

Aus der

Klinik für Pädiatrische Kardiologie
(Direktor: Prof. Dr. Hashim Abdul-Khaliq)

Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

**Referenzwerte von NT-proBNP-
Serumkonzentrationen im Nabelschnurblut und bei
gesunden Neugeborenen und Kindern**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2011

vorgelegt von:

Lynn Schwachtgen

geboren am 20.12.1979 in Esch/Alzette (L)

Tag der Promotion:

Dekan:

Prüfungsvorsitz:

1. Prüfer:

2. Prüfer:

INHALT

1	ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	1
1.1	Zusammenfassung	1
1.2	Summary.....	2
2	EINLEITUNG	3
2.1	Die natriuretischen Peptide	3
2.1.1	Biochemischer Aufbau	4
2.2	BNP und NT-proBNP	6
2.2.1	Biochemischer Aufbau	6
2.2.2	Freisetzung.....	7
2.2.3	Wirkungsmechanismus.....	7
2.2.4	Abbauweg	9
2.2.5	Physiologische Funktionen.....	9
2.2.6	Verhalten unter pathologischen Bedingungen.....	11
2.2.7	Potenzielle Einflussgrößen	12
2.2.8	Testverfahren	13
2.2.9	Vorteile von NT-proBNP	13
2.2.10	Referenzwerte.....	14
3	FRAGESTELLUNG	15
4	MATERIAL UND METHODEN	16
4.1	Patientengut.....	16
4.2	Verwendete Proben	17
4.3	NT-proBNP-Messung	17
4.3.1	Testprinzip	17
4.3.2	Standardisierung und Qualitätskontrolle	19
4.3.3	Analytische Empfindlichkeit	19
4.4	Statistische Auswertung	19

5	ERGEBNISSE	22
5.1	Verteilung der Probanden	22
5.2	Verteilung der NT-proBNP-Werte	23
5.3	Gruppenbildung	25
5.4	Einfluss der Altersgruppen und des Geschlechts	27
5.5	Nabelschnurblut	30
5.5.1	Charakterisierung des Nabelschnurkollektivs	30
5.5.2	Einfluss der arteriellen bzw. venösen Blutentnahme	31
5.5.3	Einfluss des Geburtsmodus.....	32
5.5.4	Einfluss des APGAR-Scores, des Nabelschnur-pH-Wertes, des Gestationsalters und der Geburtsdauer	33
5.5.5	NT-proBNP-Konzentrationen im Nabelschnurblut	34
5.5.6	Einfluss des Geschlechts.....	35
5.6	Neugeborenen- und Säuglingsalter	36
5.6.1	NT-proBNP-Konzentrationen im Neugeborenen- und Säuglingsalter	36
5.6.2	Einfluss des Geschlechts.....	38
5.7	Kleinkind-, Schulkind-, Jugendlichen- und Erwachsenenalter	39
5.7.1	NT-proBNP-Konzentrationen im Kleinkind-, Schulkind-, Jugendlichen- und Erwachsenenalter.....	39
5.7.2	Einfluss des Geschlechts.....	41
5.8	Überblick der NT-proBNP-Konzentrationen aller Gruppen	43
5.9	Perzentilkurven	45
5.9.1	Regressionsanalyse	46
5.9.2	LMS-Methode.....	48
5.9.3	Gruppenabhängige Perzentilkurven.....	50
6	DISKUSSION	51
6.1	Gegenüberstellung der vorliegenden Ergebnisse zu den bisherigen Studiendaten	52
6.2	Interpretation der vorliegenden Ergebnisse	58
6.3	Bedeutung für die Klinik	60

6.4	Schlussfolgerung	61
7	ANHANG	62
7.1	Tabellen	62
7.2	Abkürzungen	64
8	LITERATURVERZEICHNIS	66
9	PUBLIKATIONEN	84
10	DANKSAGUNG	85
11	LEBENS LAUF	86

1 Zusammenfassung / Summary

1.1 Zusammenfassung

Hintergrund: Das Brain-natriuretische Peptid (BNP) und das aminoternale Fragment des pro-Brain-natriuretischen Peptids (NT-proBNP) sind – als Mitglieder der natriuretischen Peptide – neurohormonale Substanzen, die überwiegend von Herzmuskelzellen des linken Ventrikels und in geringerem Ausmaß auch aus der Wand des linken Vorhofs und des rechten Herzens freigesetzt werden. Ihr Freisetzungsmechanismus wird induziert durch eine erhöhte Wandspannung infolge von Volumen- oder Druckbelastung der Herzräume. Das aktive BNP bewirkt physiologisch eine Hemmung des Sympathikus, eine Vasodilatation, Natriurese und Diurese sowie eine Inhibierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. Aufgrund der hohen Sensitivität, Spezifität und der guten Korrelation mit dem Ausmaß der Volumenbelastung sind BNP als auch NT-proBNP sensible Marker für eine ventrikuläre Dysfunktion.

Es war das Ziel dieser Untersuchung, die Referenzwerte von NT-proBNP-Serumkonzentrationen für das gesamte Kindes- und Jugendalter, insbesondere für das Neugeborenenalter, zu bestimmen.

Methoden: In einer Querschnittsstudie wurden die NT-proBNP-Serumkonzentrationen mithilfe eines *ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssays (ECLIA Roche)* gemessen. Die Bestimmungen erfolgten im Nabelschnurblut von 62 Neugeborenen und bei 222 gesunden Probanden im Alter von 0 bis 58 Jahre.

Ergebnisse: Die NT-proBNP-Konzentrationen im Nabelschnurblut lagen zwischen 281 und 2595 pg/ml ($M = 818$ pg/ml). Es war ein signifikanter Anstieg der Werte während der ersten Lebensstage nachweisbar, gefolgt von einem schnellen Abfall der Konzentrationen im Verlauf des ersten Lebensjahres und einem anschließenden weiteren, allmählichen Abfall im gesamten Kleinkindesalter; ab dem 5. bis 10. Lebensjahr erreichten die Werte das Niveau des Erwachsenenalters.

Schlussfolgerung: Die Kenntnis der Referenzintervalle der NT-proBNP-Normalwerte bei gesunden Kindern dient als Parameter zur Differenzierung von pathologischen Konditionen wie Myokarditis, hypertrophische oder dilatative Kardiomyopathie, Tachyarrhythmien und pulmonalem Hochdruck.

1.2 Summary

Background: Brain natriuretic peptide (BNP) and the aminoterminal fragment of pro-Brain natriuretic peptide (NT-proBNP) are – as members of the natriuretic peptide family – neurohormonal substances mainly secreted by the cardiac myocytes of the left ventricle and to a less degree of the left atrium and the right sided heart. Their releasing mechanism is induced by an increased wallstress in the condition of volume or pressure load of the heart chambers. The physiologic actions of the active BNP are prohibition of the sympathetic activity, vasodilatation, natriuresis, diuresis and inhibition of the renin-angiotensin-aldosterone system. Because of the high sensitivity and specificity in relation to ventricular failure BNP as well as NT-proBNP are well accepted markers of ventricular dysfunction.

It was the aim of this study to establish reference values of NT-proBNP serum concentrations throughout childhood, in particular in the newborn age.

Methods: In a cross sectional study serum NT-proBNP concentration was measured by an *ElectroChemiLuminescence ImmunoAssay (ECLIA Roche)* in the umbilical cord blood of 62 healthy fullterm neonates and in 222 healthy probands from the first year of life up to the age of 58 years.

Results: The concentration of NT-proBNP in the cord blood samples ranged from 281 to 2595 pg/ml ($M = 818$ pg/ml). There was a significant increase in the first days of life followed by a rapid decrease during the first year and a further gradually decrease throughout infancy; beyond the 5th to 10th year of age normal adult values were approached.

Conclusions: The knowledge of the normal range of serum NT-proBNP levels in healthy subjects during childhood serves as a marker for differentiation from pathologic conditions such as acute myocarditis, hypertrophic or dilated cardiomyopathy, tachyarrhythmia and pulmonary hypertension.

2 Einleitung

2.1 Die natriuretischen Peptide

Die Familie der natriuretischen Peptide umfasst: das ANP (atriales natriuretisches Peptid) [27, 63], das BNP (Brain oder B-type-natriuretisches Peptid) [136], das CNP (C-type-natriuretisches Peptid) [138], das DNP (Dendroaspis-natriuretisches Peptid) [78] und das Urodilatin [131].

Das ANP wurde 1981 von de Bold als erstes natriuretisches Peptid entdeckt. Es wird hauptsächlich in den Vorhöfen des gesunden Herzen gebildet. Dort wird es als Prohormon in Granula gespeichert und bei entsprechendem Reiz in die Blutbahn abgegeben. Bei eingeschränkter Ventrikelfunktion steuert das Ventrikelmyokard ohne vorherige Zwischenspeicherung zur Freisetzung des ANP bei [152]. Diese wird stimuliert über eine vermehrte Wandspannung infolge Druck- oder Volumenbelastung des Herzen bzw. über verschiedene Hormone und Neurotransmitter, wie Angiotensin II, Endothelin I, Vasopressin und Katecholamine [28, 29, 65]. Das ANP bewirkt eine Diurese, Natriurese, Hemmung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und eine Vasodilatation [25, 27, 38, 63].

Das BNP ist seit 1988 bekannt und wurde ursprünglich im Schweinehirn identifiziert. Es ist auch im menschlichen Gehirn nachweisbar, wird aber hauptsächlich in den Kardiomyozyten der Herzventrikel gebildet und in die Blutbahn abgegeben. Die Funktionen des BNP sind ähnlich denen des ANP, nämlich Diurese, Natriurese, Vasodilatation und Hemmung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems [130, 136].

Das CNP findet man hauptsächlich im zentralen Nervensystem, im Hypophysenvorderlappen, in der Niere und im Gefäßendothel. Es ist nur in sehr niedrigen Konzentrationen im Blutplasma zu finden und scheint seine Wirkung lokal über einen autokrinen/parakrinen Weg zu entfalten. Es besitzt an der glatten Muskulatur vasodilatatorische und antiproliferative Eigenschaften [15, 55, 138, 140].

Das DNP ist ein natriuretisches Peptid, das ursächlich bei bestimmten Schlangenarten identifiziert wurde [78].

Das Urodilatin, welches ein alternatives Spaltprodukt des proANP darstellt, wird in der Nierenzelle gebildet und mit dem Urin ausgeschieden. Es reguliert die Wasser- und Natrium-Reabsorption in den Sammelrohren der Niere [131].

2.1.1 Biochemischer Aufbau

Die natriuretischen Peptide sind Peptidhormone. Sie werden als Preprohormone oder Prekursorhormone synthetisiert. Die Preprohormone werden proteolytisch im rauen endoplasmatischen Retikulum in ein Signalpeptid und das entsprechende Prohormon gespalten, welches die Speicherform der natriuretischen Hormone darstellt. Das Prohormon wird vor der Freisetzung in die Blutbahn noch einmal in ein N-terminales und ein C-terminales Fragment zerlegt (siehe Abbildung 1) [2, 5]. Das C-terminale Fragment ist für die jeweiligen biologischen Wirkungen verantwortlich, während das N-terminale Fragment inaktiv zu sein scheint [57].

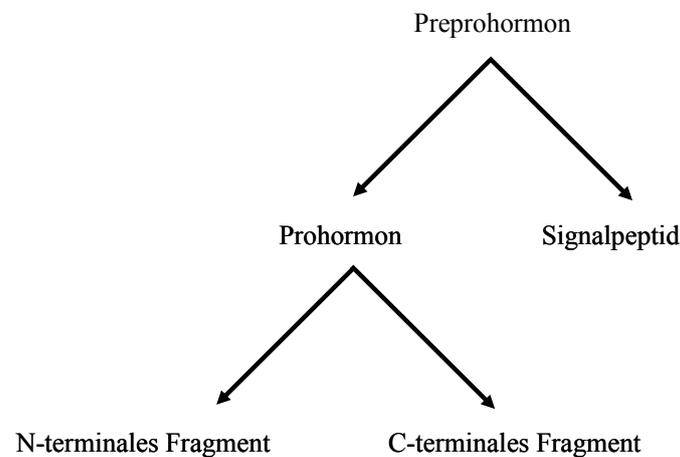


Abbildung 1 Vorstufen und Spaltprodukte der natriuretischen Peptide (nach [103])

Das biologisch aktive C-terminale Fragment ist bei allen natriuretischen Peptiden durch eine hohe Strukturhomologie gekennzeichnet. Gemeinsam ist diesen Fragmenten eine zentrale Schleifenstruktur. Sie besteht aus 17 Aminosäuren, von denen 11 bei allen natriuretischen Peptiden identisch sind (siehe Abbildung 2). Die Schleifenstruktur schließt als stabilisierendes Element eine Disulfidbrücke zwischen zwei Cysteinresten ein, welche eine Rolle bei der Rezeptorbindung spielt [76, 111, 144, 150].

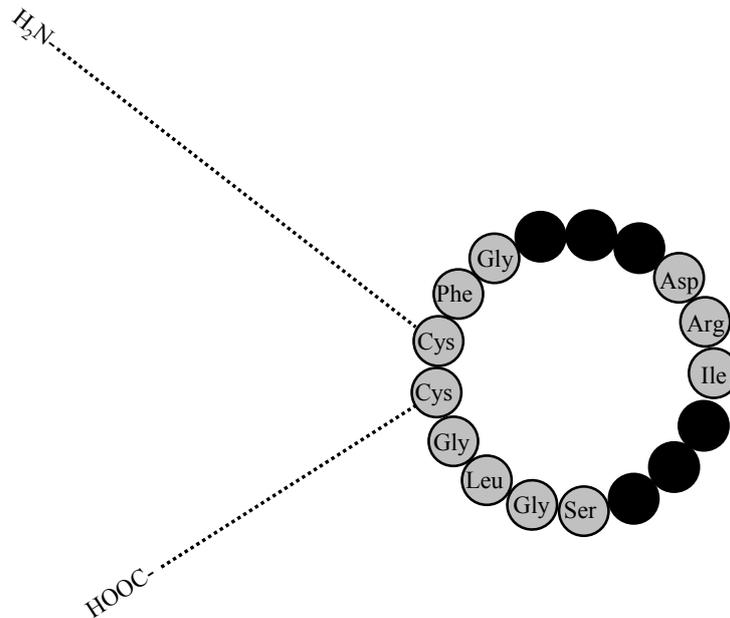


Abbildung 2 Aufbau des C-terminalen Fragments der natriuretischen Peptide (nach [129])
Dargestellt sind die identischen Anteile der natriuretischen Peptide

2.2 BNP und NT-proBNP

2.2.1 Biochemischer Aufbau

Das Gen, das das BNP kodiert, ist auf Chromosom 1 lokalisiert [116].

Das proBNP besteht aus 108 Aminosäuren. Es wird als Preprohormon, bestehend aus 134 Aminosäuren, in den Kardiomyozyten synthetisiert, von dem anschließend im rauen endoplasmatischen Retikulum proteolytisch ein Signalpeptid von 26 Aminosäuren abgespalten wird [62, 136, 137]. Aus dem proBNP entsteht unter erneuter Proteolyse das C-terminale Fragment, das dem aktiven BNP entspricht, und das N-terminale proBNP, das NT-proBNP (siehe Abbildung 3) [57]. Dies erfolgt während der Freisetzung aus den Kardiomyozyten, so dass in der peripheren Zirkulation beide Formen nachweisbar sind [56].

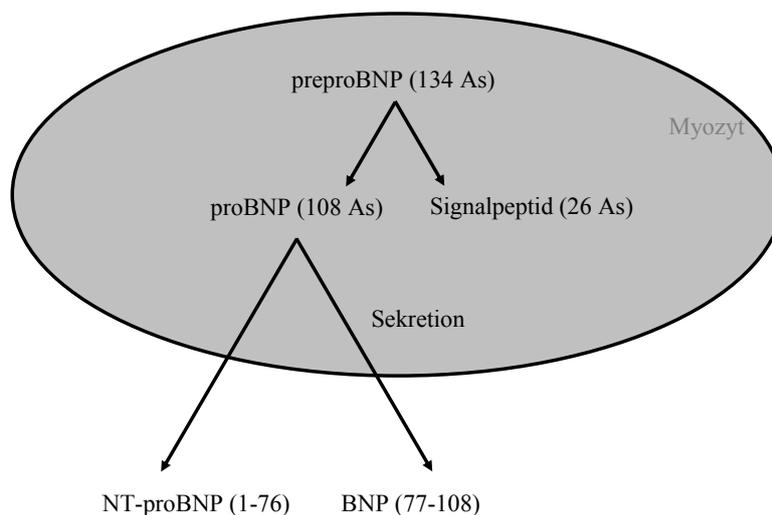


Abbildung 3 Vorstufen und Spaltprodukte des BNP (nach [103])
As Aminosäuren

Nicht nur die Freisetzungsrates, sondern auch die Plasmahalbwertszeit bestimmen ihre jeweiligen Konzentrationen.

Das aktive BNP ist 32 Aminosäuren lang und besteht aus den Aminosäuren 77–108. Es besitzt die zentrale Schleifenstruktur, die über eine Disulfidbrücke zwischen den Aminosäuren 86 und 102 geschlossen ist, ein 9 Aminosäuren langes N-terminales und ein 6 Aminosäuren langes C-terminales Ende (siehe Abbildung 4) [62, 144].

Das NT-proBNP ist ein lineares Molekül, das sich aus den Aminosäuren 1–76 zusammensetzt [103].

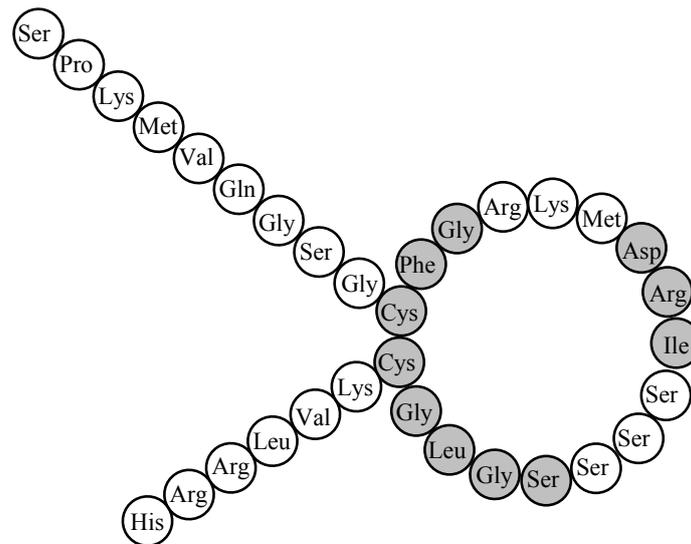


Abbildung 4 Aminosäuresequenz des BNP (nach [129])
Die homologen Anteile der Ringstruktur sind grau hinterlegt

2.2.2 Freisetzung

Während das ANP seinen Ursprung im gesunden Herzen hauptsächlich aus den Speichergranula der Kardiomyozyten der Vorhöfe hat, wird das BNP sowohl vom Vorhofmyokard als auch von den Kardiomyozyten der Ventrikel gebildet. Dabei wird das BNP überwiegend aus Kardiomyozyten des Ventrikelmyokards und in geringerem Maße von den Kardiomyozyten der Vorhöfe freigesetzt [106, 111]. Es wird nach seiner Synthese zum größten Teil ohne bedeutsame Zwischenspeicherung sezerniert [62, 109, 120, 152, 154]. Unter physiologischen Bedingungen dominiert die Freisetzung aus dem linken Ventrikel, weil er eine größere Muskelmasse hat [95].

Die Synthese von proBNP wird mechanisch oder neurohumoral kontrolliert. Der Reiz für die Freisetzung von BNP ist eine vermehrte Wanddehnung infolge von Volumen- und/oder Druckbelastung des Ventrikels bzw. der Einfluss von Hormonen wie Noradrenalin, Angiotensin II und Endothelin I [28, 65, 85, 108]. Unter normalen Bedingungen sind die Plasmakonzentrationen des BNP niedriger als die des ANP. Unter pathologischen Bedingungen steigen sie jedoch stärker an [56, 128].

2.2.3 Wirkungsmechanismus

BNP vermittelt seine Wirkung über verschiedene Rezeptoren an der Oberfläche von Zielzellen. Es sind bisher drei verschiedene Rezeptoren für natriuretische Peptide bekannt:

NPR-A (natriuretischer Peptidrezeptor vom Typ-A), NPR-B (natriuretischer Peptidrezeptor vom Typ-B), NPR-C (natriuretischer Peptidrezeptor vom Typ-C) (siehe Abbildung 5).

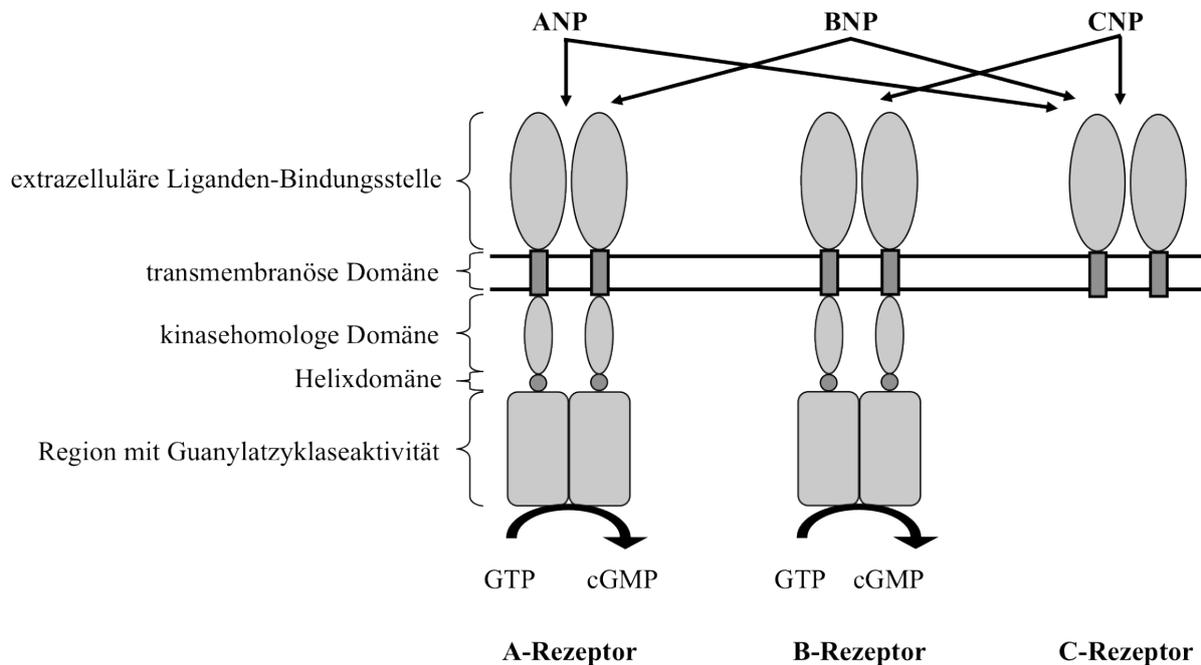


Abbildung 5 Schematische Darstellung der natriuretischen Peptidrezeptoren (nach [44, 119])
cGMP zyklisches Guanosinmonophosphat, GTP Guanosintriphosphat

Die beiden Rezeptoren A und B sind weitgehend identisch aufgebaut und sind sogenannte Guanylatzyklaserezeptoren, die ihre Wirkung über eine cGMP-abhängige (cGMP = zyklisches Guanosinmonophosphat) Signalkaskade vermitteln.

Die Rezeptoren bestehen aus:

- einer extrazellulären Liganden-Bindungsstelle, die eine Anionenbindungsstelle für Chlorid enthält,
- einer kurzen hydrophoben transmembranösen Domäne sowie
- einer intrazellulären Region, die in eine juxtamembranäre kinasehomologe Domäne, eine amphipathische Helixdomäne und eine C-terminale Region mit Guanylatzyklaseaktivität unterteilt wird.

In Abwesenheit eines Liganden liegen die Rezeptoren bevorzugt als homologe Dimere oder Tetramere vor, sind hoch phosphoryliert und die Guanylatzyklaseaktivität ist stark unterdrückt. Nach extrazellulärer Bindung der natriuretischen Peptide sowie nach ATP-abhängiger Phosphorylierung an der kinasehomologen Regulationsdomäne, die in Zusammenspiel mit der Helixdomäne zur Dimerenbildung der Rezeptoreinzelstränge führt,

erfolgt die Aktivierung der Guanylatzyklase, die als „second messenger“ zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) bildet. Die biologischen Effekte von cGMP erfolgen anschließend entweder indirekt über eine cGMP-abhängige Proteinkinase G und über Phosphodiesterasen oder direkt über cGMP-gesteuerte Ionenkanäle [69, 72, 100, 119, 142, 145].

Der A-Rezeptor bindet hauptsächlich ANP und BNP [110]. Man findet ihn vor allem am Gefäßendothel. Der B-Rezeptor bindet CNP; er ist im zentralen Nervensystem vorhanden. Beide Rezeptoren werden auch in der Niere und der Nebenniere gefunden [76]. Der C-Rezeptor ist am Abbau aller natriuretischen Peptide beteiligt und bindet alle natriuretischen Peptide mit der gleichen Affinität. Man findet ihn hauptsächlich am Gefäßendothel und in der Niere. Die extrazelluläre Liganden-Bindungsstelle des C-Rezeptors besitzt eine hohe Aminosäuren-Sequenzhomologie zu den beiden A- und B-Rezeptoren. Allerdings besitzt die intrazelluläre Domäne des C-Rezeptors weder eine kinasehomologe Domäne noch eine Region mit Guanylatzyklaseaktivität [34, 82, 90, 139].

2.2.4 Abbauweg

Die Metabolisierung des BNP – wie auch die der anderen natriuretischen Peptide – erfolgt über unterschiedliche Wege. Zum einen erfolgt der Abbau über den C-Rezeptor, auch Clearance-Rezeptor genannt. Es kommt zur extrazellulären Bindung am Rezeptor, zur Internalisierung des Rezeptor-Peptid-Komplexes und zur enzymatischen Degradation der Peptide. Der Rezeptor wandert anschließend wieder zur Zelloberfläche zurück [82, 90]. Zum anderen erfolgt die Inaktivierung der zirkulierenden natriuretischen Peptide enzymatisch über membrangebundene neutrale Endopeptidasen im Gefäßendothel und in den Nierentubuluszellen, indem die Ringstruktur geöffnet wird [14, 64].

Der Abbau des inaktiven NT-proBNP scheint durch renale Clearance, durch glomeruläre Filtration zu erfolgen, ist aber noch weitgehend ungeklärt [91].

Die unterschiedlichen Abbauwege zeigen sich in einer längeren Halbwertszeit von NT-proBNP (1–2 Stunden) im Vergleich zu BNP (22 Minuten) [57, 91].

2.2.5 Physiologische Funktionen

Abbildung 6 veranschaulicht die unterschiedlichen physiologischen Funktionen von BNP. Seine Wirkungen beinhalten am Nervensystem eine Hemmung des Sympathikus, an den Gefäßen eine Vasodilatation und eine Hemmung der Proliferation der Gefäßmuskelzellen. An der Niere bewirkt BNP eine Natriurese und Diurese sowie eine verminderte Freisetzung von

Renin, an der Nebenniere eine Einschränkung der Aldosteronfreisetzung. Eine vermehrte Freisetzung von BNP resultiert letztendlich in einem Abfall des Blutdrucks und des Plasmavolumens. Dies geschieht über einen koordinierten Ablauf der Wirkungen an ZNS, Gefäßen, Niere und Nebenniere.

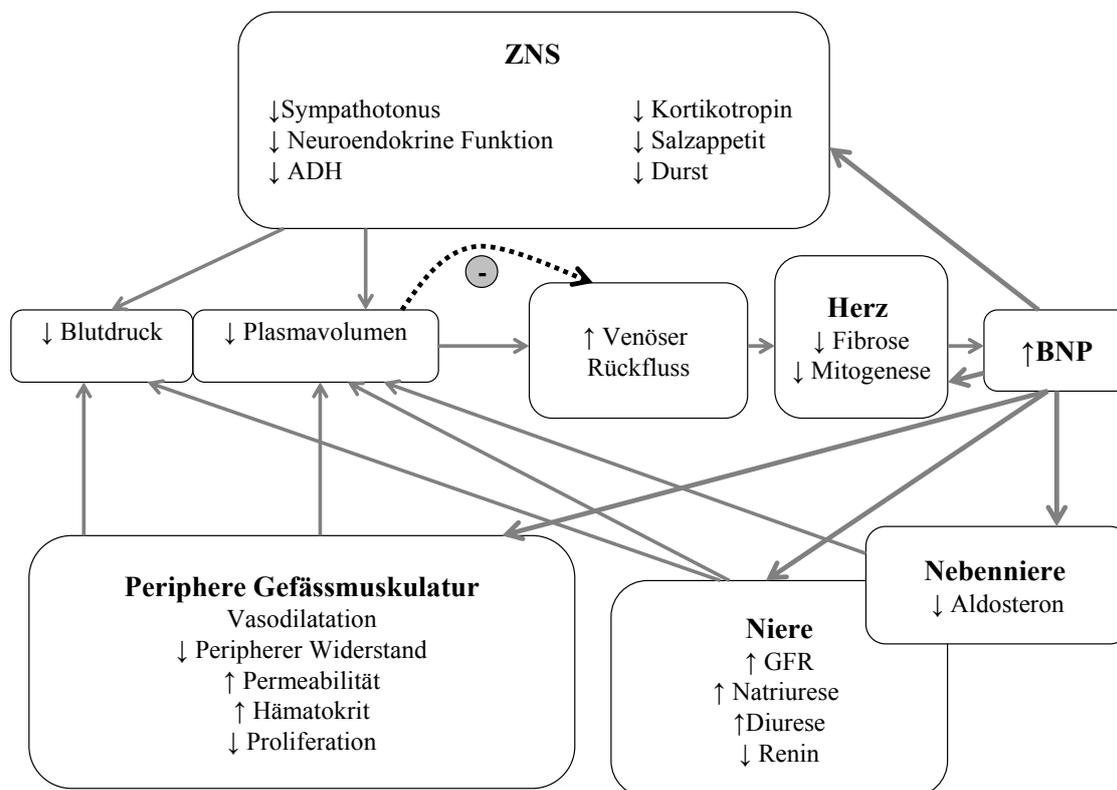


Abbildung 6 Physiologische Funktionen von BNP (nach [76])
 ADH antidiuretisches Hormon, GFR glomeruläre Filtrationsrate, ZNS Zentralnervensystem

Obwohl die natriuretischen Peptide die Bluthirnschranke nicht durchdringen können, sind zentralnervöse Effekte nachweisbar. Diese stärken die Wirkungen der Peptide in der Peripherie. Die natriuretischen Effekte werden durch eine zentrale Hemmung des Salzappetits und des Durstes verstärkt [8, 11]. Das BNP bewirkt eine Hemmung der ADH- und Kortikotropin-Freisetzung mit konsekutivem Effekt auf den Wasser- und Elektrolythaushalt [11]. Im Hirnstamm kommt es zu einer Hemmung des Sympathikus [151].

An den Gefäßen bewirken die natriuretischen Peptide eine Vasodilatation. Die Erhöhung der Gefäßpermeabilität und die Erhöhung des hydrostatischen Drucks in den Kapillaren bedingen eine Flüssigkeitsverschiebung von intravasal zu interstitiell und folglich eine Verminderung der Vorlast [148]. Diese wird zusätzlich durch eine Erhöhung der venösen Kapazität und durch Natriurese über eine direkte Wirkung an der Niere sowie einer Hemmung des Renin-

Angiotensin-Aldosteron-Systems vermindert [54]. BNP bewirkt an der peripheren Gefäßmuskulatur eine Verminderung des Sympathikotonus infolge einer reduzierten Katecholaminfreisetzung aus den autonomen Nervenendigungen und der zentralen Regulierung des Sympathikotonus. Die natriuretischen Peptide besitzen darüber hinaus antimitogene und antiproliferative Eigenschaften am Gefäßsystem und wirken am Herzen einer Myokardfibrose und Herzhypertrophie entgegen [58, 66, 126, 141].

In der Niere kommt es zu einer Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate als Folge einer Dilatation der afferenten und einer Konstriktion der efferenten Arteriolen [87]. Die erhöhte Filtration wird ferner durch eine Erschlaffung der Mesangiumzellen infolge des cGMP-Anstiegs erreicht. Die Natriurese ist auf eine direkte BNP-Wirkung auf die Tubulusepithelzellen zurückzuführen. Im proximalen Tubulus kann BNP den Angiotensin-II-abhängigen Wasser- und Natriumtransport inhibieren. In den kortikalen Sammelrohren hemmt es die ADH-abhängige Wasserreabsorption. In den medullären Sammelrohren bewirkt BNP über einen cGMP-Anstieg eine Blockierung der Natriumreabsorption [52]. BNP führt ferner zu einer verminderten Freisetzung von Renin, welche eine verminderte Angiotensin-Konzentration und aus Folge daraus eine verminderte Aldosteron-Freisetzung aus der Nebenniere bewirkt [10, 148].

2.2.6 Verhalten unter pathologischen Bedingungen

In den letzten 10-15 Jahren wurden BNP und NT-proBNP intensiv hinsichtlich potenzieller Einsatzmöglichkeiten als kardiale Marker evaluiert. Beide besitzen eine hohe Sensitivität und Spezifität sowie eine gute Korrelation zum Ausmaß einer myokardialen Insuffizienz. Je höher ihre Konzentration, desto höher der enddiastolische linksventrikuläre Druck und das endsystolische linksventrikuläre Volumen und desto geringer die linksventrikuläre Auswurffraktion [50, 124]. Beide Hormone sind somit sensible Marker für eine ventrikuläre Dysfunktion und können zur Identifikation von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz herangezogen werden [51]. Sie erlauben eine Schweregradeinschätzung der Erkrankung gemäß der Klassifikation der New York Heart Association (NYHA-Klassifikation) [56, 89]. Auch bei diastolischer Dysfunktion bei Relaxations- und/oder Compliancestörung mit oder ohne linksventrikulärer Hypertrophie und erhaltener systolischer Pumpfunktion können erhöhte BNP-Konzentrationen bestehen [79, 149]. Das Expressionsprofil kann je nach Ätiologie der Herzinsuffizienz variieren. So findet man zum Beispiel höhere BNP-Werte bei dilatativer Kardiomyopathie als bei Mitralstenose [154].

Mehrere Studien belegen den prognostischen Wert der Marker BNP und NT-proBNP nach Myokardinfarkt [124], akutem Koronarsyndrom ohne ST-Stecken-Hebung [30, 61] und chronischer Herzinsuffizienz mit eingeschränkter linksventrikulärer Pumpfunktion [6]. Nach Myokardinfarkt erlauben sie eine prognostische Aussage hinsichtlich des Risikos eines Herztodes binnen 24 Monaten oder der Entwicklung einer Herzinsuffizienz [124]. Beim akuten Koronarsyndrom stellen erhöhte BNP- bzw. NT-proBNP-Konzentrationen einen Marker für Tod, Myokardinfarkt oder symptomatische Herzinsuffizienz dar [30]. Die prognostische Aussagekraft beider Hormone bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz übertrifft die der NYHA-Klassifikation, des Blutdruckniveaus und der linksventrikulären Ejektionsfraktion [6].

Zusätzlich können BNP und NT-proBNP zur Verlaufskontrolle und Therapieoptimierung verschiedener kardialer Erkrankungen herangezogen werden [107]. Dabei findet sich ein Nutzen von NT-proBNP zur Reduktion der Häufigkeit von kardialer Dekompensation, Rehospitalisierung und Tod im Vergleich zu klinisch geführter Therapie [143].

Wegen ihres hohen negativen Aussagewertes sind BNP und NT-proBNP hilfreich bei der Differentialdiagnose einer Dyspnoe, da niedrige Werte eine kardiale Ursache weitgehend ausschließen und hohe Werte sie wahrscheinlich machen [26, 37, 51, 92]. Es zeigen sich signifikant niedrigere Werte bei Patienten mit akuter pulmonaler Dyspnoe aufgrund einer exazerbierten chronisch obstruktiven Lungenerkrankung oder Pneumonie als bei Patienten mit akut dekompensierter Herzinsuffizienz. Lediglich bei akuter Rechtsherzbelastung aufgrund einer akuten Lungenembolie sind die Werte vergleichbar mit denen einer linksventrikulären Dysfunktion ohne akute Dekompensation [86, 102].

BNP- und NT-proBNP-Werte sind besonders aussagekräftig, um eine linksventrikuläre Dysfunktion bei Risikopatienten (z. B. bei Diabetes-mellitus-Patienten) festzustellen, weil sie schon im asymptomatischen Stadium erhöht sind [51]. Ein bevölkerungsweites Screening ohne Berücksichtigung klinischer Symptome kann jedoch nicht empfohlen werden [80, 93, 146].

2.2.7 Potenzielle Einflussgrößen

Obwohl die Konzentration der kardialen Marker BNP und NT-proBNP eine gute Korrelation mit dem Ausmaß der kardialen Pumpschwäche hat, ist die Interpretation individueller Testergebnisse nicht trivial.

Neben kardialen Einflussfaktoren wie der linksventrikulären Ejektionsfraktion, der linksventrikulären Masse und der Vorhofgröße spielen auch extrakardiale Faktoren eine Rolle. Zu nennen sind hierbei: Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index und die Nierenfunktion.

Im Erwachsenenalter geht zunehmendes Lebensalter mit einer Erhöhung der BNP- und NT-proBNP-Konzentrationen einher. Erwachsene Frauen weisen im Vergleich zu Männern signifikant höhere Konzentrationen auf [18, 60, 122, 123].

Zwischen den NT-proBNP- und BNP-Werten und dem Body-Mass-Index scheint es eine negative Korrelation zu geben; demnach werden bei Menschen mit Adipositas niedrigere NT-proBNP- und BNP-Konzentrationen gemessen als bei normalgewichtigen Personen [94, 134].

Bei eingeschränkter Nierenfunktion kommt es zu einem Anstieg von BNP und NT-proBNP, wobei das NT-proBNP stärker als das BNP beeinflusst zu werden scheint. Grundsätzlich wird davon ausgegangen, dass ab einem Serumkreatinin von 2,0 mg/dl die Interpretation erschwert ist [80, 81, 88, 123].

2.2.8 Testverfahren

Um die Konzentrationen von BNP und NT-proBNP zu erfassen, sind Testverfahren mit hoher Messgenauigkeit erforderlich, die zusätzlich schnell und einfach durchführbar und möglichst kostengünstig sind.

Für beide Analyten sind mehrere Testsysteme von unterschiedlichen Anbietern verfügbar, die vom Testprinzip her ähnlich sind, sich jedoch durch die Anwendung unterschiedlicher Antikörper unterscheiden. Kompetitive Tests wie Radio-Immunoassays oder Enzym-Immunoassays sind kostengünstiger, jedoch nicht ausreichend messgenau, und erfordern eine zeitaufwendige Aufbereitung der Analyten. Neuere nichtkompetitive Verfahren, die nach der Sandwich-Methode arbeiten, wie Immuno-Radiometric-Assays und Immuno-Fluorometric-Assays für BNP sowie Immuno-Lumino-Metric-Assays für NT-proBNP, besitzen eine höhere Sensitivität und Spezifität und kürzere Analysezeiten [17, 127].

2.2.9 Vorteile von NT-proBNP

Die Bestimmung des NT-proBNP, dessen Konzentration mit derjenigen des aktiven BNP korreliert, hat Vorteile gegenüber der Messung des aktiven BNP.

Das NT-proBNP besitzt eine längere Halbwertszeit als das BNP und ist damit in höheren Konzentrationen im Plasma vorhanden [57, 91]. Außerdem hat das NT-proBNP eine höhere In-vitro-Stabilität und den Vorteil kürzerer Analysezeiten [23, 33, 43, 104, 118].

2.2.10 Referenzwerte

Für das Kindesalter gab es bis zur Veröffentlichung der vorliegenden Daten nur wenige Untersuchungen über Normwerte von BNP und NT-proBNP. Die einzelnen Untersuchungen befassten sich zum Teil mit nur geringen Fallzahlen, und die Fokussierung lag auf unterschiedlichen Altersgruppen. Zur Normwernerstellung wurden einerseits das aktive BNP, andererseits das inaktive N-terminale proBNP bestimmt. Zudem wurden für die beiden Analyten wiederum unterschiedliche Testverfahren angewendet [68, 98, 99, 113, 121, 153].

Die BNP-Konzentrationen sind im Erwachsenenalter geschlechts- und altersabhängig, mit höheren Werten beim weiblichen Geschlecht und mit steigendem Alter [18, 60, 123]. In Analogie zum BNP sind die Konzentrationen von NT-proBNP im Erwachsenenalter geschlechts- und altersabhängig [122].

Von *Roche Diagnostics* werden die NT-proBNP-Referenzwerte für Erwachsene als 97,5. Perzentilen vorgeschlagen und betragen bis zum 50. Lebensjahr für Frauen <155 pg/ml und für Männer <84 pg/ml, vom 50. bis zum 65. Lebensjahr werden für Frauen Werte <222 pg/ml und für Männern <194 pg/ml genannt [125].

3 Fragestellung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es,

- Referenzwerte des N-terminalen proBNP für das gesamte Kindes- und Jugendalter anhand des ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssays zu bestimmen,
- insbesondere den Verlauf der NT-proBNP-Werte im Neugeborenenalter zu analysieren,
- geschlechts- und altersspezifische Unterschiede der NT-proBNP-Konzentrationen zu ermitteln.

4 Material und Methoden

4.1 Patientengut

In die Auswertung wurden gesunde Neugeborene, Säuglinge, Kleinkinder, Schulkinder, Jugendliche und Erwachsene einbezogen. Insgesamt wurden bei 284 Probanden im Alter zwischen dem 1. Lebenstag und dem 59. Lebensjahr die NT-proBNP-Konzentrationen gemessen.

Die Proben sind von freiwilligen Probanden und einem ausgesuchten Patientenkollektiv der Universitätskliniken für Kinder- und Jugendmedizin, Homburg/Saar, sowie von Neugeborenen des Klinikums Landstuhl gewonnen worden.

Die Blutentnahme erfolgte zum größten Teil im Rahmen des stationären Aufenthaltes. Die Mehrzahl der untersuchten Neugeborenen, Säuglinge, Kleinkinder, Schulkinder und Jugendlichen befand sich zur Abklärung von Kleinwuchs oder Wachstumsstörungen, zur Beobachtung nach Schädel-Hirn-Trauma, zur neurologischen Diagnostik bei Kopfschmerzen und Verdacht auf zerebralen Krampfanfall oder aufgrund von unkomplizierten Infektionen der Atemwege, des Gastrointestinaltraktes und des Urogenitaltraktes in ärztlicher Behandlung. Bei den Neugeborenen erfolgte die Blutentnahme zusätzlich im Rahmen der Routine-Nabelschnurblutentnahme zur Bestimmung des Nabelschnur-pH-Wertes sowie im Rahmen des Neugeborenen-Screenings. Bei den Erwachsenen handelte es sich ausschließlich um gesunde freiwillige Probanden ohne Vorerkrankungen. Nicht in die Auswertung einbezogen wurden Patienten mit kardialen, internistischen oder schwerwiegenden Infektionskrankheiten. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme zeigten die körperlichen und/oder laborchemischen Untersuchungen keine Entzündungszeichen, keinen Hinweis auf Störungen des Wasser- und Elektrolythaushalts, Bluthochdruck, Leber-, Nieren- und Herzerkrankungen oder maligne Erkrankungen.

Für die Blutentnahmen bei Neugeborenen und Kindern wurde die Einwilligung seitens der Eltern/Sorgeberechtigten in schriftlicher Form eingeholt.

4.2 Verwendete Proben

Die Blutentnahmen erfolgten zum größten Teil aus einer peripheren Vene. Bei einem Teil der neugeborenen Kinder wurde die Probe aus der Nabelschnurarterie und/oder Nabelschnurvene gewonnen. Je Probe wurde 1 ml Vollblut in ein Serumröhrchen gefüllt, zentrifugiert und bis zur Messung bei $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt.

4.3 NT-proBNP-Messung

4.3.1 Testprinzip

Die quantitative Bestimmung von NT-proBNP im Serum erfolgte anhand eines immunologischen In-vitro-Tests von *Roche Diagnostics*. Der *ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssay ECLIA* wurde an einem Immunoassay Analyseautomaten *Elecsys 2010 (Roche Diagnostics)* im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin – Zentrallabor des Universitätsklinikums des Saarlandes durchgeführt.

Prinzip des Tests ist die quantitative Bestimmung von N-terminalem pro-Brain-natriuretischem Peptid in Humanserum und -plasma. Der *ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssay ECLIA* ist zur Durchführung an den *Roche Immunoassay Analyseautomaten Elecsys 1010/2010* und am *MODULAR ANALYTICS E170 (Elecsys Modul)* vorgesehen.

Der proBNP *Elecsys* Test enthält polyklonale Antikörper, die Epitope erkennen, die im N-terminalen Teil (1 – 76) des proBNP liegen, und beruht auf einem Sandwichprinzip. In einer ersten Inkubation bildet Antigen aus der 20 µl-Probe mit Ruthenium-Komplex- $(\text{Tris}(2,2'\text{-bipyridyl})\text{ruthenium(II)}, (\text{Ru}(\text{bpy})_3^+))$ -markiertem, NT-proBNP-spezifischem Antikörper und mit biotinyliertem, NT-proBNP-spezifischem Antikörper einen Sandwich-Komplex. Nach Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln wird der Komplex in einer zweiten Inkubation über Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung an die Festplatte gebunden (siehe Abbildung 7) [47, 125].

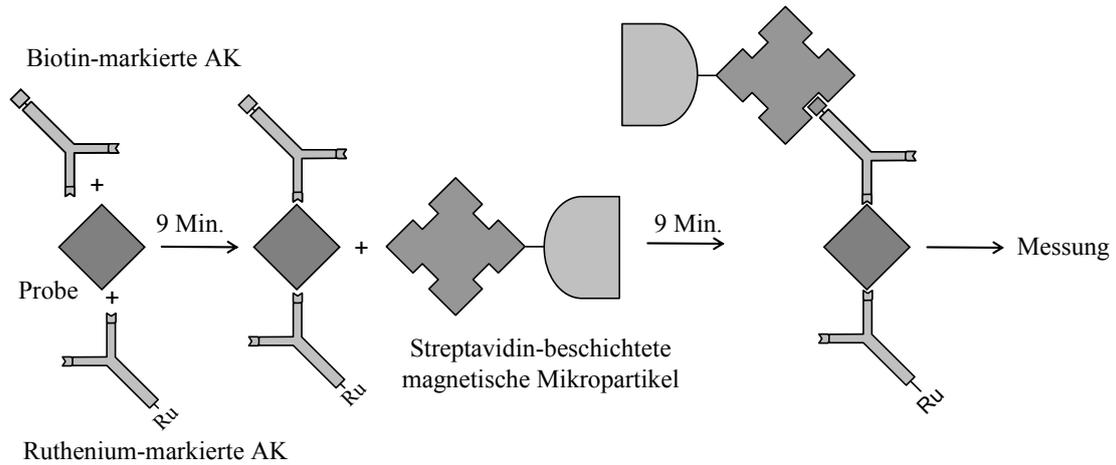


Abbildung 7 Testprinzip (nach [47])
 AK Antikörper, Min. Minuten, Ru Ruthenium

Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt, wo die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Anschließend werden die ungebundenen Substanzen entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenz-Emission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen (siehe Abbildung 8). Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt. Die Gesamt-Testdauer beträgt 18 Minuten [125].

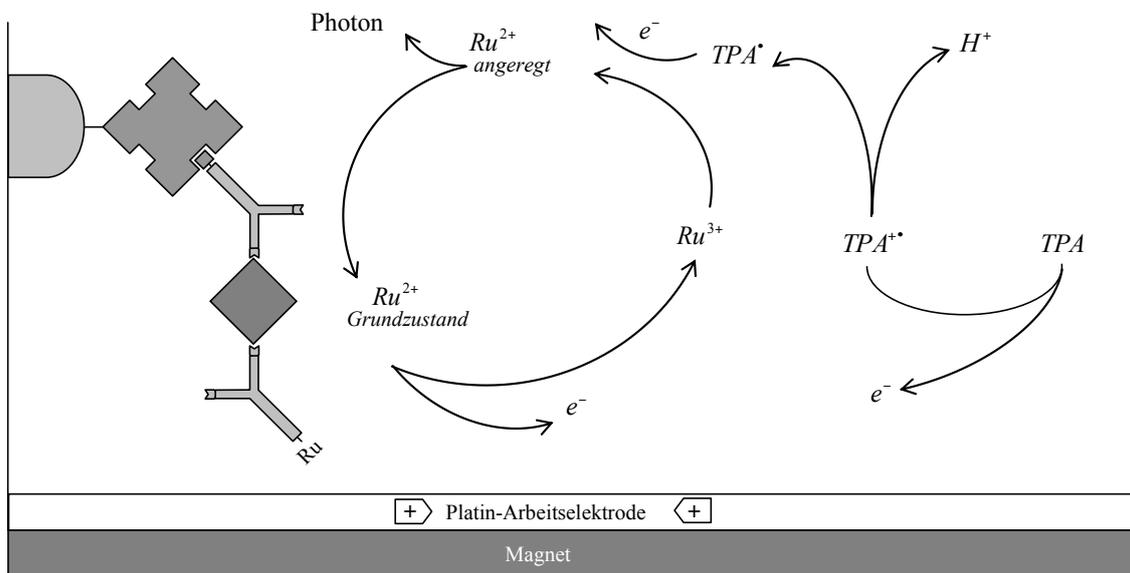


Abbildung 8 ElektroChemilumineszenz (ECL) Reaktionsmechanismus (nach [47])
 e⁻ Elektron, Ru Ruthenium, TPA Tri-Propyl-Amine

4.3.2 Standardisierung und Qualitätskontrolle

Der proBNP-*Elecsys*-Test wird über Einwaage von reinem synthetischem NT-proBNP (1–76) in Humanserum-Matrix standardisiert. Die Kalibrationskurve wird durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine über den Reagenzbarcode mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch generiert. Zur Qualitätskontrolle werden PreciControl proBNP 1 und 2 *Elecsys* oder andere geeignete Kontrollen verwendet [125].

4.3.3 Analytische Empfindlichkeit

Der proBNP-*Elecsys*-Test weist keine signifikante Kreuzreaktivität zu folgenden Substanzen auf: ANP, NT-proANP(1–30), NT-proANP(31–67), NT-proANP(79–98), BNP, CNP, Adrenomedullin, Aldosteron, Angiotensin I, Angiotensin II, Angiotensin III, Endothelin, Renin, Urodilatin, Arg-Vasopressin. Der Messbereich des Testsystems reicht von 5 bis 35000 pg/ml (definiert durch die Nachweisgrenze und das Maximum der Masterkurve). Intra- und Interassay-Ungenauigkeiten betragen < 2,7 bzw. < 3,2% [125].

4.4 Statistische Auswertung

Die beobachteten und prozentualen Häufigkeiten und die errechneten statistischen Maßzahlen (Anzahl (n), Spannweite, Mittelwert (M), Standardabweichung (SD), Median, Perzentile, p -Wert (p), Korrelationskoeffizient nach *Spearman* (r)) wurden in Form von Tabellen dargestellt.

Zur grafischen Veranschaulichung wurden überwiegend Box-Plots verwendet. Diese geben zum einen die 50. Perzentile, d. h. den Median, an; zum anderen geben die Kastengrenzen die 25. und 75. Perzentilen, d. h. das 1. und 3. Quartil, an. Die durchgezogenen Linien führen von der Kastengrenze zu den extremen Nicht-Ausreißer-Werten. Ausreißer werden definiert als Werte, die um mehr als 1,5 Interquartilsspannweiten jenseits des 1. bzw. 3. Quartils liegen. Außerdem wurden Histogramme, Balkendiagramme, Streudiagramme und Perzentilkurven als grafische Darstellungen verwendet.

Die absoluten und die logarithmisch transformierten (dekadischer Logarithmus) NT-proBNP-Werte wurden grafisch sowie durch Anwendung des Anpassungstests nach *Kolmogorov / Smirnov* zunächst auf das Vorliegen einer Normalverteilung untersucht.

Für den Vergleich von arteriellen und venösen Werten aus dem Nabelschnurblut wurde der t-Test für abhängige Stichproben benutzt.

Für die Beurteilung von NT-proBNP hinsichtlich Entbindungsmodus und Geschlecht wurde der t-Test für unabhängige Stichproben verwendet.

Korrelationen zwischen APGAR-Score, Nabelschnur-pH-Wert, Gestationsalter, Geburtsdauer und den NT-proBNP-Konzentrationen im Nabelschnurblut wurden mittels der nichtparametrischen Korrelation nach *Spearman* überprüft.

Mehrfachvergleiche zwischen den unterschiedlichen Altersgruppen unter Einbeziehung des Geschlechts wurden mittels bifaktorieller Varianzanalyse nach der Prozedur *ANOVA* (Varianzanalyse) durchgeführt. Die Varianzen zwischen den Gruppen wurden hierbei zu den Varianzen innerhalb der Gruppen ins Verhältnis gesetzt. Anschließend an die Varianzanalyse wurde der Post-Hoc-Test nach *Tamhane* angewendet. Dieser Test erlaubt es herauszufinden, welche der Gruppen sich im Einzelnen voneinander unterscheiden.

Die Perzentilkurven wurden gruppenunabhängig, zum einen mittels einer Regressionsanalyse, zum anderen anhand des *LMS-(Lamda-My-Sigma-)Programms 1.17*, berechnet. Das *LMS-Programm* basiert auf den LMS-Methoden von *Cole* (1988) und *Cole* und *Green* (1992) für geglättete Referenz-Perzentilkurven und erlaubt bei Vorliegen begrenzter Fallzahlen von zufälligen Schwankungen unabhängige Perzentilwerte zu bestimmen [21, 22]. Zusätzlich wurden Perzentile für die verschiedenen Altersgruppen berechnet und tabellarisch und grafisch dargestellt.

Das Signifikanzniveau α wurde wie folgt festgelegt:

- $p \geq 0,05$ bedeutet nicht signifikant,
- $p < 0,05$ wird als signifikant angesehen,
- $p < 0,01$ als sehr signifikant und
- $p < 0,001$ als hoch signifikant betrachtet.

Der Korrelationskoeffizient $|r|$ wurde wie folgt interpretiert:

- $< 0,3$ bedeutet keine,
- $0,3 - 0,5$ eine geringe,
- $0,5 - 0,7$ eine mittlere und
- $> 0,7$ eine starke Korrelation.

Die statistischen Auswertungen und Berechnungen der Daten erfolgten mithilfe des Statistikprogramms *SPSS 11.0 (Statistical Package for the Social Science)* und *Microsoft Excel* für *Windows*.

5 Ergebnisse

5.1 Verteilung der Probanden

Die 284 Probanden setzten sich zusammen aus 121 Neugeborenen bis zum 28. Lebenstag, 26 Säuglingen (29. Lebenstag bis zum Ende des 1. Lebensjahres), 36 Kleinkindern (2. bis zum Ende des 5. Lebensjahres), 49 Schulkindern (6. bis zum Ende des 13. Lebensjahres) sowie 52 Jugendlichen und Erwachsenen (siehe Abbildung 9 und Tabelle 1).

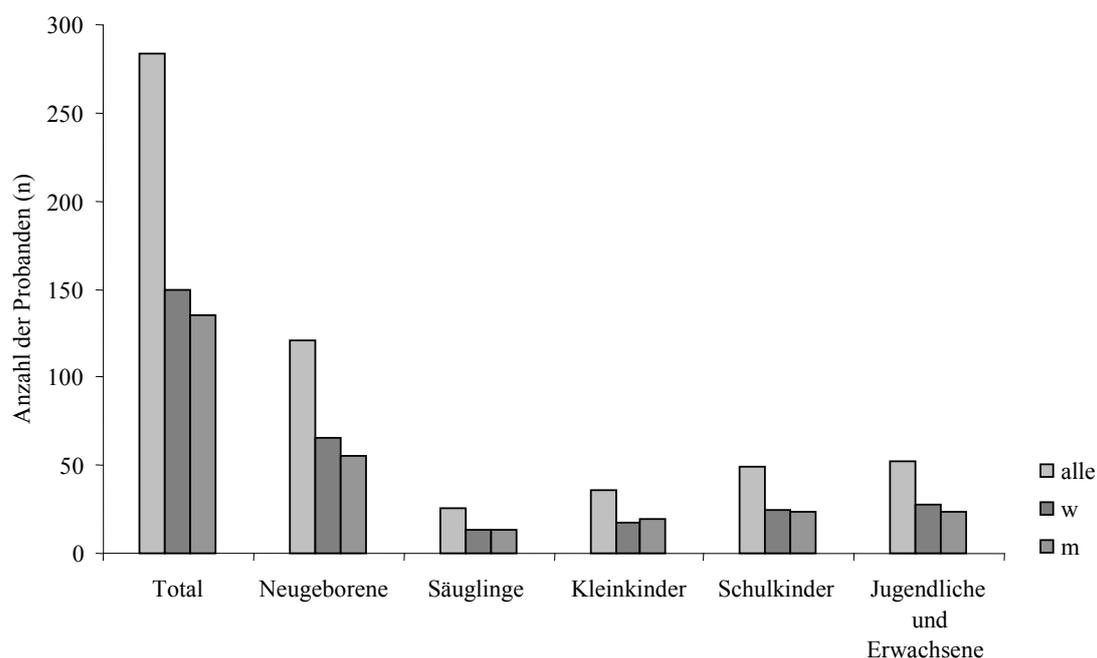


Abbildung 9 Verteilung der Probanden
w/m weibliche/männliche Probanden

Tabelle 1 Verteilung der Probanden

	<i>n</i> / %* (alle)	<i>n</i> / %** (w)	<i>n</i> / %** (m)
Neugeborene	121 / 42,61	66 / 54,55	55 / 45,45
Säuglinge	26 / 9,15	13 / 50,00	13 / 50,00
Kleinkinder	36 / 12,68	17 / 47,22	19 / 52,78
Schulkinder	49 / 17,25	25 / 51,02	24 / 48,98
Jugendliche und Erwachsene	52 / 18,31	28 / 53,85	24 / 46,15
Total	284 / 100,00	149 / 52,46	135 / 47,54

w/m weibliche/männliche Probanden, * relativ zum Gesamtkollektiv, ** relativ zur Untergruppe (Begrenzung auf 2 Dezimalstellen)

Da insbesondere die NT-proBNP-Werte des Neugeborenen- und Säuglingsalters von Interesse waren, wurde ein besonderes Augenmerk auf diese Altersgruppen gerichtet.

5.2 Verteilung der NT-proBNP-Werte

Die Daten wurden grafisch mittels Histogramm und überlagerter Normalverteilungskurve mit anschließendem Anpassungstest nach *Kolmogorov / Smirnov* einer Prüfung auf Normalverteilung unterzogen.

Die absoluten Werte zeigten eine positive schiefe linkssteile Verteilung, die rechts flach auslief. Eine Normalverteilung wurde nach Umwandlung der Werte in den dekadischen Logarithmus erreicht (siehe Abbildung 10).

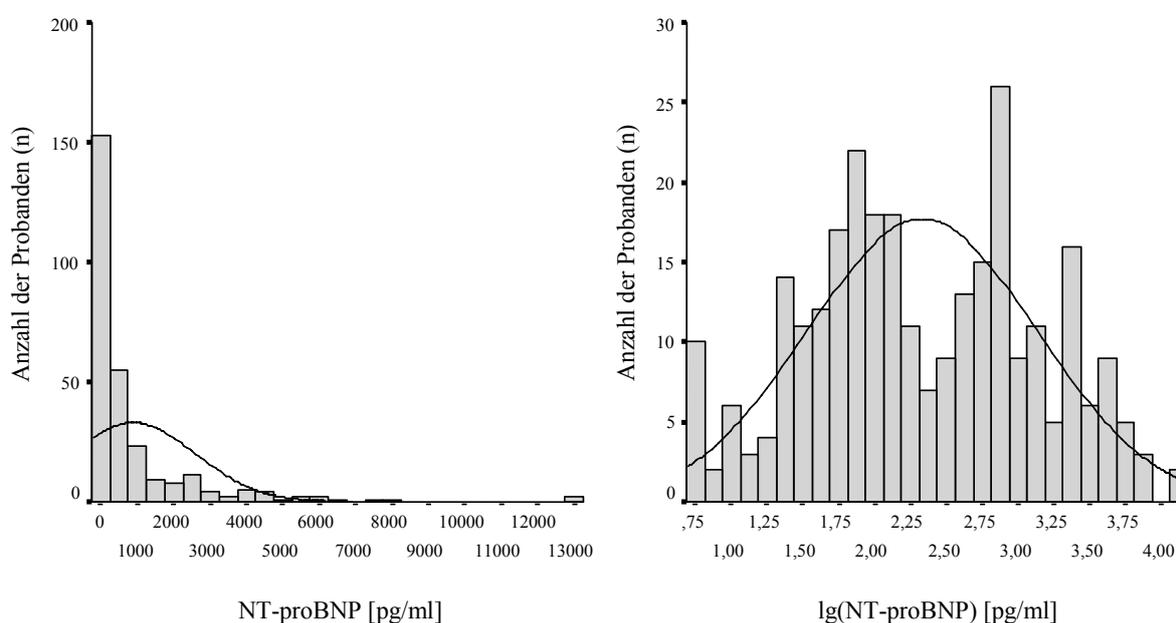


Abbildung 10 Verteilung der NT-proBNP-Werte

Histogramme der NT-proBNP-Konzentrationen von allen Probanden ($n = 284$)

Links: Histogramm der absoluten NT-proBNP-Werte, eine Normalverteilung wurde abgelehnt (Kolmogorov / Smirnov $Z = 5,10$; $p < 0,001$)

Rechts: Histogramm der logarithmisch (dekadischer Logarithmus) umgewandelten NT-proBNP-Werte, eine Normalverteilung konnte hier angenommen werden (Kolmogorov / Smirnov $Z = 1,07$; $p = 0,198$)

Für die Berechnungen, die eine Normalverteilung voraussetzten, wurden die absoluten NT-proBNP-Werte in den dekadischen Logarithmus transformiert. Die Ergebnisse wurden anschließend zur besseren Veranschaulichung wieder in absolute Werte umgewandelt.

Die Betrachtung der NT-proBNP-Werte im Streudiagramm (siehe Abbildung 11) zeigte sehr hohe Werte in den ersten Lebenstagen, gefolgt von einem deutlichen Abfall innerhalb der ersten Lebensjahre und einem konstanten Niveau bis ins Erwachsenenalter.

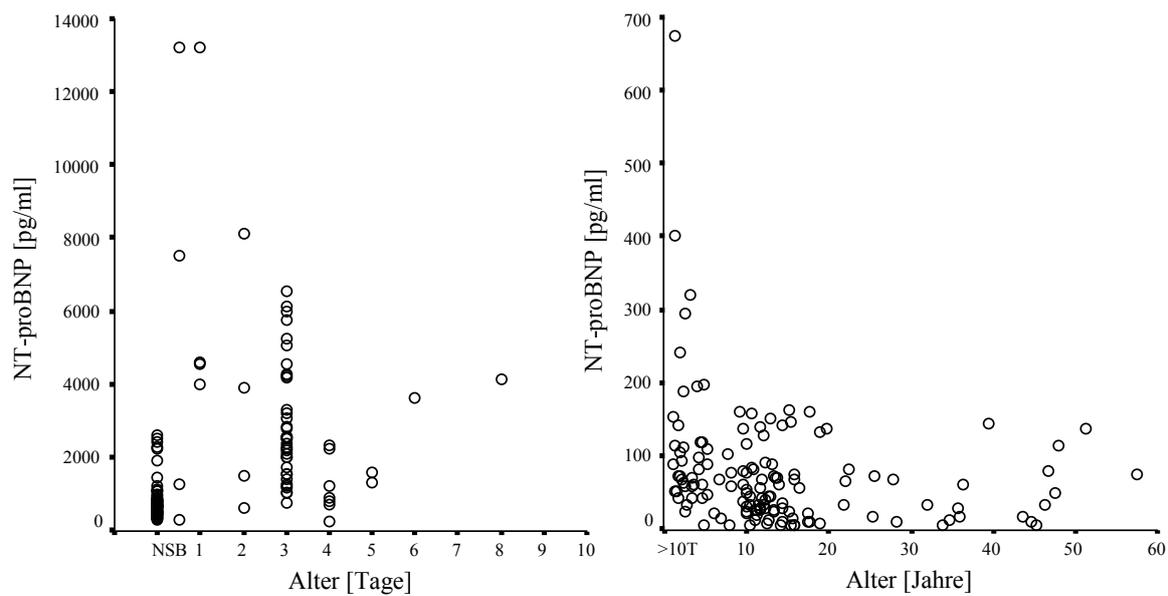


Abbildung 11 Verlauf der NT-proBNP-Konzentrationen über das gesamte Probandenkollektiv
Links: Streudiagramm der NT-proBNP-Werte für die ersten 10 Lebenstage
Rechts: Streudiagramm der NT-proBNP-Werte für Probanden älter als 10 Tage bis zum 59. Lebensjahr
NSB Nabelschnurblut, T Tage

5.3 Gruppenbildung

Für die statistischen Berechnungen wurden alle Probanden in Gruppen zusammengefasst.

Nabelschnurblutentnahmen bei 62 Neugeborenen wurden gesondert betrachtet von den Probanden, bei denen am ersten Lebenstag peripheren Proben entnommen wurden. Innerhalb der ersten Lebenstage wurden kleinere Gruppen gebildet, da in diesem Intervall stärkere Schwankungen der NT-proBNP-Werte beobachtet wurden. Bei der Gruppenbildung wurde auf eine ausreichende Fallzahl und geringe Schwankungen der NT-proBNP-Werte innerhalb der Gruppen geachtet (siehe Abbildung 12 und 13 und Tabelle 2).

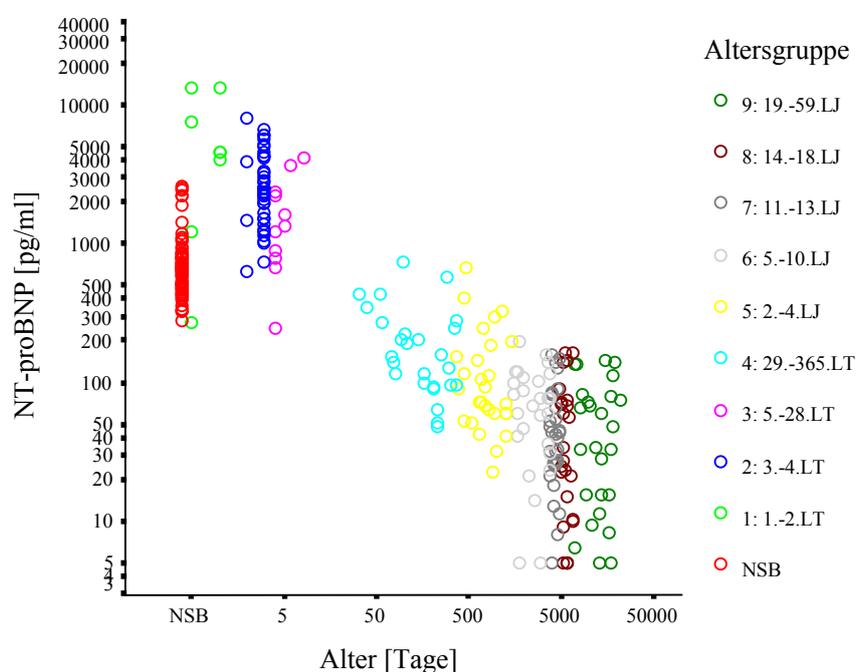


Abbildung 12 Gruppenbildung

Streudiagramm der NT-proBNP-Werte für das gesamte Probandenkollektiv, Ordinate und Abszisse sind logarithmisch aufgetragen

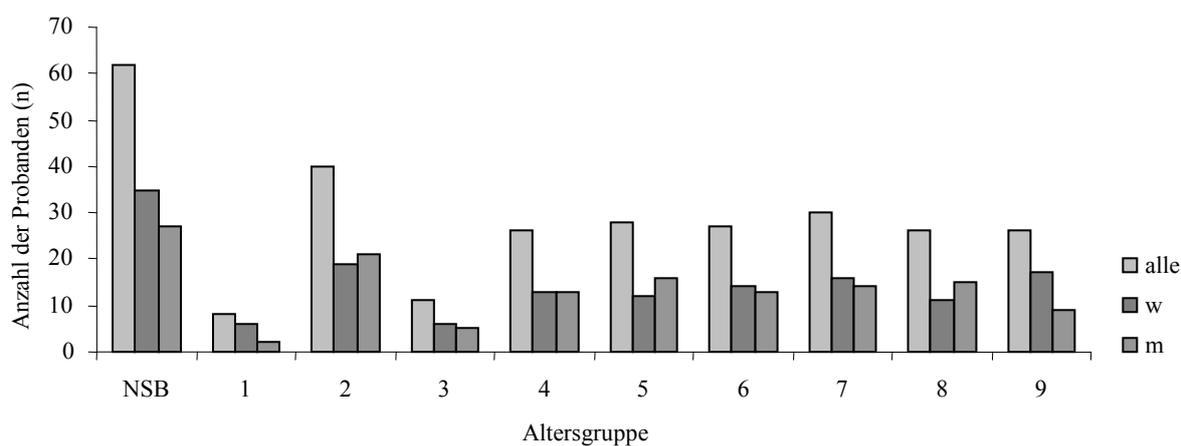
LJ Lebensjahre, LT Lebenstage, NSB Nabelschnurblut

Tabelle 2 Häufigkeiten der Gruppen

Gruppe	Alter	n / %* (alle)	n / %** (w)	n / %** (m)
NSB	NSB	62 / 21,83	35 / 56,45	27 / 43,55
1	1. – 2. LT	8 / 2,82	6 / 75,00	2 / 25,00
2	3. – 4. LT	40 / 14,08	19 / 47,50	21 / 52,50
3	5. – 28. LT	11 / 3,87	6 / 54,55	5 / 45,45
4	29. – 365. LT	26 / 9,15	13 / 50,00	13 / 50,00
5	2. – 4. LJ	28 / 9,86	12 / 42,86	16 / 57,14
6	5. – 10. LJ	27 / 9,51	14 / 51,85	13 / 48,15
7	11. – 13. LJ	30 / 10,56	16 / 53,33	14 / 46,67
8	14. – 18. LJ	26 / 9,15	11 / 42,31	15 / 57,69
9	19. – 59. LJ	26 / 9,15	17 / 65,38	9 / 34,62
Total	NSB – 59. LJ	284 / 100,00	149 / 52,46	135 / 47,54

LJ Lebensjahre, LT Lebenstage, NSB Nabelschnurblut, w/m weibliche/männliche Probanden

* relativ zum Gesamtkollektiv, ** relativ zur Untergruppe (Begrenzung auf 2 Dezimalstellen)

**Abbildung 13** Häufigkeiten der Gruppen

NSB Nabelschnurblut, w/m weibliche/männliche Probanden

5.4 Einfluss der Altersgruppen und des Geschlechts

Um die unterschiedlichen Altersgruppen miteinander zu vergleichen, führten wir eine Varianzanalyse (*ANOVA*) durch. Ziel dieser Maßnahme war es, herauszufinden, ob signifikante Unterschiede der NT-proBNP-Werte in den von uns gebildeten Altersgruppen zu beobachten waren. Damit der Einfluss des Geschlechts auf die NT-proBNP-Werte berücksichtigt werden konnte, wurde die Varianzanalyse bifaktoriell durchgeführt. Diese Varianzanalyse setzte eine Normalverteilung der Werte und eine Homogenität der Varianzen innerhalb der einzelnen Altersgruppen voraus. Durch Logarithmieren wurde die Bedingung der normalverteilten Daten erfüllt. Die Prüfung der Varianzhomogenität anhand des *Levene*-Tests zeigte, dass sich die Varianzen innerhalb der einzelnen Altersgruppen signifikant unterschieden. Aus diesem Grund wurde nach der Varianzanalyse der für ungleiche Varianzen geeignete *Tamhane*-Test in der anschließenden Post-Hoc-Testung verwendet. Man erhält mit der Varianzanalyse Aufschluss darüber, welcher der beiden Faktoren, Altersgruppe und Geschlecht, einen signifikanten Einfluss auf die NT-proBNP-Konzentrationen hat.

Es zeigte sich im bifaktoriellen Design, dass die Altersgruppenzugehörigkeit mit einem p -Wert von $p < 0,001$ einen statistisch hochsignifikanten Einfluss auf die NT-proBNP-Werte hatte. Ein signifikanter Haupteffekt fand sich jedoch nicht für den Faktor Geschlecht ($p = 0,066$), was darauf hindeutete, dass sich die NT-proBNP-Werte bei weiblichen und männlichen Probanden insgesamt, d. h. über alle Altersgruppen hinweg betrachtet, nicht bedeutsam voneinander unterschieden. Die hochsignifikante Interaktion ($p < 0,001$) der beiden Faktoren (Altersgruppe und Geschlecht) zeigte jedoch, dass auf verschiedenen Stufen der Altersgruppen bedeutsam unterschiedliche NT-proBNP-Konzentrationen bei weiblichen und männlichen Probanden vorlagen. Jenseits der Altersgruppen 8 und 9 zeigte sich ein Trend zu steigenden Werten bei weiblichen Probanden und ein Trend zu fallenden Werten bei männlichen Probanden. Das Wechselwirkungsdiagramm („Profildiagramm“) veranschaulicht dies (siehe Abbildung 14).

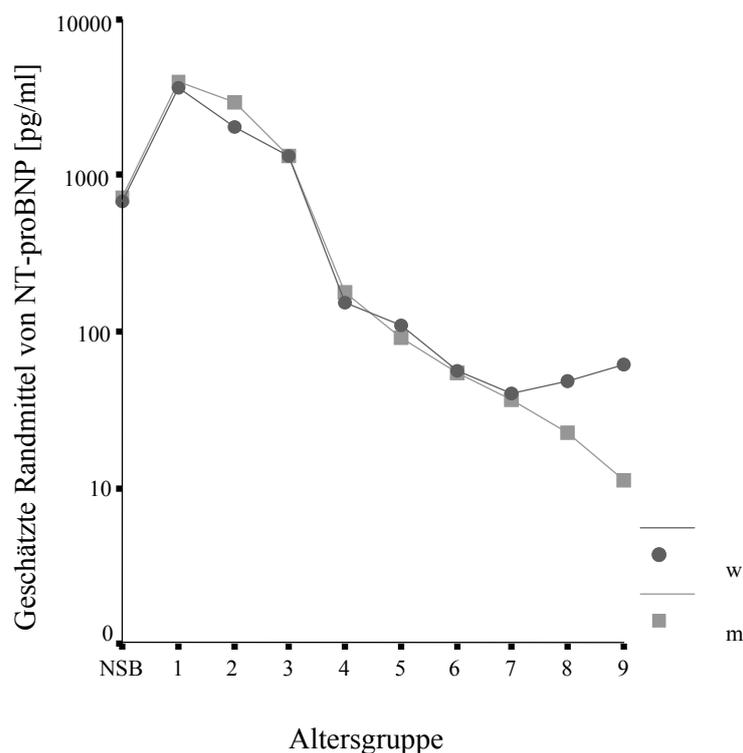


Abbildung 14 Wechselwirkungsdiagramm der geschätzten Randmittel für NT-proBNP

Die grafische Darstellung zeigt anhand der Mittelwerte („geschätzte Randmittel“) der NT-proBNP-Konzentrationen die Wirkung der Faktoren „Altersgruppe“ und „Geschlecht“
NSB Nabelschnurblut, w/m weibliche/männliche Probanden

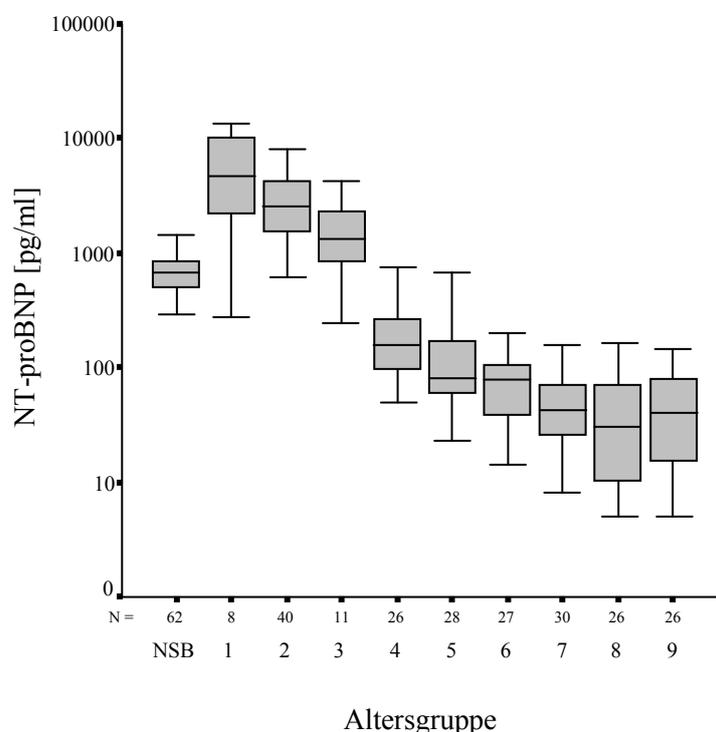
Um herauszufinden, welche der Altersgruppen sich signifikant voneinander unterscheiden, wurde der Post-Hoc-Test nach *Tamhane* nachgeschaltet (siehe Tabelle 3). In diesem Test, der wegen der ungleichen Varianzen vorzuziehen war, zeigten sich signifikante Ergebnisse zwischen der Nabelschnurgruppe und der Altersgruppe 2 sowie den Altersgruppen 4–9. Die Altersgruppen 1, 2 und 3 zeigten ein signifikantes Ergebnis zu den Altersgruppen 4–9. Die Altersgruppe 4 hatte ein signifikantes Ergebnis zu den Altersgruppen 6–9. Statistische Signifikanz bestand auch zwischen Altersgruppe 5 und den Altersgruppen 7–9. Ab der Altersgruppe 6, d. h. ab dem 5.–10. Lebensjahr, wurden keine signifikanten Unterschiede zu höheren Altersgruppen beobachtet.

Tabelle 3 Signifikanzwerte (p-Werte) der Altersgruppenvergleiche (Post-Hoc-Test nach *Tamhane*)

Altersgruppe	NSB	1	2	3	4	5	6	7	8	9
NSB		0,314	<0,001	0,734	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
1	0,314		1,000	0,969	<0,01	<0,01	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001
2	<0,001	1,000		0,8	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
3	0,734	0,969	0,8		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
4	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001		0,437	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001
5	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001	0,437		0,593	<0,01	<0,01	<0,05
6	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001	<0,01	0,593		0,998	0,906	0,989
7	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	0,998		1,000	1,000
8	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	0,906	1,000		1,000
9	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	0,989	1,000	1,000	

NSB Nabelschnurblut

Die fehlende statistische Signifikanz zwischen der Nabelschnurgruppe und der Gruppe 1 scheint zum einen durch die ungleichen Varianzen und die unterschiedlichen Fallzahlen der beiden Gruppen, zum anderen durch Ausreißer in der Nabelschnurgruppe bedingt zu sein. Betrachtet man für beide Gruppen den Median im Boxplot, ist hingegen ein deutlicher Unterschied zu erkennen (siehe Abbildung 15).

**Abbildung 15** NT-proBNP-Werte für das gesamte Probandenkollektiv

Dargestellt sind Boxplots mit Median, Quartilen und extremsten Nicht-Ausreißer-Werten der logarithmisch transformierten NT-proBNP-Werte
NSB Nabelschnurblut

5.5 Nabelschnurblut

5.5.1 Charakterisierung des Nabelschnurkollektivs

Bei einem Probandenkollektiv von 62 gesunden, reifen Neugeborenen wurden NT-proBNP-Konzentrationen im Nabelschnurblut bestimmt. Von den 62 Neugeborenen wurden 28 durch Sectio caesarea und 34 durch Spontanpartus entbunden. Die Gestationsdauer betrug zwischen vollendeter 36. und 42. Schwangerschaftswoche ($M = 38$ SSW; $Median = 39$ SSW). Der APGAR-Score nach einer Minute lag zwischen 6 und 10 ($M = 8,52$; $Median = 9$), nach fünf Minuten zwischen 7 und 10 ($M = 9,33$; $Median = 9$) und nach zehn Minuten zwischen 7 und 10 ($M = 9,70$; $Median = 10$). Der Nabelschnur-pH-Wert lag zwischen 7,143 und 7,412 ($M = 7,300$; $Median = 7,300$). Bei 31 Neugeborenen konnte die Geburtsdauer betrachtet werden, die zwischen 1 und 17 Stunden lag ($M = 7,274$; $Median = 7,000$).

Bei 36 der 62 Neugeborenen wurde aus der Nabelschnur sowohl arteriell als auch venös Blut zur NT-proBNP-Messung gewonnen. Bei 4 dieser 36 Neugeborenen konnte die Zuordnung der Proben zu arteriell oder venös nicht eruiert werden. Bei 26 der 62 Neugeborenen wurde ausschließlich aus der Nabelschnurvene Blut entnommen.

5.5.2 Einfluss der arteriellen bzw. venösen Blutentnahme

Es wurde primär das Nabelschnurkollektiv hinsichtlich eines Unterschiedes der NT-proBNP-Konzentrationen im arteriellen im Vergleich zum venösen Nabelschnurblut untersucht.

Nach logarithmischer Umwandlung der absoluten NT-proBNP-Werte und durch Anwendung des t-Testes für abhängige Stichproben konnte festgestellt werden, dass zwischen den arteriellen ($n = 32$; $M = 797$ pg/ml; $SD = \pm 522$ pg/ml; $Median = 676$ pg/ml) und den venösen ($n = 32$; $M = 848$ pg/ml; $SD = \pm 645$ pg/ml; $Median = 671$ pg/ml) Werten kein statistisch signifikanter Unterschied vorlag ($p = 0,088$).

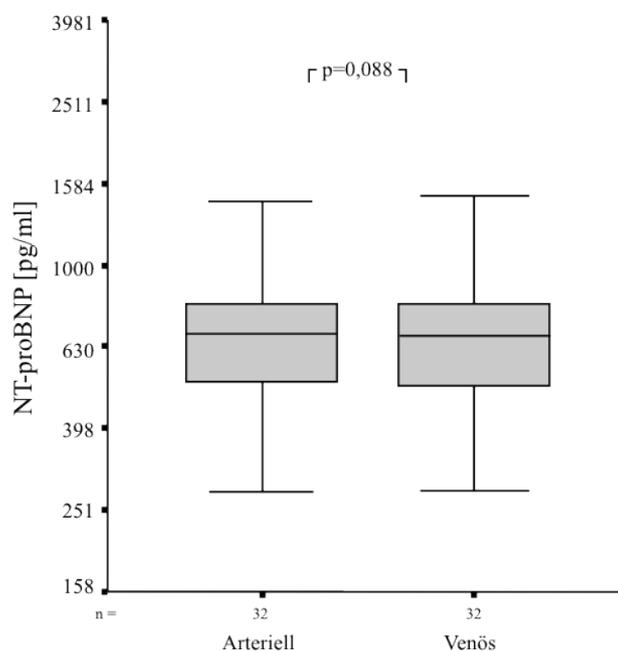


Abbildung 16 NT-proBNP-Werte im arteriellen und venösen Nabelschnurblut

Dargestellt sind Boxplots mit Median, Quartilen und extremsten Nicht-Ausreißer-Werten der logarithmisch transformierten NT-proBNP-Werte

Bei den weiteren Berechnungen des Nabelschnurkollektivs wurde daher nicht mehr zwischen arteriellen und venösen Werten differenziert. Es wurde der Mittelwert von arteriellen und venösen Werten verwendet.

5.5.3 Einfluss des Geburtsmodus

In einer weiteren Analyse des Nabelschnurkollektivs wurde ein Vergleich der NT-proBNP-Konzentrationen bei Neugeborenen nach Sectio caesarea ($n = 28$; $M = 912$ pg/ml; $SD = \pm 629$ pg/ml) bzw. nach Spontangeburt ($n = 34$; $M = 741$ pg/ml; $SD = \pm 462$ pg/ml) vorgenommen. Nach logarithmischer Umwandlung der absoluten NT-proBNP-Werte und durch Anwendung des t-Testes für unabhängige Stichproben wurde keine statistische Signifikanz erreicht. Mit einem p-Wert von $p = 0,299$ bestand somit keine Abhängigkeit der NT-proBNP-Werte vom Entbindungsmodus.

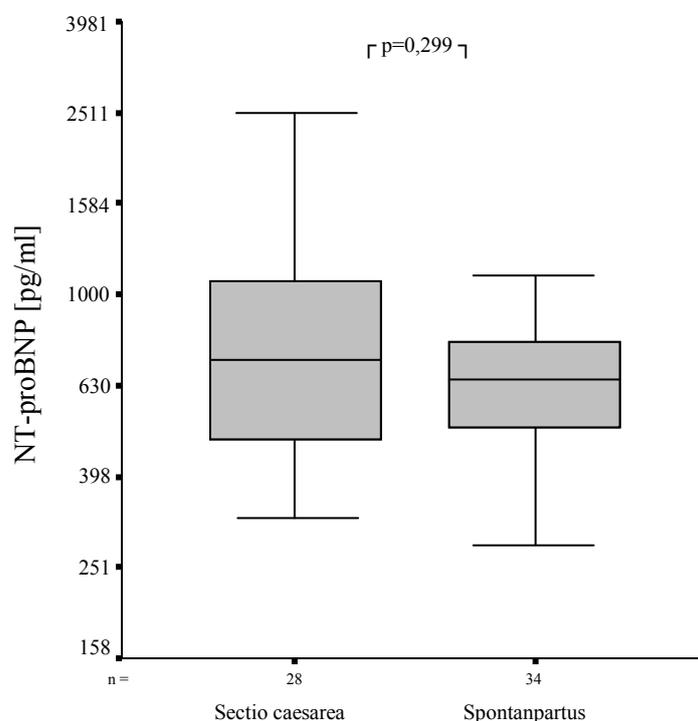


Abbildung 17 NT-proBNP-Werte im Nabelschnurblut nach Sectio caesarea und nach Spontangeburt
Dargestellt sind Boxplots mit Median, Quartilen und extremsten Nicht-Ausreißer-Werten der logarithmisch transformierten NT-proBNP-Werte

5.5.4 Einfluss des APGAR-Scores, des Nabelschnur-pH-Wertes, des Gestationsalters und der Geburtsdauer

Der Einfluss des APGAR-Scores, des Nabelschnur-pH-Wertes, des Gestationsalters und der Geburtsdauer auf die NT-proBNP-Konzentrationen wurde mittels des nichtparametrischen Korrelationstests nach *Spearman* untersucht. Bei diesen vier genannten Parametern bestand keine Korrelation mit den NT-proBNP-Konzentrationen.

Tabelle 4 Korrelation nach *Spearman* der NT-proBNP-Konzentrationen mit den APGAR-Scores, dem Nabelschnur-pH-Wert, dem Gestationsalter und der Geburtsdauer

	APGAR nach 1 Minute	APGAR nach 5 Minuten	APGAR nach 10 Minuten	pH-Wert	Gestationsalter	Geburtsdauer
NT-proBNP <i>r</i>	-0,150	-0,264	-0,064	-0,123	-0,272	0,141

r Spearman-Korrelationskoeffizient

5.5.5 NT-proBNP-Konzentrationen im Nabelschnurblut

Die NT-proBNP-Konzentrationen bei den 62 Neugeborenen hatte nach Mittelwertbildung der arteriellen und venösen Werte und ohne Berücksichtigung des Entbindungsmodus und des Geschlechts eine Spannweite von 281 pg/ml bis 2595 pg/ml. Der Mittelwert der NT-proBNP-Werte lag bei 818 pg/ml mit einer Standardabweichung von ± 546 pg/ml. Der Median betrug 668 pg/ml und der 95%-Referenzbereich lag zwischen 304 pg/ml und 2539 pg/ml.

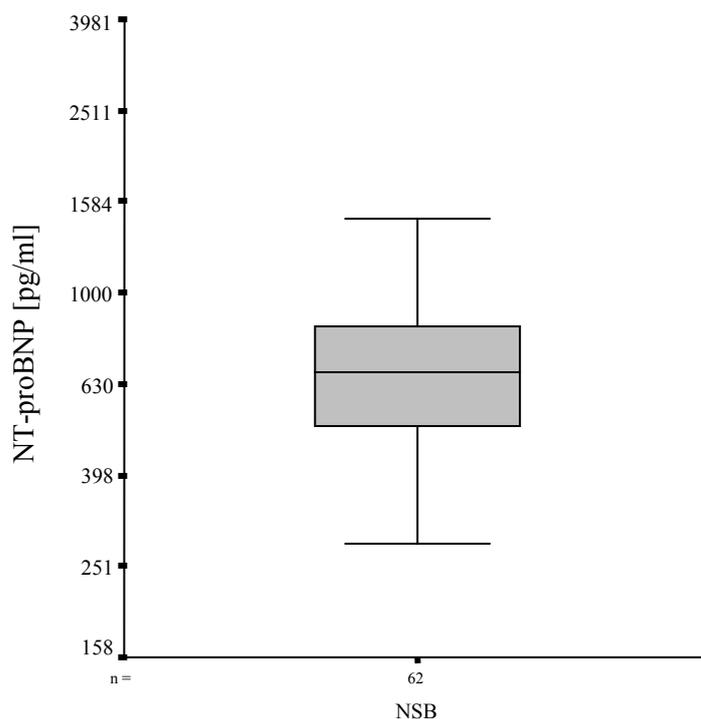


Abbildung 18 NT-proBNP-Werte im Nabelschnurblut

Dargestellt sind Boxplots mit Median, Quartilen und extremsten Nicht-Ausreißer-Werten der logarithmisch transformierten NT-proBNP-Werte NSB Nabelschnurblut

5.5.6 Einfluss des Geschlechts

Die NT-proBNP-Werte des Nabelschnurkollektivs wurden, wie im Folgenden auch diejenigen aller anderen Gruppen, hinsichtlich eines eventuellen Geschlechtsunterschiedes untersucht. Nach Logarithmieren und durch Anwendung des t-Testes für unabhängige Stichproben zeigte der Vergleich von weiblichen ($n = 35$; $M = 813$ pg/ml; $SD = \pm 567$ pg/ml) und männlichen ($n = 27$; $M = 826$ pg/ml; $SD = \pm 527$ pg/ml) Neugeborenen mit einem p-Wert von $p = 0,766$ keine statistische Signifikanz.

Tabelle 5 NT-proBNP-Werte [pg/ml] im Nabelschnurblut, mit Geschlechtsangaben

Gruppe	G	<i>n</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>p</i>	Spannweite	<i>Median</i>	2,5. P	97,5. P
NSB	w	35	813	567	0,766	281–2595	639	281	2595
	m	27	826	527		321–2417	671	321	2417

Dargestellt sind Mittelwert (*M*), Standardabweichung (*SD*), p-Wert (*p*), Spannweite, Median, 2,5. und 97,5. Perzentile in pg/ml

NSB Nabelschnurblut, P Perzentile, w/m weibliche/männliche Probanden

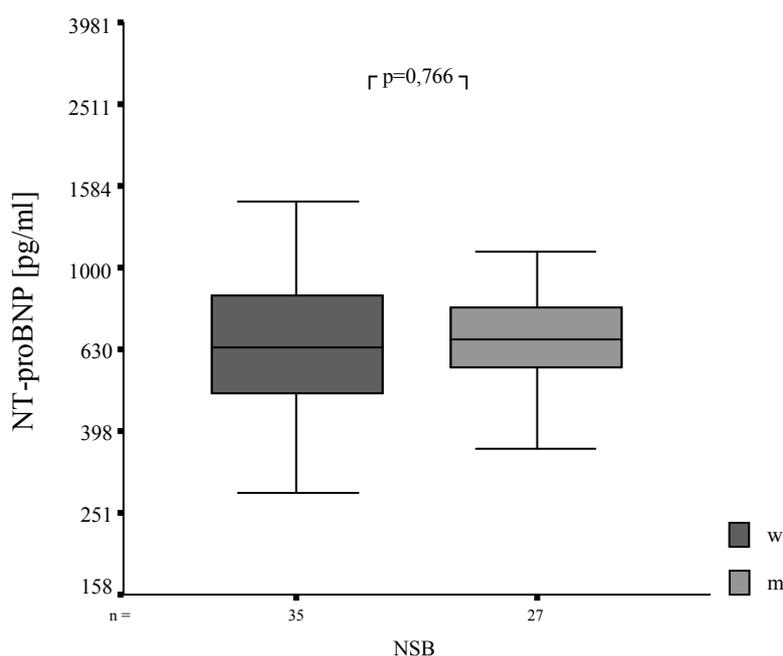


Abbildung 19 NT-proBNP-Werte im Nabelschnurblut bei weiblichen und männlichen Neugeborenen
Dargestellt sind Boxplots mit Median, Quartilen und extremsten Nicht-Ausreißer-Werten der logarithmisch transformierten NT-proBNP-Werte
NSB Nabelschnurblut, w/m weibliche/männliche Probanden

5.6 Neugeborenen- und Säuglingsalter

Im Neugeborenen- und Säuglingsalter wurde bei insgesamt 85 Kindern periphervenös Blut zur NT-proBNP-Bestimmung entnommen. Zur statistischen Berechnung wurden die 85 Neugeborenen und Säuglinge in 4 Altersgruppen und jeweils nach Geschlecht aufgeteilt.

5.6.1 NT-proBNP-Konzentrationen im Neugeborenen- und Säuglingsalter

Ohne Berücksichtigung des Geschlechts reichten die NT-proBNP-Konzentrationen in der Altersgruppe 1 (1. – 2. LT) von 273 pg/ml bis 13224 pg/ml. Der Mittelwert der Serum-NT-proBNP-Werte lag bei 6072 pg/ml mit einer Standardabweichung von 4930 pg/ml. Der Median betrug 4558 pg/ml und der 95%-Referenzbereich lag zwischen 273 und 13224 pg/ml.

In Gruppe 2 (3. – 4. LT) lagen die Werte zwischen 621 pg/ml und 8122 pg/ml. Mittelwert und Standardabweichung betragen 2972 pg/ml bzw. 1808 pg/ml. Der Median lag bei 2492 pg/ml, der 95%-Referenzbereich zwischen 624 und 8083 pg/ml.

Die Werte der Gruppe 3 (5. – 28. LT) hatten eine Spannweite von 243 pg/ml bis 4130 pg/ml mit einem Mittelwert von 1731 pg/ml. Die Standardabweichung betrug 1236 pg/ml und der Median 1321 pg/ml. Der 95%-Referenzbereich lag zwischen 243 und 4130 pg/ml.

In Altersgruppe 4 (29. – 365. LT) lagen die NT-proBNP-Werte zwischen 48 pg/ml und 739 pg/ml. Mittelwert und Standardabweichung betragen 215 pg/ml bzw. 169 pg/ml, der Median 77 pg/ml. Der 95%-Referenzbereich befand sich zwischen 48 und 739 pg/ml.

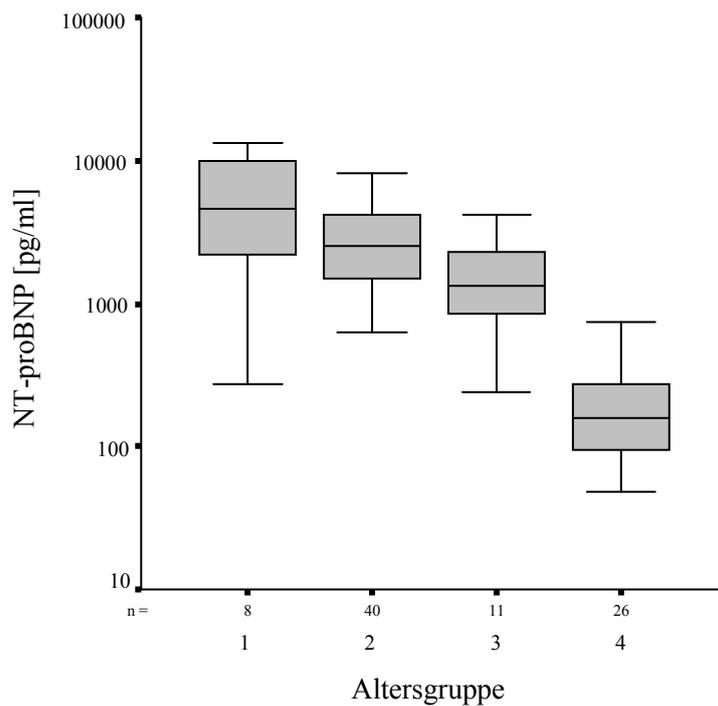


Abbildung 20 NT-proBNP-Werte im peripheren Venenblut für das Neugeborenen- und Säuglingsalter. Dargestellt sind Boxplots mit Median, Quartilen und extremsten Nicht-Ausreißer-Werten der logarithmisch transformierten NT-proBNP-Werte.

5.6.2 Einfluss des Geschlechts

Alle Gruppen wurden hinsichtlich eines Geschlechtsunterschiedes der NT-proBNP-Konzentrationen untersucht. Dafür wurden die absoluten NT-proBNP-Werte logarithmiert und jeweils einem t-Test für unabhängige Proben unterzogen. In keiner der 4 Gruppen erlangte der Vergleich eine statistische Signifikanz.

Tabelle 6 NT-proBNP-Werte [pg/ml] für das Neugeborenen- und Säuglingsalter, mit Geschlechtsangaben

Gruppe	G	n	M	SD	p	Spannweite	Median	2,5. P	97,5. P
1	w	6	5687	4351	0,929	273–13213	4558	273	13213
	m	2	7227	8482		1229–13224	7227	1229	13224
2	w	19	2522	1921	0,062	621–8122	2247	621	8122
	m	21	3380	1638		741–6115	3210	741	6115
3	w	6	1928	1578	0,994	243–4130	1402	243	4130
	m	5	1493	759		678–2337	1321	678	2337
4	w	13	197	154	0,589	48–578	154	48	578
	m	13	233	188		51–739	190	51	739

Dargestellt sind Mittelwert (M), Standardabweichung (SD), p-Wert (p), Spannweite, Median, sowie 2,5. und 97,5. Perzentile in pg/ml

G Geschlecht, P Perzentile, w/m weibliche/männliche Probanden

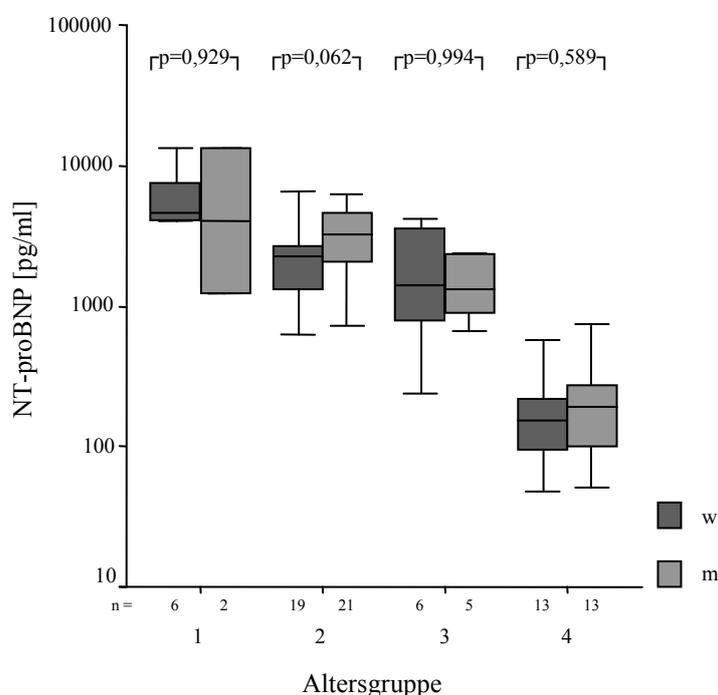


Abbildung 21 NT-proBNP-Werte im peripheren Blut für das Neugeborenen- und Säuglingsalter, mit Geschlechtsangaben

Dargestellt sind Boxplots mit Median, Quartilen und extremsten Nicht-Ausreißer-Werten der logarithmisch transformierten NT-proBNP-Werte w/m weibliche/männliche Probanden

5.7 Kleinkind-, Schulkind-, Jugendlichen- und Erwachsenenalter

Im Kleinkind-, Schulkind-, Jugendlichen- und Erwachsenenalter wurde bei insgesamt 137 Probanden venöses Blut zur NT-proBNP-Bestimmung entnommen. Zur statistischen Berechnung wurden 4 Gruppen erstellt.

5.7.1 NT-proBNP-Konzentrationen im Kleinkind-, Schulkind-, Jugendlichen- und Erwachsenenalter

In der Gruppe 5 (2.–4. LJ) reichten die Werte von 23 pg/ml bis zu 675 pg/ml mit einem Median von 80 pg/ml. Der 95%-Referenzbereich befand sich zwischen 23 und 675 pg/ml. Mittelwert und Standardabweichung betragen 139 pg/ml bzw. ± 142 pg/ml.

Die NT-proBNP-Konzentrationen in der Altersgruppe 6 (5.–10. LJ) reichten von 5 pg/ml bis zu 196 pg/ml; der Median betrug 77 pg/ml, Mittelwert und Standardabweichung betragen 75 pg/ml ± 48 pg/ml. Der 95%-Referenzbereich lag zwischen 5 und 196 pg/ml.

Die NT-proBNP-Werte lagen bei Kindern der Gruppe 7 (11.–13. LJ) zwischen 5 pg/ml und 157 pg/ml; der Median lag bei 41 pg/ml und der 95%-Referenzbereich lag zwischen 5 und 157 pg/ml. Der Mittelwert wurde mit 52 pg/ml berechnet mit einer Standardabweichung von 42 pg/ml.

Die NT-proBNP-Konzentrationen in der Altersgruppe 8 (14.–18. LJ) reichten von 5 pg/ml bis zu 162 pg/ml; der Median lag bei 31 pg/ml, Mittelwert und Standardabweichung betragen 53 pg/ml ± 50 pg/ml. Der 95%-Referenzbereich lag zwischen 5 und 162 pg/ml.

Ab dem 19. Lebensjahr (Altersgruppe 9: 19.–59. LJ) lagen die NT-proBNP-Werte zwischen 5 pg/ml und 145 pg/ml. Der Median fand sich bei 41 pg/ml und der Mittelwert betrug 55 pg/ml ± 46 pg/ml. Der 95%-Referenzbereich reichte von 5 bis 145 pg/ml.

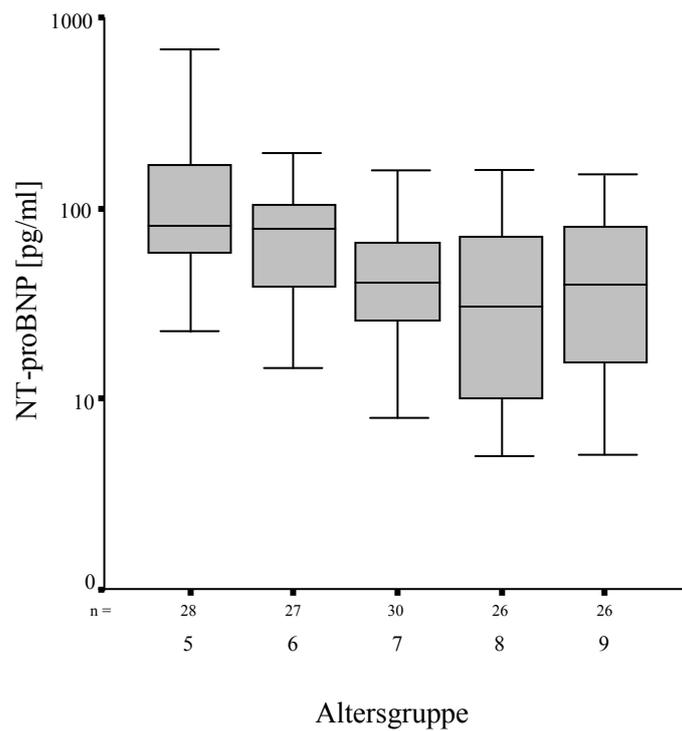


Abbildung 22 NT-proBNP-Werte im peripheren venösen Blut für das Kleinkind-, Schulkind-, Jugendlichen- und Erwachsenenalter
Dargestellt sind Boxplots mit Median, Quartilen und extremsten Nicht-Ausreißer-Werten der logarithmisch transformierten NT-proBNP-Werte

5.7.2 Einfluss des Geschlechts

Alle Gruppen wurden hinsichtlich eines Geschlechtsunterschiedes der NT-proBNP-Konzentrationen untersucht. Dafür wurden die absoluten NT-proBNP-Werte logarithmiert und jeweils einem t-Test für unabhängige Proben unterzogen.

In den Gruppen 5, 6 und 7 zeigte sich kein statistisch relevanter Unterschied zwischen beiden Geschlechtern. In Gruppe 8 fanden sich höhere Werte beim weiblichen Geschlecht, ohne dass jedoch eine statistische Signifikanz erreicht wurde ($p = 0,097$). Bei den Probanden ab dem 19. Lebensjahr bestanden signifikant höhere NT-proBNP-Werte beim weiblichen Geschlecht ($p < 0,001$).

Tabelle 7 NT-proBNP-Werte [pg/ml] für das Kleinkind-, Schulkind-, Jugendlichen- und Erwachsenenalter, mit Geschlechtsangaben

Gruppe	G	<i>n</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>p</i>	Spannweite	<i>Median</i>	2,5. P	97,5. P
5	w	12	163	184	0,582	41–675	70	41	675
	m	16	120	102		23–402	90	23	402
6	w	14	72	50	0,960	14–196	67	14	196
	m	13	78	46		5–159	77	5	159
7	w	16	50	35	0,724	5–157	43	5	157
	m	14	54	50		8–150	30	8	150
8	w	11	69	49	0,097	9–162	68	9	162
	m	15	42	50		5–161	23	5	161
9	w	17	77	43	<0,001	11–145	72	11	145
	m	9	14	10		5–32	9	5	32

Dargestellt sind Mittelwert (*M*), Standardabweichung (*SD*), p-Wert (*p*), Spannweite, Median, sowie 2,5. und 97,5. Perzentile in pg/ml

G Geschlecht, P Perzentile, w/m weibliche/männliche Probanden

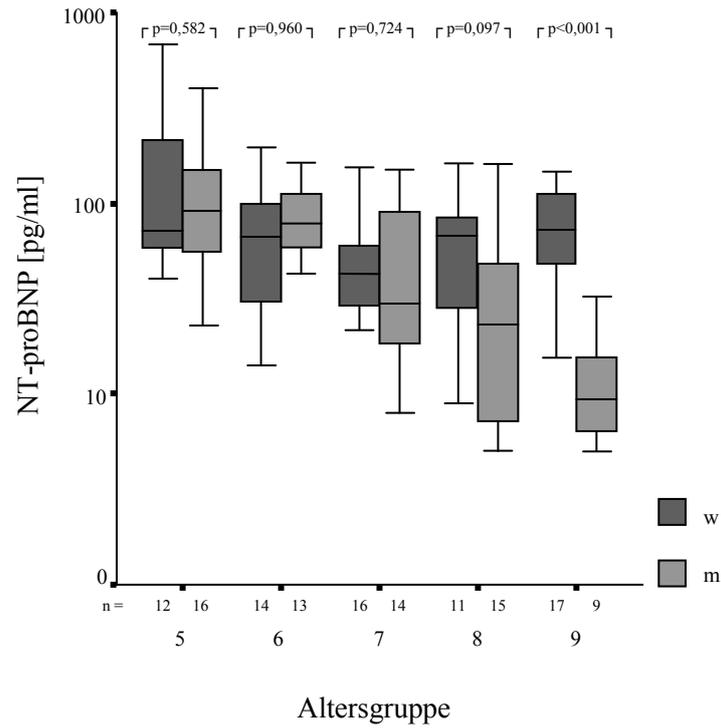


Abbildung 23 NT-proBNP-Werte im peripheren venösen Blut für das Kleinkind-, Schulkind-, Jugendlichen- und Erwachsenenalter, mit Geschlechtsangaben
Dargestellt sind Boxplots mit Median, Quartilen und extremsten Nicht-Ausreißer-Werten der logarithmisch transformierten NT-proBNP-Werte
w/m weibliche/männliche Probanden

5.8 Überblick der NT-proBNP-Konzentrationen aller Gruppen

Abbildung 24 und Tabelle 8 geben einen Überblick der NT-proBNP-Konzentrationen für alle 9 Gruppen:

- Die NT-proBNP-Serumkonzentrationen zeigten hohe Werte im Nabelschnurblut.
- Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen arteriellen und venösen Nabelschnur-Werten.
- NT-proBNP-Konzentrationen waren unabhängig vom Geburtsmodus.
- APGAR-Score, Nabelschnur-pH, Gestationsalter und Geburtsdauer zeigten keine Korrelation mit den NT-proBNP-Werten.
- Ab dem 4. Lebenstag wurde im Laufe des ersten Lebensjahres ein allmählicher Abfall der NT-proBNP-Werte beobachtet, die sich während des Kleinkindesalters den NT-proBNP-Normwerten der Erwachsenenpopulation näherten.
- Im Vergleich der beiden Geschlechter zeigte sich erst in der Gruppe 9 jenseits des 19. Lebensjahres ein signifikanter Unterschied mit höheren Werten beim weiblichen Geschlecht.

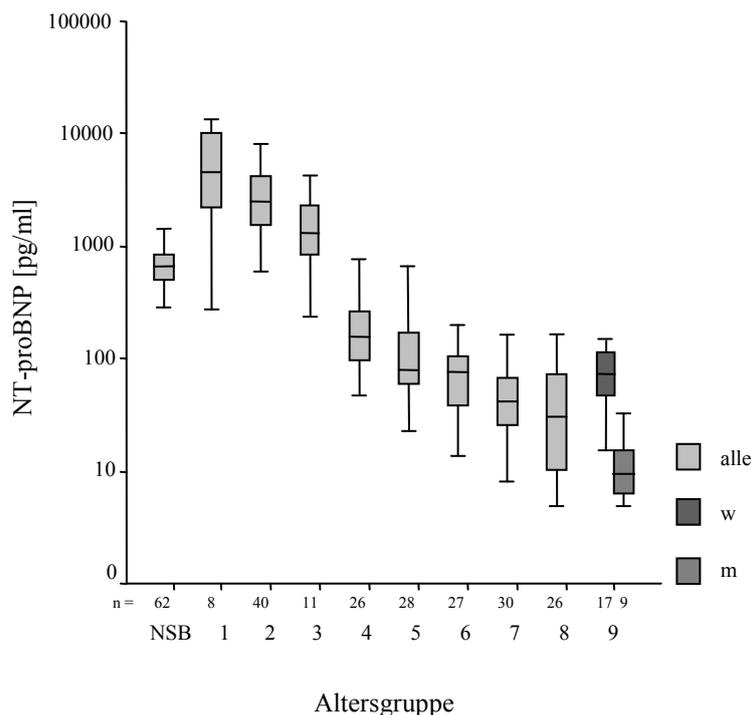


Abbildung 24 Boxplots für die NT-proBNP-Werte für das gesamte Probandenkollektiv
Dargestellt sind Boxplots mit Median, Quartilen und extremsten Nicht-Ausreißer-Werten der logarithmisch transformierten NT-proBNP-Werte
NSB Nabelschnurblut, w/m weibliche/männliche Probanden

Tabelle 8 NT-proBNP-Werte [pg/ml] für das gesamte Probandenkollektiv

Gruppe	Alter	<i>n</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	Spannweite	<i>Median</i>	2,5. P	97,5. P
NSB	NSB	62	818	546	281–2595	668	304	2539
1	1.–2. LT	8	6072	4930	273–13224	4558	273	13224
2	3.–4. LT	40	2972	1808	621–8122	2492	624	8083
3	5.–28. LT	11	1731	1236	243–4130	1321	243	4130
4	29.–365. LT	26	215	169	48–739	157	48	739
5	2.–4. LJ	28	139	142	23–675	80	23	675
6	5.–10. LJ	27	75	48	5–196	77	5	196
7	11.–13. LJ	30	52	42	5–157	41	5	157
8	14.–18. LJ	26	53	50	5–162	31	5	162
9 w	19.–58. LJ	17	77	43	11–145	72	11	145
9 m	19.–58. LJ	9	14	10	5–32	9	5	32

Dargestellt sind Mittelwert (*M*), Standardabweichung (*SD*), Spannweite, Median, 2,5. und 97,5. Perzentile in pg/ml

NSB Nabelschnurblut, LJ Lebensjahre, LT Lebenstage, P Perzentile, w/m weibliche/männliche Probanden

5.9 Perzentilkurven

Zur Darstellung des Verlaufs der NT-proBNP-Werte wurde die Form von Perzentilkurven im untersuchten Probandengut gewählt.

Dazu wurden drei unterschiedliche statistische Methoden angewendet.

Es wurde versucht, die Perzentilkurven gruppenunabhängig zum einen mittels einer Regressionsanalyse und zum anderen anhand des *LMS-Programms 1.17* zu berechnen. Außerdem wurden die Perzentilen für die gebildeten Altersgruppen berechnet und grafisch dargestellt.

5.9.1 Regressionsanalyse

Ziel der Durchführung einer Regressionsanalyse war die Bestimmung eines Normwertbereichs für NT-proBNP in Abhängigkeit vom Lebensalter. Diese Methode erlaubte es, ohne vorherige Gruppenbildung Referenzbereiche für ein bestimmtes Probandenkollektiv zu bestimmen. Die Regressionsanalyse sollte für Probanden unter 18 Jahren durchgeführt werden.

Als Modell diente ein einfaches, lineares Regressionsmodell. Da die NT-proBNP-Werte in den ersten Lebensstagen zunächst anstiegen und anschließend wieder abfielen, war ein lineares Modell für das gesamte Kindesalter nicht sinnvoll. Es wurde deshalb unter Annahme einer Linearität die Regression für den Lebensabschnitt vom 11. Lebenstag bis zum Ende des 18. Lebensjahres durchgeführt. Hierzu wurden die NT-proBNP-Werte zuerst in den dekadischen Logarithmus umgewandelt und als Streudiagramm dargestellt. Die Betrachtung der Residuen im Residuenplot zeigte eine recht gleichmäßige Verteilung der Werte um 0 auf der Ordinate. Unter den Voraussetzungen der Gültigkeit des linearen Modells wurde versucht, die Regressionsgerade und einen 95%-Referenzbereich für die NT-proBNP-Werte zu bestimmen. Zur Berechnung der Regressionsgeraden kam das Prinzip der kleinsten quadratischen Abweichung (Least Square Method) zur Anwendung.

Die Gleichung der Regressionsgeraden lautete:

$$\lg(\text{NT} - \text{proBNP}[\text{pg/ml}]) = 2,138 - (0,046 \cdot \text{Alter}[\text{J}]).$$

Mit einer Standardabweichung von 0,39098 ergab sich für den 95%-Referenzbereich die Gleichung:

$$\lg(\text{NT} - \text{proBNP}[\text{pg/ml}]) = 2,138 - (0,046 \cdot \text{Alter}[\text{J}]) \pm 0,76632.$$

Der Korrelationskoeffizient zwischen den beiden Merkmalen Alter und NT-proBNP-Wert betrug $|r| = 0,552$, $r^2 = 0,304$. Demnach zeigte sich zwischen den NT-proBNP-Konzentrationen und dem Alter für Kinder und Jugendliche zwischen dem 11. Lebenstag und dem Ende des 18. Lebensjahres eine mittelstarke negative Korrelation. Rund 30 % der Varianz der NT-proBNP-Konzentrationen konnten durch das Alter erklärt werden.

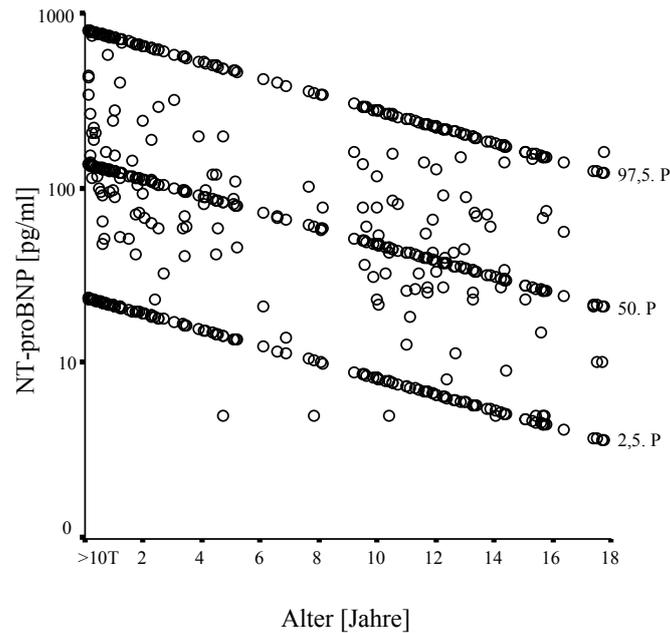


Abbildung 25 NT-proBNP-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Lebensalter
 Dargestellt sind die anhand der Regressionsgleichung berechneten 2,5., 50. und 97,5. Perzentile der in den dekadischen Logarithmus transformierten Werte
 Regressionsgleichung: $\lg(\text{NT-proBNP}[\text{pg/ml}]) = 2,138 - (0,046 \cdot \text{Alter}[\text{J}]) \pm 0,76632$;
 $|r| = 0,552$; $r^2 = 0,304$; $SD = 0,39098$; $p < 0,0001$; T Tage

Zur besseren Darstellung der NT-proBNP-Werte wurde die oben berechnete Regressionsgerade mit ihrem 95%-Referenzbereich wieder vom dekadischen Logarithmus in die ursprünglichen NT-proBNP-Absolutwerte zurückverwandelt.

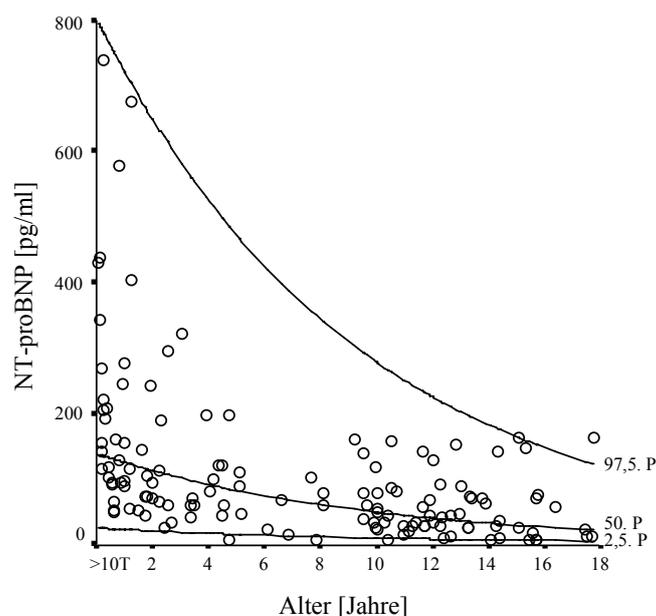


Abbildung 26 NT-proBNP-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Lebensalter
 Dargestellt sind 2,5., 50. und 97,5. Perzentile
 T Tage

5.9.2 LMS-Methode

Anhand des *LMS-Programms 1.17*, welches auf den *LMS-Methoden* von *Cole* (1988) und *Cole* und *Green* (1992) für geglättete Referenz-Perzentilkurven basiert, wurde versucht, geglättete Referenz-Perzentilkurven zu erstellen [21, 22].

Diese Methode wurde für Probanden ab dem 1. Lebenstag (NSB-Probanden ausgenommen) angewendet. Um einen annähernd sinnvollen Verlauf der LMS-Kurve zu erhalten, wurde aufgrund unzureichender Datenmengen im oberen Altersbereich die Berechnung auf Probanden bis Ende des 16. Lebensjahres begrenzt.

Dieses Programm berechnete für jedes Alter in Tagen (Angabegenauigkeit 0,001 Tage) die jeweilige Perzentile (Ausschnitt: siehe Tabelle 9), so dass mit dieser Methode für jedes Alter der zu erwartende NT-proBNP-Wert anhand der so erstellten Tabelle abgelesen werden kann.

Tabelle 9 Ausschnitt aus der Perzentilkurvenberechnung anhand des LMS-Programms

Alter [T]	Alter [J]	2,5. P	5. P	10. P	25. P	50. P	75. P	90. P	95. P	97,5. P
4411,723	12,087	3,75	6,41	10,55	21,02	40,18	71,12	113,59	147,91	184,43
4415,842	12,098	3,75	6,40	10,54	21,01	40,17	71,10	113,56	147,88	184,41
4419,965	12,109	3,75	6,40	10,54	21,00	40,15	71,08	113,54	147,86	184,38
4424,090	12,121	3,74	6,40	10,53	20,99	40,14	71,06	113,51	147,83	184,36
4428,218	12,132	3,74	6,39	10,53	20,99	40,12	71,04	113,49	147,80	184,33
4432,350	12,143	3,74	6,39	10,52	20,98	40,11	71,02	113,46	147,78	184,30
4436,485	12,155	3,74	6,39	10,51	20,97	40,09	71,00	113,44	147,75	184,28
4440,622	12,166	3,73	6,38	10,51	20,96	40,08	70,98	113,41	147,72	184,25
4444,763	12,177	3,73	6,38	10,50	20,95	40,06	70,96	113,39	147,70	184,23
4448,907	12,189	3,73	6,37	10,50	20,94	40,05	70,94	113,36	147,67	184,20
4453,054	12,200	3,73	6,37	10,49	20,93	40,03	70,92	113,34	147,64	184,17
4457,204	12,212	3,73	6,37	10,49	20,92	40,02	70,89	113,31	147,62	184,15
4461,357	12,223	3,72	6,36	10,48	20,91	40,00	70,87	113,29	147,59	184,12
4465,514	12,234	3,72	6,36	10,48	20,90	39,99	70,85	113,26	147,57	184,10
4469,673	12,246	3,72	6,36	10,47	20,89	39,97	70,83	113,24	147,54	184,07
4473,836	12,257	3,72	6,35	10,46	20,88	39,96	70,81	113,21	147,51	184,04
4478,001	12,268	3,71	6,35	10,46	20,87	39,94	70,79	113,19	147,49	184,02
4482,170	12,280	3,71	6,35	10,45	20,86	39,93	70,77	113,16	147,46	183,99

Dargestellt sind 2,5., 5., 10., 25., 50., 75., 90., 95. und 97,5. Perzentile in pg/ml um das 12. Lebensjahr
J Jahre, T Tage

Zur grafischen Darstellung wurden die NT-proBNP-Konzentrationen zuerst in Abhängigkeit des Alters in Lebensjahren aufgetragen.

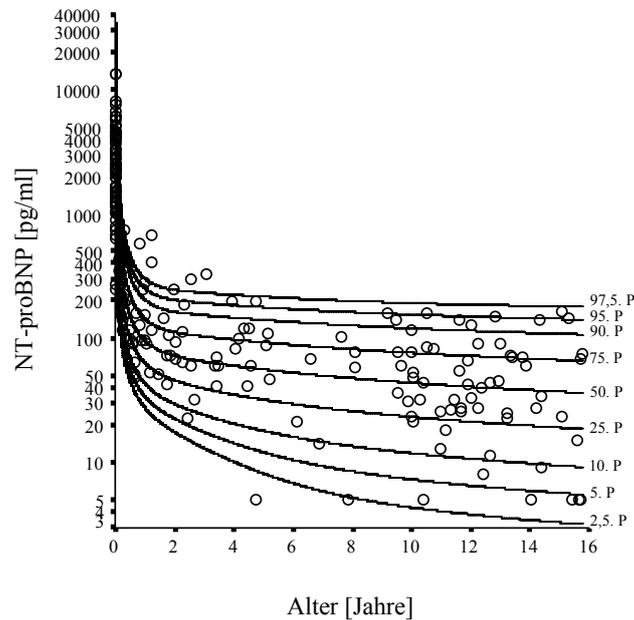


Abbildung 27 NT-proBNP-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Lebensalter
Dargestellt sind 2,5., 5., 10., 25., 50., 75., 90., 95. und 97,5. Perzentile der NT-proBNP-Werte

Für eine geeignete Darstellung wurden anschließend die Abszisse als 5. Wurzel des Alters in Lebenstagen aufgetragen.

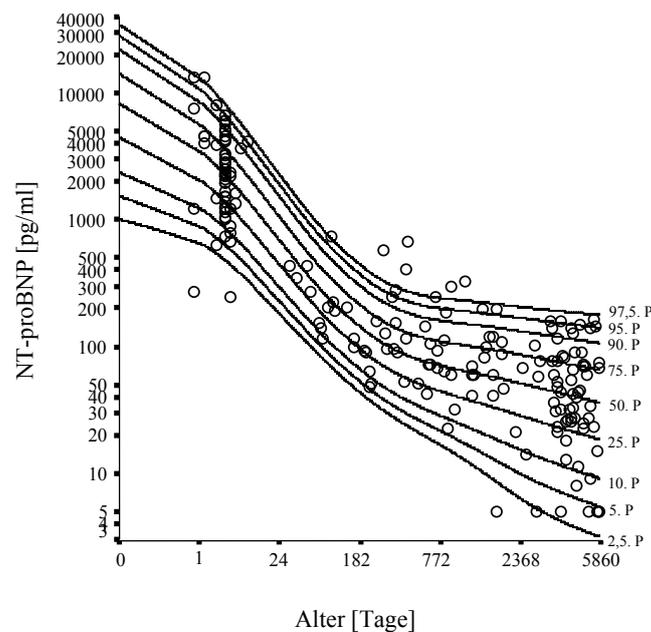


Abbildung 28 NT-proBNP-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Lebensalter
Dargestellt sind 2,5., 5., 10., 25., 50., 75., 90., 95. und 97,5. Perzentile der NT-proBNP-Werte, die Ordinate ist logarithmisch aufgetragen, die Abszisse wurde mittels der 5. Wurzel des Alters in Lebenstagen transformiert dargestellt

5.9.3 Gruppenabhängige Perzentilkurven

Für die unterschiedlichen Altersgruppen wurden die Perzentile berechnet und tabellarisch sowie grafisch veranschaulicht. Zu beachten ist, dass in der grafischen Darstellung (siehe Abbildung 29) die Perzentilkurven ohne Berücksichtigung des Geschlechts abgebildet sind.

Tabelle 10 Gruppenabhängige Perzentilkurven

Gruppe	Alter	n	2,5. P	5. P	10. P	25. P	50. P	75. P	90. P	95. P	97,5. P
NSB	NSB	62	304	329	399	502	668	850	1756	2392	2539
1	1. – 2. LT	8	273	273	273	1924	4558	11788	13224	13224	13224
2	3. – 4. LT	40	624	754	1050	1512	2492	4217	5953	6536	8083
3	5. – 28. LT	11	243	243	330	786	1321	2337	4026	4130	4130
4	29. – 365. LT	26	48	49	60	96	157	269	478	682	739
5	2. – 4. LJ	28	23	27	40	59	80	179	329	552	675
6	5. – 10. LJ	27	5	5	12	17	77	108	142	181	196
7	11. – 13. LJ	30	5	7	11	26	41	70	138	153	157
8	14. – 18. LJ	26	5	5	5	10	31	72	150	162	162
9	19. – 58. LJ	26	5	5	6	14	41	79	136	142	145
9w	19. – 58. LJ	17	11	11	15	41	72	123	139	145	145
9m	19. – 58. LJ	9	5	5	5	6	9	22	32	32	32

Dargestellt sind 2,5., 5., 10., 25., 50., 75., 90., 95. und 97,5. Perzentile in pg/ml

NSB Nabelschnurblut, P Perzentile, w/m weibliche/männliche Probanden

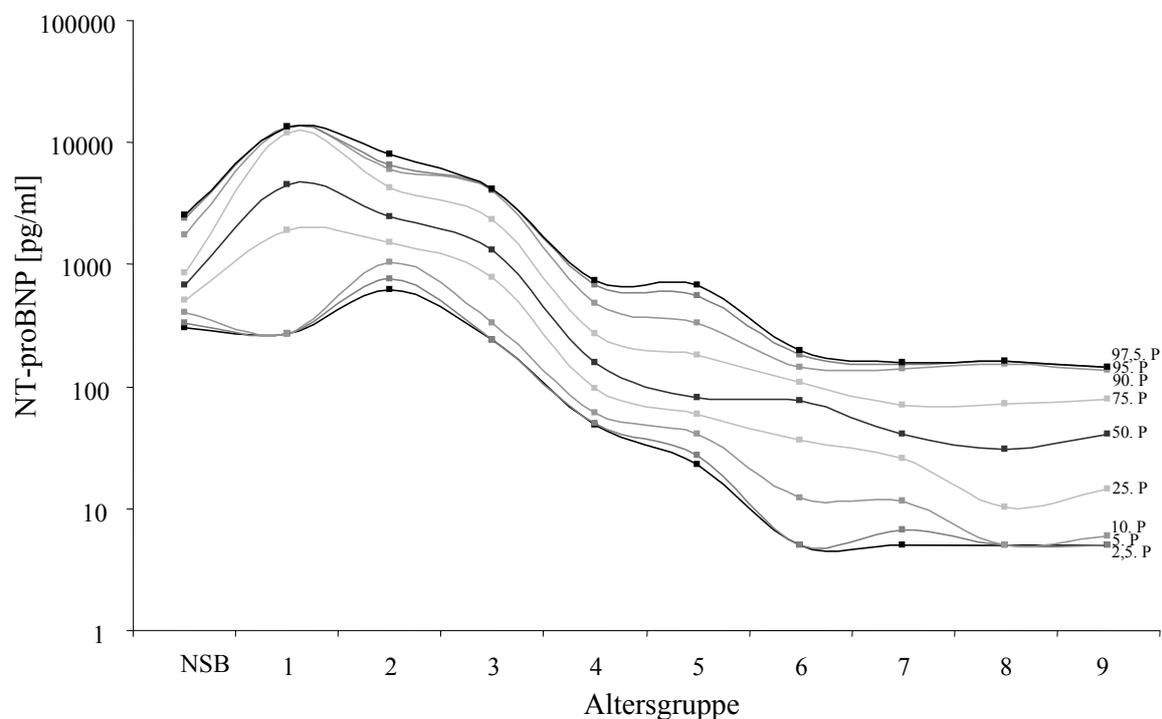


Abbildung 29 Gruppenabhängige Perzentilkurven

Dargestellt sind 2,5., 5., 10., 25., 50., 75., 90., 95. und 97,5. Perzentile der NT-proBNP-Werte in Abhängigkeit von den Altersgruppen. Die Ordinate ist logarithmisch aufgetragen.

NSB Nabelschnurblut

6 Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Referenzbereiche von NT-proBNP für das gesamte Kindes- und Jugendalter, insbesondere aber für das Neugeborenenalter zu ermitteln. Im Kindesalter waren bis zur Veröffentlichung der vorliegenden Ergebnisse im Jahre 2004 nur wenige Studien im Hinblick auf Normwerte von BNP und NT-proBNP durchgeführt worden [68, 73, 98, 99, 113, 121, 153].

Die einzelnen Untersuchungen befassten sich zum größten Teil mit geringen Fallzahlen und die Fokussierung lag auf unterschiedlichen Altersabschnitten. Der Einfluss von Alter und Geschlecht wurde außerdem unterschiedlich dokumentiert und bewertet. Eine einheitliche Festlegung insbesondere von NT-proBNP-Normwerten war bisher für das gesamte Kindesalter nicht möglich.

Insgesamt zeigten die in der vorliegenden Arbeit ermittelten NT-proBNP-Konzentrationen hohe Werte im Nabelschnurblut. Innerhalb der ersten beiden Lebenstage folgte dann ein weiterer deutlicher Anstieg der NT-proBNP-Werte. Im Laufe des ersten Lebensjahres wurde ein konsekutiver allmählicher Abfall beobachtet. Die NT-proBNP-Konzentrationen näherten sich innerhalb des Kleinkindalters den NT-proBNP-Normwerten der Erwachsenenpopulation. In den aus dem Nabelschnurblut gemessenen Werten bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der arteriellen und der venösen Entnahme. Auch waren die NT-proBNP-Konzentrationen unabhängig vom Geburtsmodus. Es wurde keine Korrelation der Nabelschnur-NT-proBNP-Konzentrationen zur Schwangerschaftsdauer, Geburtsdauer, zum Nabelschnur-pH-Wert und dem APGAR-Score beobachtet. Differente Werte zwischen beiden Geschlechtern wurden erst jenseits des 19. Lebensjahres mit signifikant höheren Werten beim weiblichen Geschlecht ermittelt. Für die Perzentilkurvenberechnung wurden in der vorliegenden Arbeit drei unterschiedliche Verfahren benutzt. Die unterschiedlichen Ansätze führten teilweise zu verschiedenen Normbereichen. Durch die großen Spannweiten in den ersten Lebensjahren kam es anhand der LMS-Berechnung zu Abweichungen der Perzentilkurven gegenüber den tatsächlichen Werten; die Perzentilkurven waren vor allem in diesem unteren Altersbereich ungenau. Da für diese Berechnung die Nabelschnurwerte nicht mit einbezogen wurden, lagen die NT-proBNP-Konzentrationen anhand dieser Methode in den ersten Lebenstagen auf einem höheren Niveau, als sie tatsächlich waren. Im oberen

Altersbereich stimmten die Werte mit den Werten, die anhand der Regressionsgeraden berechnet werden können, und den berechneten Werten innerhalb der Gruppen gut überein. Die Regressionsanalyse beschränkte sich auf den Lebensabschnitt vom 11. Lebenstag bis zum Ende des 18. Lebensjahres. Bis auf die ersten Lebensmonate entsprachen die anhand der Regressionsgleichung ermittelten Perzentile annähernd den in den Gruppen berechneten Perzentilen.

6.1 Gegenüberstellung der vorliegenden Ergebnisse zu den bisherigen Studiendaten

Der Vergleich der vorliegenden Daten mit denen anderer Studien ist nur bedingt möglich. Die Gründe hierfür sind vielfältig. Zum einen wurden die Probanden hinsichtlich des Alters unterschiedlich gruppiert; zum anderen wurden verschiedene Hormon-Parameter gemessen (BNP bzw. NT-proBNP); ferner wurden unterschiedliche Testsysteme zur Bestimmung der Analyten eingesetzt. Zusätzlich wurden in den einzelnen Studien unterschiedliche statistische Maßzahlen (Spannweite, Mittelwert, Standardabweichung, Median, Perzentile) und Grafiken dargestellt. Es wurden die Messeinheiten für BNP und NT-proBNP nicht einheitlich gehandhabt, die sich jedoch mit entsprechenden Umrechnungsfaktoren berichtigen ließen (siehe Tabelle 11 und Tabellen 12–16 im Anhang).

Tabelle 11 Umrechnungsfaktoren für BNP- und NT-proBNP-Konzentrationen

NT-proBNP	$[pg/ml] \cdot 0,118 = [pmol/l]$
BNP	$[pg/ml] \cdot 0,289 = [pmol/l]$

Die von *Yoshiyayashi* 1995 in der Nabelschnurvene, bei Neugeborenen und bei Kindern bis zum 15. Lebensjahr ermittelten Normalwerte für das aktive BNP erreichten Maximalwerte am ersten Lebenstag. Es zeigte sich ein Abfall der BNP-Werte in den ersten Lebensmonaten, ab dem Alter von 3 Monaten blieben die Werte konstant. Die BNP-Konzentrationen am ersten Lebenstag entsprachen einem 25–30-Fachen der Erwachsenenwerte und waren 21 Mal höher als die Konzentrationen im Nabelschnurvenenblut (siehe Tabelle 12 im Anhang) [153]. *Kunii* beobachtete 2003 ebenfalls signifikante Veränderungen der BNP-Werte direkt nach der Geburt. Im Vergleich zum Nabelschnurvenenblut stiegen in dieser Studie die BNP-Werte innerhalb des ersten Lebenstages (12–20 Stunden nach Geburt) zuerst signifikant an, anschließend wurde in den folgenden Lebenstagen ein signifikanter Abfall der Werte

beobachtet. Jenseits der Neugeborenenperiode wurde zwischen den gebildeten Altersgruppen (<1 Jahre; <3 Jahre; <5 Jahre; <10 Jahre; <16 Jahre) kein signifikanter Unterschied der BNP-Werte mehr gemessen und der Mittelwert mit 5,3 pg/ml angegeben (siehe Tabelle 12 im Anhang) [73].

Die 2003 von *Koch* bestimmten BNP-Konzentrationen bei Kindern von der Geburt bis zum 17. Lebensjahr erreichten ihr Maximum am ersten und zweiten Lebenstag nach Geburt. Während der ersten Lebenswoche (5.–7. Lebenstag) kam es zu einem anschließenden signifikanten Abfall der BNP-Konzentrationen. Für die ersten zwei Lebenswochen errechnete sich eine signifikante negative Korrelation mit dem Alter. Jenseits der 2. Lebenswoche überschritten die BNP-Werte einen Wert von 32,7 pg/ml nicht mehr und lagen somit unter den Erwachsenenwerten. Für diese Kinder wurde bei männlichen Probanden ein Trend zu fallenden und bei weiblichen Probanden ein Trend zu steigenden BNP-Werten beobachtet. Ab dem 10. Lebensjahr zeigten sich signifikant höhere Werte beim weiblichen Geschlecht (siehe Tabelle 13 im Anhang) [68].

In einer Studie von *Soldin* (2006) zeigten sich 18-fach höhere BNP-Werte in der Neugeborenenperiode im Vergleich zu Kindern ab dem 4. Lebensjahr (siehe Tabelle 13 im Anhang) [133].

In allen vier bisher genannten Studien [68, 73, 133, 153] wurde als Parameter nicht das inaktive NT-proBNP, sondern die aktive Form, das BNP, bestimmt. Auch wurden verschiedene Testsysteme benutzt [*ImmunoRadioMetricAssay* (*Shionogi*, Osaka, Japan) für die Studie von *Yoshibayashi* und *Kunii*; *Fluoreszenz Immuno Assay (Triage BNP Assay, Biosite Diagnostics)* für die Studie von *Koch* und *Soldin*]. Mit Ausnahme der Studie von *Soldin* lagen die BNP-Konzentrationen auf einem deutlich niedrigeren Niveau als die in der vorliegenden Arbeit bestimmten NT-proBNP-Werte (siehe Tabelle 12 und 13 im Anhang).

Diese höheren Werte von NT-proBNP gegenüber dem BNP könnten verursacht sein durch die aufgrund des unterschiedlichen Abbauweges der beiden Substanzen längere Halbwertszeit von NT-proBNP, die 1–2 Stunden beträgt im Vergleich zu 20 Minuten für das BNP, und den dadurch bedingten höheren Konzentrationen des inaktiven NT-proBNP im Blutkreislauf [57, 91]. Die simultane Bestimmung von BNP und NT-proBNP in der Studie von *Soldin* und in einer Studie von *Masson* zeigte NT-proBNP-Werte, die um den Faktor 5 bzw. den Faktor 3,5 über den BNP-Werten lagen; sie verdeutlichte die Korrelation der beiden Parameter [89].

Die höheren BNP-Werte in der Studie von *Soldin* könnten zum einen dadurch verursacht sein, dass sich das Neugeborenenkollektiv in dieser Studie vorwiegend aus frühgeborenen Kindern zusammensetzte und sich zum anderen das gesamte Probandenkollektiv zur Hälfte aus stationären und zur Hälfte aus ambulanten Patienten zusammensetzte und demzufolge kranke Kinder bzw. Kinder unter medikamentöser Therapie beinhaltete.

Im Gegensatz zu dem in der vorliegenden Arbeit beobachteten allmählichen Abfall der NT-proBNP-Werte bis hin zum Schulalter schienen in den Studien von *Yoshiyayashi* und *Koch* die BNP-Konzentrationen ab dem dritten Lebensmonat bzw. ab der zweiten Lebenswoche schon konstant zu bleiben. Auch die Untersuchung von *Kunii* zeigte abgesehen von der Neugeborenenperiode keinen Einfluss des Alters auf die BNP-Werte. Die fehlende Altersabhängigkeit für das aktive BNP konnte 2006 in einer Untersuchung von *Koch* verdeutlicht werden, in der bei Kindern ein abfallender NT-proBNP/BNP-Quotient mit zunehmendem Alter beschrieben wurde. Unterschiedliche altersabhängige Veränderungen im Clearance-Mechanismus der beiden Peptide könnten Ursache für diesen Sachverhalt sein [67]. In Übereinstimmung mit den von uns vorgelegten Ergebnissen für NT-proBNP wurden von *Yoshiyayashi*, *Koch*, *Kunii* und *Soldin* die höchsten BNP-Konzentrationen in den ersten Lebenstagen beobachtet, die innerhalb der folgenden Lebenswochen wieder abfielen. Die BNP-Werte in der Untersuchung von *Koch* zeigten ab dem 10. Lebensjahr einen geschlechtsspezifischen Unterschied, der im Gegensatz zu den vorliegenden Werten eine statistische Relevanz erlangte.

Die Arbeitsgruppe von *Mir* publizierte 2002 erstmals NT-proBNP-Konzentrationen bei gesunden Probanden vom 10. Lebenstag bis zum 32. Lebensjahr. Die NT-proBNP-Werte der pädiatrischen Probanden zeigten keine signifikante Altersabhängigkeit und waren nicht signifikant verschieden von den Erwachsenenwerten (siehe Tabelle 14 im Anhang) [99].

2003 fokussierte *Mir* auf das Neugeborenenalter mit der NT-proBNP-Bestimmung bei Neugeborenen vom 1. bis zum 30. Lebenstag. Am zweiten Lebenstag waren die NT-proBNP-Werte signifikant höher als am ersten Lebenstag und entsprachen einem Dreifachen der Werte am ersten Lebenstag. Anschließend wurde ein Abfallen der Werte beobachtet, bis sie ab dem 4. bis zum 30. Lebenstag auf einem relativ stabilen Niveau lagen [98].

In beiden von *Mir* durchgeführten Studien wurde für die NT-proBNP-Messungen der kompetitive *Enzym ImmunoAssay* (*Biomedica*) benutzt. Trotz der unterschiedlichen Bestimmungsmethoden im Vergleich mit der vorliegenden Studie zeigten sich

übereinstimmend hohe NT-proBNP-Werte an den ersten beiden Lebenstagen. Im Gegensatz zu der vorliegenden Handhabung fasste *Mir* die im Nabelschnurvenenblut gemessenen Spiegel mit den im peripheren Venenblut direkt nach der Entbindung bestimmten Werten zusammen, so dass ein direkter Vergleich dieser Werte erschwert ist. Die NT-proBNP-Konzentrationen im Alter von 11 Lebenstagen bis zum 17. Lebensjahr lagen bei *Mir* deutlich höher als beim vorliegenden Kollektiv.

Eine Gegenüberstellung des *ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssays* von *Roche* und des *Enzym ImmunoAssays* von *Biomedica* durch Bestimmung der NT-proBNP-Werte bei gesunden Probanden im Alter von einem bis 29 Jahren mittels beider Methoden ergab 3- bis 535-fach höhere NT-proBNP-Konzentrationen anhand des *Enzym ImmunoAssays* [1]. Mittels des *ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssay* von *Roche* zeigten sich signifikant höhere Werte bei jüngeren Kindern; mittels des *EnzymImmuno Assays* von *Biomedica* konnte keine Abhängigkeit vom Alter gezeigt werden. Dies verdeutlicht, dass die Werte beider Testsysteme nicht untereinander austauschbar sind und dass der Test von *Biomedica* den Einfluss des Alters nicht herausarbeiten konnte. Wahrscheinlich besitzt der *Biomedica*-Test nicht ausreichend Spezifität und Sensitivität, was an den unterschiedlichen Antikörpern gegen das NT-proBNP und Kreuzreaktionen mit verschiedenen Spaltprodukten des NT-proBNP liegen könnte [1, 19, 45, 105].

Die 2006 von *Soldin* bestimmten NT-proBNP-Konzentrationen zeigten bei Neugeborenen 20-fach höhere Werte für NT-proBNP im Vergleich zu Kindern ab dem 4. Lebensjahr. Im Vergleich mit den hier vorgelegten Daten – wie auch mit denen anderer Arbeitsgruppen [1, 96, 98, 99, 113, 114, 121] – lagen die von *Soldin* angegebenen NT-proBNP-Werte insgesamt auf einem viel höheren Niveau. Dies könnte, wie bereits für BNP erwähnt, bedingt sein durch die Zusammenstellung des Probandenkollektivs in dieser Studie (vorwiegend frühgeborene Kinder im Neugeborenenkollektiv). Ferner wurde für die NT-proBNP-Bestimmung der *Dade RxL Dimension Test* (*Dade Behring Inc.*, Neward, DE) benutzt, der zwar im Vergleich zum *ECLIA* von *Roche* dieselben polyklonalen Antikörper benutzt, bei dem allerdings die Signaldetektion durch eine andere Methode zustande kommt (siehe Tabellen 14–16 im Anhang) [31, 133].

Rauh bestimmte 2003 NT-proBNP-Konzentrationen bei gesunden Neugeborenen und Kindern anhand des auch in der vorliegenden Arbeit benutzten *ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssays* von *Roche*. Die höchsten NT-proBNP-Konzentrationen wurden während der

ersten Lebenstage erhoben, gefolgt von einem raschen Abfall der NT-proBNP-Werte. Ab dem vierten Monat bestand bis zum 16. Lebensjahr eine negative Korrelation mit zunehmendem Alter. Eine Geschlechtsabhängigkeit wurde nicht beobachtet (siehe Tabelle 15 im Anhang) [121].

Von *Nir* wurden 2004 anhand des *ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssays* von *Roche* in den ersten Lebenstagen hohe NT-proBNP-Werte gemessen. Vom 4. Monat bis zum 15. Lebensjahr wurden in dieser Studie keine signifikanten Veränderungen der NT-proBNP-Konzentrationen beobachtet und die Werte korrelierten nicht mit dem Alter. Ein signifikanter Unterschied der Werte zwischen weiblichem und männlichem Geschlecht bestand nicht (siehe Tabelle 15 im Anhang) [113].

2006 wurde auch von *Mir* eine Untersuchung mit dem *ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssay* durchgeführt. Die Bestimmung des NT-proBNP bei gesunden Kindern, Jugendlichen und Erwachsenen im Alter von 0 bis 32 Jahren zeigte einen signifikanten Abfall der Werte mit zunehmendem Alter. Bei Probanden unter 18 Jahren wurde keine geschlechtsspezifische Abhängigkeit der NT-proBNP-Werte beobachtet; erst bei Probanden über 18 Jahren wurden signifikant höhere Werte beim weiblichen Geschlecht gemessen (siehe Tabelle 15 im Anhang) [96].

Die von *Rauh*, *Nir* und von *Mir* 2006 durchgeführten NT-proBNP-Messungen sind mit den vorliegenden Messungen vergleichbar, da sie auch mit dem *ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssay* durchgeführt wurden. Die Studien von *Rauh* und *Nir* hatten relativ niedrige Fallzahlen und fehlende Probanden zwischen dem 1. und 4. Lebensmonat [121] bzw. zwischen dem 5. Lebenstag und dem 4. Lebensmonat [113]. Die Serumspiegel in beiden Studien lagen auf einem etwas niedrigeren Niveau als die in der vorliegenden Studie bestimmten Referenzbereiche. In beiden Studien wurden in Übereinstimmung mit den vorliegenden Messungen die höchsten NT-proBNP-Konzentrationen in den ersten Tagen nach der Geburt bestimmt. Die Studie von *Mir* hatte relativ niedrige Fallzahlen ($n = 19$) für die ersten zwei Lebensjahre. Durch unterschiedliche Gruppenzuteilung ist ein direkter Vergleich der Daten schwierig. Insgesamt lagen die Werte jedoch auf einem vergleichbaren Niveau wie die vorliegenden Ergebnisse und zeigten in Übereinstimmung abnehmende Werte mit zunehmendem Alter. In keiner der Studien wurde unterhalb von 18 Jahren ein statistisch relevanter Geschlechtsunterschied beobachtet.

Vor Beginn der vorliegenden Untersuchung wurden nur wenige Daten zu BNP- und NT-proBNP-Normwerten für Neugeborene im Nabelschnurblut veröffentlicht.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit beschrieb *Itoh* für das aktive BNP signifikant höhere Werte in der Nabelschnurarterie im Vergleich zur Nabelschnurvene [59].

Die Studienergebnisse von *Bakker* dagegen stimmen hinsichtlich eines fehlenden signifikanten Unterschiedes der NT-proBNP-Konzentrationen zwischen Nabelschnurarterie und Nabelschnurvene mit den vorliegenden Werten überein [3]. In Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen zeigten *Bakker* und *Bar-Oz* keinen Einfluss des Geburtsmodus, des Nabelschnur-pH-Wertes, des APGAR-Scores, der Geburtsdauer und des Gestationsalters auf die NT-proBNP-Konzentrationen [3, 4]. Die Ergebnisse von *Bar-Oz* und *Hammerer-Lercher* zeigten übereinstimmend keinen Geschlechtsunterschied in diesem Kollektiv [4, 49]. Insgesamt lagen die anhand des *ECLIA* von *Roche* ermittelten Nabelschnur-NT-proBNP-Werte in den Studien von *Bakker*, *Bar-Oz* und *Hammerer-Lercher* auf einem ähnlichen, jedoch leicht niedrigeren Niveau als die in der vorliegenden Arbeit bestimmten NT-proBNP-Konzentrationen [3, 4, 49].

Nir fasste 2009 in einer Multizenterstudie [114] die Rohdaten von insgesamt vier Studien, die vorliegenden Daten inbegriffen, zusammen, mit dem Ziel, anhand der mit dem *ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssay* gemessenen NT-proBNP-Werte Referenzbereiche für ein größeres Probandenkollektiv ($n = 690$; 0–18 Jahre) festzulegen [1, 113, 121, 132]. Zusammenfassend wurden in dieser Studie, wie mehrfach beschrieben, sehr hohe Werte nach der Geburt beobachtet mit einem anschließenden deutlichen Abfall in den ersten Lebenstagen. Das Level der Peptide zeigte einen weiteren schrittweisen Abfall zwischen dem 1. Monat und dem 18. Lebensjahr. Eine Geschlechtsdifferenz wurde nur für die Altersgruppe vom 10. bis 14. Lebensjahr gefunden mit höheren Werten bei weiblichen Probanden. Die Obergrenze des Normbereichs unterschied sich allerdings für beide Geschlechter in keiner der Altersgruppen. Die 95. Perzentile wurde als Obergrenze für den Normbereich wie folgt angegeben: 1.–2. Lebenstag: 11987 pg/ml; 3.–11. Lebenstag: 5918 pg/ml; >1 Monat bis ≤1 Jahr: 646 pg/ml; >1 Jahr bis ≤2 Jahre: 413 pg/ml; >2 Jahre bis ≤6 Jahre: 289 pg/ml; >6 Jahre bis ≤14 Jahre: 157 pg/ml; >14 bis ≤18 Jahre: 158 pg/ml (Tabelle 15 im Anhang) [114].

6.2 Interpretation der vorliegenden Ergebnisse

Es wird vermutet, dass die hohen Werte im Nabelschnurblut und während der ersten Lebenstage durch die Umstellung der fetalen Kreislaufbedingungen nach der Geburt bedingt sind. Die postnatal bestehende Druck- und Volumenbelastung des linken Ventrikels ist zum einen verursacht durch eine Mehrdurchblutung des Lungenkreislaufs und zum anderen durch eine Erhöhung der Nachlast im Systemkreislauf durch Wegfall des niedrigen Widerstands in der Plazenta. Beides könnte zu einer Stimulation der NT-proBNP-Freisetzung führen.

Itoh nahm darüber hinaus für BNP eine Clearance-Funktion der Plazenta an und postulierte, dass der Anstieg der BNP-Nabelschnurwerte während der ersten Lebenstage durch den Wegfall dieses Clearance-Mechanismus bedingt sein könnte [59]. Die Arbeitsgruppe von *Bakker* fand einen hohen Konzentrationsunterschied zwischen maternalen und fetalen NT-proBNP-Werten, so dass ein Austausch über die Plazenta hier nicht angenommen wurde [3]. *Hammerer-Lercher* berichtete über NT-proBNP-Werte bei neugeborenen Kindern, die signifikant höher als ihre jeweiligen maternalen Werte lagen, ohne dass die jeweiligen Wertepaare miteinander korrelierten. Aufgrund dessen wurde in dieser Studie auch kein Austausch des Peptids über die Plazenta angenommen und daraus geschlossen, dass die erhöhten Werte vom Feten selbst produziert werden [49]. Auch *Bar-Oz* beobachtete signifikant höhere NT-proBNP-Werte im Nabelschnurblut von neugeborenen Kindern im Vergleich zu den Werten der jeweiligen Mütter [4].

Als weiterer Faktor wird von *Fede* und *Modi* angeführt, dass die postpartal hohen NT-proBNP-Werte auch im Rahmen des physiologischen Wasserverlustes während der ersten Lebenswoche zu erklären sind [35, 101]. Zusätzlich scheint im wachsenden fetalen Herzen eine Hoch-Regulation der Gene, die die natriuretischen Peptide kodieren, stattzufinden [12].

Der Abfall der NT-proBNP-Konzentrationen innerhalb des ersten Lebensjahres lässt sich am besten erklären mit der zunehmenden Nierenfunktionsausreifung, wodurch die NT-proBNP-Ausscheidung beschleunigt wird. In diesem Lebensalter sind auch gleichgerichtete Abfälle der Konzentrationen von anderen Parametern wie dem ANP, Renin, Aldosteron, Angiotensin I und II und dem Angiotensin-Converting-Enzym beschrieben [32, 36, 42, 71].

Der sich andeutende Geschlechtsunterschied während der Adoleszenz, der allerdings in den vorliegenden Berechnungen keine statistische Signifikanz erlangte, könnte auf einer positiven Korrelation mit dem Östrogenspiegel beruhen. Es gibt Hinweise, dass Geschlechtshormone

einen stimulierenden Effekt auf die Genexpression der natriuretischen Peptide haben [53]. In einigen Studien konnten höhere BNP-Werte bei Frauen unter Hormonersatztherapie im Vergleich zu gleichaltrigen Frauen ohne Therapie beobachtet werden, so dass der Zusammenhang zwischen weiblichem Geschlecht und BNP u. a. mit dem Östrogenstatus zusammenzuhängen schien [84, 123].

Im Gegensatz hierzu wurde von *Wang* kein Einfluss der Menopause auf die BNP-Werte beobachtet [147]. *Clark* und *Maffei* beobachteten keine zyklischen Veränderungen von BNP bei Frauen während des Menstruationszyklus [16, 83]. Diese Erkenntnisse von *Wang*, *Clark* und *Maffei* sprechen eher gegen einen direkten Einfluss von Östrogen oder Progesteron auf die natriuretischen Peptide.

Es wurde berichtet, dass die Geschlechtsabhängigkeit des Endothelins und des Angiotensin-Converting-Enzyms in Zusammenhang mit dem hormonellen Status zu stehen scheint [7, 40]. So ist es wahrscheinlich, dass Sexualhormone, v. a. das Östrogen, über endokrine oder parakrine Wege das natriuretische System entweder über eine direkte oder eine indirekte Wirkung auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System beeinflussen können [74].

Eine andere Interpretationsmöglichkeit wird in der Studie von *Chang* gegeben, die einen inversen Zusammenhang von freiem Testosteron zu BNP- und NT-proBNP-Konzentrationen bei Frauen feststellte. Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen dem Östrogenspiegel und den natriuretischen Peptiden wurde in dieser Studie nicht gefunden; es bestand ferner keine statistische Signifikanz zwischen Prä- und Postmenopause, zur oralen Östrogentherapie in der Postmenopause, zum Menopause-Stadium und zu gemessenem FSH. So könnte der geringe Geschlechtsunterschied in der Adoleszenz auch bedingt sein durch steigende Testosteron-Konzentrationen beim männlichen Geschlecht, die einen Abfall der BNP- und NT-proBNP-Werte verursachen könnten [13].

Die Untersuchung von *Koch* [68] zeigte einen signifikanten Geschlechtsunterschied der BNP-Werte in der Adoleszenz, während alle anderen Studien bezüglich des NT-proBNP keine signifikante Geschlechtsabhängigkeit beobachteten. Das Geschlecht scheint demnach als Kovariate der natriuretischen Peptide im jugendlichen Alter für das N-terminale proBNP von geringerer Bedeutung zu sein als für das aktive BNP. Ein Erklärungsansatz könnte hierbei ein geschlechtsabhängiger Clearance-Mechanismus für BNP sein. BNP wird im Gegensatz zum NT-proBNP über den C-Rezeptor und über die Neutrale Endopeptidase abgebaut [46].

6.3 Bedeutung für die Klinik

Der Pathomechanismus der Entwicklung einer Herzinsuffizienz unterscheidet sich bei Kindern häufig von dem der Erwachsenen. Die überwiegende Anzahl der Herzerkrankungen im Kindesalter ist bedingt durch strukturelle kardiale Anomalien. Erworbene Herz-Kreislauf-Erkrankungen im Kindesalter sind Erkrankungen des Myokards (Myokarditis, Kardiomyopathien), Veränderungen der Herzklappen (Rheumatisches Fieber, infektiöse Endokarditis), andere entzündliche Erkrankungen (Kawasaki-Syndrom) und Herzrhythmusstörungen.

Mittlerweile ist bereits in einer Reihe von Untersuchungen versucht worden, die hormonelle Antwort unter verschiedenen klinischen Bedingungen bei pädiatrischen Patienten mit angeborenen und erworbenen Herz-Kreislauf-Erkrankungen darzustellen.

So wurde gezeigt, dass das NT-proBNP zur Identifizierung und Quantifizierung einer vorliegenden Herzinsuffizienz und deren Schweregrad bei jungen Patienten herangezogen werden kann. Trotz der sehr unterschiedlichen Ätiologie der Herzinsuffizienz im Kindesalter werden dabei signifikant erhöhte BNP- und NT-proBNP-Konzentrationen gemessen. Das Ausmaß des Anstieges korreliert mit der Aggravierung der klinischen Symptome bzw. mit der Abnahme der linksventrikulären Ejektionsfraktion und der Zunahme der linksventrikulären Dilatation und Hypertrophie. Mit beiden natriuretischen Peptiden ist es gleichermaßen möglich, eine verminderte Belastungsfähigkeit, eine zunehmende Volumenbelastung und eine insgesamt schlechtere Prognose abzuschätzen [41, 48, 75, 77, 99, 113, 115, 135].

Sie sind ferner hilfreich bei der Differenzierung einer kardialen von einer pulmonalen Dyspnoe und befinden sich bei akuter Herzinsuffizienz auf einem signifikant höheren Niveau als bei Dyspnoe aufgrund einer Lungenerkrankung [20, 70].

Darüber hinaus zeigt sich nach Behandlung der akuten Herzinsuffizienz ein deutlicher Abfall der NT-proBNP-Konzentrationen. Der Verlauf der NT-proBNP-Konzentrationen nach Therapie ist von klinischer Relevanz, eine konstante Erhöhung der NT-proBNP-Werte weist auf eine persistierende Herzinsuffizienz hin und liefert erfahrungsgemäß eine Aussage über die Prognose [20, 112].

Die diagnostische Wertigkeit des NT-proBNP ist bei Kindern mit Herzinsuffizienz selbst bei Vorliegen anderer Ursachen für erhöhte NT-proBNP-Werte vorhanden. Bei Kindern mit akuter linksventrikulärer Dysfunktion zeigen sich signifikant höhere NT-proBNP-Werte als

bei Kindern, die an anderen Erkrankungen wie z. B. Sepsis oder chronischen ventrikulären Veränderungen leiden [39].

Auch unter stabilen klinischen Bedingungen zeigen Kinder mit angeborenen Herz-Kreislauf-Erkrankungen im Allgemeinen höhere NT-proBNP-Werte als Kinder ohne strukturelle Anomalien [99].

BNP wurde als ein signifikanter Prädiktor für Tod, Hospitalisation oder Aufnahme auf die Warteliste für eine Herztransplantation bei Kindern mit chronischer linksventrikulärer Dysfunktion beschrieben [9, 117].

Nach operativer Korrektur angeborener Herzerkrankungen ist die Bestimmung der NT-proBNP-Spiegel zur Verlaufsbeurteilung und Einschätzung eines eventuell vorliegenden Komplikationsrisikos nützlich [24, 97, 135]. Nach Herztransplantation ist sie hilfreich und liefert Hinweise auf das Vorhandensein einer Abstoßungsreaktion [24, 77].

6.4 Schlussfolgerung

Für den Einsatz als Routineparameter in der Kinderkardiologie ist die Kenntnis von Referenzbereichen für BNP- und NT-proBNP von großer Bedeutung. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie haben zur Interpretation von NT-proBNP-Werten im Kindesalter beigetragen. Mit den Daten der vorliegenden Arbeit wurden 2004 erstmals Referenzwerte von NT-proBNP in einem relativ großen Probandengut, vor allem im Neugeborenen- und Säuglingsalter, erstellt. Das Wissen um die große Spannweite gerade in der letztgenannten Altersgruppe hat für die Bewertung im klinischen Alltag eine herausragende Bedeutung.

7 Anhang

7.1 Tabellen

Tabelle 12 BNP-Referenzwerte mittels *ImmunoRadioMetricAssay* in pg/ml (*Shionogi*)

Studie	Zielgruppe	n	M
Yoshiyoshi, 1995 [153]	NSB	20	9
	1 M–15 J	40	
Kunii, 2003 [73]	1.–6. LT	18	1. LT: 196
	NG	11/253	NSB: 10
	<1 J–16 J	253	1. LT: 119 7.–8. LT: 15 5

J Jahre, LT Lebensstage, M Mittelwert, M Monat, NSB Nabelschnurblut

Tabelle 13 BNP-Referenzwerte mittels *Triage BNP Assay* in pg/ml (*Biosite Diagnostics*)

Studie	Zielgruppe	n	Obergrenze	M		
Koch, 2003 [68]	NG<2 W	43		1.–2. LT: 232		
	2 W–17.6 J	152	<33			
			95. P	95. P	W	
			w	m	m	
	<10 J		25	25	10	7
	>10 J		30	12	9	8
Soldin, 2006 [133]	0–21 J	808	97.5. P			
	1.–32. LT		1585			
	32.–90. LT		1259			
	3–6 M		759			
	6–1 J		263			
			w	m		
	1–3 J		158	173		
	3–10 J		120	132		
	10–15 J		115	120		
	15–18 J		107	100		
18–21 J		87	110			

J Jahre, LT Lebensstage, M Mittelwert, M Monat, NG Neugeborene, NSB Nabelschnurblut, P Perzentile, W Wochen, w/m weibliche/männliche Probanden

Tabelle 14 NT-proBNP-Referenzwerte mittels *EnzymImmunoAssay* in pg/ml (*Biomedica*)

Studie	Zielgruppe	n	Spannweite	Obergrenze	M	Median
Mir, 2002 [99]	11. LT–17 J	109	627–5542	90. P: 3637	2636	
	17–32 J	24	1492–5305		2568	
Mir, 2003 [98]	NSB	37	492–4051		1873	
	1. LT (venös)	14	2153–10780		5432	
	2. LT	18				
	3. LT	12				
	4. LT	16	932–3644		2085	
Albers, 2006 [1]	1–29J	402	254–7603			1–3 J: 1953,7 18 J: 1264,6

J Jahre, LT Lebensstage, M Mittelwert, NSB Nabelschnurblut, P Perzentile

Tabelle 15 NT-proBNP-Referenzwerte mittels *ElektroChemiLumineszenz Immun Assays in pg/ml* [125]

Studie	Zielgruppe	n	Spannweite	Obergrenze	M	Median	
Rauh,2003 [121]	<1 M	13	1121–7740				
	4 M–18 J	78	11–379	97,5. P 1 J: 299 16 J: 48	83.4	62.3	
Nir, 2004 [113]	1.–5. LT	20			1937	1638	
	4 M–15 J	58	5–391	97,5. P: 349		90	
Mir, 2006 [96]	1. LT–24 M	19			1. LT–9 J: 107		
	3–11 J	68			10–14 J: 78		
	12–17 J	219			15–19 J: 52		
	18–32 J	128			>19 J: 41		
	1. LT–32 J		0–924				
			w	m	w	m	
			0-924	8-661	66	62	
	1. LT–2 J				195	150	
	3–4 J				92	65	
	5–6 J				109	86	
	7–8 J				69	68	
	9 J				53	90	
	10 J				56	47	
	11 J				61	64	
	12 J				86	57	
	13 J				109	114	
	14 J				50	78	
	15 J				59	43	
	16 J				58	57	
	17 J				43	56	
	18 J				44	51	
	>18 J				47	27	
3–11 J				78	75		
12–17 J				73	64		
Albers, 2006 [1]	1–29 J	402	5–392				
	<18 J	292		95. P: 190			
				75. P	97,5. P		
	1–3 J			232	320	129	
	4–6 J			1123	190		
	7–9 J			94	145		
	10 J			73	112		
	11 J			93	317		
	12 J			95	186		
	13 J			114	370		
	14 J			68	363		
	15 J			74	217		
	16 J			85	206		
	17 J			71	135		
	18 J			53	115	29,7	
	>18 J			w: 151	m: 111	w: 39,6	
				95. P	97,5. P	m: 17,2	
Nir, 2009 [114]	1. LT–18 J	690		95. P	97,5. P		
	1.–2. LT		260–13224	11987	13222	3183	
	3.–11. LT		28–7250	5918	6502	2210	
	>1 M – ≤1 J		5–1121	646	1000	141	
	>1–≤2 J		31–675	413	675	129	
	>2–≤6 J		5–391	289	327	70	
	>6–≤14 J		5–391	157	242	52	
	>14–≤18 J		5–363	158	207	34	

J Jahre, LT Lebenstage, M Mittelwert, M Monat, NG Neugeborene. NSB Nabelschnurblut, P Perzentile, w/m weibliche/männliche Probanden

Tabelle 16 NT-proBNP-Referenzwerte mittels *Dade RxL Dimension Test* in pg/ml (*Dade Behring*)

Studie, Test	Zielgruppe	n	Obergrenze	
Soldin, 2006 [133]	0–21 J	1207	97,5. P	
			w	m
	1.–32. LT		35481	28184
	32.–90. LT		15135	19953
	3–6 M		14125	15849
	6 M–1 J		10000	11220
	1–3 J		2512	5012
	3–10 J		1324	1259
	10–15 J		1413	1585
	15–18 J		1318	1584
	18–21 J		1400	1600

J Jahre, LT Lebensstage, P Perzentile, w/m weibliche/männliche Probanden

7.2 Abkürzungen

α	Signifikanzniveau
ADH	Antidiuretisches Hormon
AK	Antikörper
ANOVA	Analysis of Variance, Varianzanalyse
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
As	Aminosäuren
ATP	Adenosintriphosphat
BNP	natriuretisches Peptid vom B-Typ
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
°C	Grad Celsius
CNP	natriuretisches Peptid vom C-Typ
dl	Deziliter
DNP	Dendroaspis-natriuretisches Peptid
e^-	Elektron
ECLIA	ElektroChemiLumineszenz Immuno Assay
ECL	ElektroChemiLumineszenz
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GTP	Guanosin triphosphat
J	Jahre
LJ	Lebensjahre
LMS	Lamda My Sigma
LT	Lebensstage

<i>M</i>	Mittelwert
M	Monate
m	männliche Probanden
mg	Milligramm
Min	Minuten
ml	Milliliter
<i>n</i>	Anzahl
NPR-A	natriuretischer Peptidrezeptor vom Typ A
NPR-B	natriuretischer Peptidrezeptor vom Typ B
NPR-C	natriuretischer Peptidrezeptor vom Typ C
NSB	Nabelschnurblut
NT-proANP	Aminoterminales Fragment des atrialen natriuretischen Propeptids
NT-proBNP	Aminoterminales Fragment des natriuretischen Propeptids vom B-Typ
NYHA	New York Heart Association
P	Perzentile
<i>p</i>	Wahrscheinlichkeit
pg	Pikogramm
pmol	Pikomol
<i>r</i>	Korrelationskoeffizient
<i>r</i> ²	Bestimmtheitsmaß
Ru	Ruthenium
<i>SD</i>	Standardabweichung
SPSS	Statistical Package for the Social Science
T	Tage
TPA	Tri-Propyl-Amine
w	weibliche Probanden
Z	Z-Score
ZNS	Zentralnervensystem

8 Literaturverzeichnis

1. Albers S, Mir TS, Haddad M, Laer S (2006) N-terminal pro-brain natriuretic peptide: normal ranges in the pediatric population including method comparison and interlaboratory variability. *Clin Chem Lab Med* 44:80–85
2. Archer J (2003) Cardiac biomarkers: a review. *Comp Clin Path* 12:121–128
3. Bakker J, Gies I, Slavenburg B, Bekers O, Delhaas T, van Dieijen-Visser M (2004) Reference values for N-terminal pro-B-Type natriuretic peptide in umbilical cord blood. *Clin Chem* 50:2465
4. Bar-Oz B, Lev-Sagie A, Arad I, Salpeter L, Nir A (2005) N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in mothers just before delivery, in cord blood, and in newborns. *Clinical Chemistry* 51:926–927
5. Baxter G (2004) The natriuretic peptides. *Basic Res Cardiol* 99:71–75
6. Berger R, Huelsman M, Strecker K, Bojic A, Moser P, Stanek B (2002) B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation* 105:2392–2397
7. Best P, Berger P, Miller V, Lerman A (1998) The effect of estrogen replacement therapy on plasma nitric oxide and endothelin-1 levels in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 128:285–288
8. Blackburn R, Samson W, Fulton R, Stricker E, Verbalis J (1995) Central oxytocin and ANP receptors mediate osmotic inhibition of salt appetite in rats. *Am J Physiol* 269:R245–R251
9. Bolger A, Sharma R, Li W, Leenarts M, Kalra P, Kemp M, Coats A, Anker S, Gatzoulis M (2002) Neurohormonal Activation and the Chronic Heart Failure Syndrome in Adults With Congenital Heart Disease. *Circulation* 106:92–99

10. Burger A (2004) A review of the renal and neurohormonal effects of B-type natriuretic peptide. *Congest Heart Fail* 11:30–38
11. Burrell L, Lambert H, Baylis P (1991) Effect of atrial natriuretic peptide on thirst and arginine vasopressin release in humans. *Am J Physiol* 260:R475–R479
12. Cameron V, Aitken G, Ellmers L, Kennedy M, Espiner E (1996) The sites of gene expression of atrial, brain, and C-type natriuretic peptides in mouse fetal development: temporal changes in embryos and placenta. *Endocrinology* 137:812–824
13. Chang A, Abdullah S, Jain T, Stanek H, Das S, McGuire D, Auchus R, de Lemos J (2007) Associations Among Androgens, Estrogens, and Natriuretic Peptides in Young Women. *Journal of the American College of Cardiology* 49:109–116
14. Charles C, Espiner E, Nicholls M (1996) Clearance receptors and endopeptidase 24.11: equal role in natriuretic peptide metabolism in conscious sheep. *Am J Physiol* 271:R373–R380
15. Chen HH, Burnett J (1998) C-type natriuretic peptide: the endothelial component of the natriuretic peptide system. *J Cardiovasc Pharmacol* 32:22–28
16. Clark B, Elahi D, Epstein F (1990) The influence of gender, age, and the menstrual cycle on plasma atrial natriuretic peptide. *J Clin Endocrinol Metab* 70:349–352
17. Clerico A, Del Ry S, Giannessi D (2000) Measurement of cardiac natriuretic hormones (atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and related peptides) in clinical practice: the need for a new generation of immunoassay methods. *Clinical Chemistry* 46:1529–1534
18. Clerico A, Del Ry S, Maffei S, Prontera C, Emdin M, Giannessi D (2002) The circulating levels of cardiac natriuretic hormones in healthy adults: effects of age and sex. *Clin Chem Lab Med* 40:371–377

19. Clerico A, Emdin M (2004) Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of cardiac natriuretic peptides: a review. *Clin Chem* 50:33–50
20. Cohen S, Springer C, Avital A, Perles Z, Rein A, Argaman Z, Nir A (2005) Amino-Terminal Pro-Brain-Type Natriuretic Peptide: Heart or Lung Disease in Pediatric Respiratory Distress? *Pediatrics* 115:1347–1350
21. Cole T (1988) Fitting smoothed centile curves to reference data. *Journal of the Royal Statistical Society* 151:385–418
22. Cole T, Green P (1992) Smoothing reference centile curves: the LMS method and penalized likelihood. *Statistics in Medicine* 11:1305–1319
23. Collinson P, Barnes S, Gaze D, Galasko G, Lahiri A, Senior R (2004) Analytical performance of the N terminal pro B type natriuretic peptide (NT-proBNP) assay on the Elecsys 1010 and 2010 analysers. *Eur J Heart Fail* 6:365–368
24. Cowley C, Bradley J, Shaddy R (2004) B-type natriuretic peptide levels in congenital heart disease. *Pediatr Cardiol* 25:336–340
25. Currie M, Geller D, Cole B, Boylan J, YuSheng W, Holmberg S, Needleman P (1983) Bioactive cardiac substances: potent vasorelaxant activity in mammalian atria. *Science* 221:71–73
26. Davis M, Espiner E, Richards G, Billings J, Town I, Neill A, Drennan C, Richards M, Turner J, Yandle T (1994) Plasma brain natriuretic peptide in assessment of acute dyspnoea. *Lancet* 343:440–444
27. de Bold A, Borenstein H, Veress A, Sonnenberg H (1981) A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 28:89–94
28. de Bold A, Bruneau B, Kuroski de Bold M (1996) Mechanical and neuroendocrine regulation of the endocrine heart. *Cardiovasc Res* 31:7–18

29. de Bold A, Ma K, Zhang Y, de Bold M, Bensimon M, Khoshbaten A (2001) The physiological and pathophysiological modulation of the endocrine function of the heart. *Can J Physiol Pharmacol* 79:705–714
30. de Lemos J, Morrow D, Bentley J, Omland T, Sabatine M, Mc Cabe C, Hall C, Cannon C, Braunwald E (2001) The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 345:1014–1021
31. Di Serio F, Ruggieri V, Varraso L, De Sario R, Mastrorilli A, Pansini N (2005) Analytical evaluation of the Dade Behring Dimension RxL automated N-Terminal proBNP (NT-proBNP) method and comparison with the Roche Elecsys 2010. *Clin Chem Lab Med* 43:1263–1273
32. Dillon M, Gillin M, Ryness J, de Swiet M (1976) Plasma renin activity and aldosterone concentration in the human newborn. *Arch Dis Child* 51:537–540
33. Downie P, Talwar S, Squire I, Davies J, DB B, NG L (1999) Assessment of the stability of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in vitro: implications of assessment of left ventricular dysfunction. *Clinical Science* 97:255–258
34. Espiner E, Richards A, Yandle T, Nicholls M (1995) Natriuretic Hormones. *Endocrinol Metab Clin North Am* 24:481–509
35. Fede C, Frisina N, Caracciolo A, Buemi M, Caruso M, Ricca M (1988–1989) Changes in plasma concentrations of atrial natriuretic peptide during the first ten days and the second month of life. *Nephrol Urol* 9:144–146
36. Fiselier T, Lijnen P, Monnens L, van Munster P, Jansen M, Peer P (1983) Levels of renin, angiotensin I and II, angiotensin converting enzyme and aldosterone in infancy and childhood. *Eur J Pesiatr* 141:3–7
37. Fleischer D, Espiner E, Yandle T, Livesey J, Billings J, Town I, Richards A (1997) Rapid assay of plasma brain natriuretic peptide in the assessment of acute dyspnoea. *N Z Med J* 110:71–74

38. Flynn T, de Bold M, de Bold A (1983) The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Biochem Biophys Res Commun* 117:859–865
39. Fried I, Bar-Oz B, Algur N, Fried E, Gavri S, Yatsiv I, Perles Z, Rein A, Zonis Z, Bass R, Nir A (2006) Comparison of N-terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Levels in Critically Ill Children With Sepsis Versus Acute Left Ventricular Dysfunction. *Pediatrics* 118:1165–1168
40. Gallagher P, Li P, Lenhart J, Chappell M, Brosnihan K (1999) Estrogen regulation of angiotensin-converting enzyme mRNA. *Hypertension* 33:323–328
41. Geiger R, Hammerer-Lercher A, Url C, Schweigmann U, Puschendorf B, Sommer R, Stein J, Mair J (2007) NT-proBNP concentrations indicate cardiac disease in pediatric patients. *International Journal of Cardiology* 123:63–65
42. Gemelli M, Mami C, De Luca F, Steritano L, Bonaccorsi P, Martino F (1991) Atrial natriuretic peptide and renin-aldosterone relationship in healthy newborn infants. *Acta Paediatr Scand* 80:1128–1133
43. Gobinet-Georges A, Valli N, Filliatre H, Dubernet M, Dedeystere O, Bordenave L (2000) Stability of brain natriuretic peptide (BNP) in human whole blood and plasma. *Clin Chem Lab Med* 38:519–523
44. Goetze J (2004) ProBNP-derived peptides in cardiac disease. *Scand J Clin Lab Invest* 64:497–510
45. Goetze J, Pedersen F, Rehfeld J (2002) Quantification of pro-B-type natriuretic peptide and its products in human plasma by use of an analysis independent of precursor processing. *Clin Chem* 48:1035–1042
46. Hall C (2004) Essential biochemistry and physiology of (NT-proBNP). *Eur J Heart Fail* 6:257–260

47. Hallermayer K, Gallusser A, Seidel C, Schenk J, Karl J, Rippegather G ELECSYS® proBNP a new routine immunoassay to support diagnosis of chronic heart failure. Roche Diagnostics GmbH, Germany; Online verfügbar unter: http://rochediagnostics.es/pdf/elecsys/com_1.pdf (abgerufen am 11.05.2009)
48. Hammerer-Lercher A, Geiger R, Mair J, Url C, Tulzer G, Lechner E, Puschendorf B, Sommer R (2006) Utility of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide to differentiate cardiac diseases from noncardiac diseases in young pediatric patients. *Clin Chem* 52:1415–1419
49. Hammerer-Lercher A, Mair J, Tews G, Puschendorf B, Sommer R (2005) N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations are markedly higher in the umbilical cord blood of newborns than in their mothers. *Clinical Chemistry* 51:913–915
50. Haug C, Metzler a, Kochs M, Hombach V, Grunert A (1993) Plasma brain natriuretic peptide and atrial natriuretic peptide concentrations correlate with left ventricular end-diastolic pressure. *Clin Cardiol* 16:553–557
51. Hobbs F, Davis R, Roalfe A, Davies M, Kenkre J (2002) Reliability of N-terminal pro-brain natriuretic peptide assay in diagnosis of heart failure: cohort study in representative and high risk community populations. *BMJ* 324
52. Holmes S, Espiner E, Richards A, Yandle T, Frampton C (1993) Renal, endocrine, and hemodynamic effects of human brain natriuretic peptide in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 76:91–96
53. Hong M, Yan Q, Tao B, Boersma A, Han K, Vantyghem M, Racadot A, Lefebvre J (1992) Estradiol, progesterone and testosterone exposures affect the atrial natriuretic peptide gene expression in vivo rats. *Biol Chem Hoppe Seyler* 373:213–218
54. Hunt P, Espiner E, Nicholls M, Richards A, Yandle T (1996) Differing biological effects of equimolar atrial and brain natriuretic peptide infusions in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3871–3876

55. Hunt P, Richards A, Espiner E, Nicholls M, Yandle T (1994) Bioactivity and metabolism of C-type natriuretic peptide in normal man. *J Clin Endocrinol Metab* 78:1428–1435
56. Hunt P, Richards A, Nicholls M, Yandle T, Doughty R, Espiner E (1997) Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP): a new marker of cardiac impairment. *Clin Endocrinol* 47:287–296
57. Hunt P, Yandle T, Nicholls M, Richards A, Espiner E (1995) The amino-terminal portion of pro-brain natriuretic peptide (Pro-BNP) circulates in human plasma. *Biochem Biophys Res Commun* 214:1175–1183
58. Itoh H, Pratt R, Dzau V (1990) Atrial natriuretic polypeptide inhibits hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 86:1690–1697
59. Itoh H, Sagawa N, Hasegawa M, Okagaki A, Inamori K, Ihara Y, Mori T, Suga S, Mukoyama M, Shirakami G (1993) Brain natriuretic peptide levels in the umbilical venous plasma are elevated in fetal distress. *Biol Neonate* 64:18–25
60. Jensen K, Carstens J, Ivarsen P, Pedersen E (1997) A new, fast and reliable radioimmunoassay of brain natriuretic peptide in human plasma. Reference values in healthy subjects and in patients with different diseases. *Scand J Clin Lab Invest* 57:529–540
61. Jernberg T, Stridsberg M, Venge P, Lindahl B (2002) N-terminal brain natriuretic peptide on admission for early risk stratification of patients with chest pain and no ST-segment elevation. *Am Coll Cardiol* 40:437–445
62. Kambayashi Y, Nakao K, Mukoyama M, Saito Y, Ogawa Y, Shiono S, Inouye K, Yoshida N, Imura H (1990) Isolation and sequence determination of human brain natriuretic peptide in human atrium. *FEBS Lett* 259:341–345

63. Kangawa K, Matsuo H (1984) Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP). *Biochem Biophys Res Commun* 118:131–139
64. Kenny A, Bourne A, Ingram J (1993) Hydrolysis of human and pig brain natriuretic peptides, urodilatin, C-Type natriuretic peptide and some C-receptor ligands by endopeptidase-24.11. *Biol Chem* 291:83–88
65. Kinnunen P, Vuolteenaho O, Ruskoaho H (1993) Mechanisms of atrial and brain natriuretic peptide release from rat ventricular myocardium: effect of stretching. *Endocrinology* 132:1961–1970
66. Knowles J, Esposito G, Mao L, Hagaman J, Fox J, Smithies O, Rockman H, Maeda N (2001) Pressure-independent enhancement of cardiac hypertrophy in natriuretic peptide receptor A-deficient mice. *J Clin Invest* 107:975–984
67. Koch A, Rauh M, Zink S, Singer H (2006) Decreasing ratio of plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide according to age. *Acta Pædiatrica* 95:805–809
68. Koch A, Singer H (2003) Normal values of B-type natriuretic peptide in infants, children, and adolescents. *Heart* 89:875–878
69. Koller K, Goeddel D (1992) Molecular biology of the natriuretic peptides and their receptors. *Circulation* 86:1081–1088
70. Kolouri S, Acherman R, Wong P, Chan L, Lewis A (2004) Utility of B-type natriuretic peptide in differentiating congestive heart failure from lung disease in pediatric patients with respiratory distress. *Pediatr Cardiol* 25:341–346
71. Krüger C, Rauh M, Dörr H (1998) Immunoreactive renin concentrations in healthy children from birth to adolescence. *Clin Chem Acta* 274:15–27

72. Kuhn M (2004) Molecular physiology of natriuretic peptide signalling. *Basic Res Cardiol* 99:76–82
73. Kunii Y, Kamada M, Ohtsuki S, Araki T, Kataoka K, Kageyama M, Nakagawa N, Seino Y (2003) Plasma brain natriuretic peptide and the evaluation of volume overload in infants and children with congenital heart disease. *Acta Med Okayama* 57:191–197
74. Kuroski de Bold M (1999) Estrogen, natriuretic peptides and the renin–angiotensin system. *Cardiovascular Research* 41:524–531
75. Law Y, Keller B, Feingold B, Boyle G (2005) Usefulness of plasma B-type natriuretic peptide to identify ventricular dysfunction in pediatric and adult patients with congenital heart disease. *Am J Cardiol* 95:474–478
76. Levin E, Gardner D, Samson W (1998) Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 339:321–328
77. Lindblade C, Chun D, Darragh R, Caldwell R, Murphy D, Schamberger M (2005) Value of Plasma B-type natriuretic peptide as a marker for rejection in pediatric heart transplant recipients. *Am J Cardiol* 95:909–911
78. Lisy O, Jougasaki M, Heublein D, Schirger J, Chen H, Wennberg P, Burnett J (1999) Renal actions of synthetic dendroaspis natriuretic peptide. *Kidney Int* 56:502–508
79. Lubien E, De Maria A, Krishnaswamy P, Clopton P, Koon J, Kazanegra R, Gardetto N, Wanner E, Maisel A (2002) Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction: comparison with doppler velocity recordings. *Circulation* 105:595–601
80. Luchner A, Burnett J, Jougasaki M, Hense H, Heid I, Muders F, Riegger G, Schunkert H (2000) Evaluation of brain natriuretic peptide as marker of left ventricular dysfunction and hypertrophy in the population. *J Hypertens* 18:1121–1128

81. Luchner A, Hengstenberg C, Loewel H, Trawinski J, Baumann M, Riegger G, Schunkert H (2002) N-terminal pro-brain natriuretic peptide after myocardial infarction: a marker of cardiorenal function. *Hypertension* 39:99–104
82. Maack T, Suzuki M, Almeida F (1987) Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Science* 238:675–678
83. Maffei S, Clerico A, Iervasi G, Nannipieri M, Del Ry S, Giannessi D, Donato L (1999) Circulating levels of cardiac natriuretic hormones measured in women during menstrual cycle. *J Endocrinol Invest* 22:1–5
84. Maffei S, Del Ry S, Prontera C, Clerico A (2001) Increase in circulating levels of cardiac natriuretic peptides after hormone replacement therapy in postmenopausal women. *Clin Sci* 101:447–453
85. Magga J, Vuolteenaho O, Tokola H, Marttila M, Ruskoaho H (1998) B-type natriuretic peptide: a myocyte-specific marker for characterizing load-induced alterations in cardiac gene expression. *Ann Med* 30:39–45
86. Maisel A, Krishnaswamy P, Nowak R, Mc Cord J, Hollander J, Duc P, Omland T, Storrow A, Abraham W, Wu A, Clopton P, Steg P, Westheim A, Knudsen C, Perez A, Kazanegra R, Herrmann H, Mc Cullough P (2002) Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 347:161–167
87. Marin-Grez M, Fleming J, Steinhausen M (1986) Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilatation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature* 324:473–476
88. Masson S, Latini R, Anand IS, Vago T, Angelici L, Barlera S, Missov ED, Clerico A, Tognoni G, Cohn JN (2006) Direct Comparison of B-Type Natriuretic Peptide (BNP) and Amino-Terminal proBNP in a Large Population of Patients with Chronic and Symptomatic Heart Failure: The Valsartan Heart Failure (Val-HeFT) Data. *Clin Chem* 52:1528–1538

89. Masson S, Vago T, Baldi G, Salio M, De Angelis N, Nicolis E, Maggioni A, Latini R, Norbiato G, Bevilacqua M (2002) Comparative measurement of N-terminal pro-brain natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in ambulatory patients with heart failure. *Clin Chem Lab Med* 40:761–763
90. Matsukawa N, Grzesik W, Takahashi N, Pandey K, Pang S, Yamauchi M, Smithies O (1999) The natriuretic peptide clearance receptor locally modulates the physiological effects of the natriuretic peptide system. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:7403–7408
91. Mc Cullough P, Omland T, Maisel A (2003) B-type natriuretic peptides: A diagnostic breakthrough for clinicians. *Reviews Cardiovasc Med* 4:72–80
92. Mc Donagh T, Holmer S, Raymund I, Dargie H, Hildebrant P, Luchner A (2003) NT-proBNP and the diagnosis of heart failure: a pooled analysis of three European epidemiological studies. *J Am Coll Cardiol* 41:1013–1080
93. Mc Donagh T, Robb S, Murdoch D, Morton J, Ford I, Morrison C, Tunstall-Pedoe H, Mc Murray J, Dargie H (1998) Biochemical detection of left ventricular systolic dysfunction. *Lancet* 351:9–13
94. Mehra M, Uber P, Park M, Scott R, Ventura H, Harris B, Frohlich E (2004) Obesity and suppressed B-type natriuretic peptide levels in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 43:1590–1595
95. Minamino N, Aburaya M, Ueda S, Kangawa K, Matsuo H (1988) The presence of brain natriuretic peptide of 12000 daltons in porcine heart. *Biochem Biophys Res Commun* 155:740–746
96. Mir T, Flato M, Falkenberg J, Haddad M, Budden R, Weil J, Albers S, Laer S (2006) Plasma concentrations of N-terminal brain natriuretic peptide in healthy children, adolescents, and young adults: effect of Age and gender. *Pediatr Cardiol* 27
97. Mir T, Haun C, Lilje C, Laer S, Weil J (2006) Utility of N-Terminal Brain Natriuretic Peptide Plasma Concentrations in Comparison to Lactate and Troponin in Children

- with Congenital Heart Disease Following Open-Heart Surgery. *Pediatr Cardiol* 27:209–216
98. Mir T, Laux R, Hellwege H, Liedke B, Heinze C, von Buelow H, Läer S, Weil J (2003) Plasma concentrations of aminoterminal pro atrial natriuretic peptide in healthy neonates: marked and rapid increase after birth. *Pediatr* 112:896–899
99. Mir T, Marohn S, Läer S, Eiselt M, Grollmus O, Weil J (2002) Plasma concentrations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in control children from the neonatal to adolescent period and in children with congestive heart failure. *Pediatr* 110:e76
100. Misono K (2002) Natriuretic peptide receptor: structure and signaling. *Mol Cell Biochem* 230:49–60
101. Modi N, Betremieux P, Midgley J, Hartnoll G (2000) Postnatal weight loss and contraction of the extracellular compartment is triggered by atrial natriuretic peptide. *Early Hum Dev* 59:201–208
102. Morrison L, Harrison A, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Maisel A (2002) Utility of a rapid B-natriuretic peptide assay in differentiating congestive heart failure from lung disease in patients presenting with dyspnea. *J Am Coll Cardiol* 39:202–209
103. Mueller C, Buser P (2002) B-type natriuretic peptide (BNP): can it improve our management of patients with congestive heart failure? *Swiss Med WKLY* 132:618–622
104. Mueller T, Gegenhuber A, Dieplinger B, Poelz W, Haltmayer M (2004) Long-term stability of endogenous B-type natriuretic peptide (BNP) and amino terminal proBNP (NT-proBNP) in frozen plasma samples. *Clin Chem Lab Med* 42:942–944
105. Mueller T, Gegenhuber A, Poelz W, Haltmayer M (2003) Comparison of the Biomedica NT-proBNP enzyme immunoassay and the Roche NT-proBNP chemiluminescence immunoassay: implications for the prediction of symptomatic and asymptomatic structural heart disease. *Clin Chem Jun* 49:976–979

106. Mukoyama M, Nakao K, Hosoda K, Suga S, Saito Y, Ogawa Y, Shirakami G, Jougasaki M, Obata K, Yasue H (1991) Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans. Evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide. *J Clin Invest* 87:1402–1412
107. Murdoch D, Mc Donagh T, Byrne J, Blue L, Farmer R, Morton J, Dargie H (1999) Titration of vasodilator therapy in chronic heart failure according to plasma brain natriuretic peptide concentration: randomized comparison of the hemodynamic and neuroendocrine effects of tailored versus empirical therapy. *Am Heart* 138:1126–1132
108. Nakagawa O, Ogawa Y, Itoh H (1995) Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy. Evidence for brain natriuretic peptide as an "emergency" cardiac hormone against ventricular overload. *J Clin Invest* 96:1280–1287
109. Nakamura S, Naruse M, Naruse K, Kawana M, Nishikawa T, Hosoda S, Tanaka I, Yoshimi T, Yoshihara I, Inagami T, Uemura H, Demura H (1991) Atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide coexist in the secretory granules of human cardiac myocytes. *Am J Hypertens* 4:909–912
110. Nakao K, Mukoyama M, Hosada K, Suga S, Ogawa H, Saito Y, Shirakami G, Arai H, Jougasaki M, Imura H (1991) Biosynthesis, secretion and receptor selectivity of human brain natriuretic peptide. *Can J Physiol Pharmacol* 69:1500–1506
111. Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H (1992) Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system I: natriuretic peptides. *J Hypertens* 10:907–912
112. Nasser N, Perles Z, Rein A, Nir A (2006) NT-proBNP as a Marker for Persistent Cardiac Disease in Children with History of Dilated Cardiomyopathy and Myocarditis. *Pediatr Cardiol* 27:87–90
113. Nir A, Bar-Oz B, Perles Z, Brooks R, Korach A, Rein A (2004) N-terminal pro-B-type natriuretic peptide: reference plasma levels from birth to adolescence. Elevated levels at birth and in infants and children with heart diseases. *Acta Paediatr* 93:603–607

114. Nir A, Lindinger A, Rauh M, Bar-Oz B, Laer S, Schwachtgen L, Koch A, Falkenberg J, Mir T (2009) NT-pro-B-type natriuretic peptide in infants and children: reference values based on combined data from four studies. *Pediatr Cardiol* 30:3–8
115. Nir A, Nasser N (2005) Clinical Value of NT-ProBNP and BNP in Pediatric Cardiology. *Journal of Cardiac Failure* 11:76–80
116. Ogawa Y, Itoh H, Nakagawa O, Shirakami G, Tamura N, Yoshimasa T, Nagata K, Yoshida N, Nakao K (1995) Characterization of the 5'-flanking region and chromosomal assignment of the human brain natriuretic peptide gene. *J Mol Med* 73:457–463
117. Ohuchi H, Takasugi H, Ohashi H, Okada Y, Yamada O, Ono Y, Yagihara T, Echigo S (2003) Stratification of Pediatric Heart Failure on the Basis of Neurohormonal and Cardiac Autonomic Nervous Activities in Patients With Congenital Heart Disease. *Circulation* 108:2368–2376
118. Ordonez-Llanos J, Collinson P, Christenson R (2008) Amino-terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide: Analytic Considerations. *Am J Cardiol* 101:9A–15A
119. Potter LR, Hunter T (2001) Guanylyl Cyclase-linked Natriuretic Peptide Receptors: Structure and Regulation. *J. Biol. Chem.* 276:6057–6060
120. Pucci A, Wharton J, Arbustini E, Grasso M, Diegoli M, Needleman P, Viganò M, Moscoso G, Polak J (1992) Localization of brain and atrial natriuretic peptide in human and porcine heart. *Int J Cardiol* 34:237–247
121. Rauh M, Koch A (2003) Plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in a control population of infants and children. *Clin Chem* 49:1563–1564
122. Raymond I, BA G, Hildebrandt P, Nilsson J, Baumann M, Trawinski J, Pedersen F (2003) The influence of age, sex and other variables on the plasma level of N-terminal pro brain natriuretic peptide in a large sample of the general population. *Heart* 89:745–751

123. Redfield M, Rodeheffer R, Jacobsen S, Mahoney D, Bailey K, Burnett J (2002) Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol* 4:976–982
124. Richards A, Nicholls M, Yandle T, Frampton C, Espiner E, Turner J, Buttimore R, Lainchbury J, Elliott J, Ikram H, Crozier I, Smyth D (1998) Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin: new neurohumoral predictors of left ventricular function and prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 97:1921–1929
125. RocheDiagnostics (2002) Packungsbeilage Elecsys proBNP.
126. Rosenkranz A, Woods R, Dusting G, Ritchie R (2003) Antihypertrophic actions of the natriuretic peptides in adult rat cardiomyocytes: importance of cyclic GMP. *Cardiovasc Res* 57:512–522
127. Ruppé E, Aubert C, Capeau J, Lefèvre G (2005) Dosage du BNP et du NT-proBNP: influence de l'étape préanalytique. *Immuno-analyse spécialisée* 20:78–58
128. Ruskoaho H (2003) Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocr Rev* 24:341–356
129. Sagnella G (2001) Measurement and importance of plasma brain natriuretic peptide and related peptides. *Ann Clin Biochem* 38:83–93
130. Saito Y, Nakao K, Itoh H, Yamada T, Mukoyama M, Arai H, Hosada K, Shirakami G, Suga S, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H, Imura H (1989) Brain natriuretic peptide is a novel cardiac hormone. *Biochem Biophys Res Commun* 158:360–368
131. Schulz-Knappe P, Forssmann K, Herbst F, Hock D, Pipkorn R, Forssmann WG (1988) Isolation and structural analysis of 'urodilatin', a new peptide of the cardiodilatin-(ANP)-family, extracted from human urine. *Klin Wochenschr* 66:752–759

132. Schwachtgen L, Herrmann M, Georg T, Schwarz P, Marx N, Lindinger A (2005) Reference values of NT-proBNP serum concentrations in the umbilical cord blood and in healthy neonates and children. *Z Kardiol* 94:399–404
133. Soldin S, Soldin O, Boyajian A, Taskier M (2006) Pediatric brain natriuretic peptide and N-terminal pro-brain natriuretic peptide reference intervals. *Clinica Chimica Acta* 366:304–308
134. St. Peter J, Hartley G, Murakami M, Apple F (2006) B-Type Natriuretic Peptide (BNP) and N-Terminal Pro-BNP in Obese Patients without Heart Failure: Relationship to Body Mass Index and Gastric Bypass Surgery. *Clin Chem* 52:680–685
135. Suda K, Matsumura M, Matsumoto M (2003) Clinical implication of plasma natriuretic peptides in children with ventricular septal defect. *Pediatr Int* 45:249–254
136. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H (1988) A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 332:78–81
137. Sudoh T, Maekawa K, Kojima M, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H (1989) Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human brain natriuretic peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 159:1427–1434
138. Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H (1990) C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 168:863–870
139. Suga S, Nakao K, Hosoda K, Mukoyama M, Ogawa Y, Shirakami G, Arai H, Saito Y, Kambayashi Y, Inouye K (1992) Receptor selectivity of natriuretic peptide family, atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and C-type natriuretic peptide. *Endocrinology* 130:229–239
140. Suga S, Nakao K, Itoh H, Komatsu Y, Ogawa Y, Hama N, Imura H (1992) Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation by

- transforming growth factor-beta. Possible existence of "vascular natriuretic peptide system". *J Clin Invest* 90:1145–1149
141. Tamura N, Ogawa Y, Chusho H, Nakamura K, Nakao K, Suda M, Kasahara M, Hashimoto R, Katsuura G, Mukoyama M, Itoh H, Saito Y, Tanaka I, Otani H, Katsuki M (2000) Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:4239–4244
142. Tremblay J, Desjardins R, Hum D, Gutkowska J, Hamet P (2002) Biochemistry and physiology of the natriuretic peptide receptor guanylyl cyclases. *Mol Cell Biochem* 230:31–47
143. Troughton R, Frampton C, Yandle T, Espiner E, Nicholls M, Richards A (2000) Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet* 355:1126–1130
144. Valli N, Gobinet A, Bordenave L (2000) Dix ans d'utilisation clinique du BNP en cardiologie: revue de la littérature. *Revue de l'ACOMEN* 6:8–14
145. Van den Akker F (2001) Structural insights into the ligand binding domains of membrane bound guanylyl cyclases and natriuretic peptide receptors. *J Mol Biol* 311:923–937
146. Vasan R, Benjamin E, Larson M, Leip E, Wang T, Wilson P, Levy D (2002) Plasma natriuretic peptides for community screening for left ventricular hypertrophy and systolic dysfunction: the Framingham heart study. *JAMA* 288:1252–1259
147. Wang T, Larson M, Levy D, Leip E, Benjamin E, Wilson P, Sutherland P, Omland T, Vasan R (2002) Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *Am J Cardiol* 90:254–258
148. Wijeyaratne C, Moulton P (1993) The effect of alpha human atrial natriuretic peptide on plasma volume and vascular permeability in normotensive subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 76:342–346

149. Yamamoto K, Burnett J, Jougasaki M, Nishimura R, Bailey K, Saito Y (1996) Superiority of brain natriuretic peptide as a hormonal marker of ventricular systolic and diastolic dysfunction and ventricular hypertrophy. *Hypertension* 28:988–994
150. Yandle T (1994) Biochemistry of natriuretic peptides. *J Intern Med* 235:561–576
151. Yang R, Jin H, Wyss J, Chen Y, Oparil S (1992) Pressor effect of blocking atrial natriuretic peptide in nucleus tractus solitarii. *Hypertension* 19:198–205
152. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, Kikuta K, Kugiyama K, Jougasaki M, Ogawa H, Okumura K, Mukoyama M, Nakao K (1994) Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 90:195–203
153. Yoshiyoshi M, Kamirya T, Saito Y, Nakao K, Nishioka K, Itoh H, Shirakami G, Matsuo H (1995) Plasma brain natriuretic peptide concentrations in healthy children from birth to adolescence: marked and rapid increase after birth. *Eur J Endocrinol* 133:207–209
154. Yoshimura M, Yasue H, Okumura K, Ogawa H, Jougasaki M, Mukoyama M, Nakao K, Imura H (1993) Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *Circulation* 87:464–469

9 Publikationen

Schwachtgen L, Herrmann M Jr., Schwarz P, Joerger G, Lindinger A. (2004) NT-proBNP serum concentrations in the umbilical cord blood and in healthy neonates and children. *Cardiol Young* 14(2):P52 (39th annual Meeting of the AEPC, Munich 2004)

Schwachtgen L, Herrmann M, Georg T, Schwarz P, Marx N, Lindinger A. (2005) Reference values of NT-proBNP serum concentrations in the umbilical cord blood and in healthy neonates and children. *Z Kardiol* 94(6):399–404

Nir A, Lindinger A, Rauh M, Bar-Oz B, Laer S, Schwachtgen L, Koch A, Falkenberg J, Mir T (2009) NT-pro-B-type natriuretic peptide in infants and children: reference values based on combined data from four studies. *Pediatr Cardiol* 30:3–8

10 Danksagung

Ich möchte mich bei allen herzlich bedanken, die mich bei der Arbeit unterstützt haben.

Frau Prof. Dr. med. Angelika Lindinger danke ich für den Zuspruch und die freundliche Unterstützung und Geduld während der gesamten Arbeit und für die Möglichkeit, die Arbeit in der Abteilung für Kinderkardiologie der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin an der Universität des Saarlandes in Homburg/Saar durchführen zu können.

Herrn Dr. Thomas Georg und Herrn Dr. Stefan Gräber aus dem Institut für medizinische Biometrie, Epidemiologie und medizinische Informatik danke ich für die hervorragende fachliche und freundliche Betreuung und Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten, sowie für die hilfreichen Anregungen und Diskussionen.

Ich danke allen Mitarbeitern der Abteilung für Kinderkardiologie für die hilfreiche Unterstützung. Insbesondere danke ich Herrn Dr. med. Peter Schwarz, Frau Dr. med. Nathalie Marx, Herrn Heiko Müller und Frau Siegrid Ströhlein für die tatkräftige Zusammenarbeit bei der Datensammlung.

Herrn Dr. med. Michael Herrmann und seinen Mitarbeitern aus dem Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin – Zentrallabor danke ich für die Hilfe bei der Durchführung der Messungen.

Dank auch an Roche Diagnostics (Mannheim) für die Bereitstellung der Testmaterialien.

Ein großes Dankeschön gilt meinem Freund Christian Siegel und meiner lieben Familie für ihre Geduld und ihre liebevolle Unterstützung.

11 Lebenslauf

Person

Name **Lynn Schwachtgen**
Geburtsdatum 20. Dezember 1979
Geburtsort Esch/Alzette (L)
Nationalität luxemburgisch
Familienstand ledig
Anschrift 26, rue Woiwer; L-4687 Differdange (L)
Telefon +352 691571046
E-Mail lynn.schwachtgen@t-online.de

Schulbildung

09/1986-07/1992 Grundschule "Um Bock", Oberkorn (L)
09/1992-05/1999 Gymnasium, Lycée Classique Hubert Clément, Esch/Alzette (L)
06/1999 Diplôme de fin d'études secondaires, enseignement moderne,
orientation scientifique (Abitur)

Studium

10/1999-10/2006 Studium der Humanmedizin, Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
03/2002 Ärztliche Vorprüfung
03/2003 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
09/2005 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
11/2006 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
12/2006 Approbation als Ärztin erteilt durch das Landesamt für Soziales,
Gesundheit und Verbraucherschutz des Saarlandes.

Facharztausbildung

03/2007-08/2007 Assistenzärztin in Weiterbildung; Abteilung für Innere Medizin
Krankenhaus der Barmherzigen Brüder, Trier
Chefarzt: Dr. med. J. Vogt
10/2007-11/2010 Formation Spécifique en Médecine Générale
Faculté des Sciences, de la Technologie et de la Communication
Université du Luxembourg
11/2010 Diplôme de Formation Spécifique en Médecine Générale
(Facharztprüfung Allgemeinmedizin)