

B-Typisches Natriuretisches Peptid
nach Herztransplantation im Kindes- und Jugendalter

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Backhoff, David Johannes

aus Moers

Gießen 2013

Aus dem Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin
Klinik für Kinderkardiologie und angeborene Herzfehler
der Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH

Standort Gießen

Leiter: Prof. Dr. med. D. Schranz

1. Gutachter: PD. Dr. med. J. Bauer
2. Gutachter: Prof. Dr. med A. Böning

Tag der Disputation: 05.09.2013

1. Einleitung	1
1.1. Natriuretische Peptide	2
1.1.1 Familie der Natriuretischen Peptide	2
1.1.2 Laborchemischer BNP- Nachweis.....	5
1.1.3 BNP bei erwachsenen Patienten	7
1.1.4 BNP in der pädiatrischen Kardiologie.....	10
1.2. Herztransplantation im Kindesalter	14
1.2.1 Immunsuppression nach Herztransplantation	14
1.2.2 Morbidität nach Herztransplantation	15
1.3. BNP- Bestimmung nach Herztransplantation.....	18
1.4. Fragestellung	20
2. Methodik und Studiendesign	21
2.1 Indikation der Herztransplantation	21
2.2 BNP- Bestimmung im zeitlichen Verlauf nach Herztransplantation	22
2.3 Bestimmung von Nierenretentionsparametern im Langzeitverlauf	23
2.4 Abstoßungsreaktionen nach Herztransplantation	24
2.5 Datenverarbeitung und Statistik	25
3. Ergebnisse	28
3.1. Zeitlicher Verlauf der BNP- Werte nach Herztransplantation.....	28
3.2. BNP und Nierenfunktion	35
3.3. BNP bei akuten Abstoßungsreaktionen	37
4. Diskussion	43
4.1 BNP in den ersten 6 Monaten nach Herztransplantation	43
4.2 BNP im Langzeitverlauf nach Herztransplantation	45
4.1. BNP und Nierenfunktion	48
4.2. BNP bei akuten Abstoßungsreaktionen	50
5. Zusammenfassung.....	54
6. Graphikverzeichnis	56
7. Tabellenverzeichnis	57
8. Abkürzungsverzeichnis.....	58
9. Literaturverzeichnis	59
10. Erklärung zur Dissertation	69

1. Einleitung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit Messwerten des Peptidhormones natriuretisches Peptid Typ- B bei Kindern nach Herztransplantation.

In den vergangenen 25 Jahren ist die Zahl der weltweit durchgeführten Herztransplantationen kumulativ auf etwa 100.000 Operationen angestiegen, etwa 10% der Patienten waren Kinder ⁽⁵²⁾. Diese hohe Fallzahl, verbunden mit steigenden Überlebenszeiten, führt zu einem wachsenden Kollektiv an herztransplantierten Patienten, welche in ihrem Langzeitverlauf einer optimalen medizinischen Nachsorge bedürfen.

Die Messung des natriuretisches Peptides Typ- B (BNP) ist bei erwachsenen Patienten für die Diagnostik der Herzinsuffizienz etabliert, für Erwachsene und Kinder jeden Alters sind Normwerte bekannt und für spezielle Fragestellungen fest etabliert.

Bislang haben sich nur wenige Studien mit der Anwendung des Peptidhormons als Marker nach Herztransplantation beschäftigt und diese wenigen haben sich schwerpunktmäßig mit der Diagnostik akuter Abstoßungsreaktionen beschäftigt. Obwohl Normwerte für BNP bei herztransplantierten Patienten vorbeschrieben sind ⁽¹⁰⁾, besteht zur Zeit - aufgrund der großen Streuung der Werte sowie der Vielzahl möglicher störender Einflussgrößen - eine erhebliche Unsicherheit bei der Interpretation erhobener Werte.

Diese Forschungsarbeit soll dazu beitragen, die Interpretation von BNP- Serumwerten bei herztransplantierten jugendlichen Patienten durch die Schaffung einer Normwerte-Grundlage zu unterstützen. Darüber hinausgehend sollen etwaige Einflussgrößen auf diese Normwerte untersucht werden und es wird ein Versuch unternommen, das Verhalten von BNP- Werten bei akuten Abstoßungsereignissen zu beschreiben.

1.1. Natriuretische Peptide

1.1.1 Familie der Natriuretischen Peptide

1984 beschrieben Baines und DeBold erstmals den diuretischen und blutdrucksenkenden Effekt von Extrakten aus Vorhofmyokard auf isoliert perfundierte Nieren im Rattenmodell ⁽¹¹⁾. Als Ergebnis weitergehender Forschung stellte sich die Gruppe der natriuretischen Peptide (NP) dar, die durch eine gemeinsame Ringstruktur aus 17 Aminosäuren mit einer Disulfidbrücke zwischen zwei Cysteinresten gekennzeichnet sind ⁽¹¹⁷⁾. Zu ihnen zählen neben dem im Vorhofmyokard gebildeten atrialen natriuretischen Peptid (ANP) und dem im Ventrikelmyokard synthetisierten Typ- B natriuretischen Peptid (BNP) das Typ- C natriuretische Peptid (,cerebrales' NP / CNP) und weitere, nicht-kardiale Peptidhormone (Urodilatin und DNP).

Hormon	Bildungsort	Rezeptor	Wirkung
ANP	Vorhofmyokard	NPR-A	Vasodilatation, Diurese, Natriurese
BNP	Ventrikelmyokard	NPR-A	Vasodilatation, Diurese, Natriurese
CNP	ZNS und Endothelien	NPR-B	Venöse Vasodilatation

Tabelle 1: Übersicht über die Natriuretischen Peptide ^(25; 47; 48; 94; 132)

Es wurden unterschiedliche Zielrezeptoren für natriuretischen Peptide ausgemacht, wobei die einzelnen Peptide ein jeweils eigenes Affinitätsmuster zu den Rezeptoren aufweisen: ANP und BNP wirken hauptsächlich über den Rezeptortyp A (NPR-A) auf die Zielzelle ⁽⁴⁸⁾, CNP hingegen besitzt eine größere Affinität zum Rezeptortyp B (NPR-B) ^(25; 47; 94). Dem Rezeptortyp C (NPR-C) wird eine abbauende Funktion zugesprochen; alle natriuretischen Peptide binden an ihn mit ähnlicher Affinität.

Die Elimination der natriuretischen Peptide erfolgt neben der Internalisierung durch den NPR-C über proteolytische Spaltung durch membranständige und im Blut zirkulierende neutrale Endopeptidasen (NEP) ⁽⁵⁰⁾; diese scheinen Calcium- sensitiv zu sein. Neuere Erkenntnisse weisen auf die Existenz weiterer NEP- unabhängiger Metalloproteinasen hin, die vor allem für den BNP- Katabolismus relevant sein könnten ⁽²²⁾. Diese Elimination der BNP könnte verstärkt im Fettgewebe stattfinden, weshalb bei übergewichtigen Patienten niedrigere BNP- Spiegel gefunden werden als bei Normalgewichtigen ⁽²⁸⁾.

Die kardialen natriuretischen Peptide ANP und BNP besitzen trotz genetischer und geringfügiger molekularer Unterschiede annähernd gleichartige physiologische Effekte: Sie sind die Antagonisten des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS).

Kardiovaskulär bestehen ihre endokrinen Effekte in einer starken Vasodilatation gemeinsam mit einer Hemmung der sympathischen Innervation der Widerstandsgefäße^(25; 116). Das Ausbleiben einer Reflextachykardie spricht für eine Suppression der sinuatrialen Barorezeptoren oder einer zentralen Suppression des Sympathikus⁽¹³¹⁾.

An den Widerstandsgefäßen führen die NP zu einer Hemmung des Wachstums glatter Muskelzellen, Epithelien und glomerulärer Mesangium- Zellen; renal führt die Dilatation des Vas afferens bei Konstriktion des Vas efferens zu einer Steigerung der Glomerulären Filtrationsrate (GFR). Darüber hinaus hemmen ANP und BNP die Rückresorption von Natrium- Ionen aus dem proximalen Tubulus und Sammelrohr durch selektive Hemmung der apikalen Na^+ - Kanäle und basolateralen Na^+/K^+ - ATPase: Sie fördern somit sowohl Diurese als auch Natriurese^(44; 66).

Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass die kardialen NP direkt das Wachstum der kardialen Fibrozyten hemmen. Nach gezielter Deletion des BNP- kodierenden Genkomplexes (s.u.) oder des korrespondierenden NPR-A bei Mäusen wurden Hypertonie und kardiale Fibrosierung beobachtet^(92; 122). Bei der Inhibition des kardialen Remodelings, also der Unterdrückung des Wachstums von Fibroblasten und deren Sekretion von extrazellulärer Matrix, scheint BNP das bedeutendste kardiale NP zu sein. ANP-Knock- Out Mäuse zeigen ein geringeres Ausmaß kardialer Fibrosierung als es bei BNP- Knock- Out Mäusen beobachtet wurde^(92; 122). Es konnte gezeigt werden, dass die Kardioprotektion, vermittelt über parakrine Wirkung des BNP am NPR-A, bei Myokardbelastung einer durch den Transforming Growth Factor (TGF- β) vermittelten Fibrosierung entgegenwirkt und durch antimitogene Effekte die Hypertrophie der Kardiomyozyten unterbindet^(24; 35).

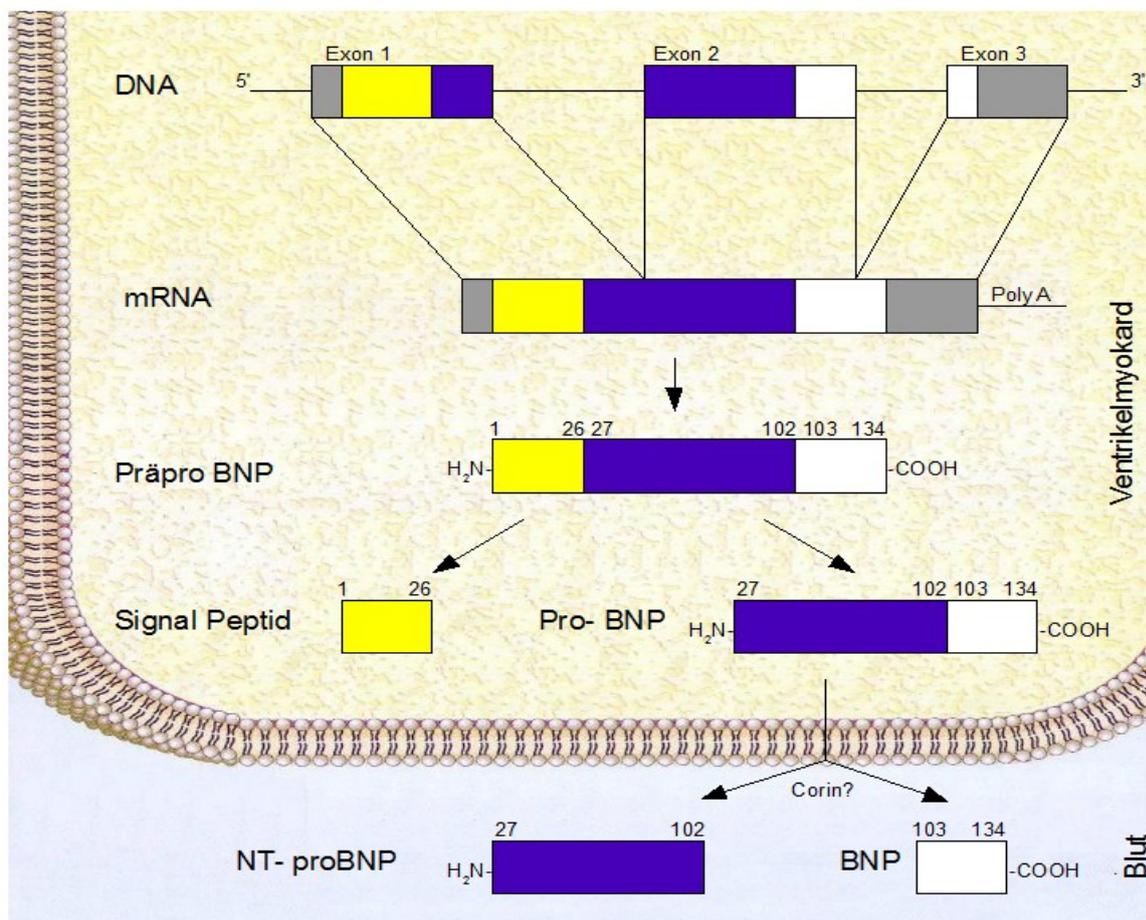
Zusammenfassend äußert sich der kurzfristige Effekt kardialer NP als RAAS-Antagonisten in einer Reduktion des systemarteriellen Drucks und der Natrium-Konzentration im Serum; langfristig scheinen die NP auf antimitogenem Weg kardioprotektiv zu wirken.

Die kurze Halbwertszeit beider Peptidhormone erklärt ihre Funktion als schnell wirkendes Stellglied im Regelkreis des Blutdrucks⁽⁴⁴⁾: ANP und BNP werden vom Herzen als unmittelbare Antwort auf hämodynamischen Stress gebildet. Bei gesunden Probanden lassen sich direkt nach körperlicher Betätigung physiologisch erhöhte BNP-Werte nachweisen. Dieser Anstieg ist bei Erholung schnell rückläufig⁽¹³⁾.

Reiz für die endokrine Freisetzung von ANP ist vor allem die Vorhoffüllung, bei BNP der Füllungsdruck der Ventrikel (enddiastolischer Druck), welcher über Dehnung des Ventrikelmyokards (transmurale Druckdifferenz) bestimmt wird ^(3; 88; 132).

Der Genkomplex für die NP sind beim Menschen auf dem langen Arm des Chromosoms 1 (1p36) lokalisiert. ⁽³³⁾. Dieser in den Kardiomyozyten des Ventrikels exprimierte Komplex kodiert das aus 134 Aminosäuren bestehende Prä- Pro- Hormon (prä- proBNP), aus dem durch Degradierung ein 108 Aminosäuren umfassendes Vorläuferhormon (proBNP) und ein

Signalpeptid entstehen. Das proBNP wird in Sekretgranula der Kardiomyozyten gespeichert und auf einem noch nicht letztendlich geklärten Weg in das physiologisch aktive C-terminale Peptid (bestehend aus 32 Aminosäuren) und in ein N-terminales Pro- Hormonfragment (NT-proBNP bestehend aus 76 Aminosäuren) gespalten ⁽⁴⁷⁾.



Grafik 1: Genetik und Mechanismus der BNP- Freisetzung

Im zirkulierenden Blut sind sowohl das NT- proBNP als auch das physiologisch aktive C-terminale BNP-Molekül nachweisbar. Es wird berichtet, dass die Spaltung des proBNP-Vorläuferproteins in die beiden zirkulierenden Bestandteile auf der Oberfläche

der Kardiomyozyten durch die spezifische Serinprotease Corin erfolgt und mit der Freisetzung des Hormons in direkter Verbindung steht ⁽¹³⁰⁾.

Das physiologisch aktive C- terminale BNP-Molekül ist mit einer Halbwertszeit von etwa 20 min. im peripheren Blut nachweisbar. Abgebaut wird das Hormon hauptsächlich am NPR-C ^(66; 111). Das physiologisch nicht- aktive N- terminale proBNP hingegen wird mit einer Halbwertszeit von 90- 120 min. hauptsächlich renal eliminiert. Aus dieser Beobachtung ergibt sich die Abhängigkeit der NT- proBNP- Werte von der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) und folglich die Beobachtung erhöhter NT- proBNP- Werte bei Niereninsuffizienz ^(119; 124).

1.1.2 Laborchemischer BNP- Nachweis

Seit Oktober 2004 werden im Zentrallabor des Universitätsklinikums Gießen BNP- Werte mit einem vollautomatisierter Laborautomaten der Firma Bayer (Modell Centaur[®]) bestimmt ⁽¹⁷⁾.

Dem Prinzip nach handelt es sich bei der BNP- Messung um ein „enzyme linked immuno-sorbent assay“ (ELISA), bei dem zwei monoklonale Antikörper spezifisch am C- terminalen Ende und an der Ringstruktur des BNP binden. Diese mit Acridiumester bzw. Biotin konjugierten Antikörper lösen nach Inkubation mit dem Patientenserum und nach Zugabe von Substraten eine Chemielumineszenz- Reaktion aus, wobei die hierbei photometrisch gemessene Lichteinheit in direkt- proportionalem Verhältnis zu dem in der Patientenprobe enthaltenen BNP steht ⁽¹⁷⁾.

Der Centaur[®] Laborautomat und das entsprechende BNP- Testkit der Firma Bayer liefern bei der Diagnostik der Herzinsuffizienz mit einem Cut- Off Point von 100 pg/ml eine Spezifität von 97% bei einer Sensitivität von 74% . Zu beachten sind die hohen Kosten der BNP- Bestimmung mit Hilfe des Centaur[®]: So kosten die o.g. für die Bestimmung benötigten Substrate und Antikörper pro Bestimmung ca. 29 €.*

Die für die Bestimmung der BNP- Konzentration benötigten Patientenproben sollten aus Armvenenblut unter Beachtung der üblichen Standards für Venenpunktionen als EDTA-Plasmaproben gewonnen werden⁽²³⁾. Es sollten dabei ausschließlich Entnahmeröhrchen aus Kunststoff verwendet werden, da BNP in Glasröhrchen nur kurze Zeit stabil ist ^(17; 109). Darüber hinaus wurde beobachtet, dass EDTA neben seiner Wirkung als Antikoagulanzen auch Calcium- abhängige neutrale Endopeptidasen (NEP)

* Stand 10/2009

hemmt, welche BNP in der Blutprobe abbauen können^(69; 109; 111): Eine erhöhte Stabilität von BNP in EDTA- Proben ist die Folge. .

Das Zeitintervall zwischen Blutentnahme und BNP-Bestimmung beeinflusst das Messergebnis: Beobachtungen des Zentrallabors Gießen zufolge sind nach morgendlicher Blutentnahme und verzögerter Bestimmung am späten Nachmittag / Abend bereits etwa 30% der ursprünglichen BNP- Konzentration abgebaut worden⁽¹¹³⁾. Hieraus folgt, dass für die Messung verlässlicher BNP- Werte eine zeitnahe Bestimmung des Hormons nach Blutentnahme von großer Bedeutung ist.

Neben einer zeitgerechten BNP- Bestimmung nach Blutentnahme, ist schon bei Venenpunktion auf möglichst vollständige körperliche Ruhe des Patienten (auch vor der Blutentnahme) zu achten, da körperliche Anstrengung zu erhöhten BNP- Werten führen kann⁽¹³⁾. Diese Vorgabe ist insbesondere im Umgang mit Kindern nicht immer zu erfüllen.

Zur Vergleichbarkeit der Messergebnisse verschiedener BNP- Testverfahren liegen uneinheitliche Ergebnisse vor: So beschreiben einige Autoren eine hochsignifikante Korrelation sowohl zwischen den verschiedenen Verfahren der BNP- Bestimmung als auch im Vergleich von BNP und NT- proBNP⁽⁹⁸⁾. Vor allem den Nachweisverfahren, bei denen die gleichen monoklonalen Antikörper zur Anwendung kommen, werden in der Literatur eine hohe Übereinstimmung der Messergebnisse zugesprochen⁽¹²⁸⁾. Bei klinischer Anwendung (z.B. als Verlaufskontrolle kardialer Erkrankungen) scheint der Einsatz verschiedener Verfahren (in eventuell unterschiedlichen Laboren / Kliniken) jedoch wenig sinnvoll⁽¹¹⁹⁾, da die Werte nur bedingt vergleichbar sind und folglich die klinische Aussagekraft des Parameters über dichotome Fragestellungen (z.B. Cut- Off bei Diagnostik der Herzinsuffizienz) hinaus unter diesen Bedingungen limitiert ist.

Für die Vergleichbarkeit von BNP- Werten mit NT- proBNP- Bestimmungen werden in der Literatur diverse Umrechnungsformeln genannt, z.B.

$$\text{NT-proBNP [pg/ml]} = 6,1282 \times \text{BNP [pg/ml]} + 35,083 \quad (104)$$

Eine große Anzahl Studien warnt jedoch vor der direkten Umrechnung von BNP- in NT-proBNP- Werte (und umgekehrt), da sich die Clearance- Mechanismen und Halbwertszeiten erheblich unterscheiden und bei verminderter Nierenfunktion zu erheblichen Abweichungen führen können⁽¹¹⁹⁾.

1.1.3 BNP bei erwachsenen Patienten

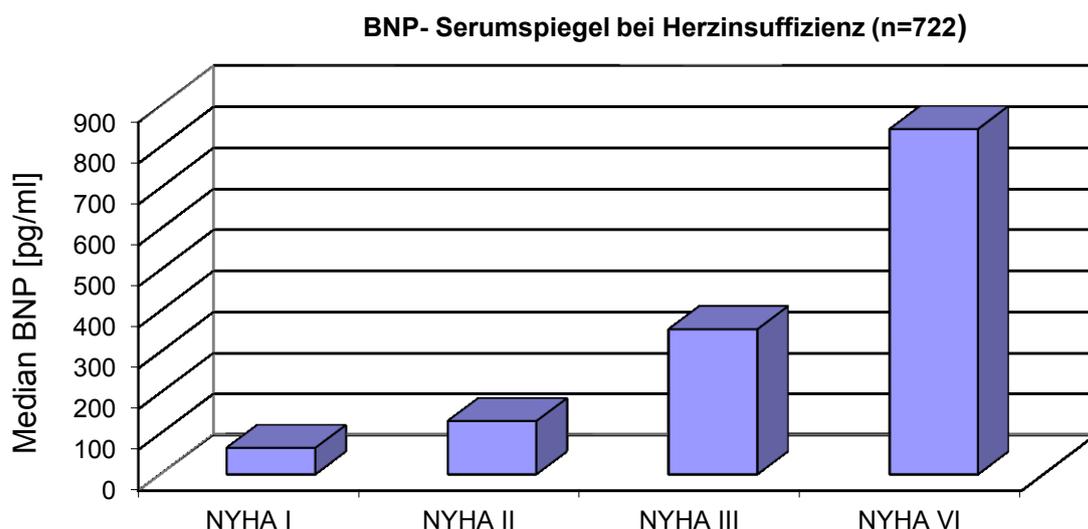
Bei erwachsenen Patienten konnte eine Abhängigkeit des BNP vom Lebensalter gezeigt werden: Die BNP- und NT- proBNP-Konzentration nimmt mit dem Alter zu, die höchsten Werte werden bei Personen über 75 Jahren beobachtet ^(17; 100).

Alter [Jahre]	Median BNP [pg/ml]	95te Pertentile BNP [pg/ml]	% < 100 pg/ml	n
< 45	8,6	33,3	99,7	317
45-54	10,4	46,7	99,7	291
55-64	13,8	53,2	98,8	403
65-74	22,1	72,3	97	365
75+	43,7	176	85,5	145
Alle	14,4	70,8	97,4	1521

Tabelle 2: BNP- Serumspiegel in Abhängigkeit des Lebensalters ⁽¹⁷⁾

Es wird vermutet, dass dieser Anstieg auf eine subklinische Leistungsminderung des Herzens im Alter durch Atherosklerose und Fibrosierung des Myokards zurückzuführen ist. Ebenso finden sich bei weiblichen Patienten etwas höhere Werte als bei Männern und niedrigere Werte bei übergewichtigen Patienten ⁽²⁸⁾.

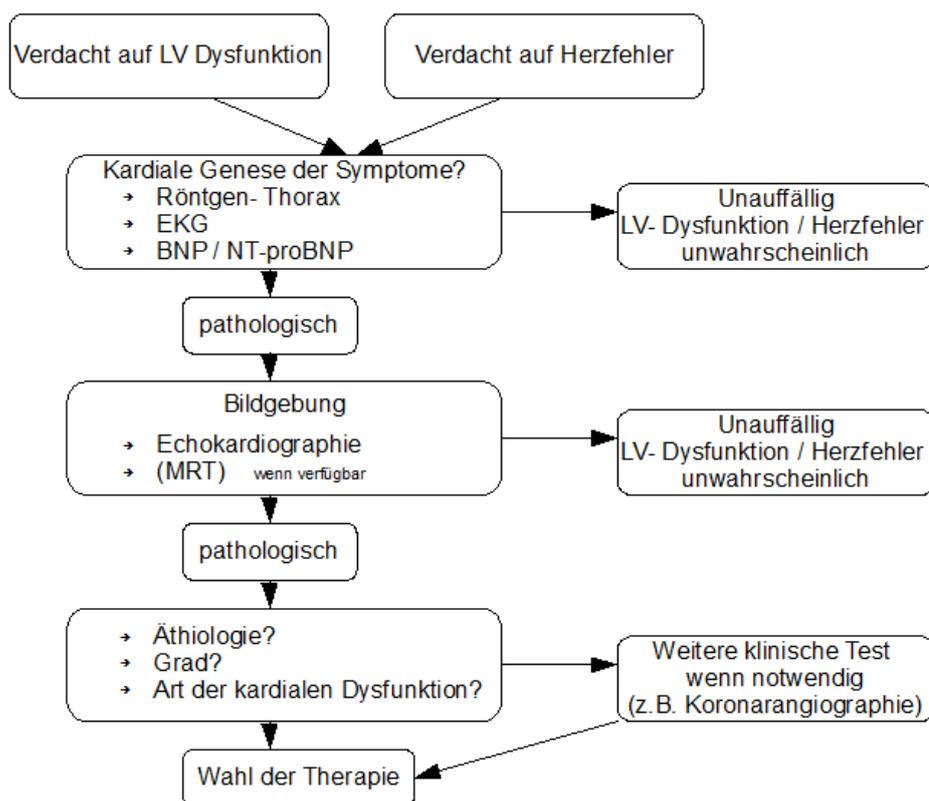
Die quantitative Bestimmung des physiologisch aktiven C- terminalen BNP und des N-terminalen proBNP werden heute routinemäßig zur Diagnostik der Herzinsuffizienz verwendet. Zwischen den klinischen Stadien der Herzinsuffizienz nach der Einteilung der New York Heart Association (NYHA) und BNP- / NT- proBNP- Werten konnte eine eindeutige Korrelation hergestellt werden ^(17; 65; 128).



Grafik 2: BNP- Serumspiegel bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz nach den Stadien der New York Heart Association (NYHA), aufgetragen ist der Median ^(17; 128)

Es sollte somit möglich sein, den Grad einer Herzinsuffizienz, ergänzend zu subjektiv-klinischen Merkmalen, mit einem labormedizinischen Marker zu beschreiben. Ebenso besteht sowohl ein direkter Zusammenhang zwischen Serum- BNP- Spiegeln und echokardiographischen Parametern der Ventrikelfunktion ⁽⁷⁰⁾ als auch mit der magnetomographisch bestimmten Ventrikelfunktion ^(3; 49).

Die European Society of Cardiology bewertet die BNP- Messung in ihren Leitlinien „Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure (2008)“ als wertvollen Test für die Ausschlussdiagnostik einer akuten Herzinsuffizienz. In diesen Leitlinien wird sowohl die hohe Aussagekraft eines erhöhten sowie eines normwertigen BNP- Spiegels diskutiert⁽³¹⁾. BNP bietet sich daher unter anderem als Eingangstest für weitere kardiale Diagnostik an⁽¹¹⁸⁾.



Grafik 3: Leitlinien zur Diagnostik Herzerkrankungen, modifiziert nach ⁽¹¹⁸⁾

In der multizentrischen REDHOT- Studie konnte nachgewiesen werden, dass bei Patienten mit akuter Dyspnoe die BNP- Bestimmung zur Differenzierung zwischen kardialen und pulmonalen Ursachen geeignet ist ⁽⁷⁷⁾. Im Einzelnen wurde festgestellt, dass bei einem BNP- Spiegel von

< 100 pg/ml eine kardiale Genese im Sinne einer akuten Herzinsuffizienz unwahrscheinlich ist,

> 400 pg/ml eine akute Herzinsuffizienz hochwahrscheinlich ist. .

Der Autor attestiert in dieser und folgenden Studien der BNP- Bestimmung einen höheren positiv prädiktiven Wert zur Detektion kardialer Ursachen der Atemnot als klinischen Parametern ⁽⁷⁷⁾.

Mit einem ähnlichen Studiendesign wurden in der BASEL- Studie die wirtschaftlichen Vorteile der BNP- Bestimmung durch schnellere Diagnosefindung und kürzere Hospitalisierungszeiten hervorgehoben ⁽⁸⁷⁾. Die BNP- Bestimmung bietet sich folglich auch für Erstuntersucher wie Hausärzte an, die ohne apparative Spezialuntersuchungen eine kardiale Störung bei Vorliegen eines unauffälligen BNP- Wertes mit hoher Wahrscheinlichkeit ausschließen können. Hierfür sind spezielle Bedside- Testkits kommerziell verfügbar, welche eine semi- quantitative BNP- Bestimmung liefern,

Es sei darauf hingewiesen, dass neben der akuten oder chronischen Herzinsuffizienz auch andere kardiovaskuläre Erkrankungen wie strukturelle Veränderungen des Myokards ⁽³⁾, akute und chronische Ischämie des Herzmuskels ^(1; 27), Lungenembolie ⁽⁹⁹⁾ oder komplette AV- Blockierung ⁽⁵⁹⁾ mit erhöhten BNP- Werten einhergehen können. Extrakardiale Ursachen abnorm erhöhter BNP- Werte bestehen in Niereninsuffizienz ^(84; 124), Anämie und Hyperthyreose ⁽⁵⁵⁾.

Zur Diagnostik der Herzinsuffizienz ist in der kardiologischen Praxis die Messung des NT- proBNP aufgrund seiner längeren Halbwertszeit und einfacheren Handhabung bei der Bestimmung (unabhängiger von kurzfristigen Veränderungen wie körperliche Aktivität und der Zeit zwischen Blutentnahme und laborchemischer Bestimmung) verbreiteter als die Bestimmung des physiologisch aktiven BNP. Jedoch sind NT- proBNP- Werte bedeutend von der Nierenfunktion abhängig und liefert laut Untersuchungen von Goei et al. nur bei Patienten mit einer Glomerulären Filtrationsrate (GFR) > 90 ml/min (also bei normaler bis leichtgradig eingeschränkter Nierenfunktion) verlässliche Werte ⁽³⁸⁾. Bei einer GFR unter 30 ml/min ist die Aussagekraft der NT- proBNP- Bestimmung eingeschränkt (falsch zu hoch). Die Messwerte des physiologisch aktiven BNP sind ebenfalls von der Nierenfunktion abhängig, wenn auch in deutlich geringerem Maße. Bei Patienten mit einer GFR < 60 ml/min ist eine leichte Beeinträchtigung der diagnostischen Aussagekraft der BNP- Werte beschrieben, dem

Cut- Offs von 100 ng/ml wird dennoch auch in diesem Setting eine ausreichende diagnostische Trennschärfe zur Diagnostik der akuten Herzinsuffizienz zugeschrieben (84; 124). In der Literatur wird daher wiederholt auf die unzureichende Gesamtkorrelation zwischen BNP und NT-proBNP hingewiesen (76; 119).

Neben der Diagnostik wurde BNP in klinischen Studien zur Beurteilung der kardialen Prognose und zur Evaluation von kardialen Risiken verwendet: Es konnte ein Zusammenhang zwischen erhöhten BNP- Werten und erhöhter Inzidenz von kardialen Ereignissen nachgewiesen werden. Eine erhöhte Mortalität besteht bei Herzinsuffizienzpatienten und Patienten mit akuten Koronarsyndromen, wenn bei ihnen eine signifikante BNP- Erhöhung vorlag (19; 125). Auch in einer kardial gesunden Kontrollpopulation kann BNP als unabhängiger Prädiktor für Mortalität herangezogen werden (68). Bei nicht- ischämischen Kardiomyopathien können erhöhte BNP- Werte auf ein erhöhtes Risiko von Endpunktereignissen (kardiale Dekompensation, Listung zur Herztransplantation, Tod) hindeuten (91).

In dem 2007 erschienenen Evidence- Report der US- amerikanischen Qualitätssicherungsbehörde des Gesundheitswesens wird der Einsatz der BNP- Bestimmung sowohl in der Diagnostik der akuten Herzinsuffizienz als auch für die Beurteilung der Prognose herzinsuffizienter Patienten positiv bewertet. Darüber hinausgehende Anwendungsgebiete wie z.B. eine Therapiesteuerung der Herzinsuffizienz werden zurückhaltend beurteilt (12).

1.1.4 BNP in der pädiatrischen Kardiologie

Die heute bei erwachsenen Patienten routinemäßige Anwendung des BNP in der Diagnostik der akuten Herzinsuffizienz legt nahe, die Bestimmung des Peptidhormones auch bei Kindern mit ähnlicher Fragestellung zu nutzen. Dennoch sei eingangs darauf hinzuweisen, dass die Datenlage zur Verwendung der kardialen natriuretischen Peptide in der Kinderkardiologie vergleichsweise gering ist und weitergehender Forschung bedarf.

Die Normwerte für BNP / NT- proBNP von Kindern unterscheiden sich erheblich von denen Erwachsener: Im Nabelschnurblut gesunder Neugeborener können deutlich höhere NT- proBNP- Spiegel als bei deren Müttern nachgewiesen werden (106), bei reifen Neugeborenen und in stärkerem Maße bei Frühgeborenen zeigen sich hohe BNP- und NT- proBNP- Plasma-/ Serumspiegel auch im peripheren Blut (57; 90, 106). Dies lässt

auf Wirkung der perinatalen Umstellung der Blutzirkulation auf die Konzentrationen der kardialen natriuretischen Peptide schließen, da abrupte Volumen- und Nachlastzunahme im linken Ventrikel die BNP- Synthese und Sekretion stimulieren.

Koch et al. (n=43) beschrieben einen Abfall der unmittelbar nach Geburt gemessenen hohen Werte in den ersten Lebenstagen auf ein Level, das in den ersten Lebensjahren knapp unter der Norm der Erwachsenen liegt ⁽⁵⁷⁾. In einer aktuellen Metastudie konnte dieser Sachverhalt an einem großen Patientenkollektiv auch für NT- proBNP- Werte nachgewiesen werden ⁽⁹⁰⁾. Für

BNP stellten Soldin et al. ⁽¹¹²⁾ altersabhängige Grenzwerte für die klinische Bewertung gemessener Plasmawerte auf (Tabelle 3). Nicht nur der BNP- Plasmaspiegel zeigt altersabhängige Veränderungen, auch das Verhältnis von NT- proBNP zu BNP scheint mit zunehmendem Alter abzunehmen ⁽⁵⁶⁾.

Alter		97,5te Perzentile BNP [pg/ml]	N
0 - < 31 Tage	♂♀	1585	50
31 - < 90 Tage	♂♀	1529	38
3 - < 6 Monate	♂♀	759	26
6 Monate - < 1Jahr	♂♀	263	55
1 - < 3 Jahre	♂	173	60
	♀	158	51
3 - < 10 Jahre	♂	132	89
	♀	120	72
10 - < 15 Jahre	♂	120	91
	♀	115	51
15 - < 18 Jahre	♂	100	63
	♀	107	66
18 - < 21 Jahre	♂	110	50
	♀	87	46

Tabelle 3: Alterabhängige BNP- Grenzwerte nach Soldin et al ⁽¹¹²⁾

Auf Basis dieser Normwerte kann BNP auch bei Kindern zur Beurteilung der Ventrikelfunktion herangezogen werden und kann- wie bei Erwachsenen - bei akuter Dyspnoe helfen, zwischen kardialer und respiratorischer Genese zu unterscheiden ⁽⁶⁰⁾.

Der hohe negative Vorhersagewert erlaubt es, bei unauffälligem BNP- Plasmaspiegel kardiale Ursachen der Dyspnoe mit großer Sicherheit auszuschließen ⁽⁶¹⁾. Maher und Kollegen nutzten die BNP- Bestimmung bei der Notfallvorstellung pädiatrischer Patienten erfolgreich, um in 33 Fällen die Verdachtsdiagnose angeborener oder erworbener kardialer Erkrankungen zu stellen ⁽⁷³⁾. Diese Kinder wiesen gegenüber den 70 Patienten, die sich aufgrund nicht- kardialer Erkrankungen vorstellten, durchgehend erhöhte BNP- Serumspiegel auf, wobei ein Cut- Off von 100 pg/ml verwendet wurde.

Die höchsten BNP- Werte werden bei Kindern mit hochgradiger ventrikulärer Dysfunktion und drohendem Myokardversagen gefunden ⁽¹²⁶⁾, so dass es sich anbietet, BNP auch bei Kindern für die Beurteilung einer Herzinsuffizienz zu nutzen

Volumenbelastung des Herzens führt, wie aus der Grundlagenforschung an Erwachsenen bekannt, regelhaft auch bei kindlichen Patienten zu erhöhten BNP-Plasmaspiegeln, wobei bei Volumenbelastung des linken Ventrikels höhere Werte nachgewiesen wurden als bei einer gleichartigen Belastung des rechten Ventrikels ⁽⁴⁶⁾. Auch Druckbelastung führt zu erhöhten Werten, diese sind allerdings signifikant niedriger als bei Myokardversagen infolge von Volumenbelastung ⁽¹²⁶⁾. So können bei isolierter pulmonalarterieller Hypertonie die erhöhten BNP- Werte als Ausdruck der Druckbelastung des rechten Ventrikels angesehen werden ⁽²⁰⁾. Es ist jedoch nicht möglich, von der Höhe der BNP- Werte sichere Rückschlüsse auf die Art der hämodynamischen Belastung zu ziehen ⁽⁶⁰⁾.

Dennoch zeigten sich Ansätze erfolgreich, mittels Bestimmung des BNP einen hämodynamisch relevanten Links- Rechts- Shunt im individuellen klinischen Verlauf zu beurteilen: Es konnte ein direkter Zusammenhang zwischen Shuntvolumen und BNP bei atrialen und ventrikulären Septumdefekten hergestellt werden ⁽⁹³⁾. Bei Frühgeborenen kann ein erhöhter BNP- Wert Ausdruck der hämodynamischen Relevanz eines persistierenden Ductus arteriosus Botalli (PDA) sein: BNP wird daher als Screening auf Persistenz und Relevanz eines PDA am Ende der ersten Lebenswoche diskutiert und könnte gegebenenfalls die Indikationsstellung zum medikamentösen Verschluss des PDA unterstützen. Für diese diagnostische Anwendung werden Cut-Offs von 70 – 300 pg/ml genannt ^(34; 105).

Bei Kindern mit Kardiomyopathien weisen stark erhöhte BNP- Werte auf Herzinsuffizienz und drohendes Myokardversagen hin ⁽¹²⁶⁾; bei diesen Patienten können BNP- Messungen zusammen mit klinischen und echokardiographischen Parametern die Indikation zur Herztransplantation (HTX) unterstützen ⁽⁹⁵⁾.

Bei Patienten mit univentrikulären Herzfehlern kann eine BNP- Erhöhung bei akuter Herzinsuffizienz zwischen Pumpversagen des Systemventrikels und isoliertem Versagen der cavopulmonalen Anastomose unterscheiden: Bei letzterer liegt keine signifikante BNP- Erhöhung vor ⁽⁶⁴⁾.

Vor diesem Hintergrund wurden in einer großen multizentrischen Studie des amerikanischen Pediatric Heart Network Daten von 546 Kinder nach unterschiedlichen palliativen OP- Verfahren bei komplexen univentrikulären Defekten erhoben ⁽⁴⁾. Überraschenderweise fand sich bei der Gesamtheit der Patienten ein normwertiges BNP (Median 13 pg/ml), vergleichbar mit den Werten Gesunder oder Patienten mit Herzfehlern *ohne* ventrikuläre Dysfunktion. Statistische Streuung und Spannweite der

bei diesen Patienten bestimmten BNP- Werte sind allerdings nicht mit den Werten eines gesunden Kontrollkollektives zu vergleichen^(45; 57; 112). Jedoch bleiben auch im 15-jährigen Follow-Up nach Anlage einer totalen cavopulmonalen Verbindung die mittleren BNP- Werte normwertig ⁽⁵⁸⁾. Insgesamt kann also die ventrikuläre Dysfunktion als entscheidender Faktor für eine BNP- Erhöhung angesehen werden, nicht die angeborene oder erworbene (post-operative) Störung der Hämodynamik.

Eine weitere konkrete Anwendungsmöglichkeit stellt die BNP- Bestimmung für Patienten unter Rahmen chemotherapeutischer Medikation mit Anthrazyklinen zur Behandlung maligner Erkrankungen im Kindesalter dar. Die Hormonbestimmung kann frühzeitig auf die kardiotoxische Wirkung der Anthrazykline und beginnende ventrikuläre Dysfunktion hinweisen⁽³⁷⁾: Durch frühzeitige Umstellung des Therapieschemas können weitere myokardiale Schäden bei Risikopatienten verhindert werden.

Erhöhte BNP- Werte finden sich auch als Ausdruck kardialer Schädigung bei systemisch- entzündlichen Erkrankungen wie dem Kawasaki- Syndrom ⁽¹²¹⁾, bei Immunsuppression nach Organtransplantation ⁽¹⁰⁸⁾, bei septischen Krankheitsbildern ⁽³²⁾ oder bei cerebralen Anfallsleiden ⁽⁹⁷⁾.

Wie bei erwachsenen Patienten bietet die BNP- Bestimmung neben diagnostischen Optionen auch solche für die Beurteilung der kardialen Prognose: Price und Kollegen konnten für Kinder mit einem Serum- BNP > 300 pg/ml ein erhöhtes Risiko für kardiale Ereignisse, Tod oder Listung zur Herztransplantation darstellen ⁽⁹⁵⁾. Tan et al. verknüpften einen BNP- Wert größer 760 pg/ml im Rahmen einer intensivmedizinischen Behandlung mit einer hohen Mortalität ⁽¹²³⁾. Bei Kindern mit Sepsis steht der gemessene BNP- Wert in direktem Verhältnis zu dem Mortalitätsrisiko ⁽³²⁾, bei Kindern mit pulmonaler Hypertonie kann ein BNP- Wert > 130 pg/ml auf ein erhöhtes Risiko für die Notwendigkeit einer Herz- Lungen- Transplantation oder plötzliches Versterben hindeuten ⁽⁶²⁾.

1.2. Herztransplantation im Kindesalter

Aktuell verzeichnet die International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) weltweit mehr als 100.000 durchgeführte Herztransplantationen, jährlich kommen ca. 3600-3800 neue Transplantationen hierzu ⁽¹¹⁴⁾. Insgesamt wurden bisher etwa 10% dieser Operationen bei Kindern und Jugendlichen unter 18 Jahren durchgeführt. Aktuell werden weltweit pro Jahr etwa 500 Transplantationen im Kindesalter der ISHLT gemeldet, wobei diese überwiegend in Nordamerika (56%) und Europa (41%) durchgeführt wurden ⁽⁵²⁾.

1.2.1 *Immunsuppression nach Herztransplantation*

Nach Herztransplantation ist eine lebenslange Immunsuppression erforderlich, da auch Jahre nach Transplantation mit einer akuten Abstoßungsreaktion und Funktionsverlust des Transplantats zu rechnen ist. Aufgrund des Organmangels ist eine strenge Berücksichtigung der HLA- Kompatibilität, wie sie eigentlich wünschenswert wäre, bei der Organauswahl in der Regel nicht möglich. Daher ist postoperativ zumeist eine intensive Immunsuppression notwendig. Diese Immunsuppression erfolgt üblicherweise auf der Basis von Calcineurin- Inhibitoren (CNI) wie Cyclosporin A (CsA) oder Tacrolimus, kombiniert mit einem Proliferationshemmer wie Azathioprin oder Mycophenolat- Mofetil (MMF) und postoperativer Gabe von Kortikosteroiden ^(15;16; 29). In letzter Zeit werden zunehmend Inhibitoren der Interleukin-2 Wirkung, sog. mTOR- Inhibitoren, angewendet in deren Kombination die CsA- Dosierung weiter reduziert werden kann ^(18; 86).

Im Folgenden wird die immunsuppressive Therapie anhand des standardisierten Protokolls des Kinderherzzentrums Gießen beispielhaft beschrieben ⁽¹⁵⁾:

Präoperativ erhalten die Patienten eine orale Einzeldosis von 5 mg/kgKG CsA und 1 mg/kgKG Azathioprin; intraoperativ wird eine intravenöse Dosis von 10 mg/kgKG Prednisolon appliziert. Postoperativ besteht die Immunsuppression zunächst aus einer intravenösen Dreifachkombination von CsA (1–2 mg/kgKG/24 h), Azathioprin (1 mg/kgKG /24 h) und Prednisolon (3 mg/kgKG/24 h). Nach wenigen Tagen erfolgt im postoperativen Verlauf die Umstellung auf die orale Applikation (CsA 10–20 mg/kgKG/Tag; Azathioprin 2 mg/kgKG/Tag und Prednisolon 3 mg/kgKG/Tag). Der Zielspiegel für CsA liegt in der frühen postoperativen Phase bei 250-300 ng/ml; die

Dosis von Azathioprin wird dem Zielbereich einer Leukozytenkonzentration von <4000 /ml angepasst.

	Prä- OP	Peri- OP	Post- i.v.	OP	Post- oral	OP
CsA [mg/kgKG/24h]	5		1-2		10 - 20	
Azathioprin [mg/kgKG/24h]	1		1		2	
Prednisolon [mg/kgKG/24h]		10	3		3	

Tabelle 4: Protokoll der operativen Immunsuppression bei HTX am Kinderherzzentrum Gießen ⁽¹⁵⁾

Prednisolon wird bis Ende des 2. Monats nach Transplantation ausschleichend abgesetzt. Eine Zweifachtherapie mit Azathioprin und CsA wird nun bei allen Kindern beibehalten. Bei allen Kindern wird innerhalb dieses ersten Jahres nach HTX der CsA-Blutspiegel schrittweise bis auf 100 ng/ml reduziert.

1.2.2 *Morbidität nach Herztransplantation*

Der Langzeitverlauf nach Herztransplantation wird durch Funktionseinschränkungen des transplantierten Organs bestimmt, hinzukommen kommen Störungen, die durch Nebenwirkungen der Immunsuppression verursacht werden sowie psychosoziale Faktoren. Diese Zusammenhänge werden im Folgenden kurz dargestellt.

Morbidität durch Funktionseinschränkungen des transplantierten Herzens

Obleich durch die immunsuppressive Dauertherapie akute Abstoßungsreaktionen weitgehend unterdrückt werden können, finden durch die verbleibende Restaktivität des Immunsystems chronische Veränderungen am Transplantat statt ⁽¹⁴⁾. Diese chronische Abstoßungsreaktion beruht auf einer obliterierenden Arteriopathie: Der Transplantatvaskulopathie (CAV). Histopathologisch steht hierbei eine konzentrische Intimafibrose im Vordergrund ^(14; 101). Der progrediente Verschluss der Endäste der Koronararterien führt zu einer langsamen Verschlechterung der Herzfunktion ⁽¹⁴⁾, wobei nach operativbedingter Denervierung des Herzens keine pektanginöse Symptomatik auftritt. Eine frühzeitige klinische Diagnose der CAV ist daher schwierig ⁽⁷⁵⁾, ebenso existiert bislang keine apparative Untersuchung mit befriedigender Sensitivität ^(14; 75).

Langfristig führt die CAV zu einer diastolischen (und später systolischen) Funktionsstörung des Herzens, klinisch resultiert das Bild einer progredienten Herzinsuffizienz mit zunehmender Einschränkung der Lebensqualität betroffener Kinder. Der chronisch obliterierende Prozess stellt die häufigste Spätursache für ein

Transplantatversagen bei Kindern und Erwachsenen dar; im Endstadium bleibt oft nur die Option einer Retransplantation ⁽⁷⁴⁾. Als Risikofaktoren für die Entwicklung einer CAV und einen ungünstigen Verlauf konnten frühzeitige und wiederholte zelluläre Abstoßungsreaktionen ^(14; 40) und CMV- Infektionen ⁽¹¹⁰⁾ identifiziert werden; die Bedeutung von Hyperlipidämie, arterieller Hypertonie und Diabetes mellitus auf Ausmaß und Progredienz der CAV wird kontrovers diskutiert ^(14; 40; 41).

Die Daten der ISHLT zeigen für Kinder eine Inzidenz von etwa 25%, in den ersten 8 Jahren nach Herztransplantation eine CAV zu entwickeln. Es besteht eine lineare Zunahme der CAV- Prävalenz im zeitlichen Verlauf nach Transplantation ⁽⁵²⁾. Das Alter bei Operation scheint einen Einfluss auf diese Entwicklung zu haben: Nach früher Herztransplantation im Säuglingsalter beträgt die Inzidenz für die Entwicklung einer CAV im 8-Jahres Intervall 22%, wohingegen 25% der Kinder unter 10 Jahre und 45 % der Kinder über 10 Jahre im gleichen Intervall eine CAV entwickeln ⁽⁵²⁾. Letzterer Wert nähert sich der hohen Inzidenz der erwachsener Patienten an ⁽¹¹⁴⁾. Es wird diskutiert, ob für die günstigeren Langzeitverläufe der jungen Patienten eine Unreife des Immunsystems im Säuglings- oder frühen Kindesalter verantwortlich sein könnte.

Nephrotoxische Effekte
Arterielle Hypertonie
Infektanfälligkeit
Wundheilungsstörung
Neoplasie (PTLD)
Hyperlipidämie
Gestörte Glukosetoleranz
Knochenmarksdepression
Hypertrichose
Gingivahyperplasie
Neurodermitis / Akne Vulgaris
Gastrointestinale Symptomatik
Neurologische Symptomatik
Lymphödeme
Hypomagnesiämie
Hyperkaliämie
Hyperurikämie

Tabelle 5: Nebenwirkung einer langfristigen Immunsuppression nach ⁽¹⁴⁾

Morbidität durch Langzeitfolgen der Immunsuppression

Nach Herztransplantation ist eine lebenslange Immunsuppression erforderlich, die mit gravierenden Nebenwirkungen behaftet ist.

Eine Übersicht über das wesentliche Nebenwirkungsspektrum dieser Pharmaka gibt Tabelle 5; nachfolgend werden Nephrotoxizität und arterielle Hypertonie angesprochen, da diese mögliche Einflussvariablen auf die zu messenden BNP-Spiegel darstellen. Es sei darauf hingewiesen, dass die nicht weiter detailliert dargestellten Veränderungen an Haut, Haaren und Zähnen einen medizinisch harmlosen Charakter vortäuschen können, jedoch mit erheblichen psychosozialen Belastungen für die betroffenen pädiatrischen Patienten einhergehen können.

Nephrotoxischer Effekt

Eine der schwerwiegendsten Nebenwirkungen stellt die Nephrotoxizität der Calcineurin- Inhibitoren (CNI) dar. Neben der CAV ist die hieraus resultierende Niereninsuffizienz einer der wesentlichen Morbiditätsfaktoren im Langzeitverlauf nach Herztransplantation ⁽⁵²⁾. Ausprägung und Progredienz der Nierenfunktionsstörung sind hierbei individuell unterschiedlich und können durch nephrologische Vor- oder Begleiterkrankungen (Nephritiden etc.) verstärkt werden ⁽¹⁴⁾. Diese CNI- induzierte Nephropathie kann bis hin zu einer chronische Niereninsuffizienz fortschreiten und zur Dialysepflichtigkeit und sekundären Nierentransplantation führen. Nach den Daten der ISHLT entwickelt sich eine hochgradige Niereninsuffizienz (definiert als Dialysepflicht, Nierentransplantation oder Serum- Kreatinin > 2,5 mg/dl) bei 10% der pädiatrischen Patienten innerhalb der ersten 10 Jahren nach Herztransplantation ⁽⁵²⁾. Die Prävalenz für die Entstehung einer Niereninsuffizienz bei Erwachsenen wird deutlich höher angegeben (zwischen 17% und 27% innerhalb von fünf Jahre nach Transplantation)⁽¹¹⁴⁾. Allerdings sind geringgradig ausgeprägte Nierenfunktionsstörungen (Kreatinin < 2,5 mg/dl) bei Kindern deutlich häufiger als bei Erwachsenen ^(14; 52).

Seit einigen Jahren befinden sich neuere Immunsuppressiva wie Sirolimus und Everolimus in klinischer Evaluation. Im Gegensatz zu den CNI sollen diese Immunsuppressiva wenig (Sirolimus) bzw. kaum (Everolimus) nephrotoxisches Potential besitzen ^(71; 134). Mit ihrem Einsatz kann es möglich werden, die Dosis der CNI langfristig zu reduzieren auf diese ganz zu verzichten. Erste Studien zu Langzeiterfahrungen mit CNI- sparer Immunsuppression nach Herztransplantation liegen vor und lassen vermuten, dass durch den Einsatz der mTor- Inhibitoren die Entwicklung einer CNI- induzierte Nephropathie verhindert oder aufgehalten werden kann⁽¹³⁴⁾.

Auch am Kinderherzzentrum Gießen wurden 28 der hier beobachteten Patienten sekundär auf ein CNI- freies Immunsuppressionsschema umgestellt. Hierbei zeigte sich eine bedeutende Verbesserung der Nierenfunktion bereits sechs Monate nach CNI- Karenz ⁽¹⁸⁾. Auch ein primär CNI- freies Behandlungsschema, bei dem zusätzlich die Gabe von Kortikosteroiden nach dem ersten halben Jahr nach Herztransplantation vermieden wird, könnte möglicherweise im Langzeitverlauf dem Referenzschema aus CsA und Azathioprin überlegen sein ⁽⁸⁶⁾. Von einer erhöhten Inzidenz akuter Abstoßungsereignisse und rezidivierenden bronchopulmonalen Infektionen bei dem Einsatz von mTor- Inhibitoren wurde berichtet^(18; 86).

Arterielle Hypertonie

Unter anderem als Folge der beschriebenen Nephropathie entwickelt sich nach Herztransplantation bei vielen Kindern im Langzeitverlauf eine arterielle Hypertonie. Im Frühstadium werden hierfür vasokonstriktorische Effekte der CNI verantwortlich gemacht, im weiteren Verlauf mag der progrediente Verlust von gesundem Nierenparenchym zur renalen Fixierung der Hypertonie beitragen. Begünstigende Faktoren für die Entwicklung der Hypertonie sind Dauerprophylaxe mit Kortikosteroiden und hohe CNI- Tagesdosen ^(14; 102).

Laut ISHLT- Bericht entwickeln 69% der Kinder innerhalb von 8 Jahre nach Herztransplantation eine arterielle Hypertonie, wohingegen 90% der Erwachsenen bereits 5 Jahre nach Transplantation erhöhte Blutdruckwerte aufweisen ^(52, 114).

Der Einsatz von ACE- Inhibitoren und AT₁- Rezeptorantagonisten hat sich aufgrund deren nephroprotektiven Potentials als vorteilhaft erwiesen ⁽¹⁴⁾.

1.3. BNP- Bestimmung nach Herztransplantation

Seit über 15 Jahren liegen Verlaufsbeobachtungen zu BNP- Plasmaspiegeln nach Herztransplantation vor: In allen vorliegenden Studien wird von stark erhöhten Konzentrationen des Peptidhormons unmittelbar nach Transplantation berichtet ^(7; 42; 67).

Es konnte gezeigt werden, dass das im Blut des Transplantatempfängers gemessene BNP seinen Ursprung im Myokard des Spenderorgans hat ⁽⁸⁾.

In den ersten drei Monaten nach Herztransplantation sinken die initial erhöhten Werte signifikant ab ^(8; 42). Laut Lan und Kollegen (n=44) gleicht der Abfall der Werte einer exponentiellen Funktion mit Erreichen von Steady- State Werten im Mittel unter 100 pg/ml ab 14 Wochen nach Transplantation ⁽⁶³⁾:

$$BNP = A * e^{-t/\delta} + C \quad ,$$

wobei A der Konzentration des BNP bei Transplantation, t dem vergangenen Zeitintervall nach Herztransplantation, τ einer Zeitkonstante und C dem individuellen Wert für das Steady- State des BNP entspricht.

Diese Beobachtungen wurden als Ausdruck erhöhter mechanischer Beanspruchung der transplantierten Ventrikel im Anschluss an die Operation gedeutet. Ationu und Kollegen

vermuteten hierzu eine funktionelle Adaptation des Transplantates im Sinne von kardioprotektiven Kompensationsmechanismen ^(7; 8).

Wie für native Herzen so konnte auch nach Herztransplantation ein direkter Zusammenhang zwischen der Höhe des BNP und hämodynamischen Parametern nachgewiesen werden ⁽²⁾, dies gilt jedoch nicht für das erste halbe Jahr nach Transplantation ^(10; 63): Für die in den initialen 6 Monaten vorliegende BNP- Erhöhung findet sich kein hämodynamisches Korrelat.

Die Beobachtung des BNP- Verlaufs innerhalb des ersten Jahres nach Herztransplantation erlaubte es Martinez et al. ihre Patienten (n=71) retrospektiv in zwei Gruppen mit unterschiedlicher Häufigkeit und Ausprägung Komplikationen zu unterteilen⁽⁸¹⁾: Bei unproblematischem postoperativen Verlauf fiel das BNP im ersten Jahr nach Transplantation wie oben beschrieben ab. Patienten mit wiederholten Komplikationen (Tod, Abstoßungsreaktionen, Entwicklung von hochgradiger ventrikulärer Dysfunktion) zeigten dauerhaft höhere Werte, wobei 100 pg/ml als Grenzwert verwendet wurde ⁽⁸¹⁾. Als Schlussfolgerung können laut Martinez Patienten mit schlechter Prognose und hohem Komplikationsrisiko schon anhand erhöhter oder steigender BNP- Werte am Ende des ersten Jahres nach Transplantation identifiziert werden ⁽⁸⁰⁾.

Größere Beachtung findet das BNP in der Diagnostik akuter Abstoßungsreaktionen: Aufgrund unspezifischer Symptomatik ist eine frühzeitig Diagnose im Kindesalter schwer zu treffen. Eine sichere Diagnose ist nur mittels Endomyokardbiopsie (EMB) zu treffen, dieses invasive Verfahren ist allerdings mit zahlreichen Nachteilen (u.a. hoher apparativer und personeller Aufwand) und Risiken verbunden. Die Nutzung nichtinvasiver Untersuchungsmethoden wie EKG, Echokardiographie, Bestimmung kardiale Enzyme oder MR- Bildgebung wurden hinsichtlich ihrer Sensitivität akute Abstoßungsreaktionen zu erkennen, untersucht. Die diagnostische Güte der einzelnen Verfahren erwies sich jedoch ohne Kombination mehrerer Untersuchungsverfahren als ungenügend ^(96; 129; 133).

Nach den Beobachtungen mehrerer Autoren können abnorme BNP- Erhöhungen auf akute Abstoßungsreaktionen hindeuten ^(39; 36; 26), wobei der diagnostische Wert der BNP- Bestimmung kontrovers diskutiert wird ⁽⁶⁾.

Da Biopsiebefunden zum Nachweis von Abstoßungsreaktionen die höchste diagnostische Wertigkeit zugesprochen werden, verglichen Rossano et al. 540 EMB mit

zeitgleich erhobenen BNP- Werten⁽¹⁰³⁾: Laut der Schlussfolgerung dieser Untersuchung kann ein BNP- Cut-Off von 100 pg/ml akute Abstoßungsvorgänge mit einer Sensitivität von 96% erkennen. Auch Hammerer- Lercher und Mair⁽³⁹⁾ fanden signifikant erhöhte BNP- Werte bei akuten Abstoßungsvorgängen ab Grad 2 nach den Kriterien der ISHLT und signifikante Rückgänge der Werte nach erfolgreicher Behandlung. Für pädiatrische Patienten berichteten Geiger und Kollegen⁽³⁶⁾ in retrospektiver Betrachtung der Verläufe, dass kein Kind mit einem BNP- Wert < 700 pg/ml an einer akuten Abstoßungsreaktion litt, wohingegen ein Wert > 700 pg/ml als Indikator für Schädigung des Transplantates im Sinne einer Abstoßungsreaktion, Transplantatvaskulopathie oder Volumenbelastung galt.

Aus den genannten Beobachtungen könnte schlussfolgernd abgeleitet werden, dass insbesondere für betreuende Kinder- oder Hausärzte bei der Frage einer möglichen Abstoßungsreaktion die Bestimmung eines erhöhten BNP- richtungsweisend für eine stationäre Einweisung sein kann, wohingegen niedrige BNP- Werte eine weitere ambulante Betreuung zulassen⁽³⁶⁾.

1.4. Fragestellung

Die vorliegende Studie soll den Langzeitverlauf des BNP bei dem speziellen Kollektiv herztransplantierte Kinder untersuchen und zur Beantwortung folgender Fragestellungen beitragen:

- Wie verhält sich die Blutkonzentration des Peptidhormons im zeitlichen Verlauf nach Herztransplantation?
- Reflektiert der individuelle Langzeitverlauf den klinischen Zustand des Patienten und seine Komorbiditäten?
- Besteht ein Einfluss der Nierenfunktion auf den BNP- Wert?
- Können mittels BNP- Bestimmung akute Abstoßungsreaktionen erkannt werden?

2. Methodik und Studiendesign

Das Patientenkollektiv dieser Studie besteht aus 110 Patienten, bei denen zwischen 1988 und 2009 eine Herztransplantation im Kindesalter durchgeführt wurde. Das Alter der Patienten bei Transplantation betrug zwischen 2 Tagen und 18 Jahren ($\bar{x} = 3,1 \pm 4,6$ Jahre). Im Beobachtungszeitraum (Oktober 2004 bis August 2009) waren die Patienten zwischen 10 Wochen und 34 Jahren alt ($\bar{x} = 10,1 \pm 5,4$ Jahre); es wurden also nicht ausschließlich Kinder betrachtet.

Die Nachsorge und Patientenrekrutierung für diese Untersuchung erfolgte am Kinderherzzentrum des Universitätsklinikums Gießen.

2.1 Indikation der Herztransplantation

Eine Übersicht über die Ätiologie der terminalen Herzinsuffizienz, welche die Indikation zur Herztransplantation in dem hier betrachteten Patientenkollektiv stellte, gibt folgende Tabelle wieder:

		Geschlecht		Gesamt
		w	m	
Indikation	HLHS	13	20	33
	Kardiomyopathie	21	17	38
	Komplexe Vitien	6	26	32
	Z.n. Herztransplantation	0	4	4
	Andere	0	3	3
Gesamt		40	70	110

Tabelle 6: Indikation der Herztransplantation im Patientenkollektiv

2.2 BNP- Bestimmung im zeitlichen Verlauf nach Herztransplantation

Die bei den Patienten gemessenen BNP- Plasmawerte können anhand der Indikation ihrer Bestimmung in drei Gruppen unterteilt werden:

1. BNP- Messungen im unmittelbaren zeitlichen Verlauf nach Transplantation noch während der intensivmedizinisch- stationären Behandlung; diese Daten sind nur bei Patienten mit Transplantation ab Herbst 2004 verfügbar.
2. BNP- Bestimmungen im Rahmen der ambulanten Routinevorstellungen nach dem HTX- Nachsorgeprotokoll.
3. BNP- Messungen bei außerplanmäßigen oder Notfall- Vorstellungen der Patienten.

Aufgrund der retrospektiven Datenerhebung ist eine Zuweisung gemessener BNP- Werte in eine der drei Gruppen nicht immer eindeutig möglich.

Die Bestimmung des Hormons wird in Gießen seit Oktober 2004 routinemäßig vorgenommen. Der in dieser Studie beobachtete Verlauf der BNP-Plasmaspiegel nach Herztransplantation beginnt folglich mit Messwerten ab diesem Zeitpunkt. In der folgenden Betrachtung werden jedoch die bei den Patienten gemessenen BNP-Werte nicht mit dem Mess-Datum, sondern mit dem zeitlichen Abstand zur Herztransplantation angegeben. So besitzt die vorliegende Studie einen Querschnittscharakter, da bei den ersten Messungen (2004) bereits ein Abstand von bis zu 16 Jahren zu den ersten Transplantationen (in Gießen 1988) bestand. Des Weiteren besitzt diese Untersuchung einen Längsschnittcharakter mit direktem Follow- Up der nach 2004 transplantierten Kinder. Im Umkehrschluss liegen aber daher nur bei 24 Kindern BNP- Werte im unmittelbaren Anschluss an die Operation vor, auf die die Fragestellung des BNP- Verlaufs im ersten Jahr nach Herztransplantation angewendet werden kann.

Von den 4 Patienten, bei denen nach Herztransplantation im zeitlichen Verlauf eine erneute Transplantation notwendig wurde (siehe Tabelle 6), wurde bei einem Patienten (Nr.68) eine erneute Transplantation im Beobachtungszeitraum durchgeführt. Bis zu diesem erneuten Eingriff wurden BNP- Messwerte dieses Patienten im zeitlichen Abstand zur ersten Transplantation betrachtet. Mit Durchführung der erneuten Herztransplantation scheidet er aus dieser Betrachtung aus: Die Betrachtung des postoperativen Verlaufs der BNP- Werte dieses Patienten nach zweiter Herztransplantation erfolgte unter einer anderen Laufnummer.

Die BNP- Bestimmung erfolgte überwiegend aus Armvenenblut, welches in EDTA-Monovetten überführt wurde. Ob im Einzelfall unter intensivmedizinischen Bedingungen die Blutentnahme über einen zentralen Venenkatheter entnommen wurde, ist aufgrund des retrospektiven Studiendesigns nicht zu klären.

Bei den Routineuntersuchungen in der Herztransplantations- Ambulanz wurde die Blutentnahme jugendlicher und erwachsener Patienten liegend in Ruhe und unter Beachtung der üblichen Standards für Venenpunktionen ⁽²³⁾ vorgenommen. Bei kindlichen Patienten sind diese Standards naturgemäß nicht immer zu gewährleisten. Ein Ausschluss von Blutproben, welche bei agitierten und abwehrenden Kindern gewonnen wurden, ist aufgrund des retrospektiven Studienprotokolls nicht möglich.

Es fanden ausschließlich Entnahmeröhrchen aus Kunststoff Verwendung, welche eine Stabilität des BNPs gewährleisten ⁽¹⁰⁹⁾. Nach der Blutentnahme wurden die gewonnenen EDTA-Plasmaproben bis Juli 2008 per Kurier zu dem damals etwa 800 Meter entfernten Zentrallabor des Klinikums gesandt. Seit dem Umbau des Universitätsklinikums befinden sich Kinderklinik und Zentrallabor in einem Haus, was eine schnellere Verarbeitung der Proben gewährleistet.

Die Bestimmung des BNP erfolgte ausschließlich mit dem in Kapitel 1.1.2 beschriebenen Testverfahren der Firma Bayer.

2.3 Bestimmung von Nierenretentionsparametern im Langzeitverlauf

Bei den Routinevorstellungen der Patienten in der Transplantationsambulanz wurden bei Blutentnahmen planmäßig Nierenretentionsparameter in Form von Kreatinin-Serumwerten mitbestimmt.

Zur Abschätzung der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) aus Kreatinin- Serumwerten wurde bei pädiatrischen Patienten die Schwartz- Formel verwendet ^(107; 43):

$$GFR [ml/min/1,73m^2] = \frac{c * \text{Körpergröße [cm]}}{\text{Serumkreatinin [mg/dl]}}$$

Als Konstante *c* wurde

0,45 bei Kindern im ersten Lebensjahr,

0,55 bei Kindern ab dem zweiten und

0,7 bei Knaben ab dem 12. Lebensjahr

verwendet ^(107; 53). In dieser Studie werden ausschließlich Kreatinin- Werte berücksichtigt, die in zeitgleicher Blutentnahme mit der Bestimmung des BNP erhoben

wurden. Praktisch liegt so zu nahezu jedem BNP- Messwert dieser Studie ein korrespondierender Kreatinin- Wert vor. Auf die technischen Einzelheiten des angewendeten Kreatinin- Messverfahren soll hier nicht weiter eingegangen werden.

2.4 Abstoßungsreaktionen nach Herztransplantation

Bei der retrospektiven Datenerfassung wurden Episoden als akutes Abstoßungsereignis aufgefasst, wenn eine immunsuppressive Akuttherapie (z.B. eine Glukokortikoid-Stoßtherapie) eingeleitet wurde.

Die Feststellung eines akuten Abstoßungsereignisses erfolgte unter Berücksichtigung des klinischen Bildes, der Befunde nicht- invasiver apparativer Untersuchungsverfahren (EKG, transthorakale Echokardiographie) sowie unter Einbezug von kardialen Enzymen (Kreatininkinase, Troponin) und -wenn vorliegend- den Befunden der Endomyokardbiopie (EMB). Aufgrund des retrospektiven Studiendesigns ist davon auszugehen, dass in der jeweiligen Entscheidungsfindung die erhobenen BNP- Werte bekannt waren, die behandelnden Ärzte waren *nicht* gegenüber der BNP- Bestimmung verblindet.

Für die hier interessierende Betrachtung des BNP- Verhaltens während Abstoßungsreaktionen wurden nur die akuten Abstoßungsreaktionen berücksichtigt, welche sich nach Beginn der BNP- Messungen im Oktober 2004 ereigneten.

So wurden insgesamt 29 akute Abstoßungsreaktionen bei 19 Patienten mit verfügbaren zeitgleich erhobenen BNP- Messwerten erfasst. In 14 Fällen wurde die Diagnose histologisch gesichert, bei den übrigen 15 Ereignissen wurde die Diagnose aus der Kombination von klinischem Verlauf, Echokardiographie, Sonographie und Seromarkern abgeleitet.

Zur Evaluation der Diagnostik akuter Abstoßungsvorgänge mittels BNP wurden 'Receiver Operating Characteristic' (ROC) – Verfahren angewandt: Mit diesem Verfahren konnte die dichotome Entscheidungen (akute Abstoßung / keine Abstoßung) bei stetigen BNP-Werten mit diagnostischer Wertigkeit belegt werden ⁽¹³⁵⁾. Das Ergebnis wird im Folgenden als Sensitivität, Spezifität, Fläche unter der daraus resultierenden Kurve ($AUC \approx$ Trennschärfe), dazugehöriger Signifikanz und Konfidenzintervall der AUC ausgegeben.

Als rechnerischer Ausgangspunkt für die ROC- Analyse bieten sich zwei gedankliche Verfahren an: Zum einen können BNP- Werte betrachtet werden, welche während akuter Abstoßungsereignisse bestimmt wurden, und gegen die Referenz (BNP- Werte dieser Studie, die nicht während Abstoßungsereignissen bestimmt wurden) ausgewertet werden. In vorliegender Studie liegen 171 BNP- Messwerte bei Abstoßungsereignissen vor. Dieses klinisch orientierte Verfahren evaluiert das Verhalten des BNP bei akuten Abstoßungsreaktionen unabhängig von der Art der Diagnosestellung der Abstoßungsreaktion. Ein solches Verfahren wurde u.a. in den Arbeiten von Geiger et al.⁽³⁶⁾ oder Claudius⁽²⁶⁾ angewendet.

Ein anderes Vorgehen dient vornehmlich dem Nachweis eines Zusammenhangs zwischen BNP- Messwerten und den histopathologischen Befunden der Endomyokardbiopsien (EMB). Es werden der BNP- Messung also Befunden eines Nachweisverfahrens zur Diagnostik akuter Abstoßungsvorgänge gegenübergestellt und nicht die schlussfolgernden Feststellung eines Abstoßungsereignisses. Ein ROC- Verfahren in diesem Setting wurde von mehreren vorangegangenen Publikationen angewendet^(39; 42; 103). In dieser Arbeit stehen für diesen rechnerischen Ansatz 90 BNP- Werte von 62 Patienten bei zeitgleich verfügbarem EMB- Befund zur Verfügung.

Es besteht jedoch ein statistisches Problem bei der Verwendung von ROC- Analysen in beiden o.g. Ansätzen. Das ROC- Verfahren kann sowohl bei gepaarten (abhängigen) als auch bei ungepaarten (unabhängigen) Stichproben durchgeführt werden, nicht jedoch bei einer Mischung gepaarter und ungepaarter Daten⁽¹²⁷⁾. Diese Situation findet sich jedoch bei der vorliegenden Datenstruktur, bei der wiederholte Messwerte und Biopsieergebnisse sowohl an denselben wie auch unterschiedlichen Patienten erhoben wurden.

2.5 Datenverarbeitung und Statistik

Zunächst erfolgt eine reine Beschreibung der gewonnenen Daten. Deskriptiv dargestellt werden die BNP- Messwerte im zeitlichen Abstand zur Transplantation, wobei ein Beobachtungsintervall von Oktober 2004 (Beginn der routinemäßig erfolgten BNP- Bestimmung am Kinderherzzentrum Gießen) bis August 2009 gewählt wird. Die Beobachtung besitzt für diesen Zeitraum Querschnittscharakter, da auch Patienten

erfasst wurden, welche vor 2004 herztransplantiert wurden (frühestens 1988). Für die Patienten, bei denen die Herztransplantation im Beobachtungsintervall (10/2004 – 08/2009) vorgenommen wurde, besteht zusätzlich ein Längsschnittcharakter für die ersten Jahre nach der Transplantation.

Für die Auswertung der Messwerte im zeitlichen Verlauf nach Herztransplantation ist die unterschiedliche Anzahl von Messwerten pro Zeitintervall problematisch: Patienten mit klinisch unkompliziertem Verlauf erscheinen nur in den in der Regel vorgegebenen Abständen zu Kontrolluntersuchungsterminen, bei denen jeweils ein BNP- Wert bestimmt wurde. Patienten hingegen, bei denen es zu Komplikationen (z.B. Abstoßungsreaktionen, rezidivierende Infektionen, etc.) gekommen war, wurden häufiger vorstellig, waren öfter und länger hospitalisiert und es wurden pro Zeitintervall mehr BNP- Werte gemessen und dokumentiert.

Um eine statistische Verzerrung zugunsten kränkerer Patienten zu vermeiden, werden daher für die Auswertung Mittelwerte pro Patient und Zeitintervall gebildet. Da die BNP-Plasmakonzentrationen einzelner Patienten in dieser Betrachtung keiner Normalverteilung folgen, werden geometrische Mittel verwendet.

Die verwendeten Zeitintervalle werden als angefangene Jahre definiert: Das Intervall „Jahre 2-5 nach Herztransplantation“ beginnt folglich mit Messwerten, die ab dem 366. Tag nach Herztransplantation bestimmt wurden und schließt mit Messwerten bei genau 5 Jahren nach Transplantation. Die gewählten Zeitintervalle sind im Einzelnen:

Erstes Quartal	Tag 0 – 91
Zweites Quartal	Tag 92 - 182
Zweites Halbjahr	Tag 183 – 365
2 – 5 Jahre	Tag 366 – 5,0 Jahr
6 – 10 Jahre	Jahr 5,01 – Jahr 10,0
11 – 15 Jahre	Jahr 10,01 – Jahr 15,0
16 – 21 Jahre	Jahr 15,01 – Jahr 21,0
Jahre 0,5 – 15	Tag 183 – Jahr 15,0

Um eventuelle Einflüsse anderer Größen auf diese BNP- Mittelwerte pro Patient und Zeitintervall beurteilen zu können, wurden Mittelwerte für Kreatinin, GFR und Alter in o.g. Zeitintervallen bestimmt. Da anders als bei den BNP- Werten wir bei diesen Parametern keine logarithmische Normalverteilung fanden, verwendeten wir den Median als Lageparameter für Kreatinin, GFR und Alter.

Die Verteilung der BNP- Messwerte und der BNP-Mittelwerte pro Patient und Zeitintervall wird ausgehend vom Median beschrieben, Standardabweichung (SD) und Interquartil- Intervall (IQI) werden genannt. Da die BNP- Einzel- und Mittelwerte keiner Normalverteilung folgen (s.u.), wird auf eine Darstellung des arithmetischen Mittels mit dazugehörigem Konfidenzintervall verzichtet.

Bei der statistischen Berechnung von Unterschieden zwischen zwei Zeitintervallen wird ein der Verteilung der Zielvariablen entsprechender Test verwendet; hauptsächlich kommt der Mann- Whitney- U- bzw. Wilcoxon- Test (bei fehlender Normalverteilung) zur Anwendung. Zur Prüfung der Datenstruktur auf Normverteilung wird der Kolmogorov- Smirnov- Anpassungstest (bei $n > 50$ mit Lilliefors-Korrektur), bei sehr großen Stichproben vorwiegend Q-Q- und trendbereinigte Q-Q- Diagramme verwendet.

Bei Betrachtung derselben Patienten in zwei Zeitintervallen werden Testverfahren für gepaarte Stichproben angewendet (Wilcoxon- Test, bzw. t- Test für gepaarte Stichproben). Werden unterschiedliche Patienten in zwei Zeitintervallen miteinander verglichen, dann werden entsprechende Tests für unabhängige Stichproben durchgeführt (Mann-Whitney-U- Test bzw. t- Test für unabhängige Stichproben). Waren in letzterem Fall einzelne Patienten in beiden Zeitintervallen vertreten, so mussten sie aus einem der Intervalle ausgeschlossen werden.

Zusammenhänge werden (wegen fehlender Normalverteilung in mindestens einer der zu vergleichenden Variablen) ausschließlich durch Rangkorrelation nach Pearson errechnet. Signifikanz wird im Folgenden mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit $p < 0,05$ definiert, hochsignifikant sind Zusammenhänge mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit $p < 0,01$.

Die statistische Beratung und Überprüfung eigener Berechnungen erfolgte durch die Statistikberatung des Hochschulrechenzentrums der Justus Liebig Universität Gießen, eigene Berechnungen und Auswertungen wurden mit Excel 2007[®], Access 2007[®] und SPSS[®] 11.5 und 17.0 erstellt

3. Ergebnisse

3.1. Zeitlicher Verlauf der BNP- Werte nach Herztransplantation

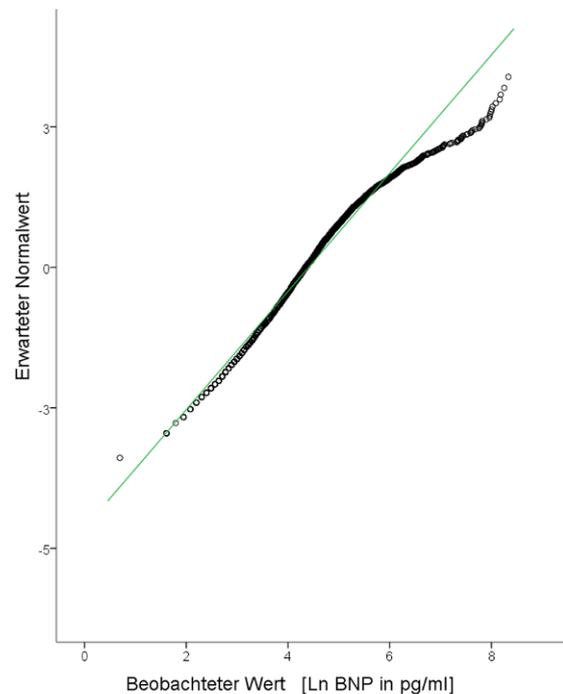
Grundsätzlich folgen die einzelnen BNP-Messwerte keiner Normalverteilung; Normalverteilung kann jedoch näherungsweise für die natürlichen Logarithmen der Serumkonzentrationen angenommen werden. Dieser Zusammenhang kann nebenstehendem Q-Q- Diagramm in Grafik 4 entnommen werden.

Aus diesem Grund ist bei der Verwendung von BNP- Mittelwerten das geometrische Mittel der geeignete Lageparameter, dieser entspricht mathematisch dem arithmetischen Mittel logarithmierter Werte.

Grafik 5 stellt die einzelnen BNP- Messwerte (2843 Einzelwerte) im zeitlichen Verlauf nach Herztransplantation dar; Grafik 6 gibt den Verlauf der bei 27 Patienten im ersten Jahr erhobenen Werte wieder (503 Einzelwerte).

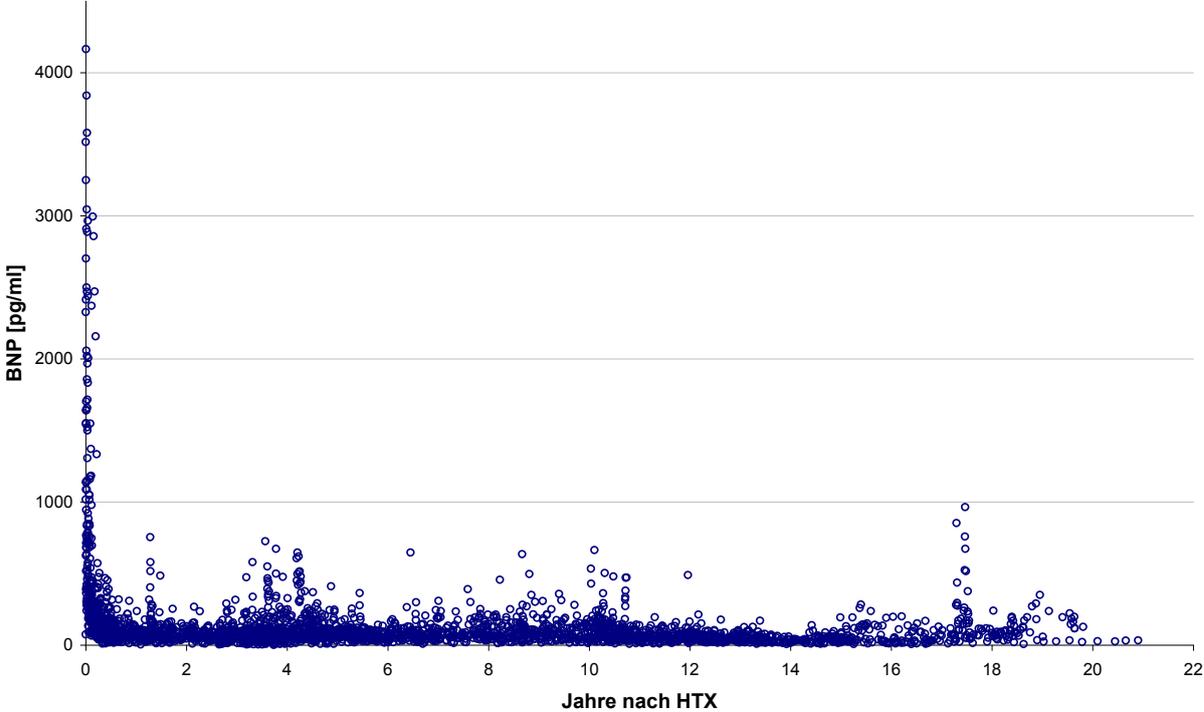
Einzelne Messwerte der ersten postoperativen Tage erreichen Spitzenwerte bis hin zu 4000 pg/ml. Bei 24 von 25 Patienten wurden bereits zwei Monate nach Herztransplantation keine Messwerte über 1000 pg/ml nachgewiesen. Bei einer Patientin zeigte sich ein verzögerter Abfall der BNP-Werte nach langer perioperativer Ischämiezeit (288 min). Bei keinen Patienten wurden ab 3 Monaten nach Herztransplantation im Langzeitverlauf noch Werte über 1000 pg/ml nachgewiesen (ausgenommen hiervon sind BNP- Werte, welche während akuter Abstoßungsreaktionen gemessen wurden: Diese Werte lagen wiederholt über 1000 pg/ml und werden in Kapitel 3.3 gesondert bewertet).

Die hohen BNP-Werte innerhalb der ersten 3 Monate nach Transplantation führen zu der oben dargestellten Abweichung aller logarithmierten Einzelwerte von der Normalverteilung. Im Umkehrschluss kann Normalverteilung für logarithmierte BNP-

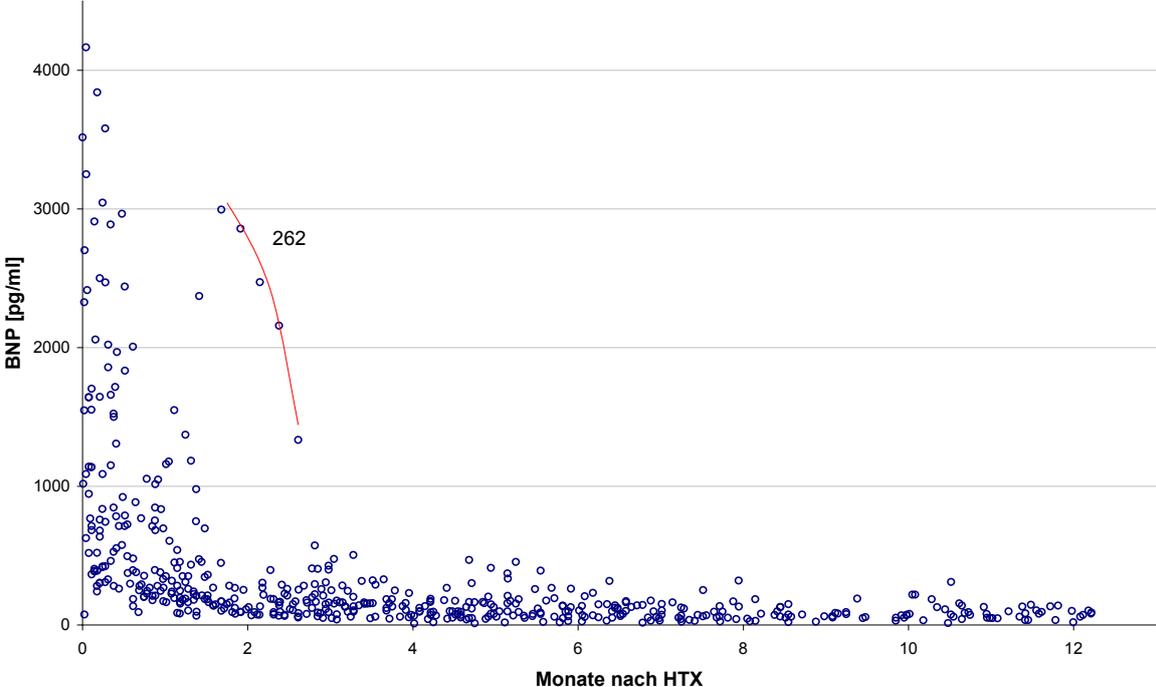


Grafik 4: Q-Q- Diagramm zur Darstellung beobachteter logarithmierter BNP- Einzelwerte (Kreise) und bei Normalverteilung erwartete Werte (Grade). Hohe BNP- Werte (e^6 - $e^8 \approx 400$ - 2000 pg/ml) wurden häufiger beobachtet als bei Normalverteilung zu erwarten wäre.

Werte angenommen werden, die später als 3 Monaten nach Herztransplantation bestimmt werden (siehe Q-Q- Diagramm, Grafik 4).

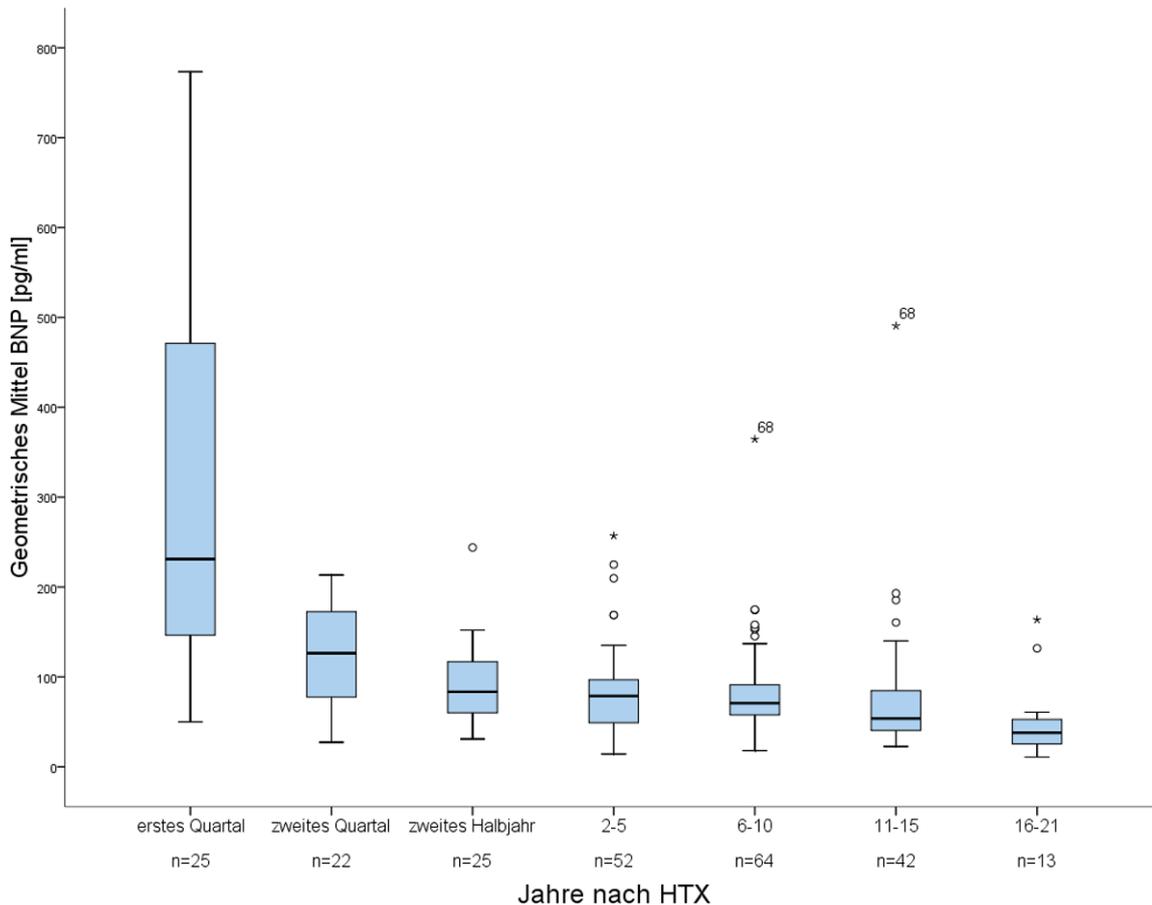


Grafik 5: BNP- Messwerte im zeitlichen Abstand zur Herztransplantation (n=110)



Grafik 6: BNP- Messwerte im ersten Jahr nach Herztransplantation (n=27), rot eingezeichnet ist der BNP-Verlauf einer Patientin (Einzelheiten siehe Text)

Um eine genauere Aussage über den Verlauf der BNP- Werte treffen zu können, wird im Folgenden die Betrachtung von Einzelwerten verlassen und BNP- Mittelwerte der Patienten in definierten Zeitintervallen betrachtet[†]; eine Übersicht über die Verteilung dieser BNP- Mittelwerte gibt Grafik 7 wieder.



Grafik 7: Box- Whisker Plots stellen die Verteilung der geometrischen BNP- Mittelwerte in definierten Zeitintervallen nach Herztransplantation dar. Kreise markieren Ausreißer, Sterne Extremwerte. Ein Extremwert von 2290 pg/ml im ersten Quartal nach Herztransplantation (HTX) ist der Skalierung wegen nicht dargestellt. Die BNP-Mittelwerte des Patienten 68 sind markiert (Einzelheiten siehe Text)

Die Verteilung der Intervall- Mittelwerte einzelner Patienten im ersten Quartal nach Herztransplantation folgt keiner Normalverteilung; deskriptiv befindet sich der Median bei 232 pg/ml, Ausreißer nach oben führen zu einer hohen Standardabweichung von 444 pg/ml. Ein Extremwert von 2290 pg/ml ist in Grafik 7 nicht dargestellt. Der niedrigste Mittelwert eines Patienten im ersten Quartal nach Transplantation liegt bei 50 pg/ml. Das IQI befindet sich zwischen 147 und 482 pg/ml.

[†]Hierbei handelt es sich um die geometrische Mittel der BNP- Werte pro Patient in den auf S. 36 definierten Zeitintervallen; diese werden im Folgenden „Intervall- Mittelwerte“ genannt.

Ein Einfluss der perioperativen Ischämiezeit auf das mittlere BNP- Niveau in den ersten drei Monaten nach Transplantation kann nicht nachgewiesen werden (Spearman-Korrelation $r=,48$, $p=,11$).

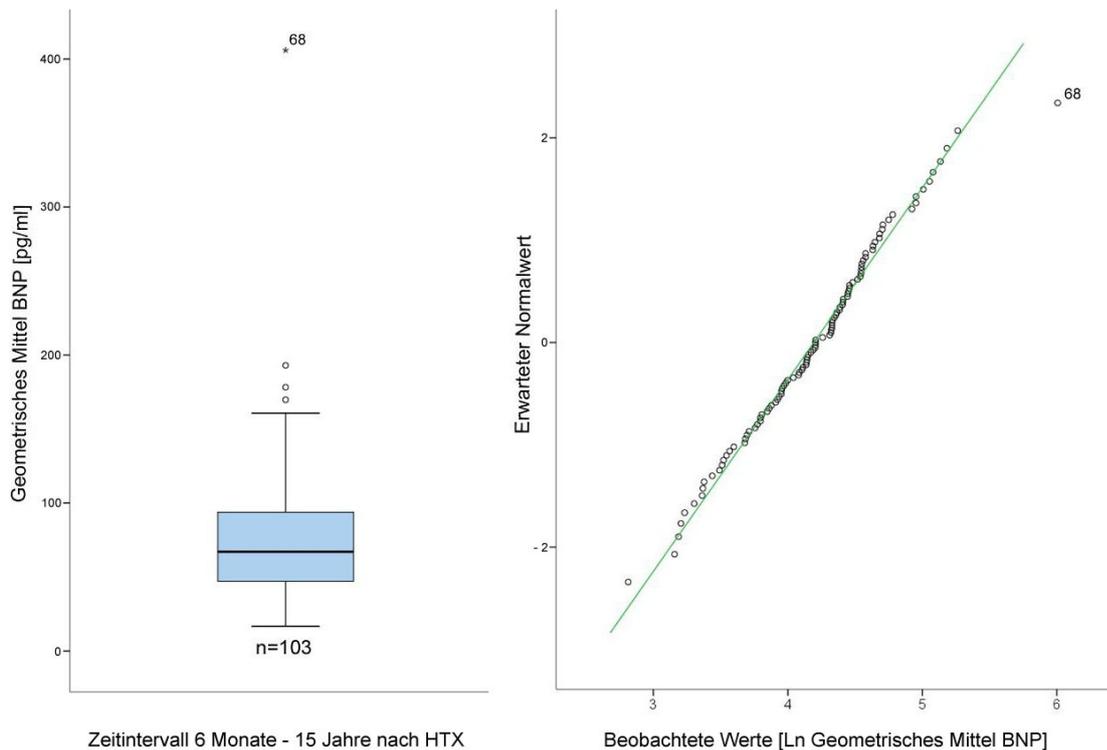
Im zweiten Quartal nach Transplantation befindet sich der Median der BNP- Intervall-Mittelwerte einzelner Patienten bei 126 pg/ml. Die Intervall- Mittelwerte liegen insgesamt dichter und folgen mit einer Standardabweichung von 57 pg/ml einer Normalverteilung. Das IQI befindet sich zwischen 77 und 174 pg/ml. Für 19 Patienten, von welchen Messwerte sowohl im ersten als auch im zweiten Quartal vorliegen, kann im Wilcoxon- Test ein hochsignifikanter Abfall des BNP mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von $p=,001$ angegeben werden.

Auch im zweiten Halbjahr nehmen Median und Streuung der Intervall- Mittelwerte noch einmal auf 83 ± 47 pg/ml ab. Der maximale Intervall- Mittelwerte eines Patienten beträgt in diesem Zeitintervall 244 pg/ml, das minimale 31 pg/ml, das IQI verläuft zwischen 57 – 119 pg/ml. Normalverteilung kann auch hier angenommen werden ($p=,886$), so dass für 19 Patienten, von welchen sowohl BNP-Messwerte im zweiten Quartal als auch im zweiten Halbjahr nach Herztransplantation vorliegen, ein signifikanter Rückgang der Werte im t-Test für gepaarte Stichproben ($p=,005$) errechnet werden kann.

Da zwischen der Verteilung der Intervall- Mittelwerte einzelner Patienten in den Intervallen „zweites Halbjahr“, „2-5 Jahre“, „6-10 Jahre“ und „11-15 Jahre“ nach Herztransplantation kein signifikanter Unterschied besteht, werden diese gemeinsam beschrieben: In diesem aus deren Zusammenfassung entstehenden langen Zeitintervall „0,5-15 Jahre nach Herztransplantation“ liegt der Altersdurchschnitt der 103 berücksichtigten Patienten bei 9,6 Jahren. Die BNP- Intervall- Mittelwerte zeigen keine Normalverteilung, der Median befindet sich mit einer SD von 49 pg/ml bei 67 pg/ml. Das IQI erstreckt sich von 47 bis 94 pg/ml. Der minimale Intervall- Mittelwerte eines Patienten beträgt 24 pg/ml, ein Ausreißer bildet das Maximum von 406 pg/ml. Hierbei handelt es sich um einen Patienten (Patient 68), welcher im 12ten Jahr nach Herztransplantation aufgrund terminalen Graftversagens erneut transplantiert werden musste. Nach der erneuten Herztransplantation scheidet der Patient aus dieser Betrachtung aus. Der hier betrachtete der Intervall- Mittelwerte dieses Patienten

entspricht der Zeit vor erneuter Herztransplantation mit klinisch signifikanter Herzinsuffizienz.

Grafik 8 zeigt die Verteilung der BNP- Mittelwerte pro Patient in dem langen Zeitintervall „0,5-15 Jahre nach Herztransplantation“ und verdeutlicht, dass sich das BNP- Niveau von Patient 68 deutlich von den übrigen 102 Patienten absetzt, für die nach logarithmischer Transformierung der Intervall- Mittelwerte Normalverteilung gilt.



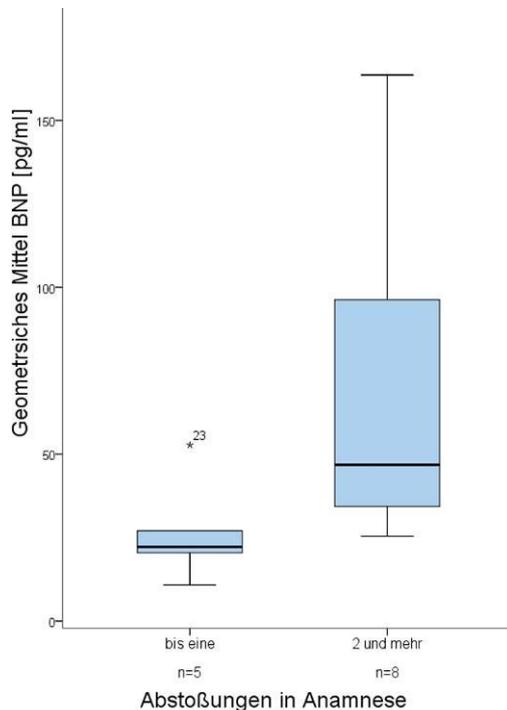
Grafik 8: BNP- Intervall- Mittelwerte einzelner Patienten in dem langen Zeitintervall „0,5-15 Jahre nach Herztransplantation“. *Links:* Box- Whisker Plot stellt die Verteilung der geometrischen BNP- Mittelwerte dar. Kreise markieren Ausreißer, Sterne Extremwerte. Der BNP-Mittelwert von Patient 68 ist markiert. *Rechts:* Das Q-Q- Diagramm der logarithmierten BNP- Intervall- Mittelwerte stellt beobachtete (Kreise) und bei Normalverteilung erwartete Werte (Gerade) in Beziehung

Mittels Mann- Whitney- U- Test finden sich im Zeitintervall „0,5-15 Jahre nach Herztransplantation“ (unter Einschluss von Patient 68) gegenüber dem Zeitintervall „zweiten Quartal nach Herztransplantation“ signifikant niedrigere Werte ($p=,02$). Gleiches gilt auch für den Vergleich mit dem Zeitintervall „erstes Quartal nach Herztransplantation“: Mit diesem Vergleich lassen sich hier hochsignifikant niedrigere Werte ($p <,001$) nachweisen.

Mittels Rangkorrelation ist kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Anzahl erfolgter Abstoßungsereignisse und den Intervall- Mittelwerten der 103 Patienten im

Zeitintervall „0,5-15 Jahre nach Herztransplantation“ darstellbar (Spearman; $r=,127$; $p=,202$). Negativ mit den Intervall- Mittelwerten korreliert in diesem langen Zeitintervall jedoch das mittlere Patientenalter (Spearman; $r=-,327$; $p=,001$). Da Patienten mit zunehmendem Abstand zur Transplantation naturgemäß älter werden, muss für diese Betrachtung das Alter um die nach Herztransplantation verstrichene Zeit korrigiert werden. Das mittels partieller Korrelation bereinigte Ergebnis zeigt keinen signifikanten Zusammenhang zwischen mittlerem Alter und mittlerem BNP mehr (Spearman; $r=-,11$; $p=,25$).

Bei nur 13 der Patienten lagen Intervall- Mittelwerten für das sehr späte Beobachtungsintervall „16 - 21 Jahre nach Herztransplantation“ vor: Der Median hier liegt mit 38 ± 48 pg/ml noch einmal niedriger als in dem Intervall „0,5-15 Jahre nach Herztransplantation“. Es liegt keine Normalverteilung vor: 11 Patienten zeigen Mittelwerte bis 60 pg/ml, für zwei Patienten ergeben sich mit 130 und 160 pg/ml deutlich höhere Mittelwerten. Bei einem der beiden Patienten bestand zum Zeitpunkt der Bestimmung der deutlich erhöhten BNP- Werte eine Niereninsuffizienz (minimale GFR nach Schwartz von $33 \text{ ml/min/1,73m}^2$), der zweite Patient hatte zuvor zwei akute



Grafik 9: BNP Intervall- Mittelwerte in den Jahren 16 – 21 nach Herztransplantation in Abhängigkeit der Anzahl vorangegangener Abstoßungsreaktionen

Abstoßungsreaktionen erlitten.

Dennoch zeigen sich - im Vergleich mit dem Intervall „0,5-15 Jahre nach Herztransplantation“- in den späten Jahren 16 - 21 nach Herztransplantation signifikant niedrigere BNP- Intervall- Mittelwerten (Mann- Whitney- U, $p=,0004$). Dieses Ergebnis ändert sich auch bei Ausschluss von Patient 68 nicht.

Bei den 13 Patienten mit Messwerten im Intervall „16 - 21 Jahre nach Herztransplantation“ kann ein Einfluss vorangegangener Abstoßungsreaktionen (AR) auf die Intervall- Mittelwerte der Patienten dargestellt werden: Die Intervall- Mittelwerten der Patienten ohne oder mit

maximal einer AR in der Vergangenheit lagen signifikant niedriger als die von Patienten mit mehreren erlittenen AR.

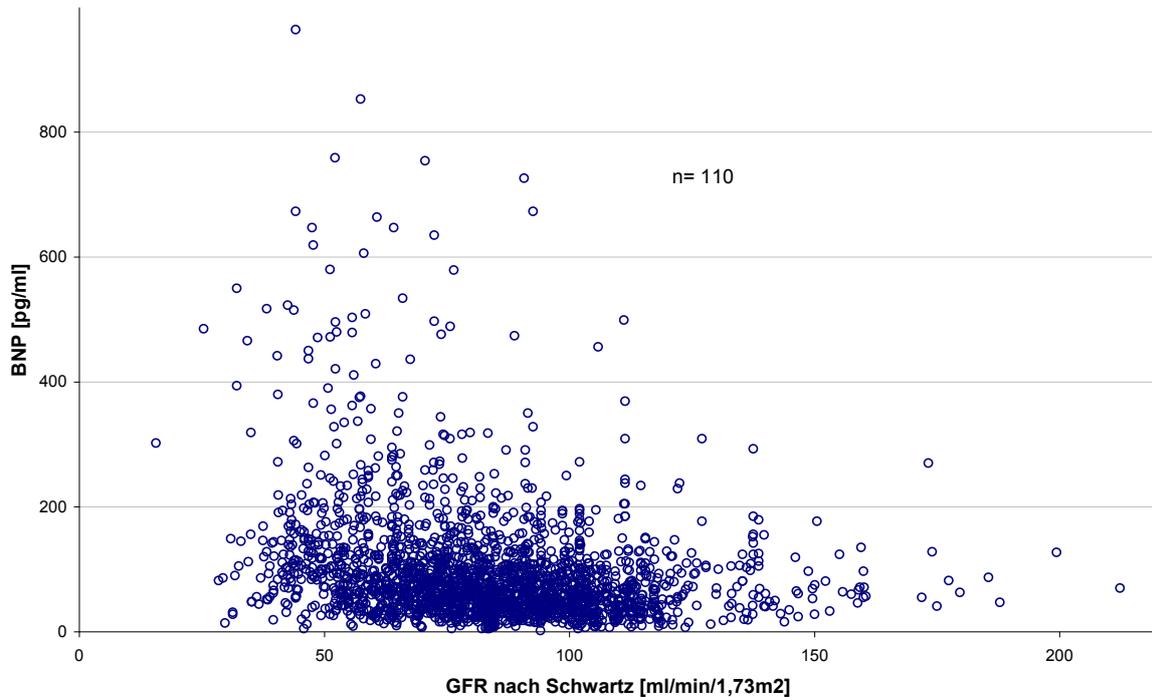
Es besteht ein direkter Zusammenhang zwischen Anzahl vorangegangener Abstoßungsreaktionen und Intervall- Mittelwerten: Die Rangkorrelation ergibt hierzu einen signifikanten Korrelationskoeffizienten von $r=,608$ (Spearman $p=,027$).

Zusammenfassend lassen sich für den BNP- Verlauf bei Kindern nach Herztransplantation folgende Feststellungen treffen:

1. BNP- Einzelwerte sinken innerhalb der ersten 3 Monate nach Herztransplantation auf Werte unter 1000 pg/ml.
2. Die natürlichen Logarithmen der BNP- Einzelwerte zeigen ab 6 Monaten nach Transplantation Normalverteilung.
3. Normalverteilung lässt sich auch für die natürlichen Logarithmen der über Zeitintervallen gemittelten BNP- Einzelwerte pro Patient ab dem 4ten Monat nach Herztransplantation darstellen.
4. Für den langen, und in seinem zeitlichen Verlauf stabilen, Beobachtungszeitraum „0,5-15 Jahre nach Herztransplantation“ kann für die gemittelten BNP- Messwerte einzelner Patienten ein Median von 67 pg/ml angegeben werden.
5. In diesem Zeitintervall („0,5-15 Jahre nach Herztransplantation“) besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen den gemittelten BNP- Werten der einzelnen Patienten und der Anzahl vorangegangener Abstoßungsreaktionen.
6. Die niedrigsten BNP- Werte werden bei Patienten mit einem zeitlichen Abstand von mehr als 15 Jahren nach Herztransplantation beobachtet; dann korreliert die Anzahl vorangegangener Abstoßungsereignisse mit dem mittleren BNP- Niveau.

3.2. BNP und Nierenfunktion

Bei 110 pädiatrischen Patienten wurde zeitgleich bei nahezu allen BNP- Messungen der Kreatinin- Serumspiegel bestimmt und mittels Schwartz- Formel ⁽¹⁰⁷⁾ ein geschätzter Wert für die glomeruläre Filtrationsrate erzeugt (Siehe S.23).



Grafik 10: Abhängigkeit 2267 einzelner BNP- Messwerte von der geschätzten Filtrationsrate bei 110 pädiatrischen Patienten nach dem ersten halben Jahr nach Herztransplantation.

Bei diesen Patienten wurden 2629 BNP- Kreatinin-, bzw. BNP- GFR- Wertepaare miteinander verglichen. Wertepaare, die zeitgleich zu festgestellten akuten Abstoßungsreaktionen (siehe unten) ermittelt wurden, wurden für diese Betrachtung ausgeschlossen.

Ähnlich wie bei der Betrachtung der BNP- im zeitlichen Verlauf nach Herztransplantation birgt diese Betrachtung die Gefahr der statistischen Verzerrung, da Wertepaare unterschiedlicher Patienten in unterschiedlicher Anzahl in die Berechnung eingehen würden. Um diesen Fehler zu vermeiden, wird im Folgenden für jeden Patienten für definierte Zeitintervalle (siehe S.26) ein Kreatinin- bzw. GFR- Mittelwert berechnet, welche mit den oben beschriebenen (geometrischen) BNP- Intervall-Mittelwerten korreliert werden. Tabelle 7 gibt diese Zusammenhänge wieder. Es zeigt sich, dass keine Korrelation zwischen den Intervall- Mittelwerten für BNP und Kreatinin besteht. Zwischen den BNP-Werten und der Nierenfunktion, bestimmt als

GFR, zeigen sich in lediglich zwei der sieben dargestellten Zeitintervalle signifikante Zusammenhänge.

Korrelation	Jahre nach Herztransplantation						
	Erstes Quartal n=25	Zweites Quartal n=23	Zweites Halbjahr n=25	2-5 n=53	6-10 n=64	11-15 n=42	16-21 n=13
BNP- Krea	r=-,078 p=,709	r=,322 p=,134	r=,159 p=,449	r=-,098 p=,485	r=,231 p=,066	r=,190 p=,235	r=,519 p=,069
BNP- GFR	r=-,025 p=,904	r=-,554 ** p=,006	r=-,310 p=,132	r=-,274 * p=,047	r=-,375 p=,002	r=-,247 p=,120	r=-,412 p=,162
BNP- Alter	r=-,162 p=,440	r=-,135 p=,538	r=-,083 p=,693	r=-,351** p=,010	r=-,097 p=,446	r=-,209 p=,185	r=,385 p=,194

Tabelle 7: Darstellung der Korrelation zwischen BNP- Intervall- Mittelwerten in den verschiedenen Beobachtungsintervallen nach Herztransplantation und identisch gemittelten Nierenfunktionsparametern einzelner Patienten bzw. dem gemittelten Alter. Krea = Kreatinin, * signifikant, ** hochsignifikant

Um das Verhältnis zwischen Nierenfunktion und BNP-Messwerten unabhängig von relativ willkürlichen Intervallsetzungen zu untersuchen, wird dieser Zusammenhang zusätzlich für das lange bzw. zusammengefasste Nachuntersuchungsintervall „0,5 – 15

Jahre nach Herztransplantation“ geprüft, das durch stabile BNP- Werte gekennzeichnet ist (siehe oben, Kapitel 3.1). Die Verteilung der geometrischen BNP- Intervallmittelwerte kann Grafik 8 (S.32) entnommen werden, diese werden nun mit dem analog gebildeten Kreatinin- und GFR- Intervall- Mittelwerten verglichen.

Die Korrelationskoeffizienten für diese Betrachtung zeigt

Tabelle 8: Es wird ein inverser Zusammenhang zwischen den BNP-Werten und der glomerulären Filtrationsleistung ersichtlich. Für den

Nierenfunktionsparameter Kreatinin konnte ein Einfluss auf die gemittelten BNP-Werte nicht signifikant nachgewiesen werden.

Korrelation Intervall „0,5 – 15 Jahre nach HTX“ n=103	
BNP- Krea	r=-,090 p=,366
BNP- GFR	r=-,298 ** p=,002
BNP- Alter	r=-,327 ** p=,001

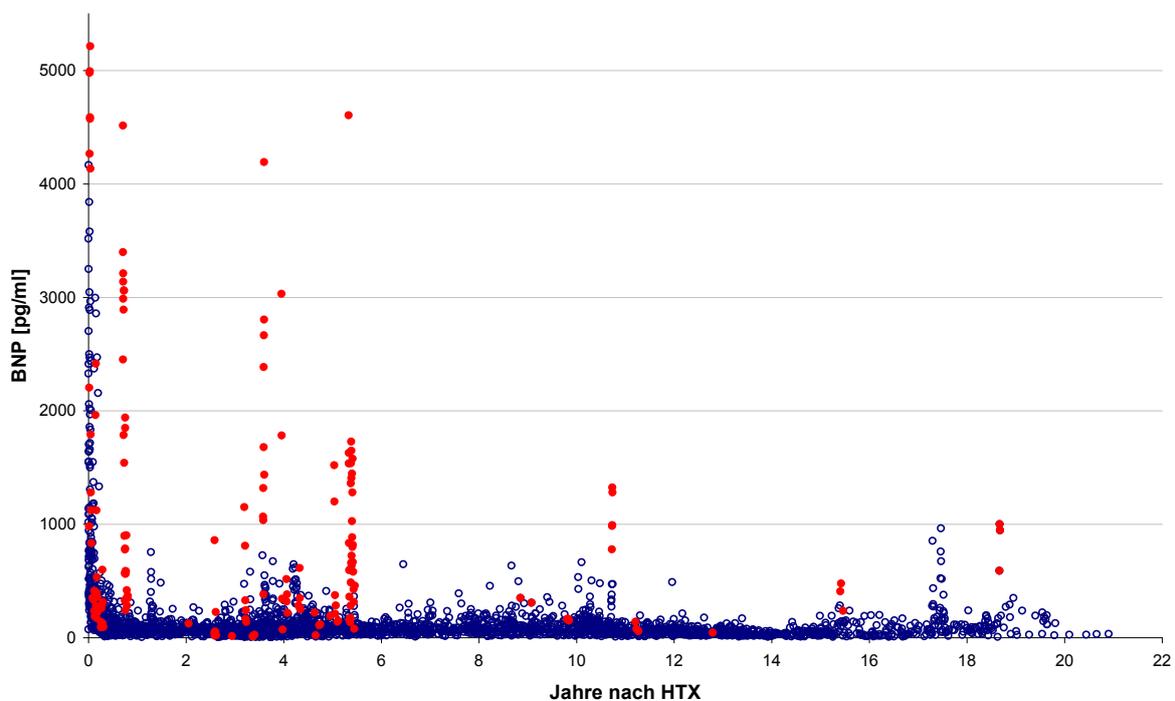
Tabelle 8: Korrelationen von gemittelten Kreatinin- und GFR- Werten bzw. dem Alter BNP- Intervallmittelwerten im Nachbeobachtungsintervall 0,5 – 15 Jahre nach Herztransplantation. Krea = Kreatinin, ** hochsignifikant

Zusammenfassend besteht bei pädiatrischen Patienten ein inverser Zusammenhang zwischen mittleren BNP- Werten und mittleren glomerulären Filtrationsraten. Dieser Zusammenhang kann für das Nachbeobachtungsintervall „0,5 – 15 Jahre nach Herztransplantation“, für das stabile BNP- Werte im zeitlichen Verlauf beschrieben wurden (siehe oben), nachgewiesen werden.

3.3. BNP bei akuten Abstoßungsreaktionen

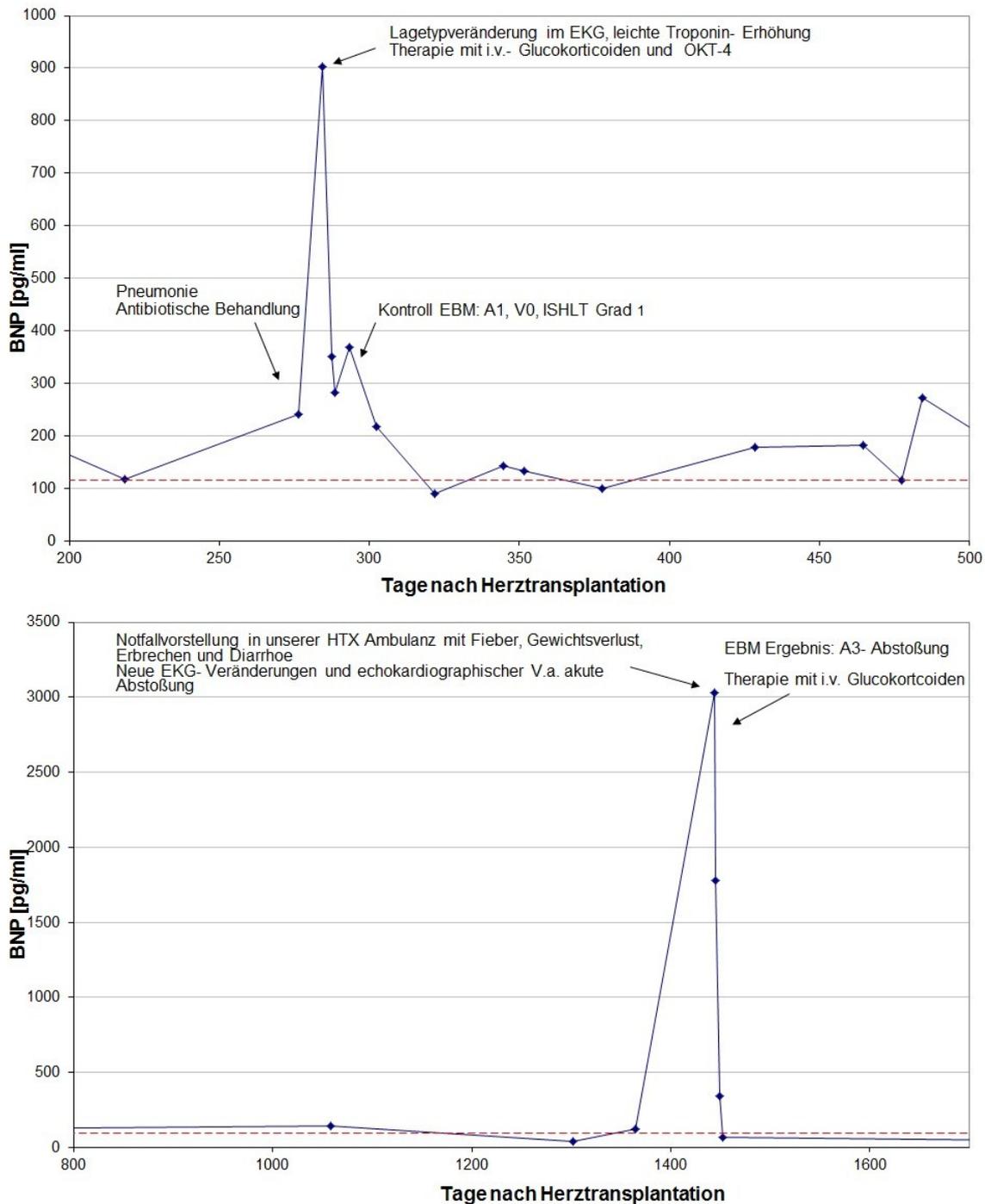
Wie in Kapitel 2.4 beschrieben, können für die Evaluation von BNP- Werten bei akuten Abstoßungsreaktionen (AR) zwei unterschiedliche methodische Ansätze zur Anwendung kommen: Es kann das Verhalten des kardialen Hormons entweder bei Feststellung einer AR unabhängig von der Art der Diagnosestellung (hierbei werden auch klinisch diagnostizierte und mittels nichtinvasiver Verfahren bestimmte AR-Episoden berücksichtigt) oder in Abhängigkeit des Endomyokardbiopsie (EMB)- Befundes untersucht werden. Zunächst erfolgt die Betrachtung des BNP bei klinischer Diagnosestellung, im Anschluss folgt der Vergleich der BNP- Werte mit histopathologischen Befunden der EMB.

Im Beobachtungszeitraum erlitten 19 Patienten 29 klinisch und / oder bioptisch diagnostizierte AR, zu denen BNP- Messwerte erhoben wurden. Ein Patient (Patient 246) litt an wiederholten akuten Abstoßungsreaktionen, er ist mit insgesamt acht Ereignissen berücksichtigt. Zeitlich zu den 29 AR wurden 161 BNP- Werte registriert, wobei (mit Ausnahme von Patient 246) Messwert bis 10 Tage vor und maximal 20 Tage nach klinischer Diagnosestellung betrachtet werden. Grafik 11 stellt diese Einzelwerte gegenüber der Gesamtheit aller übrigen 2843 BNP- Werte dieser Studie dar.



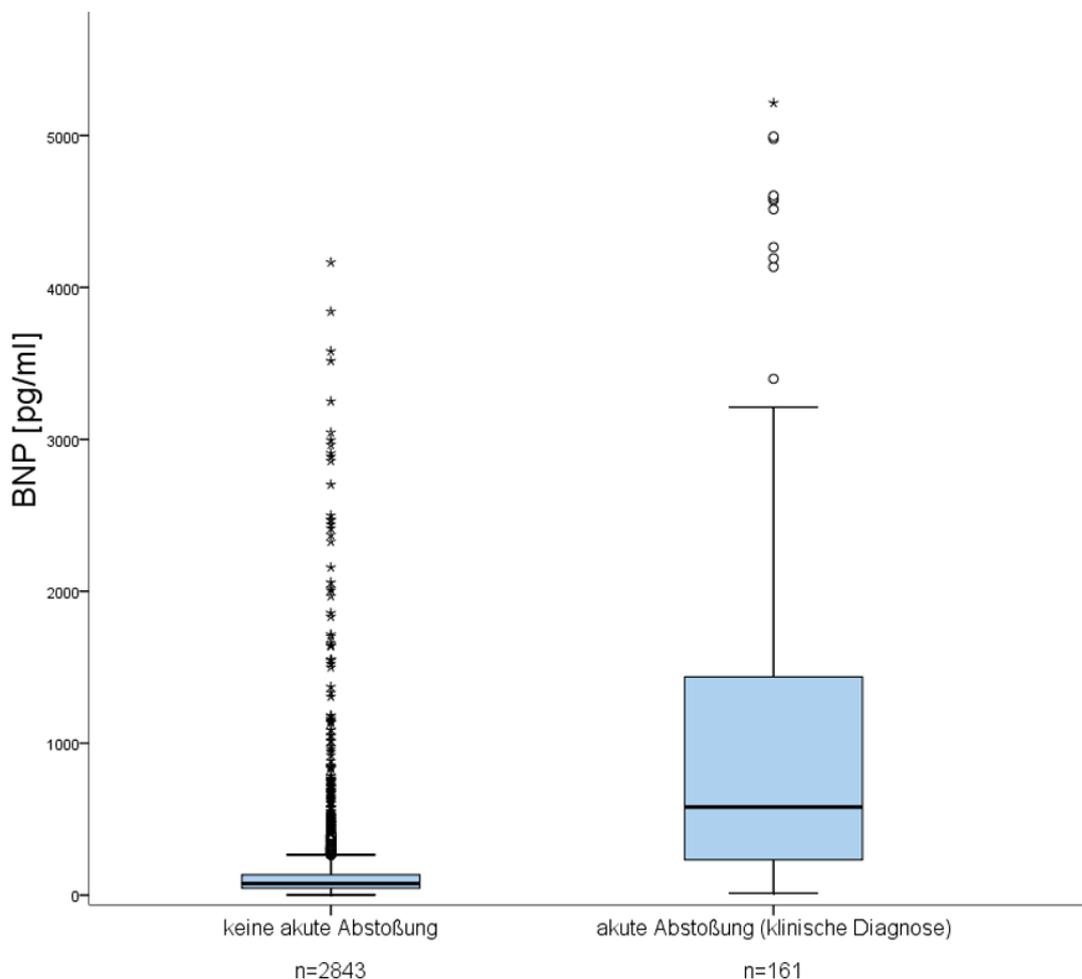
Grafik 11: BNP- Messwerte im zeitlichen Abstand zur Herztransplantation (n=110); rote Punkte stellen BNP- Werte im zeitlichen Zusammenhang mit akuten Abstoßungsreaktionen dar, blaue Kreise markieren Werte ohne einen solchen Bezug.

Es wird ersichtlich, dass der Verlauf der BNP- Messwerte einzelner Patienten bei akuten Abstoßungsereignissen einen sprunghaften Anstieg zeigen kann; dieser Anstieg erscheint interindividuell unterschiedlich stark ausgeprägt. Grafik 12 zeigt exemplarisch den Verlauf der BNP- Werte von zwei Patienten während akuter Abstoßungsereignisse.



Grafik 12: BNP-Werte im Verlauf bei zwei Patienten während akuter Abstoßungsereignisse. Die gestrichelte Linie entspricht dem individuellen BNP- Mittelwert des Patienten in der Zeit ohne Hinweis auf ein akutes Abstoßungsereignis. (Beachte die unterschiedliche Skalierung der Grafiken.)

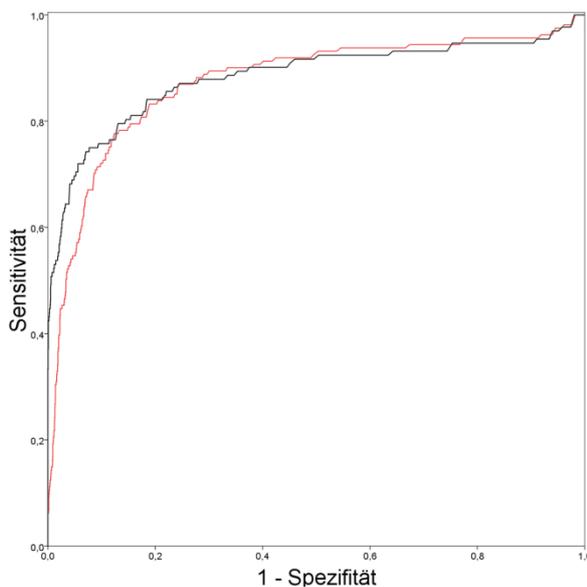
Es wird ersichtlich, dass BNP- Einzelwerte im Zusammenhang mit akuten Abstoßungsreaktionen aus dem in Kapitel 3.1 beschriebenen zeitlichen Verlauf des BNP nach Herztransplantation herausfallen. Deskriptiv zeigt die Gesamtheit der bei Abstoßungsreaktionen erfassten BNP-Werte eine hohe Streuung (SD=1220 pg/ml) mit Maximalwerten um 5000 pg/ml und überschreiten auch 3 Monaten nach Herztransplantation wiederholt die 1000 pg/ml- Marke. Ohne den Kontext eines Abstoßungsereignisses finden sich ab 3 Monaten nach Herztransplantation keine Einzelwerte > 1000 pg/ml mehr. Zwischen der Verteilung aller BNP- Werte, welche während akuter Abstoßungsreaktionen erfasst wurden, und der Gesamtheit aller BNP- Werte nach Herztransplantation ohne einen solchen Bezug kann im Mann- Whitney- U Test ein hochsignifikanter Unterschied ($p < ,001$) errechnet werden. Grafik 13 stellt diese beiden Verteilungen gegenüber.



Grafik 13: Box- Whisker Plots der BNP- Einzelwerte von 19 Patienten bei akuten Abstoßungsreaktionen im Vergleich zur Gesamtheit aller BNP- Messwerten von 110 Patienten ohne den Kontext eines Abstoßungsereignisses. Kreise stellen Ausreißer, Sterne Extremwerte dar. Die Extremwerte der Gruppe ohne akute Abstoßungsreaktionen entsprechen zum Großteil den erhöhten BNP- Werten in den ersten Wochen nach Herztransplantation. Ab drei Monaten nach der Transplantation treten keine Werte größer 1000 pg/ml auf (s.o.).

Schließt man aus beiden Verteilungen die BNP-Werte der ersten drei Monate nach Herztransplantation aus (hier waren gegenüber der nachfolgenden Zeit erhöhte Werte bestimmt worden, siehe Kapitel 3.1), so lässt sich dieser Zusammenhang noch deutlicher zeigen ($p < .001$). Es sei darauf hingewiesen, dass es sich bei dieser Betrachtung um eine Vermengung von abhängigen und unabhängigen Stichproben handelt (die einzelnen Patienten werden in unterschiedlicher Häufigkeit berücksichtigt) und diese sowie die sich anschließende ROC- Statistik einen rein deskriptiven Charakter besitzen.

Das ROC- Verfahren der 161 BNP- Werte bei akuten Abstoßungsreaktionen gegenüber der Referenz aus der Gesamtheit aller nach Herztransplantation erfasster BNP- Werte ohne den Zusammenhang einer AR (2843 Einzelwerte) zeigt eine Fläche unter der Kurve (AUC) von 0,873 ($p < .001$; Konfidenzintervall AUC ,838 - ,908,). Die rote Kurve in Grafik 14 zeigt den Zusammenhang von Spezifität und Sensitivität bei verschiedenen Grenzwerten.



Grenzwert BNP [pg/ml]	Spezifität	Sensitivität
75	,534	,917
100	,684	,879
150	,845	,811
185	,901	,758
200	,916	,750
250	,949	,697
300	,963	,644
400	,980	,553
500	,990	,515

Grafik 14: *links*: ROC- Kurve stellt das Verhältnis von Sensitivität und Spezifität zur Detektion akuter Abstoßungsreaktionen aller Werte (rote Kurve) und nach Ausschluss der ersten 3 Monate nach Herztransplantation (schwarze Kurve) dar. *rechts*: Ausgewählte Grenzwerte zur Detektion akuter Abstoßungsreaktionen unter Ausschluss der ersten 3 Monate nach Herztransplantation, welche sich aus nebenstehender schwarzer Kurve ergeben.

Im engeren Sinne ist ein ROC- Verfahren bei der Vermengung abhängiger und unabhängiger Stichproben nicht zulässig. Daher wird nun (wie auch in den vorhergegangenen Kapiteln) für die Patienten, bei welchen BNP- Werte während akuter Abstoßungsreaktionen vorhanden waren, jeweils ein Mittelwert der BNP- Werte bei

Abstoßung gebildet und dieser mit dem Mittelwert der aller BNP- Werte des Patienten ohne den Kontext einer Abstoßungsreaktionen verglichen. Um BNP- Erhöhungen aufgrund des frühen postoperativen Verlaufes (siehe Kapitel 3.1) auszuschließen, werden die ersten 6 Monaten nach Herztransplantation für diese Berechnung der jeweiligen BNP- Mittelwerte der einzelnen Patienten nicht berücksichtigt. Schlussendlich ergeben sich so 12 Patienten, für die sowohl BNP- Mittelwerte bei Abstoßungsereignissen also auch ohne den Kontext einer AR verfügbar sind[‡]. Tabelle 9 stellt diese Patientenmittel dar.

Patient- Nr.	BNP-Mittel bei AR [pg/ml]	Maximaler Einzelwert BNP bei AR [pg/ml]	BNP-Mittel ohne AR [pg/ml]
12	490	1001	132
51	43	43	48
87	140	140	108
113	164	164	142
231	189	458	86
246	483	4192	160
249	125	125	86
254	13	13	17
259	563	903	116
262	1227	1782	95
263	111	226	53
280	3228	4514	94

Tabelle 9: BNP- Mittelwerte von 12 pädiatrischen Patienten mit und ohne den Bezug einer Abstoßungsreaktion. AR = akute Abstoßungsreaktion.

Bei zwei Patienten (Nr. 51 und 254) wurde im Rahmen von AR geringfügig niedrigerer BNP- Werte nachgewiesen, als diese Patienten im weiteren Verlauf im Mittel aufwiesen. Bei vier Patienten (Patienten Nr. 87, 113, 249, 263) beträgt die Differenz der Mittelwerte weniger als 100 pg/ml. Bei den übrigen sechs Patienten wurden im Rahmen von Abstoßungsreaktionen BNP- Mittel erfasst, welche stark (> 100 pg/ml Differenz) gegenüber ihren eigenen BNP- Werten zu Zeiten ohne Abstoßungsreaktionen erhöht waren. Zwischen der Verteilung aller Mittelwerte der jeweiligen Patienten (BNP- Mittelwert mit AR vs. BNP- Mittel ohne AR) ergibt sich ein statistisch hochsignifikanter Unterschied (Wilcoxon Test für gepaarte Stichproben, $p = ,005$).

[‡] Um eine genauere Trennschärfe zu erzielen werden die Definitionen der Abstoßung enger gefasst: Bei der Berechnung der BNP- Mittelwerte einzelner Patienten bei Abstoßungsreaktionen werden nun nur noch BNP- Werte einen Tag vor und fünf Tage nach Diagnosestellung berücksichtigt. Dies führt zu einer Reduktion der Werte, so dass nun nur noch Werte von 12 Patienten vorliegen.

Der zweite methodische Ansatz zur Evaluation des Verhaltens der BNP- Werte bei AR ist der Vergleich der Werte mit dem histopathologischen Befund der Endomyokardbiopsie. Zu diesem Zweck wurden im Beobachtungszeitraum 90 Biopsien von 62 Patienten ausgewertet, bei denen zeitgleich[§] BNP- Werte bestimmt wurden. Die histologische Bewertung der Biopsien erfolgte nach den „alten“ (1990) Kriterien der ISHLT⁽²¹⁾, wobei 66 Biopsate den Grad 0 oder 1, acht Biopsate den ISHLT Grad 2, 12 Biopsate den Grad 3 und vier Gewebeproben den Grad 4 aufwiesen.

Da z.T. mehrere Biopsate einem Patienten zugeordnet sind (Vermischung abhängiger und unabhängiger Stichproben, s.o.) erfolgt die Auswertung rein deskriptiv.

Die Verteilung der 66 BNP- Messwerte ohne histopathologisch gesicherte Zeichen einer Abstoßungsreaktion (ISHLT- Grad 0 und 1) zeigt einen Median von 87 pg/ml (SD 524; IQI 53 – 132 pg/ml). Für die BNP- Werte bei bioptischem Nachweis einer Abstoßung (ISHLT- Grad 2 bis 4) wird ein Median von 100 pg/ml gefunden. Statistisch besteht kein Unterschied zwischen beiden Gruppen (Mann- Whitney- U- Test, p=,425). Ein orientierend durchgeführtes ROC- Verfahren zeigt eine AUC, welche sich der Diagonalen angleicht. Auch der Vergleich der ISHLT Grad 0-2 gegen 3/4 erhöht die AUC nicht bedeutend (AUC ,632 Konfidenzintervall AUC ,465 – 798).

Aus den vorliegenden Daten ergibt sich somit kein statistisch nachweisbarer Zusammenhang zwischen der Höhe von BNP- Einzelwerten und den Befunden von zeitgleich entnommenen Endomyokardbiopsien.

Zusammenfassend kann über das Verhältnis von BNP und akuten Abstoßungsreaktionen Folgendes festgehalten werden:

1. Bei klinischer Diagnosestellung akuter Abstoßungsreaktionen scheinen die BNP- Serumkonzentrationen im Mittel erhöht zu sein.
2. In 10 von 12 Fällen liegen die während einer Abstoßungsreaktion erhobenen mittleren BNP- Serumwerte über dem für - den individuellen Patienten typischen - BNP- Mittelwert, wobei nur in 6 dieser 12 Fälle ein bedeutender Unterschied von mehr als 100 pg/ml gemessen wurde.
3. Es besteht kein statistisch nachweisbarer Zusammenhang zwischen dem BNP- Wert und der Befund zeitgleich gewonnener Endomyokardbiopsien.

[§] Bei Routine- EMB erfolgte die stationäre Aufnahme mit Routine- Blutentnahme einen Tag vor Katheterintervention.

4. Diskussion

Als Ausgangspunkt für eine Evaluation der BNP- Bestimmung als Funktions- und Abstoßungsmarker nach Herztransplantation bedarf es einer Untersuchung der „Normalwerte“ des Hormons in diesem speziellen Anwendungsgebiet. Im Folgenden wird daher zuerst - ungeachtet der Hämodynamik und möglicher anderer Einflussvariablen – auf den beobachteten Zeitverlauf der Plasmaspiegel des kardialen Peptides nach Herztransplantation eingegangen.

4.1 BNP in den ersten 6 Monaten nach Herztransplantation

Vor Transplantation sind stark erhöhte BNP- Werte Ausdruck einer terminalen Herzinsuffizienz. Für das Zeitintervall der ersten Wochen nach Transplantation finden sich in der Literatur Angaben über initial erhöhte Werte, welche in den folgenden Wochen konsekutiv abfallen ^(7; 10; 42). Kirchhoff ⁽⁵¹⁾ beschrieb den Rückgang der Werte bei 12 erwachsenen Patienten während Lan et al. ⁽⁶³⁾ den Verlauf bei 44 pädiatrischen Patienten untersuchten und einen exponentiellen Rückgang der Plasmakonzentrationen innerhalb der ersten drei Monate auf Werte unter 100 pg/ml feststellten. Das größte Kollektiv, an dem dieser Trend bislang beschrieben wurde, besteht aus 144 erwachsenen Patienten ⁽¹⁰⁾. Das Absinken der BNP- Werte in den ersten Wochen nach Transplantation zeigte sich unabhängig von einzelnen hämodynamischen Parametern und echokardiographisch erhobenen linksventrikulären Funktionsparametern ^(10; 63).

Unsere Ergebnisse zeigen sich mit 110 pädiatrischen Patienten im Einklang mit diesen Publikationen: Die BNP- Werte sanken im ersten halben Jahr nach Herztransplantation, wobei ab drei Monaten nach Transplantation keine BNP- Einzelwerte größer 1000 pg/ml mehr auftraten, sofern kein Hinweis auf eine akuten Abstoßungsreaktion bestand (siehe unten). Das mittlere BNP- Niveau der Patienten in den Monaten 4 -6 nach Herztransplantation konnte mit 126 pg/ml ^{**} angegeben werden.

In einer eigenen vorausgegangenen Untersuchung mit der gleichen Fragestellung bei 41 erwachsenen Patienten ⁽⁹⁾ zeigte sich ein identischer Verlauf der BNP- Werte mit deutlichem Abfall der Werte nach Transplantation. Das mittlere BNP-Niveau in den Monaten 4 -6 nach Herztransplantation konnten wir in dieser Arbeit bei erwachsenen

^{**} Median der BNP- Intervall- Mittelwerte einzelner Patienten im Intervall 4 -6 Monate nach Herztransplantation

Patienten mit 163 pg/ml ^{††} angeben und kommt somit den hier beschriebenen Werten pädiatrischer Patienten sehr nahe.

Die pädiatrischen Patienten der hier vorliegenden Untersuchung zeigten in den ersten drei Monaten nach Transplantation höhere Einzelwerte als die erwachsenen Patienten (bis 4000 pg/ml gegenüber maximal knapp 2000 pg/ml bei erwachsenen Patienten); wir konnten zwischen den Patientengruppen jedoch keinen statistisch gesicherten Unterschied hinsichtlich des Rückgangs der BNP- Plasmaspiegel nach Herztransplantation feststellen.

Einen exponentiell verlaufenden Abfall der BNP- Werte nach Transplantation – wie von Lan et al. beschrieben ⁽⁶³⁾ – konnten wir in unseren Untersuchungen weder für unsere pädiatrischen noch für erwachsene Patienten ⁽⁹⁾ bestätigen, da wir Patientenmittel pro Zeitintervall betrachteten, Lan hingegen Einzelwerte. Entgegen Lan et al. fanden wir 14 Wochen nach Transplantation jedoch bei mehr als der Hälfte unserer pädiatrischen Patienten BNP- Einzelmessungen über 100 pg/ml. Dennoch spricht die von uns gezeigte Normalverteilung logarithmierter BNP- Einzelwerte indirekt für den von dem Autor beschriebenen exponentiellen Rückgang der BNP- Werte nach Transplantation.

Da im Blut zirkulierendes BNP eine Halbwertszeit von etwa 20 Minuten besitzt ⁽¹¹¹⁾, kann es sich bei dem Wochen andauernden Abfall der Werte nicht nur um den Rückgang der vor Herztransplantation (als Ausdruck einer terminalen Herzinsuffizienz) erhöhten BNP- Spiegel handeln. Ationu et al.⁽⁷⁾, welche die BNP- Expression nach Herztransplantation auf RNA- Ebene untersuchten, vermuteten einen Anpassungsmechanismus des Transplantates an die veränderten hämodynamischen Bedingungen nach Herztransplantation. Diese Vorstellung passt zu unserer Beobachtung sinkender BNP- Level im Langzeitverlauf (siehe unten). Ein ähnliches Phänomen lässt sich direkt nach Geburt und Umstellung auf die postnatale Zirkulation finden ⁽⁵⁷⁾: Auch nach Geburt zeigen sich bedeutsam erhöhte BNP- Werte, welche innerhalb der ersten Lebenswoche absinken und ihr Minimum im präpubertären Kindesalter finden.

^{††} Median der BNP- Intervall- Mittelwerte einzelner Patienten im Intervall 4 -6 Monate nach Herztransplantation

Das transplantierte Herz wird unmittelbar mit Beendigung der extrakorporalen Zirkulation und erstmaliger Perfusion akut belastet. So ist eine Abhängigkeit der ersten nach Transplantation bestimmten BNP- Werte von den intraoperativen Bedingungen und Parametern denkbar (z.B. Ischämiezeit, initialer Pulmonalarterienwiderstand, Gewichtsverhältnis von Organspender und -empfänger). Da nur bei wenigen unserer Patienten BNP- Werte der ersten 24 Stunden nach Transplantation vorlagen, konnten wir dies jedoch nicht detailliert untersuchen.

Es wurde jedoch berichtet, dass in den ersten 6 Monaten nach Herztransplantation hämodynamische Parameter wie linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF), pulmonalarterieller Verschlussdruck (PCWP) und rechtsatrialer Druck (RAP) nicht mit dem BNP- Spiegel korrelieren ⁽¹⁰⁾. Dies bedeutet, dass die BNP- Erhöhungen im frühen Verlauf nach Herztransplantation keinem hämodynamischem Korrelat folgen.

In vitro wurde beobachtet, dass die BNP- Genexpression in der Anwesenheit von pro-inflammatorischen Mediatoren ansteigt ^(30; 72), mittels Cytokin-Array konnte ebenso eine Korrelation zwischen Entzündungsmediatoren und BNP- Werten bei herztransplantierten Patienten demonstriert werden ⁽⁸⁵⁾. Unabhängig von hämodynamischen Faktoren könnte daher die beschriebene BNP-Erhöhung der ersten Monate nach Herztransplantation auf subklinisch- immunologische Prozesse im Myokard zurückzuführen sein.

4.2 BNP im Langzeitverlauf nach Herztransplantation

Über die ersten zehn Jahre nach Herztransplantation gleicht der Verlauf der BNP- Werte unserer hier untersuchten pädiatrischen Patienten den von uns zuvor untersuchten erwachsenen Patienten ⁽⁹⁾. Wenn dies auch nicht statistisch belegt werden kann, erscheinen die BNP- Intervallmittelwerte kindlicher Patienten nach den ersten drei Monaten schneller abzusinken, um ab 6 Monaten nach Herztransplantation für die folgenden 15 Jahre auf annähernd konstantem Niveau zu verbleiben. Für das Zeitintervall „2-5 Jahre nach Herztransplantation“ besteht für die BNP- Intervallmittelwerte beider Patientenkollektive (Kinder / Erwachsene) statistisch eine Verteilungsgleichheit mit einem Median von 79 pg/ml und 55 pg/ml. Diese Resultate liegen interessanterweise unter der 100 pg/ml Marke, welche zur Diagnostik der Herzinsuffizienz bei nicht- Transplantat- Empfängern verwendet wird ⁽⁷⁸⁾.

Im Vergleich der BNP- Werte unserer hier untersuchten pädiatrischen Patienten mit gesunden Kindern fanden sich für das relativ stabile Zeitintervall „6 Monate bis 15 Jahre nach Herztransplantation“ bedeutend erhöhte Werte: Bei einem mittleren Alter von 9,6 Jahren in diesem Beobachtungsfenster wäre für gesunde Kinder demnach ein Wert kleiner 10 pg/ml zu erwarten gewesen ⁽⁵⁷⁾, wohingegen der Median der gemittelten BNP- Werte unserer kindlicher Patienten bei 67 pg/ml lag.

Masters et al. ⁽⁸²⁾ beschrieben an einer sehr geringen Patientenzahl, dass bei jedem Patient im Verlauf nach Herztransplantation ein individuelles BNP- Muster vorzuliegen scheint. Dies bestätigen unsere Werte. Entgegen unserer initialen Vermutung zeigen unsere Daten jedoch keinen Einfluss der Anzahl vorangegangener Abstoßungsreaktionen auf die Höhe der im weiteren Verlauf erfassten BNP-Werte. Das Zugeständnis relativ individueller BNP- Level einzelner Patienten unterstreicht die Notwendigkeit, einzelne Messwerte herztransplantierte Patienten vor allem mit zuvor ermittelten eigenen Daten zu vergleichen (serielle Messung). So könnten akute Veränderungen wie Abstoßungsreaktionen (siehe unten) gegebenenfalls früher als durch den alleinigen Vergleich der Werte mit (kollektiv-) „Normwerten“ erkannt werden.

Bei nicht- herztransplantierten Patienten reflektieren hohe BNP- Werte ein erhöhtes Mortalitätsrisiko ^(68; 91). Bislang nicht evaluiert ist die Frage, ob nach Herztransplantation individuell hohe BNP- Level mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko oder einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für die Notwendigkeit eines zweites Transplantates einhergehen. Als Hinweis für einen solchen Zusammenhang können die erhöhten BNP- Werte des Patienten (Nr. 68) interpretiert werden, bei dem aufgrund terminalen Graftversagens eine zweite Herztransplantation im Beobachtungszeitfenster notwendig wurde. Zur definitiven Klärung dieser Frage bedarf es jedoch einer Endpunktstudie mit länger andauerndem Beobachtungszeitfenster.

Die niedrigsten BNP- Werte ermittelten wir im Langzeitverlauf bei Patienten mit mehr als 15 Jahren Abstand zur Transplantation. Der Trend sinkender BNP- Werte in den ersten Monaten und Jahren nach Transplantation wurde vorbeschrieben ^(10; 63; 82), für den weiteren zeitlichen Verlauf finden sich in der Literatur jedoch Berichte von erneut steigenden BNP- Werten. Klingenberg und Kollegen ⁽⁵⁴⁾ konnten nachweisen, dass die BNP- Spiegel der Patienten mit einem zeitlichen Abstand von $5 \pm 3,6$ Jahren nach

Transplantation signifikant niedriger sind als die BNP- Werte von Patienten $7,2 \pm 3,5$ Jahre nach Herztransplantation. In der gleichen Publikation wurde in der Subgruppe von Patienten mit erhöhten BNP- Werten neben dem längeren zeitlichen Abstand zur Transplantation eine signifikant erhöhte Rate von diastolischen Funktionsstörungen des transplantierten Organs, Transplantatvaskulopathie, Niereninsuffizienz und weiblichem Geschlecht der Transplantatempfänger nachgewiesen ⁽⁵⁴⁾. Auch Bader et al.⁽¹⁰⁾ konnten in der Subgruppe mit höheren BNP- Werten einen größeren zeitlichen Abstand zur Transplantation darstellen ($4,6 \pm 5,3$ Jahre) als in der Vergleichsgruppe mit niedrigen BNP- Werten ($3,5 \pm 4,1$ Jahre), eine Regressionsanalyse konnte steigende Werte im Langzeitverlauf jedoch nicht bestätigen.

Unsere Beobachtung konstant niedriger BNP- Spiegel nach mehr als 15 Jahren steht demnach im Gegensatz zu den Ergebnissen von Klingenberg und Bader. Wenn auch einschränkend die niedrige Patientenzahl ($n=13$) angeführt werden muss, für die in unserer Untersuchung BNP- Werte auch nach mehr als 15 Jahren nach Transplantation zur Verfügung standen, so liegt der Median der gemittelten BNP- Werte mit 38 ± 48 pg/ml deutlich unter der zur Diagnostik der akuten Herzinsuffizienz verwendeten 100 pg/ml- Marke. Dies ist bemerkenswert da die Mehrheit der Patienten, welche wir bis zu 21 Jahre nach Transplantation nachuntersuchten, an Transplantatvaskulopathie, diastolischer Funktionsstörung und den Nebenwirkungen der Immunsuppression (Niereninsuffizienz s.u.) litten. Diese Faktoren wurden jeweils einzeln als Ursache für erhöhte BNP- Werte beschrieben ^(54; 70). Dass der Median der gemittelten BNP- Werte im Langzeitverlauf dennoch sein Minimum erreichte, könnte als Ausdruck der guten Langzeitergebnisse herztransplantierter Patienten am Kinderherzzentrum Gießen gewertet werden. Es ist jedoch auch denkbar, dass diese niedrigen Werte mehr als 15 Jahre nach Herztransplantation auf die ungenügende Sensitivität des Parameters zurückzuführen sind, pathologische Prozesse im transplantierten Organ (im Sinne von Transplantatvaskulopathie und diastolischer Funktionsstörung) zu detektieren.

Eine weitere Deutung stabil- bleibend oder im Langzeitverlauf nach Herztransplantation sogar weiter abfallender BNP- Werte könnte sich aus der Assoziation von BNP- Genexpression mit Mediatoren kardialer Inflammation ergeben ^(72; 85). Oben angesprochene Hypothese vorausgesetzt, BNP- Erhöhungen im frühen zeitlichen Verlauf nach Transplantation stellen vorwiegend subklinisch- immunologischen

Prozesse im Myokard dar, so könnten sinkende oder stabile BNP- Werte im Langzeitverlauf auf ein Sistieren dieser Entzündungsvorgänge im Sinnen einer funktionellen Toleranz des Transplantates gedeutet werden. Es ist denkbar, dass nach Beendigung der immunologischen Prozesse die Höhe der gemessenen BNP- Werte (wie bei nicht- herztransplantierten Patienten) vorwiegend durch hämodynamische Parameter bestimmt wird. Die Größenordnung der im Langzeitverlauf von mehr als 15 Jahren nach Herztransplantation gemessenen gemittelten BNP- Werten (38 ± 48 pg/ml) würde dementsprechend etwa der leichten BNP- Erhöhung bei nicht- herztransplantierten Patienten mit isolierter diastolischer Relaxationsstörung entsprechen ⁽⁷⁰⁾.

4.1.BNP und Nierenfunktion

Die Abhängigkeit der BNP- Werte von der Nierenfunktion ist bislang ausschließlich bei erwachsenen Patienten eingehend untersucht worden ⁽⁵⁾. Die Arbeitsgruppe um McCullough ⁽⁸⁴⁾ zeigte einen schwachen Zusammenhang zwischen BNP- Plasmaspiegeln und der errechneten GFR (n=1452, $r=-.019$ /-,20 für Patienten mit bzw. ohne Herzinsuffizienz). Mark et al.⁽⁷⁹⁾ untersuchten den Zusammenhang von BNP- Werten und Nierenfunktion bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz (n=296; $r=-.40$) und van Kimmenade und Kollegen ⁽¹²⁴⁾ bestimmten selektiv BNP- Werte in den Nierenarterien- und -venen bei hypertensiven Patienten (n=165; $r=-.35$).

Nach Herztransplantation berichteten sowohl Bader ⁽¹⁰⁾ als auch Klingenberg und Kollegen ⁽⁵⁴⁾ von einer Korrelation zwischen BNP- und Kreatinin- Einzelwerten, wohingegen Hervas ⁽⁴²⁾ keine Korrelation zwischen diesen Parametern innerhalb der ersten 15 Monate nach Herztransplantation darstellen konnte. Ein Vergleich der BNP- Werte mit errechneten GFR- Werten nach Herztransplantation wurde bislang in keiner Studie vorgenommen.

Die vorliegende Studie konnte keine Korrelation zwischen den (für einzelne Patienten über definierte Zeitintervalle) gemittelten BNP- Werten und den dazugehörigen gemittelten Kreatinin- Werten zeigen.

Demgegenüber konnten wir für das relativ „stabile“ lange Nachuntersuchungsintervall („6 Monate bis 15 Jahre nach Herztransplantation“) eine signifikante inverse Korrelation zwischen gemittelten BNP- Werten und korrespondierenden gemittelten GFR- Werten darstellen. Der Zusammenhang ist schwach ($r=-.298$), deckt sich aber in der Größenordnung mit den Ergebnissen bei erwachsenen nicht- transplantierten

Patienten. Es ist hierbei zu beachten, dass wir zur Kalkulation der GFR die Schwartz-Formel und nicht die bei erwachsenen Patienten übliche MDRD-Formel verwendeten.

Bemerkenswert ist, dass wir keine Korrelation zwischen den über Zeitintervallen jeweils gemittelten BNP- und Kreatinin- Werten herstellen konnten. Ein Zusammenhang ließ sich jedoch zwischen BNP- und GFR- Werten nachweisen, welche sich unter anderem aus Kreatinin- Werten und einer Alterskonstanten errechnen (siehe Schwartz-Formel, S. 23). Hierbei ist zu beachten, dass wir zwischen dem Alter des Patienten und den BNP- Werten ebenfalls eine inverse Korrelation darstellen konnten. Bei dieser dürfte es sich um eine „Scheinkorrelation“ handeln, denn nach Korrektur des Zusammenhangs um den zeitlichen Abstand nach Transplantation (partielle Korrelation) zeigte sich kein Zusammenhang mehr zwischen dem Alter und den BNP- Werten^{**}.

Die Korrelation zwischen BNP- Werten und den berechneten korrespondierenden GFR- Werten lässt sich aber nicht ausschließlich hiermit erklären: Die errechnete GFR stellt eine verlässlichere Grundlage für die Beurteilung der Nierenfunktion dar als die alleinige Kreatinin- Konzentration⁽⁴³⁾. Dass bei unseren Patienten die mittlere GFR, nicht jedoch die mittlere Kreatinin- Konzentration, mit den gemittelten BNP- Werten korreliert, deuten wir daher als Ausdruck der Überlegenheit der GFR, die tatsächliche Nierenfunktion wiederzugeben.

Insgesamt sind unsere Ergebnisse im Kontext der komplexen Beziehung zwischen Herzinsuffizienz und eingeschränkter Nierenfunktion zu sehen: Die Prävalenz von Nierenfunktionsstörungen steigt bei zunehmender Herzinsuffizienz⁽⁸³⁾. Dennoch zeigten aktuelle Studien, dass BNP- Konzentrationen bei bekannter chronischer Niereninsuffizienz deutlich stärker von echokardiographischen Funktionsparametern beeinflusst werden als von der Nierenfunktion allein^(89; 120): Erhöhte BNP- Spiegel bei bekannter Niereninsuffizienz weisen vor allem auf kardiale Ursachen hin⁽⁷⁸⁾.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass einzelne BNP- Werte herztransplantierten Kinder im Kontext von echokardiographischen Daten, Nierenretentionsparametern und vor allem unter Beachtung bereits bekannter BNP-

^{**} Da unsere Patienten im zeitlichen Abstand zur Transplantation naturgemäß um dasselbe Zeitintervall altern, spiegelt diese Korrelation möglicherweise nur die oben beschriebene Beobachtung niedriger BNP- Werte im Langzeitverlauf wieder.

Werte desselben Patienten zu werten sind. Jeder Patient bewegt sich demnach im zeitlichen Verlauf auf einem individuellen BNP- Pegel, welcher durch immunologische Prozesse des Transplantates, hämodynamische Parameter und auch durch die Nierenfunktion beeinflusst wird. Plötzliche Abweichungen von diesem Pegel könnten so auf Akutereignisse hindeuten (akutes Nierenversagen, akute Abstoßung s.u.).

4.2. BNP bei akuten Abstoßungsreaktionen

Einer der interessantesten und klinisch relevantesten Betrachtungen dieser Arbeit ist die Möglichkeit mittels BNP- Bestimmung akute Abstoßungsreaktionen detektieren zu können. Der individuelle Verlauf der BNP- Werte einiger unserer Patienten legt nahe, dass Abstoßungsereignisse mit einem BNP- Peak einhergehen können und dass sich die kurzfristig stark erhöhten BNP- Werte unter Therapie und mit Beendigung der Abstoßungsreaktion rasch zurückbilden (siehe Grafik 12). Dieses Verhalten der BNP- Werte während Abstoßungsreaktionen deckt sich mit den Beobachtungen von Master und Kollegen⁽⁸²⁾.

Zwischen den hohen BNP- Werten, welche bei Patienten im Rahmen einer Notfall-Vorstellung bei akuter Abstoßungsreaktion bestimmt wurden (Median 1430 pg/ml, Spannweite von 710-5000 pg/ml) und den BNP- Werten von Patienten, bei welchen in der sich anschließenden Diagnostik eine Abstoßungsreaktion ausgeschlossen wurde (Median 103 pg/ml, Spannweite von 20-1240 pg/ml), beschrieben Geiger et al. einen hochsignifikanten Unterschied⁽³⁶⁾. Hierfür werteten die Autoren der Studie BNP- Werte von 122 Akutvorstellungen 53 pädiatrischer herztransplantierten Patienten aus. Eine akute Abstoßung wurde in 20 Fällen bei 15 Patienten diagnostiziert. Wie in unserer Betrachtung stellt sich so die Problematik mehrfacher Erfassung einzelner Patienten, Geiger et al. lassen die Lösung des damit verbundenen statistischen Problems in Ihrer Publikation unerwähnt⁽³⁶⁾. Aus dieser Datenstruktur errechneten Geiger und Kollegen in einer ROC- Analyse den Grenzwert von 700 pg/ml zur Erfassung einer akuten Abstoßungsreaktion mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 92%.

Bei gleichem statistisch anfechtbarem Vorgehen zählten wir in unserer Betrachtung 3004 Einzel- Messpunkten von 110 Patienten und 29 Fälle von Abstoßungsreaktionen bei 19 dieser Patienten. Hieraus ergibt sich ein Grenzwert zur Detektion akuter Abstoßungsereignisse von 250 pg/ml mit einer moderaten Sensitivität von 70% und einer Spezifität von 95%. Diese Betrachtung würde es erlauben, bei einem BNP- Wert

größer 250 pg/ml und unklaren klinischen Zeichen die Verdachtsdiagnose einer akuten Abstoßung anzunehmen und eine entsprechende Therapie zu beginnen. Der wohl wichtigste Unterschied zu den Beobachtungen von Geiger et al. ist, dass wir auch vollkommen unauffällige BNP- Werte während akuter Abstoßungsreaktionen fanden. Dies macht den Ausschluss der Verdachtsdiagnose Abstoßungsreaktion bei niedrigen BNP- Werten unmöglich. Die Problematik, mittels BNP- Bestimmung nur ungenügend genau Abstoßungsreaktionen diskriminieren zu können, entspricht den Beobachtungen von Hammerer-Lercher⁽³⁹⁾.

Um statistisch validere Aussagen über das Verhalten der BNP- Werte während akuter Abstoßungsreaktionen treffen zu können und Mehrfachmessungen einzelner Patienten zu vermeiden, errechneten wir für die einzelnen Patienten jeweils einen mittleren BNP- Wert während akuter Abstoßungsreaktionen. Diesen Wert verglichen wir mit dem gemittelten BNP- Wert desselben Patienten ohne den Zusammenhang einer Abstoßungsreaktion (siehe Tabelle 9). Bemerkenswert ist, dass von den 12 auf diese Weise betrachteten Patienten bei 6 Patienten kein bedeutender Unterschied zwischen dem Abstoßungs- BNP- Wert und dem Kontroll- BNP- Wert festzustellen war. Auch der individuelle Vergleich der maximalen bei Abstoßungsreaktion erfassten BNP- Werte mit den gemittelten Kontroll- BNP Werten der Patienten zeigte in 5 Fällen keinen wesentlichen Unterschied. Einschränkend hierbei ist, dass bei diesen 5 Patienten jeweils nur ein BNP- Wert pro Patient und Abstoßungsreaktion vorlag, es also unklar verbleibt ob ein Peak der Werte nicht erfasst wurde. Bei den übrigen Patienten erfassten wir Differenzen zwischen 170 bis 4000 pg/ml zwischen dem maximalen bei Abstoßungsreaktion erfassten BNP- Wert und dem gemittelten Kontroll- BNP.

Infolgedessen erscheint das BNP- Verhalten bei Abstoßungen einen ausgeprägten individuellen Verlauf zu besitzen und sich insbesondere im maximalen Anstieg stark zu unterscheiden. Die Konsequenz dieser Beobachtung ist, bei der Fragestellung einer akuten Abstoßungsreaktion erhobene BNP- Werte vor allem mit zuvor bei demselben Patienten ermittelten Daten zu vergleichen. Enttäuschend ist hierbei die bestenfalls moderate diagnostische Güte der BNP- Bestimmung, mit der nur in etwa der Hälfte der hier beobachteten Fälle ein deutlicher Unterschied zu den Kontroll- Werten gefunden wurde. Einschränkend war im Rahmen der retrospektiven Datenerfassung die zeitliche Einordnung der einzelnen erfassten BNP- Werte in das Abstoßungsgeschehen nicht

möglich: Ausgehend von einem parabolischen BNP-Anstieg während des Abstoßungsgeschehens⁽⁸²⁾ war es im Einzelfall nicht klar, ob erfasste Werte in den aufsteigenden oder absteigenden Schenkel des Peaks einzuordnen waren (uneinheitliche Datenerfassung). Ferner erfolgte bei Diagnosestellung akuter Abstoßungsreaktionen keine Verblindung der behandelnden Ärzte gegenüber den BNP-Werten.

Eine zweite in dieser Studie untersuchte Fragestellung ist der Zusammenhang von Befunden der Endomyokardbiopsie (EMB) mit der Höhe zeitgleich erfasster BNP-Werte. Rossano⁽¹⁰³⁾ verglich 560 EMB-Befunde von 86 pädiatrischen Patienten nach Herztransplantation mit zeitgleich erfassten BNP-Werten und hämodynamischen Parametern. Im Gegensatz zu mehreren ähnlichen Untersuchungen an erwachsenen herztransplantierten Patienten^(6; 10; 39) konnte Rossano zeigen, dass erhöhte BNP-Werte bei EMB-Befunden der ISHLT-Klassifikation ≥ 3 (oder 2R, die revidierte Klassifikation benutzend⁽¹¹⁵⁾) gefunden werden konnten. Mittels ROC-Verfahren schrieb der Autor einem BNP-Cut-Off-Wert von 100 pg/ml eine 96%ige Sensitivität und einen negativen Vorhersagewert von 99% zu, akute Abstoßungsreaktionen zu detektieren. Rossano selbst berichtete von BNP-Erhöhungen, welche bei Patienten mit einer unauffälligen EMB (0 bis 2B, bzw. 0R bis 1R) gefunden wurden, beschrieb jedoch keine niedrigen BNP-Werte in Anwesenheit bedeutender Abstoßungsreaktionen. Eben diese niedrigen BNP-Werte bei histopathologisch gesicherten Abstoßungsreaktionen fanden wir jedoch in unserer Auswertung von 90 EMB-Befunden von 62 Patienten. Von den 16 als Abstoßung klassifizierten EMB-Befunden (ISHLT 3 und 4) fanden wir in 7 Fällen BNP-Werte unter 100 pg/ml. Demzufolge konnten wir keinen statistischen Unterschied zwischen den BNP-Werten bei auffälligen und unauffälligen EMB-Befunden feststellen. Einschränkend muss hier erwähnt werden, dass aufgrund des retrospektiven Studiendesigns nicht ausschließlich Routine-EMB in die vorliegende Arbeit eingeschlossen wurden, sondern zum Teil auch Biopsie-Entnahmen nach zuvor begonnener antiinflammatorischer Stoßtherapie bei dem hochgradigen Verdacht auf ein akutes Abstoßungsgeschehen. In einer Übersichtsarbeit griff De Bold⁽³⁰⁾ das Phänomen niedriger BNP-Werte bei histopathologisch gesicherter akuter Abstoßung auf. Der Autor vermutete, dass sich die BNP-Erhöhung der Abstoßungsreaktion nach begonnener anti-inflammatorischer Stoßtherapie schneller zurückbildet als die lymphozytäre Infiltration des Myokardes. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit des BNP und der Einflussnahme inflammatorischer Mediatoren auf dessen Genexpression⁽⁸⁵⁾ ist

diese Vermutung denkbar. Zur Evaluation der Kinetik eines möglichen BNP- Peaks bei Abstoßungsreaktionen bedarf es jedoch weiterer wissenschaftlicher Untersuchungen mit einem standardisierten Vorgehen für BNP- Bestimmung, Herzkatheteruntersuchung und Beginn einer antiinflammatorischen Stoßtherapie. Mit unseren Daten können wir De Bolds Vermutung nicht sicher unterstützen.

Schlussfolgernd kann mittels BNP- Messung weder eine Abstoßungsreaktion sicher bestimmt noch ausgeschlossen werden. Dennoch kann ein sprunghafter Anstieg über die bei demselben Patienten zuvor bestimmten Werte auf ein akutes Abstoßungsgeschehen hindeuten. Da wir mehrere Episoden akuter Abstoßungsreaktionen ohne einen bedeutenden Anstieg der BNP- Werte beobachteten, können wir die BNP- Bestimmung zum Ausschluss einer Abstoßung nicht empfehlen. Bei uneinheitlicher Datenerfassung ist es jedoch möglich, dass sprunghafte BNP- Erhöhungen im Einzelfall nicht detektiert wurden.

In der Kombination mit weiterer Diagnostik (Echokardiographie, EKG, Differenzialblutbild und Entzündungsmarker) erscheint die Bestimmung des Hormones, welche neben hämodynamischen Parametern inflammatorische Prozesse im Myokard reflektiert, im Einzelfall hilfreich.

5. Zusammenfassung

[Hintergrund] Erhöhung des B-typischen natriuretischen Peptids, ein Peptidhormon mit Bildung im Ventrikelmyokard, wird zur Diagnostik der akuten Herzinsuffizienz genutzt und korreliert mit der Stadieneinteilung der NYHA- Klassifikation. Bei herztransplantierten Patienten sind erhöhte BNP- Werte beschrieben worden, darüber hinaus wurden kurzfristige BNP- Anstiege zur Detektion akuter Abstoßungsreaktionen genutzt. Eine umfassende Grundlage der zu erwartenden BNP- Werte bei pädiatrischen herztransplantierten Patienten existiert bislang nicht.

[Methodik] Retrospektiv betrachteten wir 3004 BNP- Werte, welche bei 110 Patienten nach Herztransplantation im Kindes- und Jugendalter zwischen Oktober 2004 und August 2009 am Kinderherzzentrum Gießen erfasst wurden. Wir untersuchten den zeitlichen Verlauf der BNP- Werte nach Herztransplantation und deren Beeinflussung durch Nierenfunktionsstörungen und das Verhalten bei akuten Abstoßungsreaktionen.

[Ergebnisse] Innerhalb des ersten Halbjahres nach Transplantation sinkt der Median (SD) der mittleren BNP- Konzentrationen einzelner Patienten von 232 (444) auf 126 (57) pg/ml ($p=.001$). Nach dem ersten Halbjahr bis zum 15ten Jahr nach Herztransplantation wird ein Plateau der Werte mit 67 (49) pg/ml gefunden. In dieser Zeit korrelieren die Werte mit der Nierenfunktion ($r=-.298$) und dem Alter ($r=-.327$). Die niedrigsten BNP- Werte fanden wir im Langzeitverlauf der Jahre 15 - 21 nach Transplantation mit 38 (48) pg/ml. Während akuter Abstoßungsreaktionen stieg der mittlere BNP- Wert einzelner Patienten in 6 von 12 Fällen um mehr als 100 pg/ml gegenüber dem für diese Patienten gemittelten BNP- Spiegel an. Kein Zusammenhang konnte zwischen den Befunden der Endomyokardbiopsien und der Höhe des BNP hergestellt werden.

[Schlussfolgerung] Innerhalb der ersten drei Monate nach Herztransplantation finden sich deutlich erhöhte BNP- Werte, die im Folgenden abfallen und ab 6 Monaten ein stabiles Niveau erreichen. Einzelne Patienten zeigen individuelle BNP- Verläufe, die einen präferentiellen Abgleich erhobener Daten mit Vorwerten desselben Patienten nahelegen. Die BNP- Bestimmung ist als alleiniges Diagnostikum nicht zur sicheren Detektion akuter Abstoßungsereignisse geeignet, kann jedoch bei deutlichem Anstieg der Werte darauf hindeuten. Niedrige BNP- Werte schließen ein Abstoßungsereignis nicht aus.

Summary

[Background] Elevation of B- type natriuretic peptide (BNP), a hormone synthesized in the ventricular myocardium, has been used to detect heart failure and correlates with NYHA classification. Following heart transplantation elevated BNP values has been reported and the hormone has been used to detect acute rejections. A normal range of plasma BNP concentrations in pediatric patients who have undergone heart transplantation has yet to be established.

[Methods] We retrospectively analyzed 3004 BNP samples in 110 pediatric heart transplant recipients that were collected between October 2004 und August 2009 at the pediatric heart center Giessen. We evaluated the hormones time dependent changes after transplantation as well as the influence of renal function and acute rejections.

[Results] During the first six months post transplantation the median (SD) plasma BNP concentration decreased from 232 (444) to 126 (57) pg/ml ($p=.001$). After six months BNP levels reached a plateau until the 15th year post transplantation with 67 (49) pg/ml. During that time BNP levels correlate with renal function ($r=-.298$) and age ($r=-.327$). We found lowest BNP levels during the years 15-21 with 38 (48) pg/ml. In 6 of 12 cases of rejection we found BNP- levels elevated more than 100 pg/ml above the median levels those patients showed before. No coherence has been made between endomyocardial biopsy score and the BNP.

[Conclusions] Plasma BNP concentrations in the first months post transplantation are relatively high, very variable and subsequently decrease. Stable BNP concentrations can be found after six months post transplantation and are raised six-fold compared with the age dependent normal values healthy subjects show. As we found unique BNP- pattern, obtained BNP values should be compared predominately with data collected at the same patient before. High BNP levels can hint whereas low BNP does not rule out the presence of acute rejection.

6. Graphikverzeichnis

Grafik 1: Genetik und Mechanismus der BNP- Freisetzung	4
Grafik 2: BNP- Serumspiegel bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz nach den Stadien der New York Heart Association (NYHA), aufgetragen ist der Median ^(17; 128)	7
Grafik 3: Leitlinien zur Diagnostik Herzerkrankungen, modifiziert nach ⁽¹¹⁸⁾	8
Grafik 4: Q-Q- Diagramm zur Darstellung beobachteter logarithmierter BNP- Einzelwerte (Kreise) und bei Normalverteilung erwartete Werte (Grade) dar. Hohe BNP- Werte ($e6-e8 \approx 400-2000$ pg/ml) wurden häufiger beobachtet als bei Normalverteilung zu erwarten wäre.	28
Grafik 5: BNP- Messwerte im zeitlichen Abstand zur Herztransplantation (n=110).....	29
Grafik 6: BNP- Messwerte im ersten Jahr nach Herztransplantation (n=27), rot eingezeichnet ist der BNP- Verlauf einer Patientin (Einzelheiten siehe Text).....	29
Grafik 7: Box- Whisker Plots stellen die Verteilung der geometrischen BNP- Mittelwerte in definierten Zeitintervallen nach Herztransplantation dar. Kreise markieren Ausreißer, Sterne Extremwerte. Ein Extremwert von 2290 pg/ml im ersten Quartal nach Herztransplantation (HTX) ist der Skalierung wegen nicht dargestellt. Die BNP-Mittelwerte des Patienten 68 sind markiert (Einzelheiten siehe Text).....	30
Grafik 8: BNP- Intervall- Mittelwerte einzelner Patienten in dem langen Zeitintervall „0,5-15 Jahre nach Herztransplantation“. Links: Box- Whisker Plot stellt die Verteilung der geometrischen BNP- Mittelwerte dar. Kreise markieren Ausreißer, Sterne Extremwerte. Der BNP-Mittelwert von Patient 68 ist markiert. Rechts: Das Q-Q- Diagramm der logarithmierten BNP- Intervall- Mittelwerte stellt beobachtete (Kreise) und bei Normalverteilung erwartete Werte (Gerade) in Beziehung.....	32
Grafik 9: BNP Intervall- Mittelwerte in den Jahren 16 – 21 nach Herztransplantation in Abhängigkeit der Anzahl vorangegangener Abstoßungsreaktionen.....	33
Grafik 10: Abhängigkeit 2267 einzelner BNP- Messwerte von der geschätzten Filtrationsrate bei 110 pädiatrischen Patienten nach dem ersten halben Jahr nach Herztransplantation.	35
Grafik 11: BNP- Messwerte im zeitlichen Abstand zur Herztransplantation (n=110); rote Punkte stellen BNP- Werte im zeitlichen Zusammenhang mit akuten Abstoßungsreaktionen dar, blaue Kreise markieren Werte ohne einen solchen Bezug.....	37
Grafik 12: BNP-Werte im Verlauf bei zwei Patienten während akuter Abstoßungsereignisse. Die gestrichelte Linie entspricht dem individuellen BNP- Mittelwert des Patienten in der Zeit ohne Hinweis auf ein akutes Abstoßungsgeschehen. (Beachte die unterschiedliche Skalierung der Grafiken.)	38
Grafik 13: Box- Whisker Plots der BNP- Einzelwerte von 19 Patienten bei akuten Abstoßungsreaktionen im Vergleich zur Gesamtheit aller BNP- Messwerten von 110 Patienten ohne den Kontext eines Abstoßungsereignisses. Kreise stellen Ausreißer, Sterne Extremwerte dar. Die Extremwerte der Gruppe ohne akute Abstoßungsreaktionen entsprechen zum Großteil den erhöhten BNP- Werten in den ersten Wochen nach Herztransplantation. Ab drei Monaten nach der Transplantation treten keine Werte größer 1000 pg/ml auf (s.o.)	39
Grafik 14: links: ROC- Kurve stellt das Verhältnis von Sensitivität und Spezifität zur Detektion akuter Abstoßungsreaktionen aller Werte (rote Kurve) und nach Ausschluss der ersten 3 Monate nach Herztransplantation (schwarze Kurve) dar. rechts: Ausgewählte Grenzwerte zur Detektion akuter Abstoßungsreaktionen unter Ausschluss der ersten 3 Monate nach Herztransplantation, welche sich aus nebenstehender schwarzer Kurve ergeben.....	40

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über die Natriuretischen Peptide ^(25; 47; 48; 94; 132)	2
Tabelle 2: BNP- Serumspiegel in Abhängigkeit des Lebensalters ⁽¹⁷⁾	7
Tabelle 3: Alterabhängige BNP- Grenzwerte nach Soldin et al ⁽¹¹²⁾	11
Tabelle 4: Protokoll der operativen Immunsuppression bei HTX am Kinderherzzentrum Gießen ⁽¹⁵⁾	15
Tabelle 5: Nebenwirkung einer langfristigen Immunsuppression nach ⁽¹⁴⁾	16
Tabelle 6: Indikation der Herztransplantation im Patientenkollektiv.....	21
Tabelle 7: Darstellung der Korrelation zwischen BNP- Intervall- Mittelwerten in den verschiedenen Beobachtungsintervallen nach Herztransplantation und identisch gemittelten Nierenfunktionsparametern einzelner Patienten bzw. dem gemittelten Alter. Krea = Kreatinin, * signifikant, ** hochsignifikant	36
Tabelle 8: Korrelationen von gemittelten Kreatinin- und GFR- Werten bzw. dem Alter BNP- Intervallmittelwerten im Nachbeobachtungsintervall 0,5 – 15 Jahre nach Herztransplantation. Krea = Kreatinin, ** hochsignifikant.....	36
Tabelle 9: BNP- Mittelwerte von 12 pädiatrischen Patienten mit und ohne den Bezug einer Abstoßungsreaktion. AR = akute Abstoßungsreaktion.....	41

8. Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin- konvertierendes Enzym
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
AR	Akute Abstoßungsreaktion
AT1	Angiotensin- II-Rezeptor- Subtyp- 1
AUC	Fläche unter der Kurve
BNP	Natriuretisches Peptid Typ- B
CAV	Transplantatvaskulopathie
cGMP	Guanosin- Monophosphat
CMV	Cytomegalie- Virus
CNI	Calcineurin- Inhibitoren
CNP	Natriuretisches Peptid Typ- C
CSA	Cyclosporin A
DNP	Natriuretisches Peptid Typ- D
EBV	Epstein- Barr- Virus
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	enzyme linked immuno-sorbent assay
EMB	Endomyokardbiopsie
GFR	Glomerulären Filtrationsrate
HLA	Humane Leukozyten Antigene
HLHS	Hypoplastischem Linksherzsyndrom
HTX	Herztransplantation
i.v.	intravenös
IQI	Interquartil- Intervall
ISHLT	International Society for Heart and Lung Transplantation
KLD	Kinase- ähnliche Domäne
LV	linksventrikulär
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
ml	Milliliter
MMF	Mycophenolat- mofentil
MRT	Magnetresonanztomografie
NEP	Endopeptidase
NP	natriuretisches Peptide
NPPB	Genkomplex “B-type natriuretic peptide precursor”
NPR-A	Rezeptortyp A der Natriuretischen Peptide
NPR-B	Rezeptortyp B der Natriuretischen Peptide
NPR-C	Rezeptortyp C der Natriuretischen Peptide
NT- proBNP	Aminoterminales Pro-BNP
NYHA	New York Heart Association
PCWP	pulmonalarterieller Verschlussdruck
PDA	persistierender Ductus Ateriosus Botalli
PDE	Phosphodiesterase
pg	Pikogramm
PKG-1	Proteinkinase G
PTLD	Posttransplantations- Lymphoproliferative Erkrankung
RAAS	Renin- Angiotensin- Aldosteron- System
RAP	Rechtsatrialer Druck
RNA	Ribonukleinsäure
ROC	Receiver Operating Characteristic
SD	Standardabweichung
TGF-β	Transforming Growth Factor

9. Literaturverzeichnis

- 1 Ahmed, W., Zafar, S., Alam, A. Y., Ahktar, N., Shah, M. A. & Alpert, M. A. (2007). Plasma levels of B-type natriuretic Peptide in patients with unstable angina pectoris or acute myocardial infarction: prognostic significance and therapeutic implications. *Angiology*, 58 (3), 269-274. Verfügbar unter: doi:10.1177/0003319707302543.
- 2 Almenar, L., Arnau, M. A., Martínez-Dolz, L., Hervás, I., Osa, A., Miró, V. et al. (2006). Is there a correlation between brain natriuretic peptide levels and echocardiographic and hemodynamic parameters in heart transplant patients? *Transplant Proc*, 38 (8), 2534-2536. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.transproceed.2006.08.082.
- 3 Alter, P., Rupp, H., Rominger, M. B., Vollrath, A., Czerny, F., Klose, K. J. et al. (2007). Relation of B-type natriuretic peptide to left ventricular wall stress as assessed by cardiac magnetic resonance imaging in patients with dilated cardiomyopathy. *Can J Physiol Pharmacol*, 85 (8), 790-799. Verfügbar unter: doi:10.1139/y07-076.
- 4 Anderson, P. A., Sleeper, L. A., Mahony, L., Colan, S. D., Atz, A. M., Breitbart, R. E. et al. (2008). Contemporary outcomes after the Fontan procedure: a Pediatric Heart Network multicenter study. *J Am Coll Cardiol*, 52 (2), 85-98. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.jacc.2008.01.074.
- 5 Ariceta, G., Brooks, E. R. & Langman, C. B. (2005). Assessing cardiovascular risk in children with chronic kidney disease. B-type natriuretic peptide: a potential new marker. *Pediatr Nephrol*, 20 (12), 1701-1707. Verfügbar unter: doi:10.1007/s00467-005-1954-1.
- 6 Arora, S., Gullestad, L., Wergeland, R., Simonsen, S., Holm, T., Hognestad, A. et al. (2007). Probrain natriuretic peptide and C-reactive protein as markers of acute rejection, allograft vasculopathy, and mortality in heart transplantation. *Transplantation*, 83 (10), 1308-1315. Verfügbar unter: doi:10.1097/01.tp.0000263338.39555.21.
- 7 Ationu, A., Burch, M., Singer, D., Littleton, P. & Carter, N. (1993). Cardiac transplantation affects ventricular expression of brain natriuretic peptide. *Cardiovasc Res*, 27 (2), 188-191. Verfügbar unter: doi: 10.1093/cvr/27.2.188.
- 8 Ationu, A., Sorensen, K., Whitehead, B., Singer, D., Burch, M. & Carter, N. D. (1993). Ventricular expression of brain natriuretic peptide gene following orthotopic cardiac transplantation in children--a three year follow up. *Cardiovasc Res*, 27 (12), 2135-2139. Verfügbar unter: doi: 10.1093/cvr/27.12.2135.
- 9 Backhoff, D., Bauer, J., Heidt, M. & Tillmannsm H, S. T. (2009). BNP nach Herztransplantation - Ein Marker für den Langzeitverlauf: 18. Jahrestagung der Deutschen Transplantationsgesellschaft. *Transplantationsmedizin - Supplement*, 2009 (2), 24. Verfügbar unter: <http://www.transplantation.de/txmed-s2-20090.html>.
- 10 Bader, F. M., Rogers, R. Kevin, Kfoury, A. G., Gilbert, E. M., Horne, B. D., Stehlik, J. et al. (2009). Time-dependent changes in B-type natriuretic peptide after heart transplantation: correlation with allograft rejection and function. *Congestive heart failure (Greenwich, Conn.)*, 15 (2), 63-67. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1751-7133.2009.00055.x.
- 11 Baines, A. D., DeBold, A. J. & Sonnenberg, H. (1984). Natriuretic effect of atrial extract on isolated perfused rat kidney. *Can J Physiol Pharmacol*, 61 (12), 1462-1466.
- 12 Balion, C., Santaguida, P. L., Hill, S., Worster, A., McQueen, M., Oremus, M. et al. (2007). Testing for BNP and NT-proBNP in the Diagnosis and Prognosis of Heart Failure. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* (142), 1-147.
- 13 Banfi, G., D'Eril, G. Melzi, Barassi, A. & Lippi, G. (2008). N-terminal proB-type natriuretic peptide (NT-proBNP) concentrations in elite rugby players at rest and after active and passive recovery following strenuous training sessions. *Clin Chem Lab Med*, 46 (2), 247-249. Verfügbar unter: doi:10.1515/CCLM.2008.024.

- 14 Bauer, J., Bartram, U., Thul, J. & Schranz, D. (2007). Morbidität nach Herztransplantation. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 115 (11), 1040-1047. Verfügbar unter: doi:10.1007/s00112-007-1632-4.
- 15 Bauer, J., Dapper, F., Kroll, J., Hagel, K. J., Thul, J., Zickmann, B. et al. (1998). Herztransplantation im Säuglingsalter: Erfahrungen im Kinderherzzentrum Giessen. *Z Kardiologie*, 87 (3), 209-217. Verfügbar unter: doi:10.1007/s003920050173.
- 16 Bauer, J., Thul, J., Valeske, K., Müller, M., Michel-Behnke, I., Gehron, J. et al. (2005). Perioperative management in pediatric heart transplantation. *Thorac Cardiovasc Surg*, 53 Suppl 2, S155-8. Verfügbar unter: doi:10.1055/s-2004-830470.
- 17 Bayer AG. (2003). *ADVIA Centaur Testanleitung*.
- 18 Behnke-Hall, K., Bauer, J., Thul, J., Akintuerk, H., Reitz, K., Bauer, A. et al. (2011). Renal function in children with heart transplantation after switching to CNI-free immunosuppression with everolimus. *Pediatric transplantation*. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1399-3046.2011.01550.x.
- 19 Berger, R., Huelsman, M., Strecker, K., Bojic, A., Moser, P., Stanek, B. et al. (2002). B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 105 (20), 2392-2397.
- 20 Bernus, A., Wagner, B. D., Accurso, F., Doran, A., Kaess, H. & Ivy, D. Dunbar. (2009). Brain natriuretic peptide levels in managing pediatric patients with pulmonary arterial hypertension. *Chest*, 135 (3), 745-751. Verfügbar unter: doi:10.1378/chest.08-0187.
- 21 Billingham, M. E., Cary, N. R., Hammond, M. E., Kemnitz, J., Marboe, C., McCallister, H. A. et al. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Heart Rejection Study Group. The International Society for Heart Transplantation. *J Heart Transplant*, 9 (6), 587-593.
- 22 Brandt, I., Lambeir, A.-M., Ketelslegers, J.-M., Vanderheyden, M., Scharpé, S. & De Meester, I. (2006). Dipeptidyl-peptidase IV converts intact B-type natriuretic peptide into its des-SerPro form. *Clin Chem*, 52 (1), 82-87. Verfügbar unter: doi:10.1373/clinchem.2005.057638.
- 23 Bundesärztekammer. (2010). *Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie): Zweite Richtlinienanpassung 2010*. Verfügbar unter: <http://www.bundesaeztekammer.de/page.asp?his=0.6.3288.8357>.
- 24 Cao, L. & Gardner, D. G. (1995). Natriuretic peptides inhibit DNA synthesis in cardiac fibroblasts. *Hypertension*, 25 (2), 227-234. Verfügbar unter: <http://hyper.ahajournals.org/content/25/2/227.long>.
- 25 Cea, L. B. (2005). Natriuretic peptide family: New aspects. *Current medicinal chemistry. Cardiovascular and hematological agents*, 3 (2), 87-98.
- 26 Claudius, I., Lan, Y.-T., Chang, R.-K., Wetzel, G. T. & Alejos, J. (2003). Usefulness of B-type natriuretic peptide as a noninvasive screening tool for cardiac allograft pathology in pediatric heart transplant recipients. *Am J Cardiol*, 92 (11), 1368-1370.
- 27 Conen, D., Jander, N., Trenk, D., Neumann, F.-J. & Mueller, C. (2007). The use of B-type natriuretic peptides in the detection of myocardial ischemia in settings with rapid access to coronary angiography. *Int J Cardiol*, 119 (3), 416-418. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.ijcard.2006.07.150.
- 28 Daniels, L. B., Clopton, P., Bhalla, V., Krishnaswamy, P., Nowak, R. M., McCord, J. et al. (2006). How obesity affects the cut-points for B-type natriuretic peptide in the diagnosis of acute heart failure. Results from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am Heart J*, 151 (5), 999-1005. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.ahj.2005.10.011.

- 29 Dapper, F., Bauer, J., Kroll, J., Zickmann, B., Bohle, R. M., Hagel, K. J. et al. (1998). Clinical experience with heart transplantation in infants. *Eur J Cardiothorac Surg*, 14 (1), 1-5; discussion 5-6.
- 30 de Bold, A. J. (2007). Determinants of brain natriuretic peptide gene expression and secretion in acute cardiac allograft rejection. *Curr Opin Cardiol*, 22 (2), 146-150. Verfügbar unter: doi:10.1097/HCO.0b013e328028fd7e.
- 31 Dickstein, K., Cohen-Solal, A., Filippatos, G., McMurray, J. J. V., Ponikowski, P., Poole-Wilson, P. Alexander et al. (2008). ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008. *Eur. J. Heart Fail.*, 10 (10), 933-989. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.ejheart.2008.08.005.
- 32 Domico, M., Liao, P., Anas, N. & Mink, R. B. (2008). Elevation of brain natriuretic peptide levels in children with septic shock. *Pediatr Crit Care Med*. Verfügbar unter: doi:10.1097/PCC.0b013e3181849b99.
- 33 Ensembl Human Gene View (The Ensembl Genome Browser and Annotation System, Hrsg.). (2008). *Ensembl Gene Report for ENSG00000120937: Natriuretic peptides B precursor [Contains: Gamma-brain natriuretic peptide; Brain natriuretic peptide 32 (BNP-32)]*, European Bioinformatics Institute; Sanger Institute. Verfügbar unter: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/geneview?gene=ENSG00000120937.
- 34 Flynn, P. A., da Graca, R. L., Auld, P. A., Nesin, M. & Kleinman, C. S. (2005). The use of a bedside assay for plasma B-type natriuretic peptide as a biomarker in the management of patent ductus arteriosus in premature neonates. *J Pediatr*, 147 (1), 38-42. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.jpeds.2005.03.040.
- 35 Fujisaki, H., Ito, H., Hirata, Y., Tanaka, M., Hata, M., Lin, M. et al. (1995). Natriuretic peptides inhibit angiotensin II-induced proliferation of rat cardiac fibroblasts by blocking endothelin-1 gene expression. *J. Clin. Invest.*, 96 (2), 1059-1065. Verfügbar unter: doi:10.1172/JCI118092.
- 36 Geiger, M., Harake, D., Halnon, N., Alejos, J. C. & Levi, D. S. (2007). Screening for rejection in symptomatic pediatric heart transplant recipients: The sensitivity of BNP. *Pediatr Transplant*. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1399-3046.2007.00860.x.
- 37 Germanakis, I., Anagnostatou, N. & Kalmanti, M. (2008). Troponins and natriuretic peptides in the monitoring of anthracycline cardiotoxicity. *Pediatr Blood Cancer*, 51 (3), 327-333. Verfügbar unter: doi:10.1002/pbc.21633.
- 38 Goei, D., Schouten, O., Boersma, E., Welten, G. M. J. M., Dunkelgrun, M., Lindemans, J. et al. (2007). Influence of renal function on the usefulness of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as a prognostic cardiac risk marker in patients undergoing noncardiac vascular surgery. *Am J Cardiol*, 101 (1), 122-126. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.amjcard.2007.07.058.
- 39 Hammerer-Lercher, A., Mair, J., Antretter, H., Ruttman, E., Poelzl, G., Laufer, G. et al. (2005). B-type natriuretic peptide as a marker of allograft rejection after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 24 (9), 1444. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.healun.2004.08.018.
- 40 Hathout, E., Beeson, W. Lawrence, Kuhn, M., Johnston, J., Fitts, J., Razzouk, A. et al. (2006). Cardiac allograft vasculopathy in pediatric heart transplant recipients. *Transpl Int*, 19 (3), 184-189. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1432-2277.2005.00255.x.
- 41 Hedman, M., Pahlman, R., Sundvall, J., Ehnholm, C., Syväne, M., Jokinen, E. et al. (2007). Low HDL-C predicts the onset of transplant vasculopathy in pediatric cardiac recipients on pravastatin therapy. *Pediatr Transplant*, 11 (5), 481-490. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1399-3046.2007.00690.x.

- 42 Hervás, I., Arnau, M. A., Almenar, L., Pérez-Pastor, J. L., Chirivella, M., Osca, J. et al. (2003). Ventricular natriuretic peptide (BNP) in heart transplantation: BNP correlation with endomyocardial biopsy, laboratory and hemodynamic measures. *Lab Invest*, 84 (1), 138-145. Verfügbar unter: doi:10.1038/sj.labinvest.3700011.
- 43 Hogg, R. J., Furth, S., Lemley, K. V., Portman, R., Schwartz, G. J., Coresh, J. et al. (2003). National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents: evaluation, classification, and stratification. *Pediatrics*, 111 (6 Pt 1), 1416-1421.
- 44 Holmes, S. J., Espiner, E. A., Richards, A. M., Yandle, T. G. & Frampton, C. (1993). Renal, endocrine, and hemodynamic effects of human brain natriuretic peptide in normal man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 76 (1), 91-96.
- 45 Holmgren, D., Westerlind, A., Berggren, H., Lundberg, P.-A. & Wåhlander, H. (2008). Increased natriuretic Peptide type B level after the second palliative step in children with univentricular hearts with right ventricular morphology but not left ventricular morphology. *Pediatr Cardiol*, 29 (4), 786-792. Verfügbar unter: doi:10.1007/s00246-008-9201-8.
- 46 Holmgren, D., Westerlind, A., Lundberg, P.-A. & Wåhlander, H. (2005). Increased plasma levels of natriuretic peptide type B and A in children with congenital heart defects with left compared with right ventricular volume overload or pressure overload. *Clin Physiol Funct Imaging*, 25 (5), 263-269. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1475-097X.2005.00622.x.
- 47 Hunt, P. J., Richards, A. M., Nicholls, M. G., Yandle, T. G., Doughty, R. N. & Espiner, E. A. (1998). Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-PROBNP): a new marker of cardiac impairment. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 47 (3), 287-296.
- 48 Huntley, B. K., Sandberg, S. M., Noser, J. A., Cataliotti, A., Redfield, M. M., Matsuda, Y. et al. (2006). BNP-induced activation of cGMP in human cardiac fibroblasts: interactions with fibronectin and natriuretic peptide receptors. *J Cell Physiol*, 209 (3), 943-949. Verfügbar unter: doi:10.1002/jcp.20793.
- 49 Kádár, K., Nagy, E., Gál, K., Oprea, V., Hartyánszky, I., Gyarmati, G. et al. (2007). Utility of B-type natriuretic peptide in children. *Orv Hetil*, 148 (6), 265-270. Verfügbar unter: doi:10.1556/OH.2007.27895.
- 50 Kenny, A. J., 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. *Biochem. J.*, 291 (Pt 1), 83-88.
- 51 Kirchhoff, W. Ch, Gradaus, R., Stypmann, J., Deng, M. C., Tian, T. D. T., Scheld, H. H. et al. (2004). Vasoactive peptides during long-term follow-up of patients after cardiac transplantation. *J. Heart Lung Transplant.*, 23 (3), 284-288. Verfügbar unter: doi:10.1016/S1053-2498(03)00190-6.
- 52 Kirk, R., Edwards, L. B., Kucheryavaya, A. Y., Benden, C., Christie, J. D., Dobbels, F. et al. (2011). The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Fourteenth Pediatric Heart Transplantation Report--2011. *J. Heart Lung Transplant.*, 30 (10), 1095-1103. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.healun.2011.08.005.
- 53 Kliegman, R. M. & Nelson, W. Emerson. (2007). *Nelson textbook of pediatrics* (18. ed.). Philadelphia, Pa.: Saunders Elsevier. Verfügbar unter: <http://www.loc.gov/catdir/toc/ecip074/2006037517.html>.
- 54 Klingenberg, R., Koch, A., Gleissner, C., Schnabel, P. A., Haass, M., Remppis, A. et al. (2005). Determinants of B-type natriuretic peptide plasma levels in the chronic phase after heart transplantation. *Transpl. Int.*, 18 (2), 169-176. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1432-2277.2004.00010.x.

- 55 Knudsen, C. W., Clopton, P., Westheim, A., Klemsdal, T. O., Wu, A. H. B., Duc, P. et al. (2005). Predictors of elevated B-type natriuretic peptide concentrations in dyspneic patients without heart failure: an analysis from the breathing not properly multinational study. *Ann Emerg Med*, 45 (6), 573-580. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.annemergmed.2005.01.027.
- 56 Koch AM, R. 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.
- 57 Koch, A. & Singer, H. (2003). Normal values of B type natriuretic peptide in infants, children, and adolescents. *Heart*, 89 (8), 875-878.
- 58 Koch, A. M. E., Zink, S., Singer, H. & Dittrich, S. (2008). B-type natriuretic peptide levels in patients with functionally univentricular hearts after total cavopulmonary connection. *Eur. J. Heart Fail.*, 10 (1), 60-62. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.ejheart.2007.11.001.
- 59 Koch, A., Zink, S. & Dittrich, S. (2008). Plasma levels of B-type natriuretic peptide in children and adolescents with high degree atrioventricular block. *Int J Cardiol*. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.ijcard.2007.12.117.
- 60 Koch, A., Zink, S. & Singer, H. (2006). B-type natriuretic peptide in paediatric patients with congenital heart disease. *Eur Heart J*, 27 (7), 861-866. Verfügbar unter: doi:10.1093/eurheartj/ehi773.
- 61 Koulouri, S., Acherman, R. J., Wong, P. C., Chan, L. S. & Lewis, A. B. (2004). Utility of B-type natriuretic peptide in differentiating congestive heart failure from lung disease in pediatric patients with respiratory distress. *Pediatr Cardiol*, 25 (4), 341-346. Verfügbar unter: doi:10.1007/s00246-003-0578-0.
- 62 Lammers, A. E., Hislop, A. A. & Haworth, S. G. (2008). Prognostic value of B-type natriuretic peptide in children with pulmonary hypertension. *Int J Cardiol*. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.ijcard.2008.03.009.
- 63 Lan, Y.-T., Chang, R.-K. R., Alejos, J. C., Burch, C. & Wetzel, G. T. (2004). B-type natriuretic peptide in children after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 23 (5), 558-563. Verfügbar unter: doi:10.1016/S1053-2498(03)00306-1.
- 64 Law, Y. Ming, Etedgui, J., Beerman, L., Maisel, A. & Tofovic, S. (2006). Comparison of plasma B-type natriuretic peptide levels in single ventricle patients with systemic ventricle heart failure versus isolated cavopulmonary failure. *Am J Cardiol*, 98 (4), 520-524. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.amjcard.2006.02.058.
- 65 Lee, S.-C., Stevens, T. L., Sandberg, S. M., Heublein, D. M., Nelson, S. M., Jougasaki, M. et al. (2002). The potential of brain natriuretic peptide as a biomarker for New York Heart Association class during the outpatient treatment of heart failure. *J Card Fail*, 8 (3), 149-154.
- 66 Levin, E. R., Gardner, D. G. & Samson, W. K. (1998). Natriuretic peptides. *N Engl J Med*, 339 (5), 321-328.
- 67 Lindblade, C. L., Chun, D. S., Darragh, R. K., Caldwell, R. L., Murphy, D. J. & Schamberger, M. S. (2005). Value of plasma B-type natriuretic peptide as a marker for rejection in pediatric heart transplant recipients. *Am J Cardiol*, 95 (7), 909-911. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.amjcard.2004.11.054.
- 68 Linssen, G. C. M., Bakker, S. J. L., Voors, A. A., Gansevoort, R. T., Hillege, H. L., Jong, P. E. de et al. (2010). N-terminal pro-B-type natriuretic peptide is an independent predictor of cardiovascular morbidity and mortality in the general population. *Eur. Heart J*, 31 (1), 120-127. Verfügbar unter: doi:10.1093/eurheartj/ehp420.
- 69 Lippi, G., Fortunato, A., Salvagno, G. L., Montagnana, M., Soffiati, G. & Guidi, G. C. (2007). Influence of sample matrix and storage on BNP measurement on the Bayer Advia Centaur. *J Clin Lab Anal*, 21 (5), 293-297. Verfügbar unter: doi:10.1002/jcla.20187.

- 70 Lubien, E., DeMaria, A., Krishnaswamy, P., Clopton, P., Koon, J., Kazanegra, R. et al. (2002). Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction: comparison with Doppler velocity recordings. *Circulation*, 105 (5), 595-601.
- 71 Lüllmann, H., Mohr, K. & Hein, L. (2010). *Pharmakologie und Toxikologie: [Arzneimittelwirkungen verstehen - Medikamente gezielt einsetzen ; ein Lehrbuch für Studierende der Medizin, der Pharmazie und der Biowissenschaften, eine Informationsquelle für Ärzte, Apotheker und Gesundheitspolitiker]* (17., akt. Aufl.). Stuttgart: Thieme. Verfügbar unter: <http://ebooks.thieme.de/9783133685177/1>.
- 72 Ma, K. K., Ogawa, T. & Bold, A. J. de. (2004). Selective upregulation of cardiac brain natriuretic peptide at the transcriptional and translational levels by pro-inflammatory cytokines and by conditioned medium derived from mixed lymphocyte reactions via p38 MAP kinase. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 36 (4), 505-513.
- 73 Maher, K. O., Reed, H., Cuadrado, A., Simsic, J., Mahle, W. T., Deguzman, M. et al. (2008). B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of critical heart disease in children. *Pediatrics*, 121 (6), e1484-8. Verfügbar unter: doi:10.1542/peds.2007-1856.
- 74 Mahle, W. T. (2008). Cardiac retransplantation in children. *Pediatr Transplant*, 12 (3), 274-280. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1399-3046.2007.00854.x.
- 75 Maiers, J. & Hurwitz, R. (2008). Identification of coronary artery disease in the pediatric cardiac transplant patient. *Pediatr Cardiol*, 29 (1), 19-23. Verfügbar unter: doi:10.1007/s00246-007-9038-6.
- 76 Mair, J., Gerda, F., Renate, H., Ulmer, H., Andrea, G. & Pachinger, O. (2008). Head-to-head comparison of B-type natriuretic peptide (BNP) and NT-proBNP in daily clinical practice. *Int J Cardiol*, 124 (2), 244-246. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.ijcard.2006.11.230.
- 77 Maisel, A. S., Krishnaswamy, P., Nowak, R. M., McCord, J., Hollander, J. E., Duc, P. et al. (2002). Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med*, 347 (3), 161-167. Verfügbar unter: doi:10.1056/NEJMoa020233.
- 78 Maisel, A., Mueller, C., Adams, K., Anker, S. D., Aspromonte, N., Cleland, J. G. F. et al. (2008). State of the art: using natriuretic peptide levels in clinical practice. *Eur. J. Heart Fail.*, 10 (9), 824-839. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.ejheart.2008.07.014.
- 79 Mark, P. B., Stewart, G. A., Gansevoort, R. T., Petrie, C. J., McDonagh, T. A., Dargie, H. J. et al. (2006). Diagnostic potential of circulating natriuretic peptides in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 21 (2), 402-410. Verfügbar unter: doi:10.1093/ndt/gfi187.
- 80 Martínez-Dolz, L., Almenar, L., Hervás, I., Moro, J., Agüero, J., Sánchez-Lázaro, I. et al. (2008). Prognostic relationship between two serial determinations of B-type natriuretic peptide and medium-long-term events in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 27 (7), 735-740. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.healun.2008.04.008.
- 81 Martinez-Dolz, L., Almenar, L., Moro, J., Agüero, J., Hervas, I., Rueda, J. et al. (2007). Prognostic value of brain natriuretic peptide in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant*, 26 (10), 986-991. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.healun.2007.07.023.
- 82 Masters, R. G., Davies, R. A., Veinot, J. P., Hendry, P. J., Smith, S. J. & Bold, A. J. de. (1999). Discoordinate modulation of natriuretic peptides during acute cardiac allograft rejection in humans. *Circulation*, 100 (3), 287-291.
- 83 McAlister, F. A., Ezekowitz, J., Tonelli, M. & Armstrong, P. W. (2004). Renal insufficiency and heart failure: prognostic and therapeutic implications from a prospective cohort study. *Circulation*, 109 (8), 1004-1009. Verfügbar unter: doi:10.1161/01.CIR.0000116764.53225.A9.

- 84 McCullough, P. A., Duc, P., Omland, T., McCord, J., Nowak, R. M., Hollander, J. E. et al. (2003). B-type natriuretic peptide and renal function in the diagnosis of heart failure: an analysis from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am J Kidney Dis*, 41 (3), 571-579. Verfügbar unter: doi:10.1053/ajkd.2003.50118.
- 85 Meirovich, Y. F., Veinot, J. P., de Bold, M. L., Haddad, H., Davies, R. A., Masters, R. G. et al. (2008). Relationship between natriuretic peptides and inflammation: proteomic evidence obtained during acute cellular cardiac allograft rejection in humans. *J Heart Lung Transplant*, 27 (1), 31-37. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.healun.2007.09.025.
- 86 Meiser, B., Buchholz, S. & Kaczmarek, I. (2011). De-novo calcineurin-inhibitor-free immunosuppression with sirolimus and mycophenolate mofetil after heart transplantation: 5-year results. *Curr Opin Organ Transplant*, 16 (5), 522-528. Verfügbar unter: doi:10.1097/MOT.0b013e32834aa2e1.
- 87 Mueller, C., Scholer, A., Laule-Kilian, K., Martina, B., Schindler, C., Buser, P. et al. (2004). Use of B-type natriuretic peptide in the evaluation and management of acute dyspnea. *N Engl J Med*, 350 (7), 647-654. Verfügbar unter: doi:10.1056/NEJMoa031681.
- 88 Nakagawa, O., Ogawa, Y., Itoh, H., Suga, S., Komatsu, Y., Kishimoto, I. et al. (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 (0021-9738). *J-Clin-Invest*. 1995 Sep; 96(3): 1280-7
- 89 Niizuma, S., Iwanaga, Y., Yahata, T., Tamaki, Y., Goto, Y., Nakahama, H. et al. (2009). Impact of left ventricular end-diastolic wall stress on plasma B-type natriuretic peptide in heart failure with chronic kidney disease and end-stage renal disease. *Clin. Chem.*, 55 (7), 1347-1353. Verfügbar unter: doi:10.1373/clinchem.2008.121236.
- 90 Nir, A., Lindinger, A., Rauh, M., Bar-Oz, B., Laer, S., Schwachtgen, L. et al. (2008). NT-Pro-B-type Natriuretic Peptide in Infants and Children: Reference Values Based on Combined Data from Four Studies. *Pediatr Cardiol*. Verfügbar unter: doi:10.1007/s00246-008-9258-4.
- 91 Nishii, M., Inomata, T., Takehana, H., Naruke, T., Yanagisawa, T., Moriguchi, M. et al. (2008). Prognostic utility of B-type natriuretic peptide assessment in stable low-risk outpatients with nonischemic cardiomyopathy after decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 51 (24), 2329-2335. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.jacc.2007.11.085.
- 92 Oliver, P. M., Fox, J. E., Kim, R., Rockman, H. A., Kim, H. S., Reddick, R. L. et al. (1997). Hypertension, cardiac hypertrophy, and sudden death in mice lacking natriuretic peptide receptor A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 94 (26), 14730-14735.
- 93 Ozhan, H., Albayrak, S., Uzun, H., Ordu, S., Kaya, A. & Yazici, M. (2007). Correlation of plasma B-type natriuretic peptide with shunt severity in patients with atrial or ventricular septal defect. *Pediatr Cardiol*, 28 (4), 272-275. Verfügbar unter: doi:10.1007/s00246-006-0014-3.
- 94 Pagel-Langenickel, I., Buttgereit, J., Bader, M. & Langenickel, T.-H. (2007). Natriuretic peptide receptor B signaling in the cardiovascular system: protection from cardiac hypertrophy (0946-2716).
- 95 Price, J. F., Thomas, A. K., Grenier, M., Eidem, B. W., O'Brian Smith, E., Denfield, S. W. et al. (2006). B-type natriuretic peptide predicts adverse cardiovascular events in pediatric outpatients with chronic left ventricular systolic dysfunction. *Circulation*, 114 (10), 1063-1069. Verfügbar unter: doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.608869.
- 96 Puleo, J. A., Aranda, J. M., Weston, M. W., Cintrón, G., French, M., Clark, L. et al. (1998). Noninvasive detection of allograft rejection in heart transplant recipients by use of Doppler tissue imaging. *J. Heart Lung Transplant.*, 17 (2), 176-184.

- 97 Rauchenzauner, M., Haberlandt, E., Foerster, S., Ulmer, H., Laimer, M., Ebenbichler, C. F. et al. (2007). Brain-type natriuretic peptide secretion following febrile and afebrile seizures - a new marker in childhood epilepsy? *Epilepsia*, 48 (1), 101-106. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1528-1167.2006.00837.x.
- 98 Rawlins, M. L., Owen, W. E. & Roberts, W. L. (2005). Performance characteristics of four automated natriuretic peptide assays. *Am J Clin Pathol*, 123 (3), 439-445. Verfügbar unter: doi:10.1309/PDJ2-RMM8-0FVR-DH7W.
- 99 Ray, P., Maziere, F., Medimagh, S., Lefort, Y., Arthaud, M., Duguet, A. et al. (2006). Evaluation of B-type natriuretic peptide to predict complicated pulmonary embolism in patients aged 65 years and older: brief report. *Am J Emerg Med*, 24 (5), 603-607. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.ajem.2006.02.007.
- 100 Redfield, M. M., Rodeheffer, R. J., Jacobsen, S. J., Mahoney, D. W., Bailey, K. R. & Burnett, J. C. (2002). Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 40 (5), 976-982.
- 101 Riede, U., Werner, M., Schaefer, H., Riede, U.-N. & Bianchi, L. (2004). *Allgemeine und Spezielle Pathologie: 1236 Seiten, 168 Tabellen* (5., komplett überarb. Aufl.). Stuttgart: Georg Thieme Verlag; Thieme. Verfügbar unter: <http://www.dandelon.com/intelligentSEARCH.nsf/alldocs/17B10F3A3AE9F7BBC1256EEF0025ED90/>.
- 102 Roche, S. L., Kaufmann, J., Dipchand, A. I. & Kantor, P. F. (2008). Hypertension after pediatric heart transplantation is primarily associated with immunosuppressive regimen. *J Heart Lung Transplant*, 27 (5), 501-507. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.healun.2008.01.018.
- 103 Rossano, J. W., Denfield, S. W., Kim, J. J., Price, J. F., Jefferies, J. L., Decker, J. A. et al. (2008). B-type natriuretic peptide is a sensitive screening test for acute rejection in pediatric heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant*, 27 (6), 649-654. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.healun.2008.03.008.
- 104 Rost, M. (2008). *Diagnostische Wertigkeit von NT-proBNP in der ambulanten Versorgung*. Inaugural Dissertation, Justus- Liebig Universität. Giessen
- 105 Sanjeev, S., Pettersen, M., Lua, J., Thomas, R., Shankaran, S. & L'Ecuyer, T. (2005). Role of plasma B-type natriuretic peptide in screening for hemodynamically significant patent ductus arteriosus in preterm neonates. *J Perinatol*, 25 (11), 709-713. Verfügbar unter: doi:10.1038/sj.jp.7211383.
- 106 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. Verfügbar unter: doi:10.1007/s00392-005-0246-x.
- 107 Schwartz, G. J., Feld, L. G. & Langford, D. J. (1984). A simple estimate of glomerular filtration rate in full-term infants during the first year of life. *J. Pediatr.*, 104 (6), 849-854.
- 108 Shalev, A., Nir, A. & Granot, E. (2005). Cardiac function in children post-orthotopic liver transplantation: echocardiographic parameters and biochemical markers of subclinical cardiovascular damage. *Pediatr Transplant*, 9 (6), 718-722. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1399-3046.2005.00365.x.
- 109 Shimizu, H., Aono, K., Masuta, K., Asada, H., Misaki, A. & Teraoka, H. (2001). Degradation of human brain natriuretic peptide (BNP) by contact activation of blood coagulation system. *Clin Chim Acta*, 305 (1-2), 181-186.
- 110 Simmonds, J., Fenton, M., Dewar, C., Ellins, E., Storry, C., Cubitt, D. et al. (2008). Endothelial dysfunction and cytomegalovirus replication in pediatric heart transplantation. *Circulation*, 117 (20), 2657-2661. Verfügbar unter: doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.718874.

- 111 Smith, M. W., Espiner, E. A., Yandle, T. G., Charles, C. J. & Richards, A. M. (2000). Delayed metabolism of human brain natriuretic peptide reflects resistance to neutral endopeptidase. *J. Endocrinol.*, 167 (2), 239-246.
- 112 Soldin, S. J., Soldin, O. P., Boyajian, A. J. & Taskier, M. S. (2006). Pediatric brain natriuretic peptide and N-terminal pro-brain natriuretic peptide reference intervals. *Clin Chim Acta*, 366 (1-2), 304-308. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.cca.2005.11.005.
- 113 Speth, M. Unveröffentlichte Beobachtungen des Zentrallabor Giessen: mit freundlicher Genehmigung verweise ich auf Fr. Dr. Speth (Tel. 0641 99 41552); Maria.Speth@klinchemie.med.uni-giessen.de.
- 114 Stehlik, J., Edwards, L. B., Kucheryavaya, A. Y., Benden, C., Christie, J. D., Dobbels, F. et al. (2011). The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-eighth Adult Heart Transplant Report--2011. *J. Heart Lung Transplant.*, 30 (10), 1078-1094. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.healun.2011.08.003.
- 115 Stewart, S., Winters, G. L., Fishbein, M. C., Tazelaar, H. D., Kobashigawa, J., Abrams, J. et al. (2005). Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. *J. Heart Lung Transplant.*, 24 (11), 1710-1720. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.healun.2005.03.019.
- 116 Suttner, S. W. & Boldt, J. (2004). Natriuretic peptide system: physiology and clinical utility. *Curr Opin Crit Care*, 10 (5), 336-341.
- 117 Suzuki, T., Yamazaki, T. & Yazaki, Y. (2001). The role of the natriuretic peptides in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res*, 51 (3), 489-494.
- 118 Swedberg, K., Cleland, J., Dargie, H., Drexler, H., Follath, F., Komajda, M. et al. (2005). Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary. *Eur Heart J*, 26 (11), 1115-1140. Verfügbar unter: doi:10.1093/eurheartj/ehi204.
- 119 Sykes, E., Karcher, R. E., Eisenstadt, J., Tushman, D. A., Balasubramaniam, M., Gusway, J. et al. (2005). Analytical relationships among Biosite, Bayer, and Roche methods for BNP and NT-proBNP. *Am J Clin Pathol*, 123 (4), 584-590. Verfügbar unter: doi:10.1309/F86F-VEFD-GX06-DTUV.
- 120 Tagore, R., Ling, L. H., Yang, H., Daw, H.-Y., Chan, Y.-H. & Sethi, S. K. (2008). Natriuretic peptides in chronic kidney disease. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 3 (6), 1644-1651. Verfügbar unter: doi:10.2215/CJN.00850208.
- 121 Takeuchi, D., Saji, T., Takatsuki, S. & Fujiwara, M. (2007). Abnormal tissue doppler images are associated with elevated plasma brain natriuretic peptide and increased oxidative stress in acute Kawasaki disease. *Circ J*, 71 (3), 357-362.
- 122 Tamura, N., Ogawa, Y., Chusho, H., Nakamura, K., Nakao, K., Suda, M. et al. (2000). Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97 (8), 4239-4244. Verfügbar unter: doi:10.1073/pnas.070371497.
- 123 Tan, L.-H., Jefferies, J. L., Liang, J.-F., Denfield, S. W., Dreyer, W. J., Mott, A. R. et al. (2007). Concentrations of brain natriuretic peptide in the plasma predicts outcomes of treatment of children with decompensated heart failure admitted to the Intensive Care unit. *Cardiol Young*, 17 (4), 397-406. Verfügbar unter: doi:10.1017/S1047951107000601.
- 124 van Kimmenade, R. R. J., Januzzi, J. L., Bakker, J. A., Houben, A. J., Rennenberg, R., Kroon, A. A. et al. (2009). Renal clearance of B-type natriuretic peptide and amino terminal pro-B-type natriuretic peptide a mechanistic study in hypertensive subjects. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 53 (10), 884-890. Verfügbar unter: doi:10.1016/j.jacc.2008.11.032.
- 125 Wang, T. J., Larson, M. G., Levy, D., Benjamin, E. J., Leip, E. P., Omland, T. et al. (2004). Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N. Engl. J. Med.*, 350 (7), 655-663. Verfügbar unter: doi:10.1056/NEJMoa031994.

- 126 Westerlind, A., Wähländer, H., Berggren, H., Lundberg, P.-A. & Holmgren, D. (2008). Plasma levels of natriuretic peptide type B and A in children with heart disease with different types of cardiac load or systolic dysfunction. *Clin Physiol Funct Imaging*, 28 (4), 277-284. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1475-097X.2008.00805.x.
- 127 Wieand, S. A.M., Gail, M. H., James, B. R. & James, K. L. (1989). A family of nonparametric statistics for comparing diagnostic markers with paired or unpaired data. *Biometrika*, 76 (3), 585-592. Verfügbar unter: <http://biomet.oxfordjournals.org/content/76/3/585.abstract>.
- 128 Wu, A. H. B., Packer, M., Smith, A., Bijou, R., Fink, D., Mair, J. et al. (2004). Analytical and clinical evaluation of the Bayer ADVIA Centaur automated B-type natriuretic peptide assay in patients with heart failure: a multisite study. *Clin Chem*, 50 (5), 867-873. Verfügbar unter: doi:10.1373/clinchem.2003.026138.
- 129 Wu, Y. L., Ye, Q., Sato, K., Foley, L. M., Hitchens, T. Kevin & Ho, C. (2009). Noninvasive evaluation of cardiac allograft rejection by cellular and functional cardiac magnetic resonance. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2 (6), 731-741.
- 130 Yan, W., Wu, F., Morser, J. & Wu, Q. (2000). Corin, a transmembrane cardiac serine protease, acts as a pro-atrial natriuretic peptide-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97 (15), 8525-8529. Verfügbar unter: doi:10.1073/pnas.150149097.
- 131 Yang, R. H., Jin, H. K., Wyss, J. M., Chen, Y. F. & Oparil, S. (1992). Pressor effect of blocking atrial natriuretic peptide in nucleus tractus solitarii. *Hypertension*, 19 (2), 198-205.
- 132 Yasue, H., Yoshimura, M., Sumida, H., Kikuta, K., Kugiyama, K., Jougasaki, M. et al. (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 (0009-7322). *Circulation*. 1994 Jul; 90(1): 195-203
- 133 Zales, V. R., Crawford, S., Backer, C. L., Pahl, E., Webb, C. L., Lynch, P. et al. (1994). Role of endomyocardial biopsy in rejection surveillance after heart transplantation in neonates and children. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 23 (3), 766-771.
- 134 Zuckermann, A. Oliver & Aliabadi, A. Z. (2009). Calcineurin-inhibitor minimization protocols in heart transplantation. *Transpl. Int.*, 22 (1), 78-89. Verfügbar unter: doi:10.1111/j.1432-2277.2008.00771.x.
- 135 Zweig, M. H. & Campbell, G. (1993). Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin. Chem.*, 39 (4), 561-577.

10. Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Göttingen,

Ort, Datum

Unterschrift