist auch hierfür die vorliegende Patientenzahl zu gering.

Ein weiterer Faktor ist, dass durch die ethnische Zusammensetzung des Kollektivs bei der Analyse von genetischen Polymorphismen eventuelle Zusammenhänge beeinflusst werden können. Bei den hier untersuchten Patienten kann man jedoch von einer weitgehend homogenen Gruppe ausgehen.

## 5 Zusammenfassung

Der plötzliche Herztod (SCD) gehört zu den häufigsten Todesursachen in industrialisierten Ländern und wird mit dem zunehmenden Altersdurchschnitt und geänderten Lebensstil der Bevölkerung immer mehr an Bedeutung gewinnen. Der implantierbare Kardioverter/Defibrillator (ICD) hat sich in der Sekundärprophylaxe (erfolgreiche Reanimation nach Herzkreislaufstillstand durch Kammerflimmern bzw. ventrikuläre Tachyarrhythmien) gegenüber konservativen Maßnahmen durch überlegene Ergebnisse durchsetzen können und ist in der klinischen Routine etabliert. Die Primärprophylaxe des SCD jedoch stellt den Kliniker vor eine große medizinische und gesundheitspolitische Herausforderung. Auf der einen Seite müssen möglichst viele Patienten mit hohem Risiko identifiziert werden, damit sie einer ICD-Therapie zugeführt werden können. Andererseits ist es auf Grund von Komplikationen, welche im Zuge der Implantation und des laufenden Betriebs auftreten können sowie des in der heutigen Zeit nicht unbedeutenden Kostenaspektes wichtig, nur solche Patienten herauszufiltern, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit vom ICD profitieren. Der Arzt sieht sich einer Vielzahl an invasiv und nicht-invasiv zu bestimmenden Markern zur Risikostratifikation gegenüber. In die Routine haben jedoch außer der LVEF nur wenige Marker Einzug gefunden. Ziel dieser Arbeit ist es, einen mittels Genotypisierung einfach zu bestimmenden Marker im Blut zu identifizieren, welcher mit einem erhöhten SCD-Risiko einhergeht.

135 ICD-Träger wurden auf das Vorhandensein von bestimmten SNPs im Apelin- und Angiotensinogen-Gen hin untersucht und dann der Genotypus mit der Zeit bis zum ersten Auftreten einer möglichen VT korreliert. Dabei konnte ein protektiver Effekt des APLN RS3115840 SNP gegenüber ventrikulären Arrhythmien gezeigt werden. Träger des unmutierten Gens hatten ein 2,2fach erhöhtes Risiko für VT, die mittlere Zeitdauer bis zu einer ersten VT-Episode lag bei 74,5 Monaten im Vergleich zu 96,2 Monaten bei Trägern des SNP ( $p=0,031$ ). Die Bestimmung des Genotypus könnte somit eine weitere Möglichkeit der Risikostratifizierung und Hilfe bei der Primärprophylaxe des plötzlichen Herztodes darstellen.

## 6 Verzeichnisse

### 6.1 Abkürzungen

|            |                                     |
|------------|-------------------------------------|
| A          | Adenin                              |
| ACE        | Angiotensin-Konverting-Enzym        |
| AGT        | Angiotensinogen                     |
| AIDS       | acquired immune deficiency syndrome |
| APJ        | Apelin-Rezeptor                     |
| AT-1/ AT1R | Angiotensin II Rezeptor Typ 1       |
| AV         | atrioventrikulär                    |
| BRS        | Baro Rezeptor Sensitivität          |
| bzw.       | beziehungsweise                     |
| C          | Cytosin                             |
| CABG       | coronary artery bypass graft        |
| CRT        | cardiac resynchronization therapy   |
| dATP       | Desoxyadenosintriphosphat           |
| DCM        | Dilatative Kardiomyopathie          |
| dCTP       | Desoxycytidintriphosphat            |
| dGTP       | Desoxyguanosintriphosphat           |
| DNA        | deoxyribonucleic acid               |
| dTTP       | Desoxythymidintriphosphat           |
| EDTA       | Ethylendiamintetraessigsäure        |

|      |  |
|------|--|
| EF   | Ejektionsfraktion                          |
| EKG  | Elektrokardiogramm                         |
| EPS  | elektrophysiologische Stimulation          |
| EPU  | elektrophysiologische Untersuchung         |
| G    | Guanin                                     |
| HCM  | hypertrophe Kardiomyopathie                |
| HF   | Herzfrequenz                               |
| Hg   | Quecksilber                                |
| HRT  | heart rate turbulence                      |
| HRV  | Herzfrequenzvariabilität                   |
| ICD  | Implantierbarer Kardioverter-Defibrillator |
| KHK  | koronare Herzkrankheit                     |
| KM   | Kardiomyopathie                            |
| LP   | late potential                             |
| LV   | linksventrikulär                           |
| LVEF | linksventrikuläre Ejektionsfraktion        |
| M    | Mittelwert                                 |
| MI   | Myokardinfarkt                             |
| MTWA | Mikrovolt T-Wellen-Alternans               |
| Na   | Natrium                                    |
| NaCl | Natriumchlorid                             |

|        |   |
|--------|---|
| Ncl.   | nucleus   |
| NO     | Stickstoffmonoxid   |
| NSTEMI | Nicht-ST-Strecken-Elevations-Myocardinfarkt                 |
| NSVT   | Nicht anhaltende ventrikuläre Tachykardie                   |
| NYHA   | New York Heart Association                                  |
| PCR    | Polymerase Chain Reaction                                   |
| QTc    | frequenzkorrigierte QT-Zeit                                 |
| RAAS   | Renin-Angiotensin-Aldosteron-System                         |
| RCLB   | red cell lysis buffer                                       |
| RT     | Raumtemperatur  |
| SAECG  | Signalmittelungs-EKG  |
| SCD    | sudden cardiac death = plötzlicher Herztod                  |
| SDNN   | Standardabweichung der normal zu normal RR Intervalle       |
| SDS    | sodium dodecyl sulfate                                      |
| SEM    | Standardfehler des Mittelwertes                             |
| SM     | Schrittmacher   |
| SNP    | Single nucleotid polymorphism,<br>Einzelbasenpolymorphismus |
| STEMI  | ST-Elevations Myocardinfarkt                                |
| T      | Thymin  |
| TNF    | Tumornekrosefaktor  |

|      |   |
|------|---|
| TWA  | T-Wellen-Alternans                                |
| VF   | ventricular fibrillation, Kammerflimmern          |
| VHF  | Vorhofflimmern                                    |
| VT   | ventricular tachycardia, Ventrikuläre Tachykardie |
| WCLB | white cell lysis buffer                           |
| ZNS  | Zentrales Nervensystem                            |



## 6.2 Abbildungen

|  |    |
|--|----|
| Abbildung 2-1: Schematische Darstellung des TaqMan®-Verfahrens im Protokoll „TaqMan® Universal PCR Master Mix“ (Applied Biosystems)..... | 28 |
| Abbildung 3-1: Kaplan-Meier-Analyse: Ereignisfreiheit in Abhängigkeit von der Zeit bis zur ersten VT bei APLN RS3115840 .....            | 35 |
| Abbildung 3-2: Kaplan-Meier-Analyse: Ereignisfreiheit in Abhängigkeit von der Zeit bis zur ersten VT bei AGT RS943580 .....              | 37 |
| Abbildung 3-3: Kaplan-Meier-Analyse: Ereignisfreiheit in Abhängigkeit von der Zeit bis zur ersten VT bei AGT RS2493134 .....             | 39 |
| Abbildung 3-4: Kaplan-Meier-Analyse: Ereignisfreiheit in Abhängigkeit von der Zeit bis zur ersten VT bei AGT RS11122576 .....            | 41 |

### 6.3 Tabellen

|   |    |
|---|----|
| Tabelle 2-1: Patientenkollektiv.....  | 24 |
| Tabelle 2-2: Zusammensetzung RCLB .....   | 29 |
| Tabelle 2-3: Zusammensetzung WCLB.....  | 29 |
| Tabelle 3-1: APLN RS3115840 Genotypen und Anzahl VT-Episoden .....                    | 32 |
| Tabelle 3-2: APLN RS3115840 Genotypen und Anzahl VT-Episoden (GG+CG)<br>.....         | 33 |
| Tabelle 3-3: Klinische Charakteristika .....  | 34 |
| Tabelle 3-4: APLN RS3115840: Mittlere Dauer bis zur ersten VT-Episode<br>(GG+CG)..... | 35 |
| Tabelle 3-5: AGT RS943580 Genotypen und Anzahl VT-Episoden .....                      | 36 |
| Tabelle 3-6: AGT RS943580 Genotypen und Anzahl VT-Episoden (AA+AG)..                  | 36 |
| Tabelle 3-7: AGT RS943580: Mittlere Dauer bis zur ersten VT (AA+AG) .....             | 37 |
| Tabelle 3-8: AGT RS2493134 Genotypen und Anzahl VT-Episoden .....                     | 38 |
| Tabelle 3-9: AGT RS2493134 Genotypen und Anzahl VT-Episoden (TT+CT). 38               |    |
| Tabelle 3-10: AGT RS2493134: Mittlere Dauer bis zur ersten VT (TT+CT) .....           | 38 |
| Tabelle 3-11: AGT RS11122576 Genotypen und Anzahl VT-Episoden .....                   | 40 |
| Tabelle 3-12: AGT RS11122576 Genotypen und Anzahl VT-Episoden (GG+AG)<br>.....        | 40 |
| Tabelle 3-13: AGT RS11122576: Mittlere Dauer bis zur ersten VT (GG+AG)..              | 41 |

## 6.4 Literatur

- 1 **Alfakih, K., Lawrance, R. A., Maqbool, A., Walters, K., Ball, S. G., Balmforth, A. J., Hall, A. S.** "The clinical significance of a common, functional, X-linked angiotensin II type 2-receptor gene polymorphism (-1332 G/A) in a cohort of 509 families with premature coronary artery disease." Eur Heart J 2005;**26**(6):584-589.
- 2 **Alvarez, R., Reguero, J. R., Batalla, A., Iglesias-Cubero, G., Cortina, A., Alvarez, V., Coto, E.** "Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphisms: association with early coronary disease." Cardiovasc Res 1998;**40**(2):375-379.
- 3 **American Heart Association** "Heart and Stroke Statistical Update." 2001.
- 4 **Andersson, B., Sylven, C.** "The DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with increased mortality in idiopathic heart failure." J Am Coll Cardiol 1996;**28**(1):162-167.
- 5 **Antzelevitch, C., Brugada, P., Borggrefe, M., Brugada, J., Brugada, R., Corrado, D., Gussak, I., LeMarec, H., Nademanee, K., Perez Riera, A. R., Shimizu, W., Schulze-Bahr, E., Tan, H., Wilde, A.** "Brugada syndrome: report of the second consensus conference: endorsed by the Heart Rhythm Society and the European Heart Rhythm Association." Circulation 2005;**111**(5):659-670.
- 6 **Anvari, A., Turel, Z., Schmidt, A., Yilmaz, N., Mayer, G., Huber, K., Schuster, E., Gottsauner-Wolf, M.** "Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphism in coronary disease and malignant ventricular arrhythmias." Cardiovasc Res 1999;**43**(4):879-883.
- 7 **Armoundas, A. A., Tomaselli, G. F., Esperer, H. D.** "Pathophysiological basis and clinical application of T-wave alternans." J Am Coll Cardiol 2002;**40**(2):207-217.
- 8 **Ashley, E. A., Powers, J., Chen, M., Kundu, R., Finsterbach, T., Caffarelli, A., Deng, A., Eichhorn, J., Mahajan, R., Agrawal, R., Greve, J., Robbins, R., Patterson, A. J., Bernstein, D., Quertermous, T.** "The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo." Cardiovasc Res 2005;**65**(1):73-82.
- 9 **Atluri, P., Morine, K. J., Liao, G. P., Panlilio, C. M., Berry, M. F., Hsu, V. M., Hiesinger, W., Cohen, J. E., Joseph Woo, Y.** "Ischemic heart failure enhances endogenous myocardial apelin and APJ receptor expression." Cell Mol Biol Lett 2007;**12**(1):127-138.

- 10 **Bardy, G. H., Lee, K. L., Mark, D. B., Poole, J. E., Packer, D. L., Boineau, R., Domanski, M., Troutman, C., Anderson, J., Johnson, G., McNulty, S. E., Clapp-Channing, N., Davidson-Ray, L. D., Fraulo, E. S., Fishbein, D. P., Luceri, R. M., Ip, J. H.** "Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure." N Engl J Med 2005;**352**(3):225-237.
- 11 **Barthel, P., Schneider, R., Bauer, A., Ulm, K., Schmitt, C., Schomig, A., Schmidt, G.** "Risk stratification after acute myocardial infarction by heart rate turbulence." Circulation 2003;**108**(10):1221-1226.
- 12 **Baselli, G., Cerutti, S., Civardi, S., Liberati, D., Lombardi, F., Malliani, A., Pagani, M.** "Spectral and cross-spectral analysis of heart rate and arterial blood pressure variability signals." Comput Biomed Res 1986;**19**(6):520-534.
- 13 **Baselli, G., Cerutti, S., Livraghi, M., Meneghini, C., Pagani, M., Rimoldi, O.** "Causal relationship between heart rate and arterial blood pressure variability signals." Med Biol Eng Comput 1988;**26**(4):374-378.
- 14 **Basso, C., Calabrese, F., Corrado, D., Thiene, G.** "Postmortem diagnosis in sudden cardiac death victims: macroscopic, microscopic and molecular findings." Cardiovasc Res 2001;**50**(2):290-300.
- 15 **Bayes de Luna, A., Coumel, P., Leclercq, J. F.** "Ambulatory sudden cardiac death: mechanisms of production of fatal arrhythmia on the basis of data from 157 cases." Am Heart J 1989;**117**(1):151-159.
- 16 **Beckert, W.** "Sudden cardiac death due to myocardial sarcoidosis." Z Gesamte Inn Med 1979;**34**(17):494-496.
- 17 **Beohar, N., Damaraju, S., Prather, A., Yu, Q. T., Raizner, A., Kleiman, N. S., Roberts, R., Marian, A. J.** "Angiotensin-I converting enzyme genotype DD is a risk factor for coronary artery disease." J Investig Med 1995;**43**(3):275-280.
- 18 **Bigger, J. T., Jr.** "Prophylactic use of implanted cardiac defibrillators in patients at high risk for ventricular arrhythmias after coronary-artery bypass graft surgery. Coronary Artery Bypass Graft (CABG) Patch Trial Investigators." N Engl J Med 1997;**337**(22):1569-1575.
- 19 **Bloomfield, D. M., Bigger, J. T., Steinman, R. C., Namerow, P. B., Parides, M. K., Curtis, A. B., Kaufman, E. S., Davidenko, J. M., Shinn, T. S., Fontaine, J. M.** "Microvolt T-wave alternans and the risk of death or sustained ventricular arrhythmias in patients with left ventricular dysfunction." J Am Coll Cardiol 2006;**47**(2):456-463.

- 20 **Boersma, L. V.** "T-wave alternans: predicting the unpredictable?" Eur Heart J 2007;**28**(19):2303-2304.
- 21 **Bonnardeaux, A., Davies, E., Jeunemaitre, X., Fery, I., Charru, A., Clauser, E., Tiret, L., Cambien, F., Corvol, P., Soubrier, F.** "Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension." Hypertension 1994;**24**(1):63-69.
- 22 **Breithardt, G., Schwarzmaier, J., Borggrefe, M., Haerten, K., Seipel, L.** "Prognostic significance of late ventricular potentials after acute myocardial infarction." Eur Heart J 1983;**4**(7):487-495.
- 23 **Bristow, M. R., Saxon, L. A., Boehmer, J., Krueger, S., Kass, D. A., De Marco, T., Carson, P., DiCarlo, L., DeMets, D., White, B. G., DeVries, D. W., Feldman, A. M.** "Cardiac-resynchronization therapy with or without an implantable defibrillator in advanced chronic heart failure." N Engl J Med 2004;**350**(21):2140-2150.
- 24 **Brugada, J., Brugada, R., Brugada, P.** "Determinants of sudden cardiac death in individuals with the electrocardiographic pattern of Brugada syndrome and no previous cardiac arrest." Circulation 2003;**108**(25):3092-3096.
- 25 **Brugada, R., Hong, K., Dumaine, R., Cordeiro, J., Gaita, F., Borggrefe, M., Menendez, T. M., Brugada, J., Pollevick, G. D., Wolpert, C., Burashnikov, E., Matsuo, K., Wu, Y. S., Guerchicoff, A., Bianchi, F., Giustetto, C., Schimpf, R., Brugada, P., Antzelevitch, C.** "Sudden death associated with short-QT syndrome linked to mutations in HERG." Circulation 2004;**109**(1):30-35.
- 26 **Buxton, A. E., Lee, K. L., Fisher, J. D., Josephson, M. E., Prystowsky, E. N., Hafley, G.** "A randomized study of the prevention of sudden death in patients with coronary artery disease. Multicenter Unsustained Tachycardia Trial Investigators." N Engl J Med 1999;**341**(25):1882-1890.
- 27 **Cambien, F., Poirier, O., Lecerf, L., Evans, A., Cambou, J. P., Arveiler, D., Luc, G., Bard, J. M., Bara, L., Ricard, S., et al.** "Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction." Nature 1992;**359**(6396):641-644.
- 28 **Camm, A. J., Nisam, S.** "The utilization of the implantable defibrillator--a European enigma." Eur Heart J 2000;**21**(24):1998-2004.

- 29 **Camm, A. J., Pratt, C. M., Schwartz, P. J., Al-Khalidi, H. R., Spyt, M. J., Holroyde, M. J., Karam, R., Sonnenblick, E. H., Brum, J. M.** "Mortality in patients after a recent myocardial infarction: a randomized, placebo-controlled trial of azimilide using heart rate variability for risk stratification." Circulation 2004;**109**(8):990-996.
- 30 **Cannom, D. S.** "Prevention of sudden cardiac death." J Cardiovasc Electrophysiol 2005;**16 Suppl 1**:S21-24.
- 31 **Centers for Disease Control and Prevention (CDC)** "State-specific mortality from sudden cardiac death--United States, 1999." MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2002;**51**(6):123-6.
- 32 **Charles, C. J.** "Putative role for apelin in pressure/volume homeostasis and cardiovascular disease." Cardiovasc Hematol Agents Med Chem 2007;**5**(1):1-10.
- 33 **Charles, C. J., Rademaker, M. T., Richards, A. M.** "Apelin-13 induces a biphasic haemodynamic response and hormonal activation in normal conscious sheep." J Endocrinol 2006;**189**(3):701-710.
- 34 **Chen, J. Z., Xie, X. D., Wang, X. X., Tao, M., Shang, Y. P., Guo, X. G.** "Single nucleotide polymorphisms of the SCN5A gene in Han Chinese and their relation with Brugada syndrome." Chin Med J (Engl) 2004;**117**(5):652-656.
- 35 **Chen, M. M., Ashley, E. A., Deng, D. X., Tsalenko, A., Deng, A., Tabibiazar, R., Ben-Dor, A., Fenster, B., Yang, E., King, J. Y., Fowler, M., Robbins, R., Johnson, F. L., Bruhn, L., McDonagh, T., Dargie, H., Yakhini, Z., Tsao, P. S., Quertermous, T.** "Novel role for the potent endogenous inotrope apelin in human cardiac dysfunction." Circulation 2003;**108**(12):1432-1439.
- 36 **Chen, Q., Kirsch, G. E., Zhang, D., Brugada, R., Brugada, J., Brugada, P., Potenza, D., Moya, A., Borggrefe, M., Breithardt, G., Ortiz-Lopez, R., Wang, Z., Antzelevitch, C., O'Brien, R. E., Schulze-Bahr, E., Keating, M. T., Towbin, J. A., Wang, Q.** "Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation." Nature 1998;**392**(6673):293-296.
- 37 **Chong, K. S., Gardner, R. S., Morton, J. J., Ashley, E. A., McDonagh, T. A.** "Plasma concentrations of the novel peptide apelin are decreased in patients with chronic heart failure." Eur J Heart Fail 2006;**8**(4):355-360.

- 38 **Chow, T., Kereiakes, D. J., Bartone, C., Booth, T., Schloss, E. J., Waller, T., Chung, E. S., Menon, S., Nallamothu, B. K., Chan, P. S.** "Prognostic utility of microvolt T-wave alternans in risk stratification of patients with ischemic cardiomyopathy." J Am Coll Cardiol 2006;**47**(9):1820-1827.
- 39 **Chugh, S. S., Blackshear, J. L., Shen, W. K., Hammill, S. C., Gersh, B. J.** "Epidemiology and natural history of atrial fibrillation: clinical implications." J Am Coll Cardiol 2001;**37**(2):371-378.
- 40 **Cobb, L. A., Baum, R. S., Alvarez, H., 3rd, Schaffer, W. A.** "Resuscitation from out-of-hospital ventricular fibrillation: 4 years follow-up." Circulation 1975;**52**(6 Suppl):III223-235.
- 41 **Connolly, S. J., Gent, M., Roberts, R. S., Dorian, P., Roy, D., Sheldon, R. S., Mitchell, L. B., Green, M. S., Klein, G. J., O'Brien, B.** "Canadian implantable defibrillator study (CIDS) : a randomized trial of the implantable cardioverter defibrillator against amiodarone." Circulation 2000;**101**(11):1297-1302.
- 42 **Connolly, S. J., Hallstrom, A. P., Cappato, R., Schron, E. B., Kuck, K. H., Zipes, D. P., Greene, H. L., Boczor, S., Domanski, M., Follmann, D., Gent, M., Roberts, R. S.** "Meta-analysis of the implantable cardioverter defibrillator secondary prevention trials. AVID, CASH and CIDS studies. Antiarrhythmics vs Implantable Defibrillator study. Cardiac Arrest Study Hamburg . Canadian Implantable Defibrillator Study." Eur Heart J 2000;**21**(24):2071-2078.
- 43 **Corrado, D., Basso, C., Thiene, G.** "Sudden cardiac death in young people with apparently normal heart." Cardiovasc Res 2001;**50**(2):399-408.
- 44 **Cuoco, M. A., Pereira, A. C., de Freitas, H. F., de Fatima Alves da Mota, G., Fukushima, J. T., Krieger, J. E., Mansur, A. J.** "Angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism modulation of onset of symptoms and survival rate of patients with heart failure." Int J Cardiol 2005;**99**(1):97-103.
- 45 **Dai, T., Ramirez-Correa, G., Gao, W. D.** "Apelin increases contractility in failing cardiac muscle." Eur J Pharmacol 2006;**553**(1-3):222-228.
- 46 **Danser, A. H., Schalekamp, M. A., Bax, W. A., van den Brink, A. M., Saxena, P. R., Riegger, G. A., Schunkert, H.** "Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism." Circulation 1995;**92**(6):1387-1388.

- 47 **Davies, L. C., Francis, D. P., Ponikowski, P., Piepoli, M. F., Coats, A. J.** "Relation of heart rate and blood pressure turbulence following premature ventricular complexes to baroreflex sensitivity in chronic congestive heart failure." Am J Cardiol 2001;**87**(6):737-742.
- 48 **de Vreede-Swagemakers, J. J., Gorgels, A. P., Dubois-Arbouw, W. I., van Ree, J. W., Daemen, M. J., Houben, L. G., Wellens, H. J.** "Out-of-hospital cardiac arrest in the 1990's: a population-based study in the Maastricht area on incidence, characteristics and survival." J Am Coll Cardiol 1997;**30**(6):1500-1505.
- 49 **deBoer, R. W., Karemaker, J. M., Strackee, J.** "Hemodynamic fluctuations and baroreflex sensitivity in humans: a beat-to-beat model." Am J Physiol 1987;**253**(3 Pt 2):H680-689.
- 50 **Denes, P., el-Sherif, N., Katz, R., Capone, R., Carlson, M., Mitchell, L. B., Ledingham, R.** "Prognostic significance of signal-averaged electrocardiogram after thrombolytic therapy and/or angioplasty during acute myocardial infarction (CAST substudy). Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) SAECG Substudy Investigators." Am J Cardiol 1994;**74**(3):216-220.
- 51 **Devic, E., Rizzoti, K., Bodin, S., Knibiehler, B., Audigier, Y.** "Amino acid sequence and embryonic expression of msr/apj, the mouse homolog of Xenopus X-msr and human APJ." Mech Dev 1999;**84**(1-2):199-203.
- 52 **Doolan, G., Nguyen, L., Chung, J., Ingles, J., Semsarian, C.** "Progression of left ventricular hypertrophy and the angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy." Int J Cardiol 2004;**96**(2):157-163.
- 53 **Edinger, A. L., Hoffman, T. L., Sharron, M., Lee, B., Yi, Y., Choe, W., Kolson, D. L., Mitrovic, B., Zhou, Y., Faulds, D., Collman, R. G., Hesselgesser, J., Horuk, R., Doms, R. W.** "An orphan seven-transmembrane domain receptor expressed widely in the brain functions as a coreceptor for human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus." J Virol 1998;**72**(10):7934-7940.
- 54 **Ehrlich, J. R., Hohnloser, S. H., Nattel, S.** "Role of angiotensin system and effects of its inhibition in atrial fibrillation: clinical and experimental evidence." Eur Heart J 2006;**27**(5):512-518.
- 55 **Ellinor, P. T., Low, A. F., Macrae, C. A.** "Reduced apelin levels in lone atrial fibrillation." Eur Heart J 2006;**27**(2):222-226.
- 56 **Engdahl, J., Holmberg, M., Karlson, B. W., Luepker, R., Herlitz, J.** "The epidemiology of out-of-hospital 'sudden' cardiac arrest." Resuscitation 2002;**52**(3):235-245.



- 57 **Espinel, E., Tovar, J. L., Borrellas, J., Piera, L., Jordi, R., Frias, F. R., Armadans, L., Bachs, A. G.** "Angiotensin-converting enzyme i/d polymorphism in patients with malignant hypertension." J Clin Hypertens (Greenwich) 2005;7(1):11-15; quiz 16-17.
- 58 **Farrell, T. G., Paul, V., Cripps, T. R., Malik, M., Bennett, E. D., Ward, D., Camm, A. J.** "Baroreflex sensitivity and electrophysiological correlates in patients after acute myocardial infarction." Circulation 1991;83(3):945-952.
- 59 **Fatini, C., Abbate, R., Pepe, G., Battaglini, B., Gensini, F., Ruggiano, G., Gensini, G. F., Guazzelli, R.** "Searching for a better assessment of the individual coronary risk profile. The role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type 1 receptor and angiotensinogen gene polymorphisms." Eur Heart J 2000;21(8):633-638.
- 60 **Fleg, J. L., Kennedy, H. L.** "Cardiac arrhythmias in a healthy elderly population: detection by 24-hour ambulatory electrocardiography." Chest 1982;81(3):302-307.
- 61 **Fogel, R. I., Prystowsky, E. N.** "Management of malignant ventricular arrhythmias and cardiac arrest." Crit Care Med 2000;28(10 Suppl):N165-169.
- 62 **Foldes, G., Horkay, F., Szokodi, I., Vuolteenaho, O., Ilves, M., Lindstedt, K. A., Mayranpaa, M., Sarman, B., Seres, L., Skoumal, R., Lako-Futo, Z., deChatel, R., Ruskoaho, H., Toth, M.** "Circulating and cardiac levels of apelin, the novel ligand of the orphan receptor APJ, in patients with heart failure." Biochem Biophys Res Commun 2003;308(3):480-485.
- 63 **Francia, P., Salvati, A., Balla, C., De Paolis, P., Pagannone, E., Borro, M., Gentile, G., Simmaco, M., De Biase, L., Volpe, M.** "Cardiac resynchronization therapy increases plasma levels of the endogenous inotrope apelin." Eur J Heart Fail 2007;9(3):306-309.
- 64 **Gensini, F., Padeletti, L., Fatini, C., Sticchi, E., Gensini, G. F., Michelucci, A.** "Angiotensin-converting enzyme and endothelial nitric oxide synthase polymorphisms in patients with atrial fibrillation." Pacing Clin Electrophysiol 2003;26(1 Pt 2):295-298.
- 65 **Gharavi, A. G., Lipkowitz, M. S., Diamond, J. A., Jhang, J. S., Phillips, R. A.** "Deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is independently associated with left ventricular mass and geometric remodeling in systemic hypertension." Am J Cardiol 1996;77(15):1315-1319.

- 66 **Goette, A., Arndt, M., Rocken, C., Spiess, A., Staack, T., Geller, J. C., Huth, C., Ansorge, S., Klein, H. U., Lendeckel, U.** "Regulation of angiotensin II receptor subtypes during atrial fibrillation in humans." Circulation 2000;**101**(23):2678-2681.
- 67 **Goette, A., Staack, T., Rocken, C., Arndt, M., Geller, J. C., Huth, C., Ansorge, S., Klein, H. U., Lendeckel, U.** "Increased expression of extracellular signal-regulated kinase and angiotensin-converting enzyme in human atria during atrial fibrillation." J Am Coll Cardiol 2000;**35**(6):1669-1677.
- 68 **Gold, M. R., Bloomfield, D. M., Anderson, K. P., El-Sherif, N. E., Wilber, D. J., Groh, W. J., Estes, N. A., 3rd, Kaufman, E. S., Greenberg, M. L., Rosenbaum, D. S.** "A comparison of T-wave alternans, signal averaged electrocardiography and programmed ventricular stimulation for arrhythmia risk stratification." J Am Coll Cardiol 2000;**36**(7):2247-2253.
- 69 **Gomes, J. A., Cain, M. E., Buxton, A. E., Josephson, M. E., Lee, K. L., Hafley, G. E.** "Prediction of long-term outcomes by signal-averaged electrocardiography in patients with unsustained ventricular tachycardia, coronary artery disease, and left ventricular dysfunction." Circulation 2001;**104**(4):436-441.
- 70 **Greenberg, H., Case, R. B., Moss, A. J., Brown, M. W., Carroll, E. R., Andrews, M. L.** "Analysis of mortality events in the Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial (MADIT-II)." J Am Coll Cardiol 2004;**43**(8):1459-1465.
- 71 **Gregoratos, G., Abrams, J., Epstein, A. E., Freedman, R. A., Hayes, D. L., Hlatky, M. A., Kerber, R. E., Naccarelli, G. V., Schoenfeld, M. H., Silka, M. J., Winters, S. L., Gibbons, R. J., Antman, E. M., Alpert, J. S., Hiratzka, L. F., Faxon, D. P., Jacobs, A. K., Fuster, V., Smith, S. C., Jr.** "ACC/AHA/NASPE 2002 guideline update for implantation of cardiac pacemakers and antiarrhythmia devices: summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/NASPE Committee to Update the 1998 Pacemaker Guidelines)." Circulation 2002;**106**(16):2145-2161.
- 72 **Grimm, W., Christ, M., Bach, J., Muller, H. H., Maisch, B.** "Noninvasive arrhythmia risk stratification in idiopathic dilated cardiomyopathy: results of the Marburg Cardiomyopathy Study." Circulation 2003;**108**(23):2883-2891.
- 73 **Gronefeld, G., Hohnloser, S. H.** "What do implantable cardioverter/defibrillators teach us about the mechanisms of sudden cardiac death?" Cardiovasc Res 2001;**50**(2):232-241.

- 74 **Habata, Y., Fujii, R., Hosoya, M., Fukusumi, S., Kawamata, Y., Hinuma, S., Kitada, C., Nishizawa, N., Murosaki, S., Kurokawa, T., Onda, H., Tatemoto, K., Fujino, M.** "Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum." Biochim Biophys Acta 1999;**1452**(1):25-35.
- 75 **Handley, A. J., Koster, R., Monsieurs, K., Perkins, G. D., Davies, S., Bossaert, L.** "European Resuscitation Council guidelines for resuscitation 2005. Section 2. Adult basic life support and use of automated external defibrillators." Resuscitation 2005;**67 Suppl 1**:S7-23.
- 76 **Hering, H. E.** "Experimentelle Studien an Säugethieren über das Elektrokardiogramm." Z Exp Pathol Ther 1909;**7**:363-367.
- 77 **Hofmann, T., Meinertz, T., Kasper, W., Geibel, A., Zehender, M., Hohnloser, S., Stienen, U., Treese, N., Just, H.** "Mode of death in idiopathic dilated cardiomyopathy: a multivariate analysis of prognostic determinants." Am Heart J 1988;**116**(6 Pt 1):1455-1463.
- 78 **Hohnloser, S. H., Ikeda, T., Bloomfield, D. M., Dabbous, O. H., Cohen, R. J.** "T-wave alternans negative coronary patients with low ejection and benefit from defibrillator implantation." Lancet 2003;**362**(9378):125-126.
- 79 **Hohnloser, S. H., Klingenheben, T., Bloomfield, D., Dabbous, O., Cohen, R. J.** "Usefulness of microvolt T-wave alternans for prediction of ventricular tachyarrhythmic events in patients with dilated cardiomyopathy: results from a prospective observational study." J Am Coll Cardiol 2003;**41**(12):2220-2224.
- 80 **Hohnloser, S. H., Klingenheben, T., Li, Y. G., Zabel, M., Peetermans, J., Cohen, R. J.** "T wave alternans as a predictor of recurrent ventricular tachyarrhythmias in ICD recipients: prospective comparison with conventional risk markers." J Cardiovasc Electrophysiol 1998;**9**(12):1258-1268.
- 81 **Hosoya, M., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Fujii, R., Habata, Y., Hinuma, S., Kitada, C., Honda, S., Kurokawa, T., Onda, H., Nishimura, O., Fujino, M.** "Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin." J Biol Chem 2000;**275**(28):21061-21067.
- 82 **Ikeda, T., Saito, H., Tanno, K., Shimizu, H., Watanabe, J., Ohnishi, Y., Kasamaki, Y., Ozawa, Y.** "T-wave alternans as a predictor for sudden cardiac death after myocardial infarction." Am J Cardiol 2002;**89**(1):79-82.

- 83 **Ikeda, T., Sakata, T., Takami, M., Kondo, N., Tezuka, N., Nakae, T., Noro, M., Enjoji, Y., Abe, R., Sugi, K., Yamaguchi, T.** "Combined assessment of T-wave alternans and late potentials used to predict arrhythmic events after myocardial infarction. A prospective study." J Am Coll Cardiol 2000;**35**(3):722-730.
- 84 **Ikeda, T., Yoshino, H., Sugi, K., Tanno, K., Shimizu, H., Watanabe, J., Kasamaki, Y., Yoshida, A., Kato, T.** "Predictive value of microvolt T-wave alternans for sudden cardiac death in patients with preserved cardiac function after acute myocardial infarction: results of a collaborative cohort study." J Am Coll Cardiol 2006;**48**(11):2268-2274.
- 85 **Ikeda, T., Yusu, S., Nakamura, K., Yoshino, H.** "Risk Stratification for Sudden Cardiac Death." Circ J 2007;**71**:A106-A114.
- 86 **International HapMap Consortium** "A haplotype map of the human genome." Nature 2005;**437**(7063):1299-320.
- 87 **Ishida, J., Hashimoto, T., Hashimoto, Y., Nishiwaki, S., Iguchi, T., Harada, S., Sugaya, T., Matsuzaki, H., Yamamoto, R., Shiota, N., Okunishi, H., Kihara, M., Umemura, S., Sugiyama, F., Yagami, K., Kasuya, Y., Mochizuki, N., Fukamizu, A.** "Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo." J Biol Chem 2004;**279**(25):26274-26279.
- 88 **Ishigami, T., Umemura, S., Iwamoto, T., Tamura, K., Hibi, K., Yamaguchi, S., Nyuui, N., Kimura, K., Miyazaki, N., Ishii, M.** "Molecular variant of angiotensinogen gene is associated with coronary atherosclerosis." Circulation 1995;**91**(4):951-954.
- 89 **Iwai, N., Ohmichi, N., Nakamura, Y., Kinoshita, M.** "DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy." Circulation 1994;**90**(6):2622-2628.
- 90 **Jeunemaitre, X., Soubrier, F., Kotelevtsev, Y. V., Lifton, R. P., Williams, C. S., Charru, A., Hunt, S. C., Hopkins, P. N., Williams, R. R., Lalouel, J. M., et al.** "Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen." Cell 1992;**71**(1):169-180.
- 91 **Jia, Y. X., Pan, C. S., Zhang, J., Geng, B., Zhao, J., Gerns, H., Yang, J., Chang, J. K., Tang, C. S., Qi, Y. F.** "Apelin protects myocardial injury induced by isoproterenol in rats." Regul Pept 2006;**133**(1-3):147-154.
- 92 **Jung, W., Andresen, D., Block, M., Böcker, D., Hohnloser, S. H., Kuck, K.-H., Sperzel, J.** "Leitlinien zur Implantation von Defibrillatoren." Clin Res Cardiol 2006;**95**:696-708.

- 93 **Kadish, A., Dyer, A., Daubert, J. P., Quigg, R., Estes, N. A., Anderson, K. P., Calkins, H., Hoch, D., Goldberger, J., Shalaby, A., Sanders, W. E., Schaechter, A., Levine, J. H.** "Prophylactic defibrillator implantation in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy." N Engl J Med 2004;**350**(21):2151-2158.
- 94 **Kamitani, A., Rakugi, H., Higaki, J., Ohishi, M., Shi, S. J., Takami, S., Nakata, Y., Higashino, Y., Fujii, K., Mikami, H., et al.** "Enhanced predictability of myocardial infarction in Japanese by combined genotype analysis." Hypertension 1995;**25**(5):950-953.
- 95 **Kannel, W. B., Thomas, H. E., Jr.** "Sudden coronary death: the Framingham Study." Ann N Y Acad Sci 1982;**382**:3-21.
- 96 **Kaplan, E. L., Meier, P.** "Non-parametric estimation from incomplete observations." J Am Stat Assoc 1958;**53**:457-481.
- 97 **Kario, K., Kanai, N., Saito, K., Nago, N., Matsuo, T., Shimada, K.** "Ischemic stroke and the gene for angiotensin-converting enzyme in Japanese hypertensives." Circulation 1996;**93**(9):1630-1633.
- 98 **Katsuya, T., Koike, G., Yee, T. W., Sharpe, N., Jackson, R., Norton, R., Horiuchi, M., Pratt, R. E., Dzau, V. J., MacMahon, S.** "Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease." Lancet 1995;**345**(8965):1600-1603.
- 99 **Katugampola, S. D., Maguire, J. J., Matthewson, S. R., Davenport, A. P.** "[<sup>125</sup>I]-[Pyr(1)]Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man." Br J Pharmacol 2001;**132**(6):1255-1260.
- 100 **Kaufenstein, S., Kiehne, N., Neumann, T., Pitschner, H.-F., Bratzke, H.** "Plötzlicher Herztod bei jungen Menschen durch kardiale Gendefekte." Dtsch Arztebl Int 2009;**106**(4):41-47.
- 101 **Kawamata, Y., Habata, Y., Fukusumi, S., Hosoya, M., Fujii, R., Hinuma, S., Nishizawa, N., Kitada, C., Onda, H., Nishimura, O., Fujino, M.** "Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding." Biochim Biophys Acta 2001;**1538**(2-3):162-171.
- 102 **Kim, C., Fahrenbruch, C. E., Cobb, L. A., Eisenberg, M. S.** "Out-of-hospital cardiac arrest in men and women." Circulation 2001;**104**(22):2699-2703.
- 103 **Kleinz, M. J., Davenport, A. P.** "Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial endothelial cells." Regul Pept 2004;**118**(3):119-125.

- 104 **Kleinz, M. J., Davenport, A. P.** "Emerging roles of apelin in biology and medicine." Pharmacol Ther 2005;**107**(2):198-211.
- 105 **Klingenheben, T., Ptaszynski, P., Hohnloser, S. H.** "Quantitative assessment of microvolt T-wave alternans in patients with congestive heart failure." J Cardiovasc Electrophysiol 2005;**16**(6):620-624.
- 106 **Klingenheben, T., Zabel, M., D'Agostino, R. B., Cohen, R. J., Hohnloser, S. H.** "Predictive value of T-wave alternans for arrhythmic events in patients with congestive heart failure." Lancet 2000;**356**(9230):651-652.
- 107 **Komuro, I., Kaida, T., Shibasaki, Y., Kurabayashi, M., Katoh, Y., Hoh, E., Takaku, F., Yazaki, Y.** "Stretching cardiac myocytes stimulates protooncogene expression." J Biol Chem 1990;**265**(7):3595-3598.
- 108 **Kuck, K. H., Cappato, R., Siebels, J., Ruppel, R.** "Randomized comparison of antiarrhythmic drug therapy with implantable defibrillators in patients resuscitated from cardiac arrest : the Cardiac Arrest Study Hamburg (CASH)." Circulation 2000;**102**(7):748-754.
- 109 **Kusmirek, S. L., Gold, M. R.** "Sudden cardiac death: the role of risk stratification." Am Heart J 2007;**153**(4 Suppl):25-33.
- 110 **Kuznetsova, T., Staessen, J. A., Thijs, L., Kunath, C., Olszanecka, A., Ryabikov, A., Tikhonoff, V., Stolarz, K., Bianchi, G., Casiglia, E., Fagard, R., Brand-Herrmann, S. M., Kawecka-Jaszcz, K., Maljutina, S., Nikitin, Y., Brand, E.** "Left ventricular mass in relation to genetic variation in angiotensin II receptors, renin system genes, and sodium excretion." Circulation 2004;**110**(17):2644-2650.
- 111 **La Rovere, M. T., Bigger, J. T., Jr., Marcus, F. I., Mortara, A., Schwartz, P. J.** "Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators." Lancet 1998;**351**(9101):478-484.
- 112 **Lab, M. J., Lee, J. A.** "Changes in intracellular calcium during mechanical alternans in isolated ferret ventricular muscle." Circ Res 1990;**66**(3):585-595.
- 113 **Lee, D. K., Cheng, R., Nguyen, T., Fan, T., Kariyawasam, A. P., Liu, Y., Osmond, D. H., George, S. R., O'Dowd, B. F.** "Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor." J Neurochem 2000;**74**(1):34-41.
- 114 **Lee, D. K., George, S. R., O'Dowd, B. F.** "Unravelling the roles of the apelin system: prospective therapeutic applications in heart failure and obesity." Trends Pharmacol Sci 2006;**27**(4):190-194.

- 115 **Lee, D. K., Lanca, A. J., Cheng, R., Nguyen, T., Ji, X. D., Gobeil, F., Jr., Chemtob, S., George, S. R., O'Dowd, B. F.** "Agonist-independent nuclear localization of the Apelin, angiotensin AT1, and bradykinin B2 receptors." J Biol Chem 2004;**279**(9):7901-7908.
- 116 **Li, D., Shinagawa, K., Pang, L., Leung, T. K., Cardin, S., Wang, Z., Nattel, S.** "Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on the development of the atrial fibrillation substrate in dogs with ventricular tachypacing-induced congestive heart failure." Circulation 2001;**104**(21):2608-2614.
- 117 **Lin, L. Y., Lai, L. P., Lin, J. L., Du, C. C., Shau, W. Y., Chan, H. L., Tseng, Y. Z., Huang, S. K.** "Tight mechanism correlation between heart rate turbulence and baroreflex sensitivity: sequential autonomic blockade analysis." J Cardiovasc Electrophysiol 2002;**13**(5):427-431.
- 118 **Lin, T. H., Chiu, H. C., Su, H. M., Juo, S. H., Lee, Y. T., Voon, W. C., Lai, W. T., Sheu, S. H.** "D-allele of ACE polymorphism is associated with increased magnitude of QT dispersion prolongation in elderly Chinese: 4-year follow-up study." Circ J 2007;**71**(1):39-45.
- 119 **Lindpaintner, K., Pfeffer, M. A., Kreutz, R., Stampfer, M. J., Grodstein, F., LaMotte, F., Buring, J., Hennekens, C. H.** "A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease." N Engl J Med 1995;**332**(11):706-711.
- 120 **Luu, M., Stevenson, W. G., Stevenson, L. W., Baron, K., Walden, J.** "Diverse mechanisms of unexpected cardiac arrest in advanced heart failure." Circulation 1989;**80**(6):1675-1680.
- 121 **Malik, M., Camm, A. J., Janse, M. J., Julian, D. G., Frangin, G. A., Schwartz, P. J.** "Depressed heart rate variability identifies postinfarction patients who might benefit from prophylactic treatment with amiodarone: a substudy of EMIAT (The European Myocardial Infarct Amiodarone Trial)." J Am Coll Cardiol 2000;**35**(5):1263-1275.
- 122 **Marian, A. J., Yu, Q. T., Workman, R., Greve, G., Roberts, R.** "Angiotensin-converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death." Lancet 1993;**342**(8879):1085-1086.
- 123 **Markus, H. S., Barley, J., Lunt, R., Bland, J. M., Jeffery, S., Carter, N. D., Brown, M. M.** "Angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism. A new risk factor for lacunar stroke but not carotid atheroma." Stroke 1995;**26**(8):1329-1333.

- 124 **Masri, B., Knibiehler, B., Audigier, Y.** "Apelin signalling: a promising pathway from cloning to pharmacology." Cell Signal 2005;**17**(4):415-426.
- 125 **Medhurst, A. D., Jennings, C. A., Robbins, M. J., Davis, R. P., Ellis, C., Winborn, K. Y., Lawrie, K. W., Hervieu, G., Riley, G., Bolaky, J. E., Herrity, N. C., Murdock, P., Darker, J. G.** "Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin." J Neurochem 2003;**84**(5):1162-1172.
- 126 **Meinertz, T., Treese, N., Kasper, W., Geibel, A., Hofmann, T., Zehender, M., Bohn, D., Pop, T., Just, H.** "Determinants of prognosis in idiopathic dilated cardiomyopathy as determined by programmed electrical stimulation." Am J Cardiol 1985;**56**(4):337-341.
- 127 **Mirowski, M., Reid, P. R., Mower, M. M., Watkins, L., Gott, V. L., Schauble, J. F., Langer, A., Heilman, M. S., Kolenik, S. A., Fischell, R. E., Weisfeldt, M. L.** "Termination of malignant ventricular arrhythmias with an implanted automatic defibrillator in human beings." N Engl J Med 1980;**303**(6):322-324.
- 128 **Mittal, S., Iwai, S., Stein, K. M., Markowitz, S. M., Slotwiner, D. J., Lerman, B. B.** "Long-term outcome of patients with unexplained syncope treated with an electrophysiologic-guided approach in the implantable cardioverter-defibrillator era." J Am Coll Cardiol 1999;**34**(4):1082-1089.
- 129 **Montgomery, H. E., Clarkson, P., Dollery, C. M., Prasad, K., Losi, M. A., Hemingway, H., Statters, D., Jubb, M., Girvain, M., Varnava, A., World, M., Deanfield, J., Talmud, P., McEwan, J. R., McKenna, W. J., Humphries, S.** "Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training." Circulation 1997;**96**(3):741-747.
- 130 **Moss, A. J., Hall, W. J., Cannom, D. S., Daubert, J. P., Higgins, S. L., Klein, H., Levine, J. H., Saksena, S., Waldo, A. L., Wilber, D., Brown, M. W., Heo, M.** "Improved survival with an implanted defibrillator in patients with coronary disease at high risk for ventricular arrhythmia. Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial Investigators." N Engl J Med 1996;**335**(26):1933-1940.
- 131 **Moss, A. J., Zareba, W., Hall, W. J., Klein, H., Wilber, D. J., Cannom, D. S., Daubert, J. P., Higgins, S. L., Brown, M. W., Andrews, M. L.** "Prophylactic implantation of a defibrillator in patients with myocardial infarction and reduced ejection fraction." N Engl J Med 2002;**346**(12):877-883.
- 132 **Mrowka, R., Persson, P. B., Theres, H., Patzak, A.** "Blunted arterial baroreflex causes "pathological" heart rate turbulence." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2000;**279**(4):R1171-1175.



- 133 **Müller-Nordhorn, J., Arntz, H. R., Löwel, H., Willich, S. N.** "Epidemiologie des plötzlichen Herztodes." Intensivmed 2001;**38**:499-507.
- 134 **Myerburg, R. J.** "Sudden cardiac death: epidemiology, causes, and mechanisms." Cardiology 1987;**74 Suppl 2**:2-9.
- 135 **Myerburg, R. J.** "Scientific gaps in the prediction and prevention of sudden cardiac death." J Cardiovasc Electrophysiol 2002;**13**(7):709-723.
- 136 **Myerburg, R. J., Interian, A., Jr., Mitrani, R. M., Kessler, K. M., Castellanos, A.** "Frequency of sudden cardiac death and profiles of risk." Am J Cardiol 1997;**80**(5B):10F-19F.
- 137 **Nakai, K., Itoh, C., Miura, Y., Hotta, K., Musha, T., Itoh, T., Miyakawa, T., Iwasaki, R., Hiramori, K.** "Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese." Circulation 1994;**90**(5):2199-2202.
- 138 **Nakauchi, Y., Suehiro, T., Yamamoto, M., Yasuoka, N., Ariti, K., Kumon, Y., Hamashige, N., Hashimoto, K.** "Significance of angiotensin I-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms as risk factors for coronary heart disease." Atherosclerosis 1996;**125**(2):161-169.
- 139 **Nieminen, T., Lehtimäki, T., Viik, J., Lehtinen, R., Nikus, K., Koobi, T., Niemela, K., Turjanmaa, V., Kaiser, W., Huhtala, H., Verrier, R. L., Huikuri, H., Kahonen, M.** "T-wave alternans predicts mortality in a population undergoing a clinically indicated exercise test." Eur Heart J 2007;**28**(19):2332-2337.
- 140 **O'Carroll, A. M., Don, A. L., Lolait, S. J.** "APJ receptor mRNA expression in the rat hypothalamic paraventricular nucleus: regulation by stress and glucocorticoids." J Neuroendocrinol 2003;**15**(11):1095-1101.
- 141 **O'Carroll, A. M., Lolait, S. J.** "Regulation of rat APJ receptor messenger ribonucleic acid expression in magnocellular neurones of the paraventricular and supraoptic nuclei by osmotic stimuli." J Neuroendocrinol 2003;**15**(7):661-666.
- 142 **O'Carroll, A. M., Selby, T. L., Palkovits, M., Lolait, S. J.** "Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues." Biochim Biophys Acta 2000;**1492**(1):72-80.

- 143 **O'Dowd, B. F., Heiber, M., Chan, A., Heng, H. H., Tsui, L. C., Kennedy, J. L., Shi, X., Petronis, A., George, S. R., Nguyen, T.** "A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11." Gene 1993;**136**(1-2):355-360.
- 144 **Ortlepp, J. R., Lauscher, J., Janssens, U., Minkenberg, R., Hanrath, P., Hoffmann, R.** "Analysis of several hundred genetic polymorphisms may improve assessment of the individual genetic burden for coronary artery disease." Eur J Intern Med 2002;**13**(8):485-492.
- 145 **Ortlepp, J. R., Vosberg, H. P., Reith, S., Ohme, F., Mahon, N. G., Schroder, D., Klues, H. G., Hanrath, P., McKenna, W. J.** "Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin-aldosterone system associated with expression of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy: a study of five polymorphic genes in a family with a disease causing mutation in the myosin binding protein C gene." Heart 2002;**87**(3):270-275.
- 146 **Peto, R., Pike, M. C., Armitage, P., Breslow, N. E., Cox, D. R., Howard, S. V., Mantel, N., McPherson, K., Peto, J., Smith, P. G.** "Design and analysis of randomized clinical trials requiring prolonged observation of each patient. II. analysis and examples." Br J Cancer 1977;**35**(1):1-39.
- 147 **Pilati, M., Cicoira, M., Zanolla, L., Nicoletti, I., Muraglia, S., Zardini, P.** "The role of angiotensin-converting enzyme polymorphism in congestive heart failure." Congest Heart Fail 2004;**10**(2):87-93; quiz 94-5.
- 148 **Poll, D. S., Marchlinski, F. E., Buxton, A. E., Josephson, M. E.** "Usefulness of programmed stimulation in idiopathic dilated cardiomyopathy." Am J Cardiol 1986;**58**(10):992-997.
- 149 **Pratt, C. M., Greenway, P. S., Schoenfeld, M. H., Hibben, M. L., Reiffel, J. A.** "Exploration of the precision of classifying sudden cardiac death. Implications for the interpretation of clinical trials." Circulation 1996;**93**(3):519-524.
- 150 **Priori, S. G., Aliot, E., Blomstrom-Lundqvist, C., Bossaert, L., Breithardt, G., Brugada, P., Camm, J. A., Cappato, R., Cobbe, S. M., Di Mario, C., Maron, B. J., McKenna, W. J., Pedersen, A. K., Ravens, U., Schwartz, P. J., Trusz-Gluza, M., Vardas, P., Wellens, H. J., Zipes, D. P.** "Update of the guidelines on sudden cardiac death of the European Society of Cardiology." Eur Heart J 2003;**24**(1):13-15.
- 151 **Priori, S. G., Napolitano, C., Tiso, N., Memmi, M., Vignati, G., Bloise, R., Sorrentino, V., Danieli, G. A.** "Mutations in the cardiac ryanodine receptor gene (hRyR2) underlie catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia." Circulation 2001;**103**(2):196-200.

- 152 **Raizada, V., Skipper, B., Luo, W., Garza, L., Hines, C. W., Harford, A. A., Zager, P. G., Griffith, J., Raj, D., Spalding, C. T.** "Renin-angiotensin polymorphisms and QTc interval prolongation in end-stage renal disease." Kidney Int 2005;**68**(3):1186-1189.
- 153 **Ravn, L. S., Benn, M., Nordestgaard, B. G., Sethi, A. A., Agerholm-Larsen, B., Jensen, G. B., Tybjaerg-Hansen, A.** "Angiotensinogen and ACE gene polymorphisms and risk of atrial fibrillation in the general population." Pharmacogenet Genomics 2008;**18**(6):525-533.
- 154 **Raynolds, M. V., Bristow, M. R., Bush, E. W., Abraham, W. T., Lowes, B. D., Zisman, L. S., Taft, C. S., Perryman, M. B.** "Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy." Lancet 1993;**342**(8879):1073-1075.
- 155 **Reaux, A., De Mota, N., Skultetyova, I., Lenkei, Z., El Messari, S., Gallatz, K., Corvol, P., Palkovits, M., Llorens-Cortes, C.** "Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain." J Neurochem 2001;**77**(4):1085-1096.
- 156 **Rigat, B., Hubert, C., Alhenc-Gelas, F., Cambien, F., Corvol, P., Soubrier, F.** "An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels." J Clin Invest 1990;**86**(4):1343-1346.
- 157 **Roberts, R.** "Mechanisms of disease: Genetic mechanisms of atrial fibrillation." Nat Clin Pract Cardiovasc Med 2006;**3**(5):276-282.
- 158 **Rosenbaum, D. S., Jackson, L. E., Smith, J. M., Garan, H., Ruskin, J. N., Cohen, R. J.** "Electrical alternans and vulnerability to ventricular arrhythmias." N Engl J Med 1994;**330**(4):235-241.
- 159 **Salerno-Uriarte, J. A., De Ferrari, G. M., Klersy, C., Pedretti, R. F., Tritto, M., Sallusti, L., Libero, L., Pettinati, G., Molon, G., Curnis, A., Occhetta, E., Morandi, F., Ferrero, P., Accardi, F.** "Prognostic value of T-wave alternans in patients with heart failure due to nonischemic cardiomyopathy: results of the ALPHA Study." J Am Coll Cardiol 2007;**50**(19):1896-1904.
- 160 **Samani, N. J., Erdmann, J., Hall, A. S., Hengstenberg, C., Mangino, M., Mayer, B., Dixon, R. J., Meitinger, T., Braund, P., Wichmann, H. E., Barrett, J. H., Konig, I. R., Stevens, S. E., Szymczak, S., Tregouet, D. A., Iles, M. M., Pahlke, F., Pollard, H., Lieb, W., Cambien, F., Fischer, M., Ouwehand, W., Blankenberg, S., Balmforth, A. J., Baessler, A., Ball, S. G., Strom, T. M., Braenne, I., Gieger, C., Deloukas, P., Tobin, M. D., Ziegler, A., Thompson, J. R., Schunkert, H.** "Genomewide association analysis of coronary artery disease." N Engl J Med 2007;**357**(5):443-453.

- 161 **Samani, N. J., Thompson, J. R., O'Toole, L., Channer, K., Woods, K. L.** "A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction." Circulation 1996;**94**(4):708-712.
- 162 **Santini, M., Lavallo, C., Ricci, R. P.** "Primary and secondary prevention of sudden cardiac death: who should get an ICD?" Heart 2007;**93**(11):1478-1483.
- 163 **Sarzani, R., Forleo, C., Pietrucci, F., Capestro, A., Soura, E., Guida, P., Sorrentino, S., Iacoviello, M., Romito, R., Dessi-Fulgheri, P., Pitzalis, M., Rappelli, A.** "The 212A variant of the APJ receptor gene for the endogenous inotrope apelin is associated with slower heart failure progression in idiopathic dilated cardiomyopathy." J Card Fail 2007;**13**(7):521-529.
- 164 **Schmidt, G., Malik, M., Barthel, P., Schneider, R., Ulm, K., Rolnitzky, L., Camm, A. J., Bigger, J. T., Jr., Schomig, A.** "Heart-rate turbulence after ventricular premature beats as a predictor of mortality after acute myocardial infarction." Lancet 1999;**353**(9162):1390-1396.
- 165 **Schreieck, J., Dostal, S., von Beckerath, N., Wacker, A., Flory, M., Weyerbrock, S., Koch, W., Schomig, A., Schmitt, C.** "C825T polymorphism of the G-protein beta3 subunit gene and atrial fibrillation: association of the TT genotype with a reduced risk for atrial fibrillation." Am Heart J 2004;**148**(3):545-550.
- 166 **Schunkert, H., Hense, H. W., Holmer, S. R., Stender, M., Perz, S., Keil, U., Lorell, B. H., Riegger, G. A.** "Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy." N Engl J Med 1994;**330**(23):1634-1638.
- 167 **Seyedabadi, M., Goodchild, A. K., Pilowsky, P. M.** "Site-specific effects of apelin-13 in the rat medulla oblongata on arterial pressure and respiration." Auton Neurosci 2002;**101**(1-2):32-38.
- 168 **Shimizu, W., Antzelevitch, C.** "Cellular and ionic basis for T-wave alternans under long-QT conditions." Circulation 1999;**99**(11):1499-1507.
- 169 **Staessen, J. A., Wang, J. G., Ginocchio, G., Petrov, V., Saavedra, A. P., Soubrier, F., Vlietinck, R., Fagard, R.** "The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk." J Hypertens 1997;**15**(12 Pt 2):1579-1592.
- 170 **Steinberg, J. S., Berbari, E. J.** "The signal-averaged electrocardiogram: update on clinical applications." J Cardiovasc Electrophysiol 1996;**7**(10):972-988.

- 171 **Steinberg, J. S., Hochman, J. S., Morgan, C. D., Dorian, P., Naylor, C. D., Theroux, P., Topol, E. J., Armstrong, P. W.** "Effects of thrombolytic therapy administered 6 to 24 hours after myocardial infarction on the signal-averaged ECG. Results of a multicenter randomized trial. LATE Ancillary Study Investigators. Late Assessment of Thrombolytic Efficacy." Circulation 1994;**90**(2):746-752.
- 172 **Stolarz, K., Staessen, J. A., Kawecka-Jaszcz, K., Brand, E., Bianchi, G., Kuznetsova, T., Tikhonoff, V., Thijs, L., Reineke, T., Babeanu, S., Casiglia, E., Fagard, R., Filipovsky, J., Peleska, J., Nikitin, Y., Struijker-Boudier, H., Grodzicki, T.** "Genetic variation in CYP11B2 and AT1R influences heart rate variability conditional on sodium excretion." Hypertension 2004;**44**(2):156-162.
- 173 **Sugimoto, K., Katsuya, T., Ohkubo, T., Hozawa, A., Yamamoto, K., Matsuo, A., Rakugi, H., Tsuji, I., Imai, Y., Ogihara, T.** "Association between angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism and essential hypertension: the Ohasama Study." Hypertens Res 2004;**27**(8):551-556.
- 174 **Sundaram, S., Goldberger, J. J.** "Risk stratification and epidemiology of sudden death." Curr Cardiol Rep 2004;**6**(5):333-338.
- 175 **Szokodi, I., Tavi, P., Foldes, G., Voutilainen-Myllyla, S., Ilves, M., Tokola, H., Pikkarainen, S., Piuhola, J., Rysa, J., Toth, M., Ruskoaho, H.** "Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility." Circ Res 2002;**91**(5):434-440.
- 176 **Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Hinuma, S., Kitada, C., Kurokawa, T., Onda, H., Fujino, M.** "Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor." Biochem Biophys Res Commun 1998;**251**(2):471-476.
- 177 **Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M. X., Kumaki, I., Zhang, W., Kumano, K., Fujimiya, M.** "The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism." Regul Pept 2001;**99**(2-3):87-92.
- 178 **The Antiarrhythmics versus Implantable Defibrillators (AVID) Investigators** "A comparison of antiarrhythmic-drug therapy with implantable defibrillators in patients resuscitated from near-fatal ventricular arrhythmias." N Engl J Med 1997;**337**(22):1576-1583.
- 179 **Tsai, C. T., Lai, L. P., Lin, J. L., Chiang, F. T., Hwang, J. J., Ritchie, M. D., Moore, J. H., Hsu, K. L., Tseng, C. D., Liau, C. S., Tseng, Y. Z.** "Renin-angiotensin system gene polymorphisms and atrial fibrillation." Circulation 2004;**109**(13):1640-1646.

- 180 **Verrier, R. L., Kwaku, K. F., Nearing, B. D., Josephson, M. E.** "T-wave alternans: does size matter." J Cardiovasc Electrophysiol 2005;**16**(6):625-628.
- 181 **Voss, A., Baier, V., Hopfe, J., Schirdewan, A., Leder, U.** "Heart rate and blood pressure turbulence--marker of the baroreflex sensitivity or consequence of postextrasystolic potentiation and pulsus alternans?" Am J Cardiol 2002;**89**(1):110-111.
- 182 **Waldecker, B.** "Zur Epidemiologie des plötzlichen Herztodes." Notfall Rettungsmed 2003;**6**:313-317.
- 183 **Waspe, L. E., Seinfeld, D., Ferrick, A., Kim, S. G., Matos, J. A., Fisher, J. D.** "Prediction of sudden death and spontaneous ventricular tachycardia in survivors of complicated myocardial infarction: value of the response to programmed stimulation using a maximum of three ventricular extrastimuli." J Am Coll Cardiol 1985;**5**(6):1292-1301.
- 184 **Weiss, J. P., Saynina, O., McDonald, K. M., McClellan, M. B., Hlatky, M. A.** "Effectiveness and cost-effectiveness of implantable cardioverter defibrillators in the treatment of ventricular arrhythmias among medicare beneficiaries." Am J Med 2002;**112**(7):519-527.
- 185 **Wever, E. F., Hauer, R. N., van Capelle, F. L., Tijssen, J. G., Crijns, H. J., Algra, A., Wiesfeld, A. C., Bakker, P. F., Robles de Medina, E. O.** "Randomized study of implantable defibrillator as first-choice therapy versus conventional strategy in postinfarct sudden death survivors." Circulation 1995;**91**(8):2195-2203.
- 186 **Wichterle, D., Melenovsky, V., Malik, M.** "Mechanisms involved in heart rate turbulence." Card Electrophysiol Rev 2002;**6**(3):262-266.
- 187 **Wilber, D. J., Garan, H., Finkelstein, D., Kelly, E., Newell, J., McGovern, B., Ruskin, J. N.** "Out-of-hospital cardiac arrest. Use of electrophysiologic testing in the prediction of long-term outcome." N Engl J Med 1988;**318**(1):19-24.
- 188 **Wilber, D. J., Olshansky, B., Moran, J. F., Scanlon, P. J.** "Electrophysiological testing and nonsustained ventricular tachycardia. Use and limitations in patients with coronary artery disease and impaired ventricular function." Circulation 1990;**82**(2):350-358.
- 189 **Winkelmann, B. R., Russ, A. P., Nauck, M., Klein, B., Bohm, B. O., Maier, V., Zotz, R., Matheis, G., Wolf, A., Wieland, H., Gross, W., Galton, D. J., Marz, W.** "Angiotensinogen M235T polymorphism is associated with plasma angiotensinogen and cardiovascular disease." Am Heart J 1999;**137**(4 Pt 1):698-705.

- 190 **Winkle, R. A., Mead, R. H., Ruder, M. A., Gaudiani, V. A., Smith, N. A., Buch, W. S., Schmidt, P., Shipman, T.** "Long-term outcome with the automatic implantable cardioverter-defibrillator." J Am Coll Cardiol 1989;**13**(6):1353-1361.
- 191 **Yamashita, T., Hayami, N., Ajiki, K., Oikawa, N., Sezaki, K., Inoue, M., Omata, M., Murakawa, Y.** "Is ACE gene polymorphism associated with lone atrial fibrillation?" Jpn Heart J 1997;**38**(5):637-641.
- 192 **Yang, P., Kanki, H., Drolet, B., Yang, T., Wei, J., Viswanathan, P. C., Hohnloser, S. H., Shimizu, W., Schwartz, P. J., Stanton, M., Murray, K. T., Norris, K., George, A. L., Jr., Roden, D. M.** "Allelic variants in long-QT disease genes in patients with drug-associated torsades de pointes." Circulation 2002;**105**(16):1943-1948.
- 193 **Zheng, Z. J., Croft, J. B., Giles, W. H., Mensah, G. A.** "Sudden cardiac death in the United States, 1989 to 1998." Circulation 2001;**104**(18):2158-2163.
- 194 **Zimetbaum, P. J., Buxton, A. E., Batsford, W., Fisher, J. D., Hafley, G. E., Lee, K. L., O'Toole, M. F., Page, R. L., Reynolds, M., Josephson, M. E.** "Electrocardiographic predictors of arrhythmic death and total mortality in the multicenter unsustained tachycardia trial." Circulation 2004;**110**(7):766-769.
- 195 **Zipes, D. P., Wellens, H. J.** "Sudden cardiac death." Circulation 1998;**98**(21):2334-2351.
- 196 **Zuanetti, G., Neilson, J. M., Latini, R., Santoro, E., Maggioni, A. P., Ewing, D. J.** "Prognostic significance of heart rate variability in post-myocardial infarction patients in the fibrinolytic era. The GISSI-2 results. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell' Infarto Miocardico." Circulation 1996;**94**(3):432-436.

## 7 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Privatdozent Dr. Schreieck für die interessante Aufgabenstellung. Die äußerst interessanten Einblicke in die Kardiologie sind mir auch heute noch im klinischen Alltag sehr von Nutzen.

Herrn Dr. Mathias Busch möchte ich herzlich für die Betreuung dieser Dissertation danken und dass dies auch über die entstandene weite Entfernung möglich war.

Meinen Eltern und Julia möchte ich nicht nur für die allgemeine bedingungslose Unterstützung danken sondern auch für die stetigen Ermutigungen. Insbesondere danke ich meinem Vater für die zahlreichen Korrekturlesungen.



## 8 Lebenslauf

|                    |                         |
|--------------------|-------------------------|
| Geburtsdatum/-ort  | 30. Juni 1982 in Zittau |
| Staatsbürgerschaft | deutsch                 |
| Familienstand      | ledig                   |

### Schullaufbahn

---

|             |  |
|-------------|--|
| 1989 – 1991 | Grundschule Dietmannsried                                  |
| 1991 – 1993 | Grundschule Linsenhofen                                    |
| 1993 – 2002 | Hölderlin-Gymnasium Nürtingen<br>Allgemeine Hochschulreife |

### Zivildienst

---

|                   |  |
|-------------------|--|
| 08/2002 – 05/2003 | Pflegedienst Kreiskrankenhaus Nürtingen,<br>Station für Innere Medizin |
|-------------------|--|

### Studium

---

|                   |  |
|-------------------|--|
| 10/2003 – 11/2009 | Studium der Humanmedizin an der Eberhard<br>Karls Universität Tübingen |
| 08/2005           | Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung                                |
| 08/2008 - 06/2009 | Praktisches Jahr am Klinikum Esslingen a. N.                           |
| 06.11.2009        | Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und<br>Approbation als Arzt   |

### Ärztliche Tätigkeit

---

|                   |  |
|-------------------|--|
| 03/2010 – 09/2011 | Arzt in Weiterbildung für Anästhesiologie am<br>Städtischen Krankenhaus Dresden-<br>Friedrichstadt |
| Ab 10/2011        | Arzt in Weiterbildung für Anästhesiologie am<br>Städtischen Klinikum Esslingen a. N.               |