

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Kinderkardiologie

Direktor Privatdozent Doktor Rainer Kozlik-Feldmann

Kardiale Biomarker und Impedanzkardiographie in der Neonatologie

Dissertation

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

vorgelegt von

Jan Sandig
aus Berlin

Hamburg 2017

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 09.10.2017

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Jochen Weil

Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in: Prof. Dr. Dominique Singer

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	v
Abbildungsverzeichnis	vi
Tabellenverzeichnis	viii
1 Einleitung	1
1.1 Perinatale Diagnostik angeborener Herzfehler	1
1.2 Kardiale Biomarker	4
1.2.1 Midregional Pro-atrial natriuretic peptide	4
1.2.2 Brain natriuretic peptide	6
1.2.3 Midregional Pro-Adrenomedullin	9
1.2.4 Copeptin	11
1.2.5 Troponin-I	14
1.3 Impedanzkardiographie	17
1.3.1 Messverfahren	17
1.3.2 Klinische Anwendung	19
1.4 Arbeitshypothese und Fragestellung	20
2 Material und Methoden	21
2.1 Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie	21
2.2 Studienpopulation	22
2.3 Probengewinnung	23
2.4 Probenverarbeitung	23
2.5 Impedanzkardiographische Messung	26
2.6 Auswertung und statistische Analyse	29

3	Ergebnisse	31
3.1	Studienpopulation	31
3.2	Qualität	33
3.3	Biomarkermessungen	34
3.3.1	Natriuretische Peptide	34
3.3.2	Midregional Pro-Adrenomedullin	36
3.3.3	Copeptin	38
3.3.4	High sensitive Troponin-I	40
3.3.5	Mutter-Kind-Paare	41
3.3.6	Arterio-venöser Vergleich	45
3.3.7	Mehrlingsgeburten	47
3.3.8	Geburtsmodus	48
3.3.9	Normwerte und Referenzbereich	50
3.4	Impedanzkardiographische Messungen	52
3.4.1	Biometrie	52
3.4.2	Biomarker	54
4	Diskussion	56
4.1	Beurteilung der Ergebnisse und Einordnung in die Fachliteratur	56
4.1.1	Biomarkermessungen	56
4.1.2	Einflussfaktoren	59
4.1.3	Impedanzkardiographische Messungen	66
4.2	Studienlimitierende Faktoren	68
4.3	Ausblick peripartale Biomarkerdiagnostik	70
5	Zusammenfassung	72
6	Publikation	74
7	Literatur	81
8	Anhang	98
9	Danksagung	102
10	Lebenslauf	103
11	Eidesstattliche Erklärung	104

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ADM	Adrenomedullin
AHF	Angeborener Herzfehler
ANP	Atrial natriuretic peptide
AVP	Arginin-Vasopressin
BGA	Blutgasanalyse
BMI	Body-Mass-Index
BNP	Brain natriuretic peptide
BSA	Body Surface Area
cTNI	Kardiales Troponin-I
Hb	Hämoglobingehalt
HF	Herzfrequenz
HI	Herzindex
hs-cTNI	High sensitive kardiales Troponin-I
HZV	Herzeitvolumen
IKG	Impedanzkardiographie
LVET	Linksventrikuläre Austreibungszeit
MR-proADM	Midregional Pro-Adrenomedullin
MR-proANP	Midregional Pro-atrial natriuretic peptide
NT-proBNP	N-terminal Pro-Brain natriuretic peptide
pCO ₂	Kohlenstoffdioxid-Partialdruck
PDA	Persistierender Ductus arteriosus Botalli
POS	Pulsoxymetrische Sauerstoffsättigung
SI	Schlagindex
SSW	Schwangerschaftswoche
SV	Schlagvolumen
TFC	Thorakaler Flüssigkeitsstatus
TRACE	Time-resolved Amplified Cryptate Emission
v_{Aorta}	Mittlere Auswurfgeschwindigkeit des Blutes vom linken Ventrikel
Vol	Volumenkonstante des Thorax

Abbildungsverzeichnis

1	Pioniere der Kinderkardiologie	1
2	Diagnostik der kritischen angeborenen Herzfehler	2
3	Peptidsequenz natriuretischer Peptide mit Disulfidring	4
4	Aufbau des Pro-Atrial natriuretic peptide und Detektierung mit Hilfe des Sandwich Immunoassays	5
5	Mediane BNP-Level in den Stadien der NYHA-Klassifikation	7
6	Aufbau des Prä-Pro-Adrenomedullin-Peptids und Detektierung mit Hilfe des Sandwich Immunoassays	9
7	Aufbau des Prä-Pro-Vasopressin-Peptids und Detektierung mit Hilfe des Sandwich Immunoassays	11
8	Anatomie der Hypophyse und Kerngebiete der Vasopressinproduktion . .	12
9	Aufbau eines kardialen Myofilaments	15
10	Das menschliche Thoraxmodell als System von Zylindern	18
11	Stromfluss während der Diastole und Systole in der Aorta ascendens . . .	18
12	Methodik der Immunolumineszenz	24
13	Methodik der TRACE-Technologie	25
14	Elektrodenanordnung bei Säuglingen	26
15	Physiologie der Impedanzmessung	27
16	Histogramm der natriuretischen Peptid-Messungen	34
17	Korrelation des Gestationsalters mit MR-proANP und NT-proBNP	35
18	Korrelation der natriuretischen Peptide untereinander	36
19	Histogramm der Midregional Pro-Adrenomedullin-Messungen	36
20	Korrelation von Midregional Pro-Adrenomedullin mit dem Gestationsalter	37
21	Korrelation von MR-proADM mit MR-proANP und NT-proBNP	37
22	Histogramm der Copeptin-Messungen	38
23	Korrelation von Copeptin mit dem Gestationsalter	39
24	Korrelation von Copeptin mit pH- und Laktatgehalt	39
25	Histogramm der high sensitive Troponin-I-Messungen	40
26	Korrelation von maternalen und fetalvenösen Midregional Pro-Adrenomedullin-Werten	42

27	Boxplot der fetalvenösen und maternalen MR-proANP-Werte nach Gestationsalter	43
28	Boxplot der fetalvenösen und maternalen NT-proBNP-Werte nach Gestationsalter	43
29	Boxplot der fetalvenösen und maternalen MR-proADM-Werte nach Gestationsalter	44
30	Boxplot der arteriellen und venösen Nabelschnur- und maternalen Copeptin-Werte	46
31	Boxplot der arteriellen und venösen Nabelschnur- und maternalen MR-proADM-Werte	46
32	Boxplot der fetalen Copeptin-Werte nach Geburtsmodus	49
33	Korrelation des Schlagvolumens mit Geburtsgewicht, -größe, Kopfumfang und Gestationsalter	53
34	Heatmap der p-Werte von kardialen Biomarkern mit impedanzkardiographischen Parametern	54
35	Korrelation der natriuretischen Peptide MR-proANP und NT-proBNP mit der Herzfrequenz und dem Herzindex	55
36	Korrelation des high sensitive Troponin-I mit dem Schlagindex	55

Tabellenverzeichnis

1	Impedanzkardiographische Messwerte	29
2	Studienpopulation	31
3	Kardiale Biomarker aus Nabelvenenblut der Gesamtstudienpopulation . .	32
4	Assay-Qualität der Biomarkerbestimmungen	33
5	Kardiale Biomarker im Mutter-Kind-Vergleich	41
6	Messergebnisse der Arteria und Vena umbilicalis	45
7	Messergebnisse der Einlinge und Mehrlinge	47
8	Messergebnisse der Geburtsmodi	48
9	Normwerte und Referenzbereiche für MR-proANP, BNP, NT-proBNP und MR-proADM	50
10	Normwerte und Referenzbereiche für Copeptin	51
11	Normwerte und Referenzbereiche für high sensitive Troponin-I	51
12	Perzentilenangabe für high sensitive Troponin-I	51
13	Impedanzkardiographische Messwerte der Gesamtstudienpopulation . . .	52
14	Szenarien der Biomarkerproduktion und plazentärer Austausch	63

Für meine Frau Tina
und meine Familie

KAPITEL 1

Einleitung

1.1 Perinatale Diagnostik angeborener Herzfehler

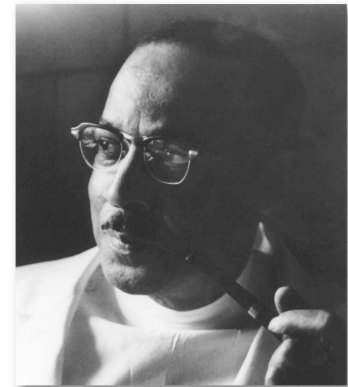
Angeborene Herzfehler (AHF) sind eine der häufigsten Fehlbildungen der embryonalen Entwicklungsperiode des Menschen. Aufgrund eines mangelnden Verständnisses sowie fehlender diagnostischer und therapeutischer Methoden war das „herzkranke Kind“ für lange Zeit eine permanente Herausforderung der frühen Kinderheilkunde (Lüderitz et al. 2002). Es ist der Pionierarbeit der amerikanischen Kinderärztin Helen Taussig und der Zusammenarbeit mit dem Herzchirurgen Alfred Blalock und seinem Assistenten Vivian Thomas (Abbildung 1) zu verdanken, dass die ersten Therapieansätze für Millionen von „blue babies“ entwickelt wurden.



Dr. med. Helen B. Taussig



Dr. med. Alfred Blalock



Dr. h.c. Vivian T. Thomas

Abbildung 1: Pioniere der Kinderkardiologie (Kehoe 1994)

Mit den Anfängen der Herzchirurgie und der Erfindung der Herz-Lungen-Maschine in der Mitte des letzten Jahrhunderts entstanden neue Methoden, um angeborene Herzfehler zu behandeln. Das therapeutische Repertoire wurde mit der Entwicklung der Herzkathetertechnik zusätzlich um eine interventionelle Versorgung erweitert. In der modernen Medizin sind eine Vielzahl der angeborenen Herzfehler korrigierbar

und die Lebenserwartungen steigen kontinuierlich (Haas und Kleideiter 2011). Das Spektrum der AHF umfasst eine große Anzahl von verschiedenen Fehlbildungen, die nach unterschiedlichen Kriterien (zyanotisch/azyanotisch, rechts-links-/links-rechts-Shunt, leicht/moderat/kritisch) eingeteilt werden können. Für jeden Patienten besteht somit eine individuelle Therapieempfehlung und Prognose. Neben der Art des konnatalen Herzfehlers ist die rasche Diagnose und therapeutische Behandlung ein wichtiger Faktor für die weitere Prognose (Brown et al. 2006).

Man unterscheidet in der peripartalen Diagnostik angeborener Herzfehler in prä- und postnatale diagnostische Maßnahmen. Mit der pränatalen Ultraschalldiagnostik, im Rahmen der Schwangerschaftsvorsorge, existiert in Deutschland eine Methode zur Früherkennung von embryologischen Fehlbildungen. Mit Hilfe der Frühdiagnostik werden in Deutschland 12% aller angeborenen Herzfehler (41% kritische AHF) pränatal diagnostiziert (Schwedler et al. 2011). Die Gründe für die niedrige Sensitivität liegen hier in den erschwerten Untersuchungsbedingungen durch die Darstellung millimetergroßer Strukturen, mütterlichem Übergewicht, Fruchtwasserstörungen sowie der mangelnden Routine in der Erkennung von angeborenen Herzfehlern im niedergelassenen Bereich. Durch die Anwendung der Nackenfaltenmessung und des Triple-Tests sowie der invasiven Verfahren Chorionzottenbiopsie, Fruchtwasseruntersuchung und Nabelschnurpunktion kann die Pränataldiagnostik weiter ergänzt werden (Wieacker und Steinhard 2010). Postnatal wird in Deutschland durch die U1- und U2-Untersuchung ein klinisches Screeningverfahren angewendet. Ein besonderes Augenmerk wird dabei auf die kardiale Auskultation, die Erhebung des Pulsstatus und die Verwendung des APGAR-Scores gelegt. Bei Hinweisen auf das Vorliegen eines AHF wird die Diagnostik durch eine Echokardiographie, EKG- und ggf. MRT- oder CT-Untersuchung ergänzt (Haas und Schirmer 2011).

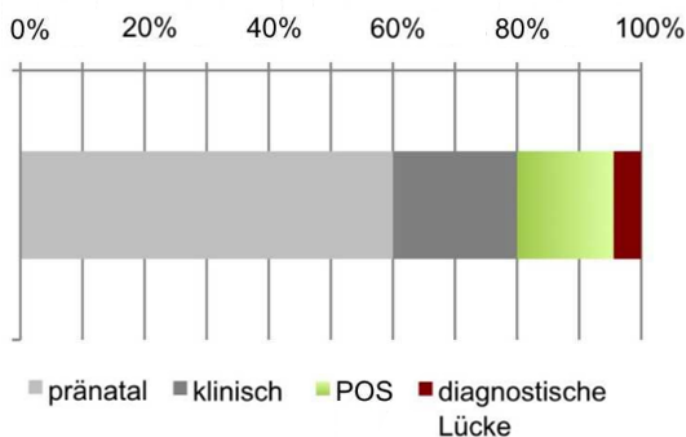


Abbildung 2: Diagnostik der kritischen angeborenen Herzfehler (in Anlehnung an Riede et al. 2010)

Mit der Messung der pulsoxymetrischen Sauerstoffsättigung (POS) wurde ein weiteres Screeningverfahren zur Früherkennung der AHF etabliert (Lindinger et al. 2013). Durch die Kombination der pränatalen Sonographie, postnataler klinischer Untersuchung und Messung der POS konnte die diagnostische Lücke bis zum Zeitpunkt der U2-Untersuchung für kritische angeborene Herzfehler auf 4,4% (Riede et al. 2010) reduziert werden (Abbildung 2). Von der Gesamtheit aller angeborenen Herzfehler werden bis zum dritten Lebensmonat 82% erfasst (Schwedler et al. 2011).

Die Verbesserung der perinatalen Herzfehlerdiagnostik ist ein aktueller Forschungsgegenstand der modernen Kinderkardiologie. Dabei bietet die Messung von kardialen Biomarkern bei Neonaten ein großes diagnostisches Potential. In der Erwachsenenkardiologie gehören kardiale Biomarker, wie die Herztroponine I und T sowie die natriuretischen Peptide Atrial natriuretic peptide (ANP) und Brain natriuretic peptide (BNP), seit Jahren zum internationalen Standard in der Diagnostik von myokardialen Schädigungen und Herzinsuffizienzen (Mueller 2014; McMurray et al. 2012). Das Potential kardialer Biomarker wird im neonatologischen Bereich noch nicht voll ausgeschöpft. Aufgrund von unterschiedlichen Messverfahren, geringen Studienpopulationen und vielen möglichen Einflussfaktoren (Geburtsgröße, Gestationsalter, Geburtsmodus, fetoplazentärer Austausch) gibt es keine einheitlichen Referenzbereiche, die für die Diagnostik von angeborenen Herzfehlern verwendet werden können (Kulkarni et al. 2015).

Durch die Anwendung des Verfahrens der Electrical Velocimetry erlebt die nichtinvasive impedanzkardiographische Erfassung von hämodynamischen Parametern (z.B. Schlag- und Herzzeitvolumen) aktuell eine Renaissance (Coté et al. 2015; Blohm et al. 2016b; Ebrahim et al. 2016). Als einfache und kostengünstige Methode bietet sie die Möglichkeit, neue Erkenntnisse über die physiologischen postpartalen Kreislaufanpassungen zu sammeln (Freidl et al. 2016). Allerdings ist die Datenlage bezüglich der Vergleichbarkeit mit anderen etablierten Verfahren uneindeutig und abhängig vom untersuchten Patientenkollektiv (Chong und Peyton 2012; Blohm et al. 2014; Blohm et al. 2016b).

Gegenstand dieser Arbeit ist die Auswertung der „Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie“. Diese Studie beinhaltet die Messung von sechs kardialen Biomarkern aus Nabelvenenblut von herzgesunden Neugeborenen. Durch die Anwendung der postpartalen Bioimpedanzmessung können weitere kardiovaskuläre Parameter erhoben und ausgewertet werden.

Mit Hilfe der Erstellung von Referenzbereichen und der Beurteilung von Einflussfaktoren sowie dem Vergleich mit impedanzkardiographischen Messwerten, wird ein Beitrag zur Diagnostik und zur Beurteilung der neonatalen Kreislaufverhältnisse geleistet.

Somit ergeben sich für verschiedene Gewebearten unterschiedliche Abbaupotentiale, wobei Lungen-, Leber- und Nierengewebe die stärksten Aktivitäten aufweisen (Hollister et al. 1989).

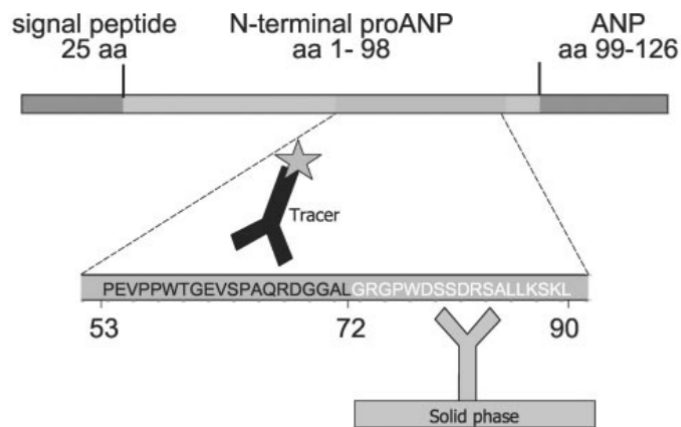


Abbildung 4: Aufbau des Pro-atrial natriuretic peptide und Detektierung mit Hilfe des Sandwich-Immunoassays (Morgenthaler et al. 2004)

Die klinische Verwendung des ANP als Routineparameter wird durch die hohe Instabilität und schnelle metabolische Elimination (Halbwertszeit 2,5 Minuten) erschwert (Yandle et al. 1986). Morgenthaler et al. (2004) entwickelten einen Sandwich-Immunoassay, der im Bereich des N-terminalen Prohormons proANP bindet (Abbildung 4). Durch die Bindungsregion wird dieses Peptid als Midregional Pro-atrial natriuretic peptide (MR-proANP) bezeichnet.

Die Vorteile der MR-proANP-Messung ergeben sich aus einer wesentlich längeren Plasmastabilität und der Möglichkeit zur Schlussfolgerung auf die Biomarkerlevel des aktiven ANP, durch einen äquimolaren Bildungsmechanismus (Morgenthaler et al. 2004).

Klinische Funktion

Die Wirkung des aktiven ANP wird über die gewebespezifische Verteilung der „Natriuretic peptide receptors“ gesteuert, die größtenteils über eine Erhöhung des intrazellulären cyclischen Guanosinmonophosphats wirken. Der blutdrucksenkende Einfluss des ANP wird über drei Regulationsmechanismen bewirkt. In der Niere greift ANP über eine Hemmung des Angiotensin II (Harris et al. 1987) und eine Senkung der Reninausschüttung im juxtaglomerulären Apparat (Wijeyaratne und Moulton 1993) direkt auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System ein. Diese Wirkung führt zu einer Verminderung der Aldosteron-Bildung und somit zu einer erhöhten Natriurese und einer vermehrten osmotischen Wasserausscheidung. Über die ANP-Rezeptorinteraktion wirkt das Atrial natriuretic peptide am Endothel vasodilatatorisch, was zu einer Verringerung des Gefäßwiderstands führt (Charles et al. 1993). Die Wasser- und Elektrolytregulatorische Funktion des ANP wird im Gehirn über eine Verminderung des Durstgefühls, eine

Absenkung der Vasopressin-Ausschüttung (Burrell et al. 1991) und eine inhibitorische Wirkung auf den Sympathikus (Floras 1990) weiter verstärkt. Neuere Forschungen entdeckten eine zusätzliche stoffwechselaktive Funktion des ANP. So wirkt ANP als Aktivator der Lipolyse in braunen Fettzellen auf die Thermoregulation des Körpers (Bordicchia et al. 2012). Über einen verminderten Einbau von ANP-Rezeptoren und einer daraus resultierenden arteriellen Hypertonie, bei konstant erhöhten Insulinwerten, liefert die ANP-Forschung aktuell einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der Komorbiditäten des Diabetes mellitus (Bordicchia et al. 2016).

Der klinische Nutzen der MR-proANP-Bestimmung besteht in der Diagnostik und Therapiekontrolle der akuten und chronischen Herzinsuffizienz (von Haehling et al. 2007). Die vermehrte Vorhofdehnung, durch die insuffiziente Pumpleistung des Herzens (zum Beispiel bei Mitralklappeninsuffizienz oder Dilatativer Kardiomyopathie), führt als starker Stimulus zu einem messbaren Biomarkeranstieg. Die MR-proANP-Level korrelieren dabei mit dem NYHA-Stadium und der Mortalitätsrate der herzinsuffizienten Patienten.

Neonatologie

In den Voruntersuchungen zur Rolle des Atrial natriuretic peptides wurden Assoziationen zwischen erhöhten Nabelschnurblutwerten und der Frühgeburtlichkeit beschrieben (Koch et al. 2011). In der Diagnostik der Komplikationen der Frühgeburten wird insbesondere ein Zusammenhang mit dem persistierenden Ductus arteriosus Botalli (PDA) diskutiert (Letzner et al. 2012). Erhöhte MR-proANP-Werte wiesen auf ein vielfach erhöhtes Risiko eines PDA hin (Grass et al. 2014). Die Höhe der gemessenen Werte korrelierte dabei mit dem Risiko des medikamentösen Therapieversagens des Ductusverschlusses und des Durchmessers des Ductus arteriosus Botalli. Die Biomarkerlevel des ANP steigen postpartal bis zum zweiten Lebenstag um ein Vielfaches an und fallen anschließend stark ab (Mir et al. 2003). Aufgrund dieser Beobachtungen und des klinischen Funktionsmechanismus wird ANP eine physiologische Rolle in der postnatalen Kreislaufregulation des Neonaten zugesprochen.

1.2.2 Brain natriuretic peptide

Struktur, Bildung und Eliminierung

Während der Forschung an Schweinehirnen gelang es Sudoh et al. (1988) mit der Entdeckung des Brain natriuretic peptide (BNP), ein weiteres strukturverwandtes natriuretisches Peptid zu isolieren. Kurze Zeit später wurden hohe Konzentrationen des BNP auch in den Herzkammern von Ratten gefunden (Aburaya et al. 1989). Das aktive BNP ist ein aus 32 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon und beinhaltet als strukturelles Merkmal einen C-terminalen Disulfidring (Abbildung 3). Die Sekretion des

BNP findet vorrangig in den Kardiomyozyten des linken Ventrikel statt, nachdem sie über eine Zunahme der Wandspannung stimuliert wurden (Nakagawa et al. 1995). Im Gegensatz zum ANP, wird BNP dabei nicht als Prohormon gespeichert, sondern über die Transkriptionsrate gesteuert (Yasue 1995). Das BNP wird aus einem Prohormon durch posttranslationale Modifikation gebildet. Neben dem aktiven BNP entsteht zusätzlich äquimolar (Hunt et al. 1997) das aus den ersten n-terminalen 76 Aminosäuren bestehende kardiale Markerprotein N-terminal Pro-Brain natriuretic peptide (NT-proBNP). Analog zur Verwendung von MR-proANP, nutzt man NT-proBNP als Surrogat-Marker, um auf die Aktivität des BNP zu schließen. Dabei spielt die gegenüber dem aktiven BNP vielfach erhöhte Serumstabilität (60 - 120 Minuten) eine wichtige Rolle für die Verwendung in der aktuellen Routinediagnostik (Vanderheyden et al. 2004). Als weiterer Vertreter der natriuretischen Peptide wird auch die Eliminierung von BNP über die dem ANP-Abbau ähnliche Prozesse gesteuert (Rezeptorgebundene Clearance und Abbau durch Endopeptidasen). Die Affinität zu den abbauenden Rezeptoren von BNP ist um ein Vielfaches geringer, als die von ANP (Mukoyama et al. 1991). Aufgrund dessen ergibt sich ein geringeres Clearancepotential durch diesen Rezeptor und damit eine längere Halbwertszeit von 22,6 Minuten (Holmes et al. 1993).

Klinische Funktion

Die BNP-Messung ist zur Evaluierung der Herzinsuffizienz ein fester Bestandteil in den kardiologischen Richtlinien geworden (McMurray et al. 2012). Besonders hervorzuheben ist der hohe negative prädiktive Wert von 99% zum Ausschluss einer Pumpstörung des Herzens. Die klinische Relevanz und Assoziation mit dem Schweregrad der Herzinsuffizienz wird in einer Korrelation mit den Stadien der NYHA-Klassifikation deutlich (Abbildung 5).

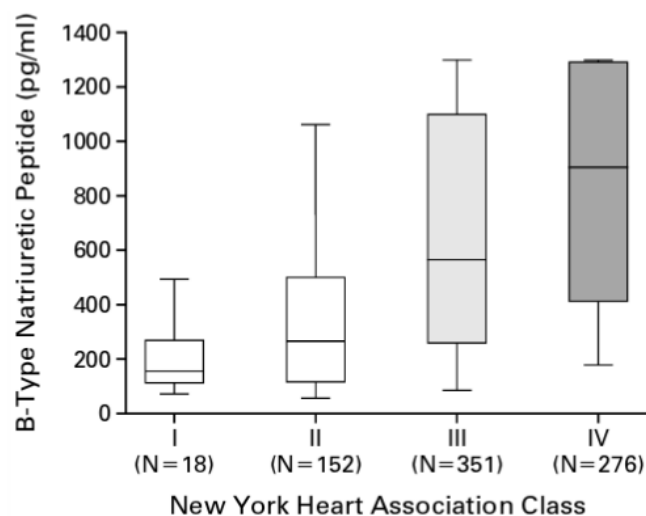


Abbildung 5: Mediane BNP-Level in den Stadien der NYHA-Klassifikation (Maisel et al. 2002)

Im akuten Herzversagen und bei der Schädigung des Myokards durch einen Herzinfarkt, werden im Blut erhöhte BNP-Werte nachgewiesen (Irfan et al. 2015). Der BNP-Anstieg ist jedoch erst mit einer Verzögerung messbar, weshalb in der Myokardinfarkt Diagnostik die Troponin- und CK-MB-Bestimmung Vorteile in der Früherkennung bieten. Obwohl nur ein geringer Teil des BNP über die Niere eliminiert wird, finden sich auch bei eingeschränkter Nierenfunktion (Kreatinin > 2 mg/dl) erhöhte Messwerte im Blut (Austin et al. 2006). In Zukunft ist die Anwendung der NT-proBNP-Level in der Risikoabschätzung einer Antikoagulation bei Vorhofflimmern denkbar. Mit der Verwendung eines neuen ABC-Scores (Patientenalter, Biomarker [NT-proBNP, Troponin-I] und klinischer Anamnese [früherer Schlaganfall]) wurde ein Test entwickelt, der in einer aktuellen Studie die Vorhersagekraft für thrombembolische Ereignisse des etablierten CHA₂DS₂-VASc-Scores übertrifft (Oldgren et al. 2016). Die Referenzwerte der BNP-Level unterliegen einem starken Einfluss vom Alter und Geschlecht des Patienten. Mit zunehmenden Alterungsprozessen (Arteriosklerose, arterielle Hypertonie, Myokardfibrose) wird die Pumpfunktion des Herzens eingeschränkt, weshalb die Referenzbereiche mit steigendem Alter zunehmen (Fradley et al. 2011). Frauen weisen zudem einen höheren BNP-Wert als Männer der gleichen Altersklasse auf (Wang et al. 2002).

Neonatologie

Die Bestimmung von BNP- und NT-proBNP-Werten bietet eine wichtige Hilfe zur Diagnose und Evaluierung von Kindern mit angeborenen Herzfehlern (Kantor et al. 2013). Dabei korrelieren die Biomarkerlevel mit dem NYHA-Stadium (Şahin et al. 2010) und der Zunahme der klinischen Symptome (Ratnasamy et al. 2008). In der Kinderherzchirurgie konnte gezeigt werden, dass erhöhte präoperative BNP-Level mit einem verlängerten Intensivaufenthalt assoziiert sind (Pérez-Piaya et al. 2011). In einer Metaanalyse von Kulkarni et al. wurden 21 Studien zur Diagnostik eines persistierenden Ductus arteriosus Botalli verglichen. Dabei erzielten BNP und NT-proBNP eine ähnlich hohe durchschnittliche Sensitivität (0,88 vs. 0,90) und Spezifität (0,92 vs. 0,84) in der Diagnose eines hämodynamisch relevanten PDA. Die diagnostische Genauigkeit variierte stark in den untersuchten Studien in Abhängigkeit von dem verwendeten Assay und der untersuchten Studiengruppe. Daher gibt es aktuell keine einheitlichen überregionalen Kriterien zur Nutzung von natriuretischen Peptiden in der Diagnose eines PDA (Kulkarni et al. 2015). Weitere Ursachen für eine Druckbelastung des Ventrikels in der Neonatalphase wurden untersucht. Dabei können die BNP-Level in der Diagnostik einer pulmonalen Hypertonie zur Abgrenzung anderer Ursachen des Atemnotsyndroms beim Neugeborenen verwendet werden (Reynolds et al. 2004). Bei Kindern mit angeborener Zwerchfellhernie kommt der BNP-Bestimmung ein prädiktiver Nutzen in der Evaluierung einer pulmonalen Hypertonie und der Verwendung

einer extrakorporalen Oxygenierung zu (Partridge et al. 2015). Im Zuge der postnatalen Periode steigt der BNP-Wert bis zu einem Peak am zweiten bis dritten Lebenstag auf ein Vielfaches des Ausgangswertes der Geburt an (Mir et al. 2003). Anschließend fallen die Biomarkerlevel kontinuierlich bis zum Ende des ersten Lebensmonats. Sowohl Frühgeburten als auch Reifgeborene zeigen dabei einen ähnlichen Biomarkerverlauf im ersten postpartalen Monat (Mannarino et al. 2010).

1.2.3 Midregional Pro-Adrenomedullin

Struktur, Bildung und Eliminierung

Kitamura et al. (1993a) entdeckten bei Forschungen zum Phäochromozytom am Nebennierenmark (adrenal medulla) ein neues kreislaufregulatorisches Hormon - das Adrenomedullin (ADM). ADM gehört, wie das strukturell ähnliche Calcitonin, zur Gruppe der neurohumeralen Peptidhormone. Es besteht aus 52 Aminosäuren, die über eine Disulfidbrücke eine Ringstruktur bilden. Wie viele Peptidhormone wird auch Adrenomedullin aus einem Prähormon (185 Aminosäuren) durch posttranslationale Modifikation gebildet (Kitamura et al. 1993b). Das Prä-Pro-Adrenomedullin (Abbildung 6) setzt sich aus einer Signalsequenz, dem biologisch aktiven Pro-Adrenomedullin N-terminal 20 peptide sowie dem aktiven Adrenomedullin und den zwei flankierenden Peptiden Midregional Pro-Adrenomedullin (MR-proADM) und C-terminal Pro-Adrenomedullin zusammen.

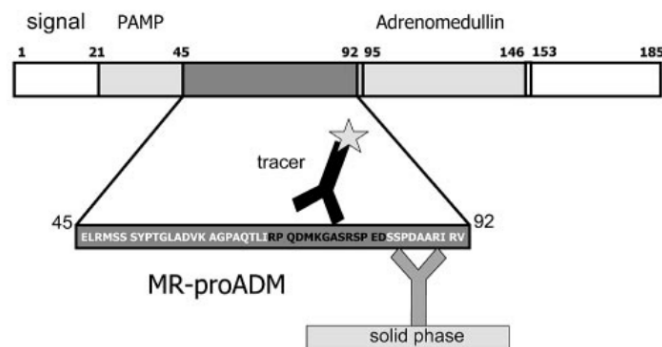


Abbildung 6: Aufbau des Prä-Pro-Adrenomedullin-Peptids und Detektierung mit Hilfe des Sandwich-Immunoassays (Morgenthaler et al. 2005)

Ursprünglich vermutete man die Adrenomedullin-Produktion hauptsächlich in den kreislaufaktiven Organen, wie z.B. Nebenniere, Niere, Herz und Lunge (Kitamura et al. 1993b). Neben vielen anderen aktiven Zelltypen wurde später die größte Aktivität in den Endothel- und glatten Muskelzellen der Blutgefäße entdeckt (Sugo et al. 1994), weshalb ADM heute als zirkulierendes sekretorisches Endothelprodukt gesehen wird. Die stärksten Bildungsreize zur ADM-Produktion sind oxidativer Stress durch Cytokine, wie z.B. Interleukin-1 und Tumor necrosis factor α (Sugo et al. 1995) sowie

inflammatorische Substanzen, wie Lipopolysaccharide (Zaks-Zilberman et al. 1998). Im Blut zirkuliert ADM in gebundener Form an dem Transportprotein Complement Factor H (Pío et al. 2002). Als Peptidhormon erfolgt der Abbau größtenteils über Metallo- und Aminopeptidasen. Dabei spielt das Lungengewebe eine wichtige Rolle (Nishikimi et al. 1994). Als relativ kleines zirkulierendes Peptidhormon ergeben sich in der klinischen Routine der Biomarkermessung einige Schwierigkeiten. Die schnellen Bildungs- und Abbaumechanismen resultieren in einer kurzen Halbwertszeit von $22 \pm 1,6$ Minuten (Meeran et al. 1997). Durch die Interaktion mit dem Transportprotein ist die Messung der gebundenen Form schlecht möglich, sodass die Gesamtlevel für ADM wesentlich höher vermutet werden (Pío et al. 2002).

Mit der Entwicklung eines Sandwich-Immunoassays (Abbildung 6) gelang es Morgenthaler et al. (2005), das Vorläufermolekül Pro-Adrenomedullin zu detektieren. Midregional Pro-Adrenomedullin wird in äquimolaren Mengen, wie das aktive ADM, gebildet und bietet eine höhere Stabilität bei Raumtemperatur (72 Stunden) sowie ein geringeres Interaktionspotential. Die Bestimmung des MR-proADM ist damit eine verlässliche Methode, um auf die Expression von Adrenomedullin zu schlussfolgern (Morgenthaler et al. 2005).

Klinische Funktion

Über die Freisetzung von Stickstoffmonoxid im Endothel führen erhöhte Adrenomedullin-Level zu einer Herabsetzung des Gefäßwiderstands und somit zur Vasodilatation und Blutdrucksenkung (Hirata et al. 1995). Dieser Effekt wird in der Niere über eine gesteigerte Natriurese verstärkt (Jougasaki et al. 1995). Viele Tumorarten exprimieren in verstärkter Weise Adrenomedullin und den ADM-Rezeptor (Miller et al. 1996). Adrenomedullin kann somit auch in Form eines autokrinen Sekretionsmechanismus die Zellproliferation und Angiogenese bei Heilungsprozessen unterstützen (Wang et al. 2014).

In der klinischen Erforschung konnten erhöhte ADM-Werte bei kardiovaskulären Erkrankungen, wie Herzinsuffizienz, koronarer Herzerkrankung, arterielle Hypertonie, peripherarterielle Verschlusskrankheit oder Schlaganfällen gemessen werden (Neumann et al. 2013). Sepsis- und Pneumoniepatienten zeigten eine positive Korrelation der ADM-Level mit zunehmendem Schweregrad und Mortalität der Erkrankungen (Chen und Li 2013; Huang et al. 2009).

Neonatologie

Als Wachstumsfaktor wird Adrenomedullin eine wichtige Rolle in der Embryogenese zuteil. Hormonaktivitäten wurden bei Mausembryos in kardiovaskulären, neuronalen und skeletalen Proliferationsorten gefunden (Montuenga et al. 1997). Besonders hohe Rezeptorexprimierungen und Hormonaktivitäten wurden zusätzlich in den Zellen

des Throphoblasten (Yotsumoto et al. 1998) beschrieben, weshalb man von einem proliferativen Effekt auf das Endometrium und die Ausbildung der Spiralarterien ausgeht. In neonatologischen Forschungen wurden erhöhte Adrenomedullin-Konzentrationen bei vasoaktiven Erkrankungen, wie der Präeklampsie (Iorio et al. 1998; Kraus et al. 2014) und intrakraniellen Blutungen (Gazzolo et al. 2001) beschrieben. Es konnte gezeigt werden, dass auch im neonatalen Bereich eine Infektion zu einer Erhöhung der MR-proADM-Werte führt (Admaty et al. 2012). In einer Studie im Vergleich von MR-proADM und den etablierten Sepsismarkern C-reaktives Protein und Procalcitonin wies MR-proADM die höchste Sensitivität zur Vorhersage der Schwere und Mortalität einer neonatalen Infektion auf (Jordan et al. 2014).

1.2.4 Copeptin

Struktur, Bildung und Eliminierung

Für eine lange Zeit waren die Hormone Oxytocin und Arginin-Vasopressin (AVP), auch bekannt als Antidiuretisches Hormon, die einzigen bekannten Peptid-Hormone der Neurohypophyse. Bei weiteren neurochirurgischen Forschungen gelang es, mit der Beschreibung des Copeptin (Holwerda 1972), erstmals ein weiteres Glycopeptid aus der Neurohypophyse zu isolieren.

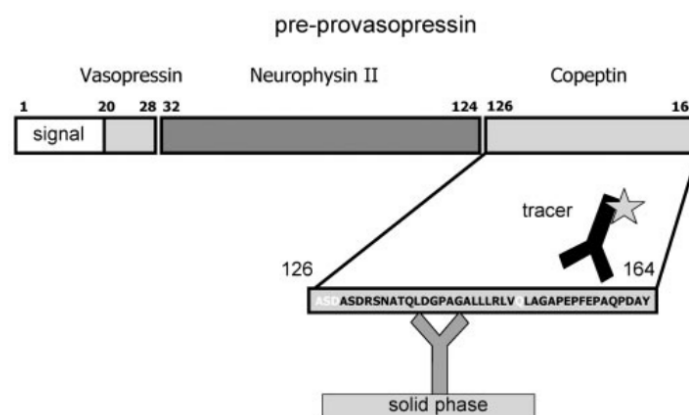


Abbildung 7: Aufbau des Prä-Pro-Vasopressin-Peptids und Detektierung mit Hilfe des Sandwich-Immunoassays (Morgenthaler et al. 2006)

Copeptin ist ein aus 39 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon, das von dem Vorläufermolekül Prä-Pro-Arginin-Vasopressin abgespalten wird. Aus diesem Grund bezeichnet man Copeptin auch gelegentlich als C-terminales Pro-Vasopressin. Das Prä-Pro-Hormon (Abbildung 7) besteht aus 164 Aminosäuren und beinhaltet die drei aktiven Hormone Vasopressin, Neurophysin II und Copeptin sowie das Signalpeptid am Beginn des Moleküls (Land et al. 1982). Neurophysin II unterstützt als Transportprotein die axonale Weiterleitung von Vasopressin.

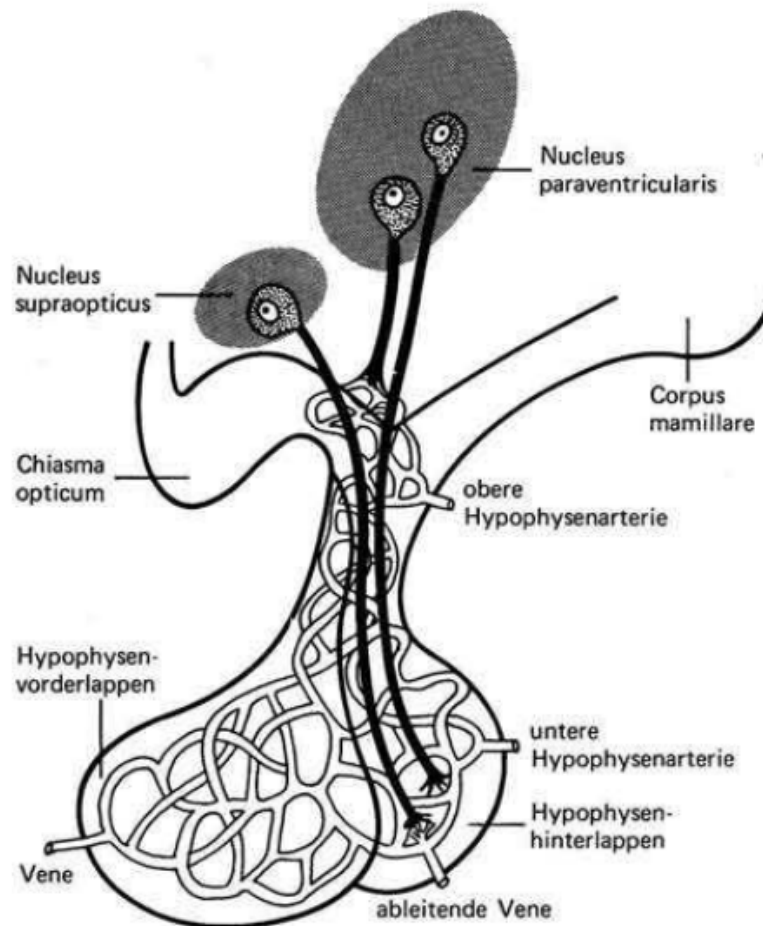


Abbildung 8: Anatomie der Hypophyse und Kerngebiete der Vasopressinproduktion (Scherbaum 1983)

Die beiden entscheidenden Reize zur Produktion der Hormone Vasopressin und Copeptin, sind ein niedriger arterieller Blutdruck und eine Zunahme der extrazellulären Flüssigkeitsosmolarität. Nach der Stimulation wird das Prä-Pro-Arginin-Vasopressin in den Neuronen des Nucleus paraventricularis und Nucleus supraopticus des Hypothalamus gebildet (Armstrong 2004). Anschließend werden zwei Wirkmechanismen des aktiven Vasopressins in der Neuro- und Adenohypophyse (Abbildung 8) unterschieden (Armstrong 2004). Durch einen axonalen Transport der produzierenden Nervenzellen, wird Vasopressin zur Neurohypophyse (Hypophysenhinterlappen) weitergeleitet und dort in die Blutbahn freigesetzt (Neurosekretion). Der zweite Sekretionsmechanismus wird durch eine axonale Verbindung einiger Neuronen des Nucleus paraventricularis mit der Neurohämälregion des oberen Infundibulums (Eminentia mediana) verursacht. Durch die Freisetzung an diesem Teil der Hypophyse, kann Vasopressin über das hypophysäre Kapillarbett die Drüsene epithelzellen der Adenohypophyse (Hypophysenvorderlappen) erreichen und eine dortige Hormonproduktion stimulieren. Als Peptidhormon wird Vasopressin über Amino-Peptidasen, vorrangig in der Leber und Niere abgebaut (Aziz und Schmidt 1976).

Die *in vivo* Messung des Vasopressins wird durch die niedrige Halbwertszeit, die schlechte Detektierbarkeit aufgrund der geringen Molekülgröße und das häufige Vorkommen in plättchengebundener Form (Struck et al. 2005) stark limitiert. Die Messung des Copeptins bietet demgegenüber den Vorteil der langen Stabilität bei Raumtemperatur (7 Tage) und die Möglichkeit der Verwendung eines Sandwich-Immunoassays, der eine höhere Sensitivität aufweist und dessen Verarbeitungszeit mit weniger Materialaufwand geringer ausfällt (Morgenthaler et al. 2006). Aus dem Bildungsmechanismus mit einem gemeinsamen Prohormon ergibt sich, dass Vasopressin und Copeptin in äquimolaren Mengen produziert werden. Eine positive Korrelation zwischen der AVP- und Copeptin-Konzentration konnte bestätigt werden (Morgenthaler et al. 2006). Damit kann Copeptin, ähnlich dem C-Peptid beim Insulin, als Surrogat-Marker genutzt werden, um auf die Produktion des aktiven Hormons Vasopressin zu schließen.

Klinische Funktion

Die Funktion des Copeptin besteht vermutlich in der Unterstützung der posttranslationalen Modifikation und Überführung in die aktive Form des Vasopressins. Diese Annahme wird durch Beobachtungen gestützt, wobei das Fehlen von Copeptin zu einer Ausprägung des zentralen Diabetes insipidus mit verminderter AVP-Sekretion in der Neurohypophyse führte (Barat et al. 2004).

Die klinische Wirkung des aktiven Vasopressins zeigt eine hohe Diversität durch eine große Vielfalt von Endorganen, die einen der drei verschiedenen AVP-Rezeptoren exprimieren. Eine wichtige Funktion des AVP ist die Blutdruckregulierung. In den distalen Tubuli und Sammelrohren der Niere bewirkt Vasopressin den Einbau von Aquaporinen zur Wasserrückresorption (Noda et al. 2010). Über eine Vasokonstriktion an den Gefäßen und die Erhöhung der Barorezeptorsensitivität wird der hypertone Effekt des Vasopressins zusätzlich verstärkt (Share 1988). Vasopressin ist ein wichtiges Regulierungshormon der körperlichen Stressreaktion. Über die direkte Möglichkeit der ACTH-Stimulation in der Adenohypophyse führt es zu einem Cortisol-Anstieg (Antoni 1993). Darüber hinaus ist AVP an stressbegleitenden Körperregulationen, wie zum Beispiel der Blutzuckersteuerung (Oshikawa et al. 2004) und der Immunantwort (Hu et al. 2003) beteiligt. Als Neuropeptid hat es im zentralen Nervensystem einen Einfluss auf soziale Interaktionen, das Gedächtnis und das Durstgefühl (de Wied et al. 1993).

Physiologisch bietet die Copeptinbildung eine schnelle Reaktion des Körpers auf verschiedene Stressfaktoren. In der Diagnostik eines Akuten Koronarsyndroms zeigte die kombinierte Copeptin- und Troponin-I-Messung eine höhere Sensitivität für kardiale Schädigungen als der Goldstandard mit der alleinigen Troponin-Messung (Wildi et al. 2015). Als weitere Stressursachen konnten für Sepsis- und Schlaganfallpatienten erhöhte Copeptin-Level nachgewiesen werden

(Morgenthaler et al. 2007). Als stoffwechselaktives Hormon hat Vasopressin einen Einfluss auf den Glukosestoffwechsel. Es konnte gezeigt werden, dass mit erhöhtem Copeptin-Level das Risiko zur Ausbildung eines Diabetes mellitus gesteigert ist (Enhörning et al. 2010).

Neonatologie

Durch die Vasokonstriktion an den Gefäßen und die Wasserresorption in der Niere kommt der Vasopressin-Aktivität eine entscheidende Rolle in der Blutdruckstabilisierung der postpartalen Kreislaufumstellung zu (Iwamoto et al. 1979). Als starker Triggerfaktor für die Ausschüttungen von Vasopressin und Copeptin wird eine akute hypoxische Stoffwechsellage beschrieben (Ostergaard et al. 2014). Die Copeptin-Bestimmung stellt deshalb einen Marker für den Geburtsstress dar. Dabei korrelieren die Copeptin-Messungen mit dem Geburtsmodus (Maximalwert bei vaginaler Entbindung) und weiteren Stressmarkern, wie zum Beispiel dem Nabelschnur-pH-Wert (Wellmann et al. 2010; Burckhardt et al. 2014).

Als Stresshormon spielt AVP eine besondere neonatologische Rolle in der Bildung von Surfactant (Brown und Wood 1989) und somit in der Entwicklung und Ausprägung von respiratorischen Pathologien der Neugeborenen. In einer aktuellen Studie zur Therapie von neonataler Hypotonie (Rios und Kaiser 2015), zeigte die Therapiegruppe mit Applikation von AVP einen geringeren Surfactant-Verbrauch und niedrigere pCO₂-Werte, als die Vergleichsgruppe unter Dopamin-Therapie. Sollten sich die Ergebnisse der Pilotstudie bestätigen, könnte die AVP-Gabe eine potentielle neue Therapieoption zur Vorbeugung oder Abschwächung eines Atemnotsyndroms bei Neugeborenen werden.

1.2.5 Troponin-I

Struktur, Bildung und Eliminierung

Bei seinen Arbeiten zur Wirkung von Kalzium-Ionen in der Muskelzelle, entdeckte der japanische Biologe Setsuro Ebashi in den 1960er Jahre ein neues „natives Tropomyosin-Protein“ - das Troponin (Ebashi und Kodama 1965). Das Troponin-Molekül ist aus drei Komplexen zusammengesetzt, deren Namen sich von der physiologischen Funktion der Untereinheit ableiten lassen. Das Troponin-I inhibiert die Bindung des Aktin- und Myosinfilaments. Das Troponin-C besitzt einen Kalziumsensor, der bei ausreichender Kalziumkonzentration die Inhibition des Troponin-I negiert. Das Troponin-T hat eine Bindungsfunktion des Troponin-Komplexes mit dem Tropomyosin-Molekül (Tobacman 1996). Troponine kommen in kardialer Muskulatur sowie in glatten und skeletalen Muskelzellen vor (Parmacek und Solaro 2004). Es existieren besondere Isoformen für das kardiale Troponin-I (cTNI) und Troponin-T, die nur in Herzmuskelzellen exprimiert werden.

Das cTNI ist ein Polypeptid, das aus 210 Aminosäuren besteht und durch verschiedene Mechanismen (Phosphorylierung, Oxidation, Reduktion) posttranslational verändert wird (Freda et al. 2002; Peronnet et al. 2006). Bei der Bildung werden zusätzlich Proteasen freigesetzt, die verschiedene Troponin-Gemische erzeugen. Als häufigste Form gilt dabei der Troponin-I-C-Komplex (Katrukha et al. 1997). Der Abbau der Troponine ist bis heute nicht vollständig geklärt. Nach dem Zelluntergang der Myozyten, liegt Troponin-I in verschiedenen Formen (Komplex-gebunden oder frei) im Blut vor. Das Troponin wird anschließend über ein Zusammenspiel aus hepatischer, renaler und endoplasmatischer Eliminierung abgebaut (Freda et al. 2002; Scirica und Morrow 2004).

Klinische Funktion

Die Troponin-Untereinheiten sind entscheidend an der Funktion eines Myofilaments beteiligt. Eine wichtige Rolle spielt dabei die Bindung des Motorproteins Myosin an die Aktinfilamente in der Muskelzelle (Abbildung 9).

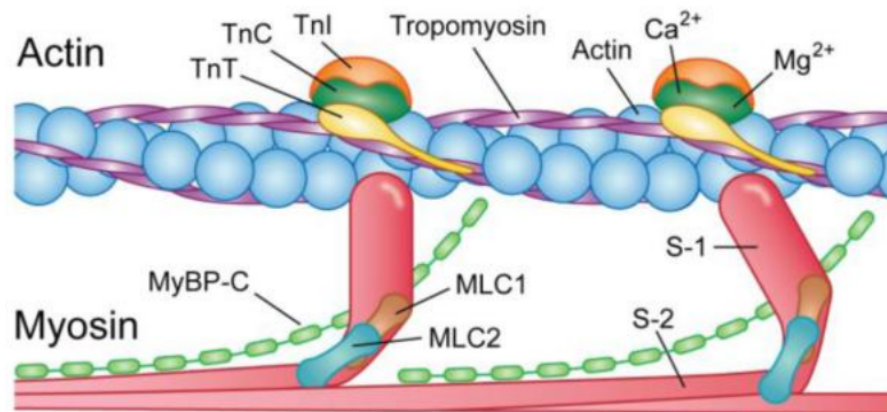


Abbildung 9: Aufbau eines kardialen Myofilaments (Ying et al. 2014)

In der Ausgangslage einer Muskelkontraktion blockiert das Tropomyosin die Myosin-Bindungsstelle am Aktin-Filament. Unterstützt wird es dabei von der inhibitorischen Troponinuntereinheit cTNI. Mit dem eintreffenden Aktionspotential und dem damit verbundenen Kalziumeinstrom, bindet das Kalzium an das Troponin-C, das die inhibitorische Wirkung des cTNI auf das Tropomyosin auflöst. Dadurch wird die Querbrückenbindung des Aktinfilaments mit dem Myosinköpfchen ermöglicht. Im Folgenden wandert das Myosinköpfchen unter der Verwendung von Adenosin triphosphat am Aktinfilament entlang und erzeugt somit eine Muskelkontraktion (Pape et al. 2014). Durch die Möglichkeit der Detektierung spezifischer kardialer Isoformen der Troponine I und C, ergeben sich sehr sensitive und spezifische Hinweise auf das Vorliegen einer ischämischen Herzmuskelschädigung (Thygesen et al. 2012). Bei einem Myokardinfarkt ist das Maximum der cTNI-Serumkonzentration nach 24-36 Stunden erreicht, erhöhte Werte sind für weitere 7-10 Tage nachweisbar (Rahman und Broadley 2014). Der

Anstieg des Troponin-Wertes liefert in der Diagnostik einen Hinweis auf die Größe des Infarktareals (Babuin und Jaffe 2005). Da gesunde Individuen häufig einen nicht nachweisbaren Troponin-Spiegel haben, war es in der Vergangenheit schwer, einen geeigneten Cut-off-Wert zu erstellen. Durch die Verbesserung der Testgenauigkeit und der Messung des high sensitive kardialen Troponin-I (hs-cTNI), konnte dieses Problem gelöst werden (Keller et al. 2011).

Die Troponin-Bestimmung ist mit der EKG-Untersuchung der aktuelle Goldstandard bei allen Patienten mit Verdacht auf eine myokardiale Erkrankung (Mueller 2014). Erhöhungen der Troponin-Werte können zusätzlich bei Herzklappenerkrankungen, Myokarditis, Aortendissektionen, Herzrhythmusstörungen, Nierenversagen und anderen Erkrankungen mit Herzbeteiligung (z.B. Sepsis) vorkommen (Khan et al. 2005; Kelley et al. 2009; Kontos et al. 2010; Rahman und Broadley 2014).

Neonatologie

In der embryonalen Phase existiert eine besondere Isoform des cTNI, die bis zum neunten Lebensmonat vollständig durch das adulte cTNI ersetzt wird (Sasse et al. 1993). Es wird vermutet, dass diese Form weniger anfällig für azidotische pH-Schwankungen ist und daher bessere Bedingungen in der Embryonal- und Neonatalphase bietet. Nach der Geburt steigen die Troponin-Level bis zu einem Peak am zweiten bis vierten Lebenstag kontinuierlich an (EL-Khuffash und Molloy 2007). Als Ursachen dafür werden kardiale Umbauprozesse im Zuge der postpartalen Kreislaufumstellung oder minimale myokardiale Schädigung im Verlauf der Geburt diskutiert (Noori und Seri 2005).

Die Untersuchungen von myokardialen Stress bei Neonaten zeigten auch bei herzgesunden Neugeborenen deutliche Schwankungen mit vereinzelt pathologischen Troponin-Werten (Lipshultz et al. 2008). Es bleibt abzuwarten, ob es sich dabei um physiologische Prozesse oder subklinische Myokardschäden handelt. Die Erstellung von einheitlichen Referenzbereichen wird durch eine große Variation zwischen den verwendbaren Immunoassays zusätzlich erschwert (EL-Khuffash und Molloy 2007). Als Zeichen der kardiopulmonalen Beteiligung wurden erhöhte cTNI-Werte bei asphyktischen Neugeborenen festgestellt (Türker et al. 2004; Zaramella et al. 2007). Die cTNI-Level korrelieren dabei mit anderen Asphyxie-Markern, wie dem pH-Wert. Erhöhte Troponin-T-Werte in Nabelschnurblut bieten einen Hinweis auf das Vorliegen eines angeborenen Herzfehlers (Tarkowska und Furmaga-Jabłońska 2012), auch wenn sich keine Korrelationen mit klinischen Symptomen oder echokardiographischen Kenngrößen nachweisen ließen. Weitet man die Untersuchungskohorte aus, so weisen Kinder jeder Altersstufe mit einem ASD oder VSD signifikant höhere cTNI-Serumlevel auf (Sugimoto et al. 2011).

1.3 Impedanzkardiographie

1.3.1 Messverfahren

Das medizinische Verfahren der Impedanzkardiographie (IKG) zur nicht-blutigen Bestimmung von Herzkreislaufparametern, geht auf die Entdeckungen der deutschen Physiologen Atzler und Lehmann (1932) zurück. Mit dem Beginn der bemannten Raumfahrt in den 1960er Jahren, stiegen auch die Anforderungen an die Untersuchungstechniken, mit Hilfe derer der Arzt Informationen über den Patient Astronaut in 400 km Entfernung erlangen musste. So wird die Methode der Impedanzkardiographie zur Bestimmung von kardiovaskulären Parametern erstmals von G.W. Kubicek aufgegriffen und in der amerikanischen Zeitung „Areospace medicine“ vorgestellt (Kubicek et al. 1966). Einen Ausblick über zukünftige Anwendung seines Verfahrens lieferte G.W. Kubicek in einem 1970 veröffentlichten Artikel selbst: „There is a great potential role for this system in monitoring overall cardiac functions and myocardial dynamics. Similarly, it appears that the system will find many applications in studies on the peripheral vascular system.“ (Kubicek et al. 1970). Als physikalische Größe wird die Impedanz auch als Wechselstromwiderstand bezeichnet. Bei der Impedanzkardiographie macht man sich das Ohm'sche Gesetz bezogen auf den menschlichen Thorax zunutze.

$$U = R \cdot I$$

Dabei wird für einen angeschlossenen Wechselstrom die Impedanz Z als Wechselstromwiderstand mit R gleichgesetzt. Bei der IKG wird ein geringer konstanter Wechselstrom über zwei äußere Elektroden durch den Thorax geleitet. Über die messbare Spannungsänderung ΔU der beiden inneren Elektroden, kann die Impedanzänderung ΔZ berechnet werden. Diese entspricht der thorakalen elektrischen Leitfähigkeit.

$$\Delta Z = \Delta \frac{U}{I}$$

In der Abbildung 10 werden Einflussfaktoren auf die thorakale Leitfähigkeit verdeutlicht. Der menschliche Thorax wird hier idealisiert als System von Zylindern dargestellt. Es ist zu beachten, dass alle Gewebearten im Thorax eine unterschiedliche Bioimpedanz aufweisen. So ist die Lunge, durch die enthaltene Luft, ein besonders schlechter elektrischer Leiter. Flüssigkeiten, wie zum Beispiel Blut, leiten den Strom sehr gut. Der menschliche Thorax besitzt eine weitestgehend konstante Grundleitfähigkeit, die abhängig von Körpergröße und Körpergewicht empirisch ermittelt worden ist (Kubicek et al. 1970). Wichtig für die Bestimmung der Impedanz, sind die sich im Thorax befindlichen großen Gefäße, wie die Aorta und die Vena Cava.

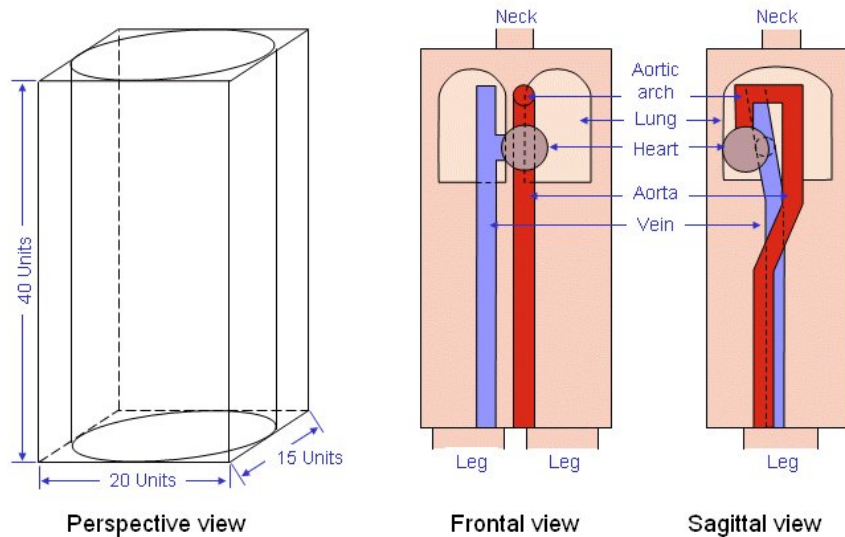


Abbildung 10: Das menschliche Thoraxmodell als System von Zylindern (Malmivuo und Plonsey 1995)

Mit jedem Herzschlag wird das linksventrikuläre Schlagvolumen (SV) in die Aorta ascendens gepumpt. Durch die elastische Dehnbarkeit der Aorta (Windkesselfunktion) ändert sich für diesen Moment der Durchmesser der Aorta ascendens und damit auch das sich dort befindliche Blutvolumen. Diese minimale Änderung der thorakalen Leitfähigkeit, kann als ΔZ gemessen werden.

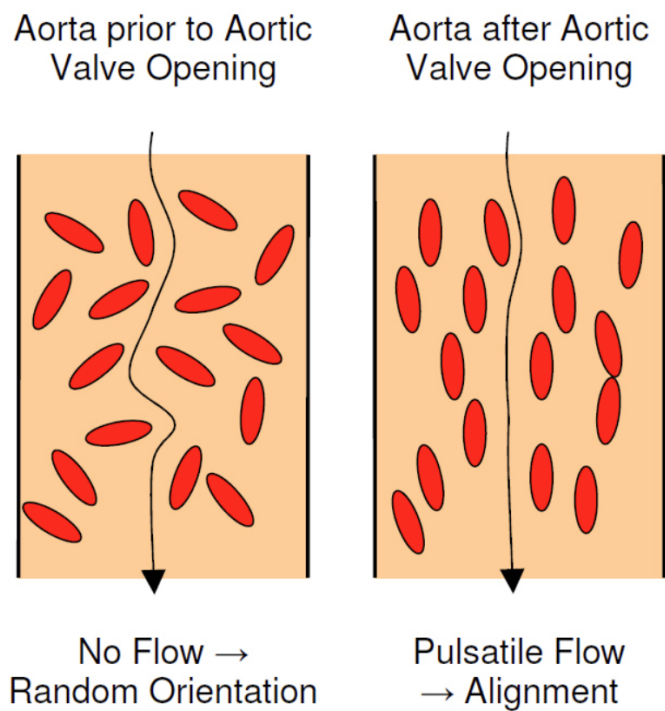


Abbildung 11: Stromfluss während der Diastole und Systole in der Aorta ascendens (Osypka Medical 2016)

Ein weiterer Faktor besteht in der Leitfähigkeitsänderung durch die periodische Atmung und der damit verbundenen Zu- und Abnahme des Luftanteils im Thorax. Moderne Geräte besitzen Algorithmen, die automatisch den Einfluss durch die Atmung auf die Impedanzmessung eliminieren. Durch die ständige Weiterentwicklung der Geräte und Berechnungsalgorithmen, wurde das Verfahren der Electrical Velocimetry entwickelt (Osypka Medical 2016). Dieses Verfahren berücksichtigt die Änderung des Stromflusses im Verlauf der Diastole und Systole (Abbildung 11). Während der Diastole befinden sich die Erythrozyten zufällig angeordnet im Gefäß. Der Stromfluss (schwarzer Pfeil) wird deshalb von den Erythrozyten verstreut und abgebremst. In der Systole erfolgt der Auswurf des Schlagvolumens aus der linken Herzkammer in die Aorta. Durch die Beschleunigung werden die Erythrozyten laminar ausgerichtet. Der Strom kann besser zwischen den Erythrozyten fließen.

Zusammenfassend basiert das Verfahren der Impedanzkardiographie auf der messbaren Änderung der elektrischen Leitfähigkeit des Oberkörpers, die sich besonders aus Volumenschwankungen in der Aorta und der atmungsbedingten variierenden Lungengröße zusammensetzt. Im erweiterten Verfahren der Electrical Velocimetry wird die Leitfähigkeitsänderung in der Aorta durch die pulsformige Richtungsänderung der Erythrozyten berücksichtigt, die nach neueren Ergebnissen einen Großteil der thorakalen Impedanzänderung ausmacht.

1.3.2 Klinische Anwendung

Die Impedanzkardiographie bietet die Möglichkeit der nicht-invasiven Beurteilung von wichtigen kardialen Messgrößen. Dabei sind die Messergebnisse in einzelnen Studien äquivalent zu invasiven Verfahren, wie der Thermodilution mit Hilfe eines Pulmonalarterien-Katheters (Albert et al. 2004). Die IKG kann theoretisch zur Evaluierung von Flüssigkeitsbilanzen verwendet werden. Bei Dialyse- (Piccoli 2004) und Herzinsuffizienz-Patienten (Weyer et al. 2014) kann mit Hilfe der Bioimpedanzmessung eine optimale medikamentöse DiuretikaEinstellung und Hydrierung der Patienten optimiert werden. Für herzinsuffiziente Patienten wurde zusätzlich eine Korrelation der thorakalen Bioimpedanz mit den BNP-Messungen beschrieben (Di Somma et al. 2010). Bei Untersuchungen an Patienten mit einer arteriellen Hypertonie, wurde gegenüber einer gesunden Kohorte ein signifikant reduziertes Herzzeitvolumen mit Hilfe der Impedanzkardiographie ermittelt (Xiajuan et al. 2013).

Im pädiatrischen Bereich wurde die impedanzkardiographische Messmethode mit etablierten Verfahren verglichen. Dabei wurden äquivalente Ergebnisse im Vergleich mit der Anwendung des direkten Fick'schen Prinzips (Norozi et al. 2008) sowie mit der transthorakalen Echokardiographie (Noori et al. 2012) erzielt.

Diese Ergebnisse konnten bei Neonaten mit persistierenden physiologischen Shunts (PDA, persistierendes Foramen ovale) nicht bestätigt werden (Blohm et al. 2016b). Darüber hinaus ist die Datenlage in der Literatur zur IKG uneinheitlich. Neben den hier zitierten Literaturstellen mit guter Vergleichbarkeit zu anderen Messverfahren, wurden auch Studien veröffentlicht, die keine Äquivalenz der IKG zu Vergleichsmethoden, wie der Thermodilution, nachweisen konnten (Heringlake et al. 2007; Tomaske et al. 2008; Chong und Peyton 2012).

Ein weiteres Einsatzgebiet der IKG könnte in Zukunft in der perioperativen Überwachung bestehen. Dabei bietet die IKG mit der Echtzeitmessung von kardiopulmonalen Parametern eine Möglichkeit zur Vorhersage von klinischen Ereignissen (Coté et al. 2015).

1.4 Arbeitshypothese und Fragestellung

Das Ziel dieser Arbeit ist die Auswertung der ersten Datenreihe der „Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie“. Mit der Untersuchung an herzgesunden Neonaten sollen Normwerte und Referenzbereiche erstellt werden, mit deren Hilfe in Folgestudien pathologische Studienkohorten erforscht werden können.

Ein besonderes Augenmerk ist auf die Untersuchung der Einflussfaktoren der kardialen Biomarkerlevel zu legen. Wichtige Kenngrößen der postnatalen Geburtenbetreuung, wie das Geburtsgewicht, die Geburtsgröße, das Gestationsalter sowie die ermittelten APGAR-Scores und Nabelschnur-pH-Messungen, werden auf deren Auswirkungen auf die kardialen Biomarker untersucht. Im Vergleich mit den Ergebnissen aus der Blutgasanalyse, sollen mögliche Zusammenhänge zwischen den Biomarkerlevel und dem Säure-Basen-Haushalt sowie dem Metabolismus des Neugeborenen erörtert werden. Durch die simultane maternale Blutabnahme und der Gewinnung von arteriellem Nabelschnurblut, werden die plazentären Austauschprozesse und Beeinflussungen der neonatalen Laborwerte untersucht. Mit der Analyse des Geburtsmodus und der Mehrlingsschwangerschaften sollen potentielle Effekte auf die Biomarkerlevel aufgedeckt werden.

Mit Hilfe der Biomarker-Erhebungen und der impedanzkardiographischen Messungen, erhält man zugleich biochemische und physiologische Indizes des kardiovaskulären Systems. Potentielle Interaktionen und Zusammenhänge dieser beiden Mechanismen sollen hier analysiert werden.

KAPITEL 2

Material und Methoden

2.1 Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie

Die Grundlage dieser Promotionsarbeit besteht in der Durchführung und der Auswertung der „Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie“ des Universitären Herzzentrums Hamburg. Diese Studie ist eine Folgestudie der 2011 realisierten Pilotstudie „Klinische Evaluation des high sensitive Troponin (hs Troponin) und der Glycoproteinphosphorylase Typ BB bei pädiatrischen Patienten mit angeborenen Herzfehlern im Rahmen von Herzkatheteruntersuchungen und kardiochirurgischen Eingriffen“. In der Pilotstudie wurden unter anderem Unterschiede der base-line Werte bei herzkranken Kindern der verschiedenen Altersgruppen für high sensitive Troponin-T beobachtet. Mit der Durchführung der Folgestudie werden die Untersuchungskohorte um den neonatologischen Bereich erweitert. Neben der Messung von high sensitive Troponin-I wurden dem Studienprotokoll fünf weitere kardiale Biomarker (Midregional Pro-atrial natriuretic peptide, Brain natriuretic peptide, N-terminal Pro-Brain natriuretic peptide, Midregional Pro-Adrenomedullin und Copeptin) hinzugefügt und auf deren Einflussfaktoren untersucht.

Die Realisierung der Studie erfolgte als prospektive nichtrandomisierte klinische Querschnittstudie. Ein positives Votum der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg lag vor Beginn der Datenerhebung vor. Die Aufklärung über Studienablauf und -ziele wurde mit ausreichender Bedenkzeit vor der Blutabnahme durchgeführt. Eine schriftliche Einverständniserklärung wurde für jeden Studienteilnehmer durch mindestens einen elterlichen Vertreter dokumentiert. Die Studienteilnahme ergab keinen Vor- oder Nachteil in der Behandlung von Mutter und Kind. Die Durchführung der Studie erfolgte im Kreißsaal und auf den perinatalen Versorgungsstationen des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf. Die Speicherung und Verarbeitung der Daten wurde in Einhaltung des Bundesdatenschutzgesetzes durchgeführt.

2.2 Studienpopulation

Folgende Ein- und Ausschlusskriterien, bezogen auf die Neonaten, wurden bei der Durchführung der Studie beachtet.

Einschlusskriterien

- Alle Neugeborenen im Kreißsaal des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf für den Zeitraum der Studiendurchführung

Ausschlusskriterien

- es liegt keine Einverständniserklärung mindestens eines Elternteils vor Eintreten von starker Wehentätigkeit vor
- Neugeborene mit angeborenem Herzfehler
- schwere Niereninsuffizienz mit einem Kreatininwert oberhalb des altersspezifischen Normwertes
- Sepsis
- Katecholamintherapie
- Antibiotikatherapie
- Gestosen der Mutter

Studienabbruch:

Es erfolgt eine sofortige Löschung der Patientendaten und eine Entsorgung des Patientenmaterials, sobald der Patient oder ein Elternteil die Einverständniserklärung zurückziehen sollte. Es bestand die Möglichkeit zu einer Teileinverständniserklärung, wenn auf bestimmte Studienarme (z.B. Mutter-Kind-Vergleich, Impedanzkardiographie) verzichtet werden sollte.

2.3 Probengewinnung

Die Gewinnung des kindlichen Probenmaterials erfolgte unmittelbar nach der Geburt des Kindes im Kreißsaal durch eine Punktion der Nabelvene und -arterie, nach erfolgter Abnabelung. Die maternale Blutentnahme bei primären (elektiven) und sekundären Kaiserschnitten, wurde im engen zeitlichen Zusammenhang direkt nach der Anlage des peripheren venösen Zugangs vor der Geburt durchgeführt. War eine venöse Probengewinnung durch Aspiration des Zugangs nicht möglich, so erfolgte die maternale Blutentnahme aus dem angelegten venösen Zugang (Verwerfung der ersten 5ml Blut) unmittelbar nach der Geburt in Absprache mit dem verantwortlichen anästhesiologischen Personal. Bei Spontanentbindungen wurde das maternale Blut durch eine Venenpunktion vor der Geburt mit Hilfe einer Butterfly-Kanüle gewonnen.

Zur Bestimmung der verschiedenen Biomarker, wurde direkt nach der Abnahme je eine Serum- und EDTA-Monovette befüllt und beschriftet. Die Zeitpunkte der Blutentnahmen, Kühlung und Weiterverarbeitung wurden für jeden Patienten dokumentiert. War ein sofortiger Transport zur Weiterverarbeitung und Tiefkühlung im Labor nicht möglich, so erfolgte die Zwischenlagerung der Proben unter Kühlung auf 8°C im Stationskühlschrank.

2.4 Probenverarbeitung

Im ersten Arbeitsschritt nach der Blutabnahme wurden die Blutproben im Labor bei 4000 Umdrehungen pro Minute und unter Kühlung auf 4°C für 10 Minuten zentrifugiert. Das überstehende Serum bzw. Plasma wurde farbkodiert auf mehrere 500 µl-Eppendorftubes verteilt und mit der Patienten-ID beschriftet. Nach der Verarbeitung verblieben die Proben bis zur finalen Auswertung bei -80°C im Tiefkühlschrank des Forschungslabors des Universitären Herzzentrums Hamburg gelagert. Die Auswertung erfolgte simultan für alle Biomarker, nachdem alle Patientenproben zur Auswertung gesammelt wurden. Die Messung der Biomarker MR-proANP, NT-proBNP, Copeptin und high sensitive Troponin-I erfolgte aus Serum. MR-proADM und BNP wurden aus EDTA-Plasma bestimmt. Alle Biomarker wurden mit Hilfe eines Sandwich-Immunoassays analysiert. Dabei fanden zwei verschiedene Verfahren Anwendung. Mit Hilfe der Immunolumineszenz-Methode wurden die Biomarker NT-proBNP (Elektrochemilumineszenz-Verfahren der Firma Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Whylen, Deutschland, Gerät: Elecsys 2010, Kit: Elecsys proBNP II), BNP und high sensitive Troponin-I (beide Chemiluminescence micropartikel immunoassay, ABBOT GmbH und Co. KG, Wiesbaden, Deutschland, Gerät: ARCHITECT, Kit: ARCHITECT BNP, ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I) bestimmt. Man unterscheidet dabei drei Arbeitsschritte (1-3), die vereinfacht in Abbildung 12 dargestellt werden.

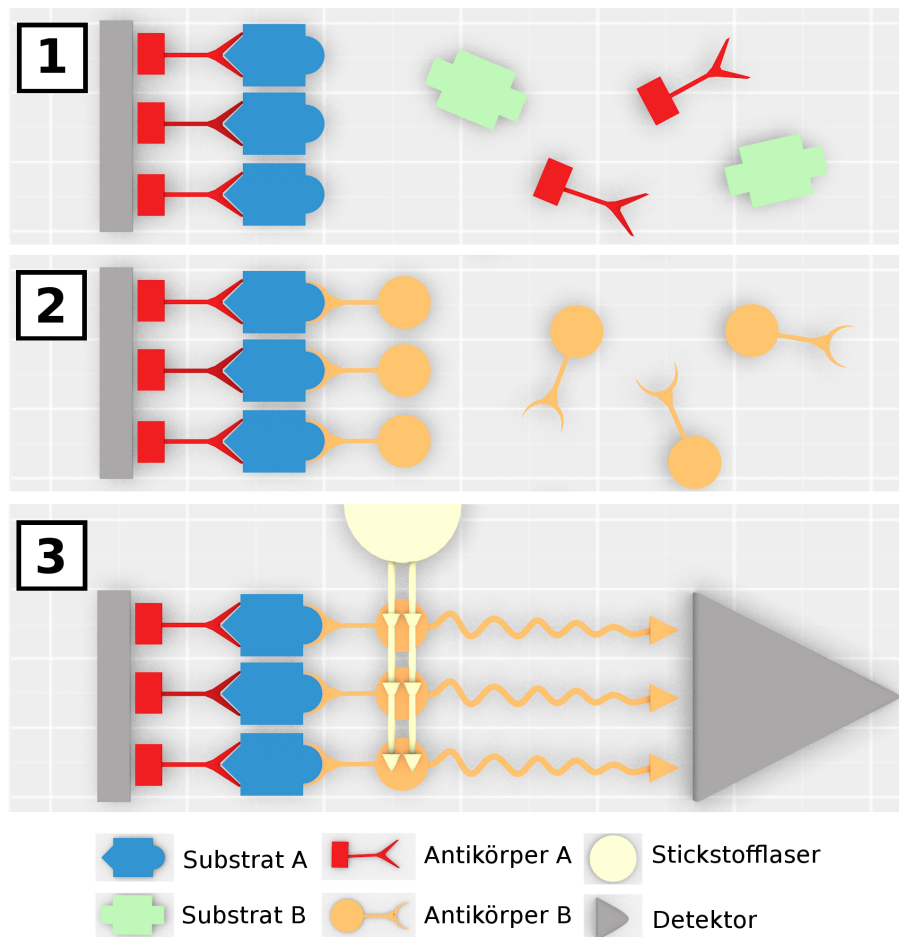


Abbildung 12: Methodik der Immunolumineszenz (In Anlehnung an Abbot Laboratories 2009)

Dem Substrat wird im ersten Schritt (1, Abbildung 12) ein spezifischer Antikörper (Antikörper A) zugesetzt, der am Fc-Teil mit einem magnetisierbaren Molekül verbunden ist. Dieses Molekül dient der Bindung des Antigen-Antikörper-Komplexes an eine magnetisierte Oberfläche in der Messkammer. Nach einer Inkubationszeit und dem Auswaschen aller Moleküle (2, Abbildung 12), die nicht vom Antikörper gebunden wurden, erfolgt die Zugabe eines zweiten Antikörpers (Antikörper B), dessen Fc-Teil mit einem lumineszierfähigen Stoff verbunden ist. Durch die Zugabe einer weiteren Lösung wird dieser Stoff auf chemische (Chemilumineszenz) oder elektrische (Elektrolumineszenz) Art und Weise angeregt, Licht auszusenden (3, Abbildung 12). Dieses Signal wird von einem Detektor erfasst und ist proportional zur Konzentration des zu untersuchenden Biomarkers in der Probe.

Die Messung von MR-proADM, MR-proANP und Copeptin erfolgte mit Hilfe des von der Firma BRAHMS GmbH (Henningsdorf, Deutschland, Gerät: BRAHMS KRYPTOR) hergestellten Immunoassays, unter Verwendung der Time-resolved Amplified Cryptate Emission (TRACE)- Technologie.

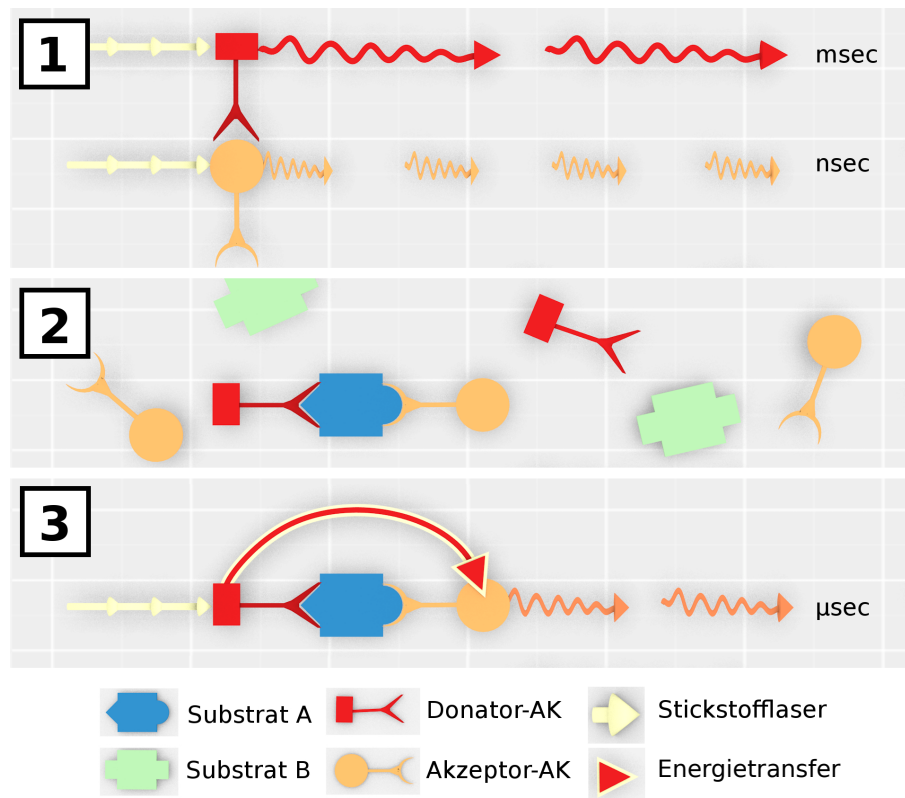


Abbildung 13: Methodik der TRACE-Technologie (In Anlehnung an Thermo Fisher Scientific 2016)

Die Grundlage des auf der TRACE-Technologie basierenden Verfahrens ist ein Energietransfer von einem Donator (Kryptat)- auf ein Akzeptormolekül (XL 665). Wie in Abbildung 13 dargestellt, emittieren die beiden Moleküle nach Bestrahlung mit einem Stickstofflaser jeweils Strahlungen unterschiedlicher Qualität (1, Abbildung 13). Das Signal des Akzeptors ist kurzlebig und im Nanosekundenbereich, während der Donator ein langlebiges Fluoreszenzsignal aussendet, das sich im Millisekundenbereich befindet. Der Probe werden im ersten Arbeitsschritt (2, Abbildung 13) zwei verschiedene Antikörper hinzugegeben, die an ihrem Fc-Teil mit einem Donator- oder Akzeptormolekül verbunden sind. Diese Antikörper binden mit ihrer Antikörper-Bindungsregion das spezifische Epitop am zu untersuchenden Substrat. Binden Akzeptor und Donator gleichzeitig an den zu untersuchenden Biomarker, so findet durch die Bindung ein Energietransfer vom Donator zum Akzeptor statt (3, Abbildung 13). Dadurch entsteht nach Bestrahlung mit einem Stickstofflaser ein neues langlebiges Akzeptorsignal im μ -Sekundenbereich, das mit der Substratkonzentration korreliert. Um Störfaktoren zu minimieren, dient bei der Auswertung das langlebige Donatorsignal als Referenzwert.

2.5 Impedanzkardiographische Messung

In der „Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie“ wurde mit Hilfe des AESCULON[®] Monitor der Firma Osypka Medical (Berlin) die impedanzkardiographische Messung durchgeführt. Vor der Messung am Säugling erfolgte die Eintragung der personenbezogenen Daten (Studien-ID, Geburtsdatum, Geschlecht, Größe und aktuelles Gewicht) in die Maske. Zur Verarbeitung der Messergebnisse wurden die Daten mit einem USB-Stick auf einen PC übertragen und mit dem Programm Waveform Explorer[®] (Osypka Medical, Berlin) die Patientendaten geöffnet sowie die Messergebnisse gespeichert. Zur Auswertung wurde zwei Messungen mit der höchsten Qualität ($SQI \geq 80\%$) berücksichtigt und der Mittelwert der Messungen gebildet.

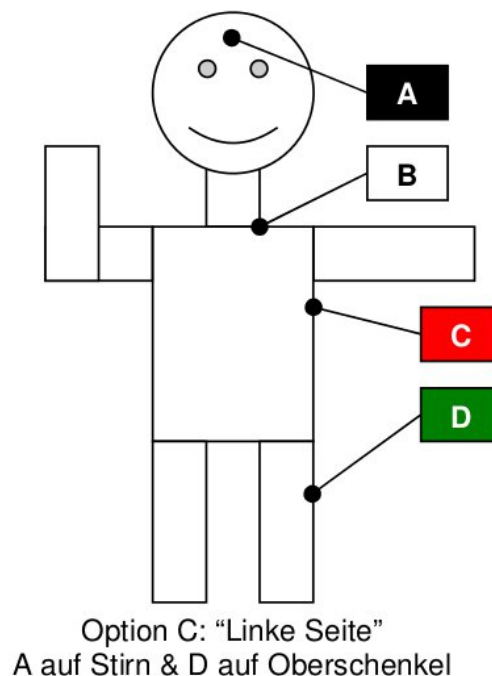


Abbildung 14: Elektrodenanordnung bei Säuglingen (Osypka Medical 2011)

Der Säugling wurde mit Hilfe von vier EKG-Elektroden (RedDot[®] EKG-Elektroden für Neonaten, 3M Health Care, Neuss) an das Gerät angeschlossen. Das Kind lag dabei in Ruhe und auf dem Rücken. Abbildung 14 zeigt die korrekte Anordnung der Elektroden für Säuglinge aus der AESCULON[®]-Bedienungsanleitung. Die Elektrode A wird mittig auf der Stirn platziert. Der Ort der Elektrode B liegt etwa 5 cm unterhalb der Elektrode A am seitlichen Übergang vom Hals zum Thorax. Die Befestigung der Elektrode C befindet sich auf der Höhe des Xiphoids in der Medioaxillarlinie an der linken Thoraxhälfte. Am Ende wird die Elektrode D, ca. 10-20 cm unterhalb von Elektrode C, lateral am linken Oberschenkel platziert. Die beiden äußeren Elektroden A und D dienen dazu, einen

schwachen Wechselstrom durch den Thorax zu leiten. Mit den beiden inneren Elektroden B und C wurde anschließend ein EKG abgeleitet und für die Impedanzberechnung die Spannung gemessen. Wie im Einleitungskapitel zur Impedanzkardiographie hergeleitet, konnte anschließend die Impedanz durch die angelegte Stromstärke und die gemessene Spannung berechnet werden.

In Abbildung 15 sind die Verläufe für das EKG-Signal, die Messung der thorakalen Impedanz (entspricht der Leitfähigkeit) und der Impedanzänderung (entspricht der Änderungsrate oder auch der zeitlichen Ableitung der Leitfähigkeit) für einen Herzzyklus im zeitlichen Verlauf abgebildet.

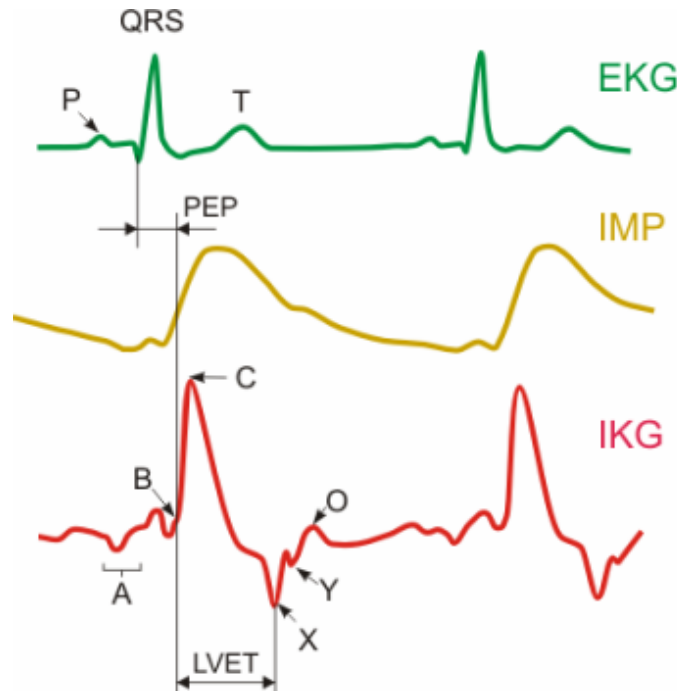


Abbildung 15: Physiologie der Impedanzmessung. Signalverlauf des EKG, thorakaler Impedanz (IMP) und Änderungsrate der thorakalen Leitfähigkeit (IKG), entsprechend der 1. Ableitung der IMP-Kurve (Medis Medizinische Messtechnik 2014)

Im folgenden Abschnitt wird nun darauf eingegangen, wie mit Hilfe der Impedanzkardiographie die für die Studie wichtigen Vergleichsparameter Schlagvolumen (SV), Schlagindex (SI), Herzzeitvolumen (HZV) und Herzindex (HI) berechnet werden. Das Schlagvolumen ist von drei Faktoren abhängig:

- der Dauer der Austreibungsphase (Linksventrikuläre Austreibungsphase, LVET)
- der mittleren Auswurfgeschwindigkeit des Blutes vom linken Ventrikel (v_{Aorta})
- Volumenkonstante des Thorax (Vol)

$$SV = LVET \cdot v_{Aorta} \cdot Vol$$

Die Austreibungsphase ist der Zeitraum zwischen Öffnung und Schluss der Aortenklappe. Je länger die Klappe geöffnet ist, umso mehr Blut kann vom linken Ventrikel in den Körperkreislauf gepumpt werden. Mit Beginn der Austreibungsphase ändert sich die vom Gerät gemessene Impedanz sehr stark durch die Zunahme der elektrischen Leitfähigkeit (Punkt B, Abbildung 15). Mit dem Schluss der Aortenklappe endet der Blutstrom in die Aorta und die laminare Ausrichtung der Erythrozyten wird von einer zufälligen Anordnung ersetzt. Diese Auswirkungen bedingen einen raschen Abfall der Impedanz (Punkt X, Abbildung 15). Misst man nun den zeitlichen Abstand zwischen Punkt B und X, so erhält man die Länge der Austreibungsphase, hier als Linksventrikuläre Austreibungszeit (LVET) bezeichnet (mechanische Systole). Der Zeitpunkt C der Abbildung 15 ist proportional zu der maximalen Geschwindigkeit in der Aorta. Mit Hilfe der Amplitude zum Zeitpunkt C, kann das Gerät die mittlere Blutgeschwindigkeit in der Aorta (v_{Aorta}) während der LVET ermitteln. Die Volumenkonstante (Vol) wird durch Eingaben der Körpergröße und des Körpergewichtes berechnet.

Aus dem EKG-Signal kann über die zeitliche Messung und die RR-Abstände die Herzfrequenz (HF) bestimmt werden. Multipliziert man das SV mit der HF, so erhält man das Herzzeitvolumen (HZV).

$$HZV = HF \cdot SV$$

Um das SV und das HZV vergleichbar zu machen, müssen die Werte normiert auf die Körpergröße und das Körpergewicht betrachtet werden. Das Gerät berechnet dazu mit Hilfe der Boyd-Formel die Körperoberfläche (Body Surface Area, BSA) für jedes Individuum. Aus der Division des SV, bzw. HZV und dem BSA berechnet sich der Schlagindex (SI) bzw. der Herzindex (HI).

Der Thorakale Flüssigkeitsstatus (TFC) wird durch das intra- und extravaskuläre Flüssigkeitsvolumen im Thorax beeinflusst. Der TFC ist indirekt proportional zur thorakalen Impedanz ($TFC = \frac{1000}{\Delta Z}$). Mit zunehmender Herzinsuffizienz steigt das Flüssigkeitsvolumen im Thorax, weshalb bei diesen Patienten ein erhöhter TFC gemessen werden kann (Malfatto et al. 2010). In Tabelle 1 sind alle für die Studie relevanten Parameter der impedanzkardiographischen Messung zusammengefasst.

Tabelle 1: Impedanzkardiographische Messwerte

Bezeichnung	Abkürzung	Beschreibung und Berechnung	Einheit
Herzfrequenz	HF	Anzahl der Herzschläge pro Minute $HF = \frac{60}{RR(s)}$	min^{-1}
Schlagvolumen	SV	Blutvolumenauswurf pro Herzschlag	ml
Schlagindex	SI	Schlagvolumen über die Körperoberfläche indiziert $SI = \frac{SV}{BSA}$	ml/m^2
Herzzeitvolumen	HZV	Blutvolumenauswurf pro Minute $HZV = SV \cdot HF$	l/min
Herzindex	HI	Herzzeitvolumen über die Körperoberfläche indiziert $HI = \frac{HZV}{BSA}$	$ml/min \cdot m^2$
Thorakaler Flüssigkeitsstatus	TFC	Maß des Flüssigkeitsvolumens im Thorax $TFC = \frac{1000}{\Delta Z}$	-

2.6 Auswertung und statistische Analyse

Zur Dokumentation und Archivierung der Daten wurden die Patientenkurven und das EDV-basierte Krankenhaus Informationssystem Soarian des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf benutzt. Hinsichtlich der Archivierung und Auswertung der Patientendaten wurde gesondert auf das vorliegende Gesetz zum Umgang mit Patientendaten geachtet.

Aufgrund der fehlenden Normalverteilung und der geringen Anzahl von Messergebnissen erfolgte die Auswertung der Studienergebnisse unter Verwendung von nicht-parametrischen Tests. Zur Untersuchung auf eine statistische Korrelation zwischen zwei Variablen wurde auf den Spearman-Ranglistenkoeffizienten r_s zurückgegriffen. Die Untersuchung auf signifikante Unterschiede zwischen zwei Studiengruppen erfolgte mit dem Mann-Whitney-U Test. Bei der Analyse von mehr als zwei Studiengruppen fand der Kruskal-Wallis-Tests Anwendung. Die Testung auf Normalverteilung der Biomarkermessungen wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt. Die Referenzintervalle der Normwerte sind als 95%-Konfidenzintervall mit dem Mann-Whitney-U Test ermittelt worden. Ein p-Wert $\leq 0,05$ wurde bei

allen Berechnungen als signifikant gewertet. Die Darstellung der Messwerte erfolgte, soweit nicht anders angegeben, in der Form Mittelwert \pm Standardabweichung (Minimum-Maximum). Die statistische Auswertung und die Erstellung von Diagrammen konnte unter Verwendung der Statistiksprache R realisiert werden. Satz und Niederschrift sind unter Benutzung des Textsatzsystems \LaTeX und dem Programm Texmaker (Pascal Brachet, Paris) erstellt worden. Die Grafiken der Messverfahren zur Biomarkeranalyse (Lumineszenzverfahren und TRACE-Technologie) wurden mit Hilfe des Programms Blender 3D (Blender Foundation, Amsterdam) erzeugt.

KAPITEL 3

Ergebnisse

3.1 Studienpopulation

In der Studie konnten Proben von 68 Mutter-Kind-Paaren gesammelt werden. Zwei Studienteilnehmer schieden aufgrund der Ausschlusskriterien (Ventrikelseptumdefekt des Kindes, HELLP-Syndrom der Mutter) nachträglich aus, sodass die Auswertung der Ergebnisse mit 66 Mutter-Kind-Paaren durchgeführt wurde. Es wurden 28 männliche und 38 weibliche Säuglinge untersucht. Die Studienkohorte umfasst 49 primäre Sectiones, 13 Spontangeburt und vier sekundäre Sectiones. Somit waren insgesamt 17 Kinder einem Geburtsstress ausgesetzt. Die Studie wurde mit 61 reifgeborenen Neonaten und fünf Frühgeburten durchgeführt. Eingeschlossen wurden 11 Mehrlingsgeburten (vier Zwillingsgeburten und eine Drillingsgeburt). Die biometrischen und maternalen Messergebnisse der Studienkohorte wurden mit den Messungen der Blutgasanalyse in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Studienpopulation (N = 66)

	Mittelwert	Median	SD	Min	Max
Biometrie					
Geburtsgewicht (kg)	3,3	3,32	0,68	1,78	4,83
Geburtsgröße (cm)	50,48	51	3,46	41	56
BMI ($\frac{kg}{m^2}$)	12,78	12,57	1,44	9,61	16,32
Kopfumfang (cm)	34,93	35	2,14	28,5	39,5
Gestationsalter (Wochen+Tage)	38+5	38+5	1+5	33+6	41+4
APGAR 1 Minute	8,9	9	0,6	7	10
APGAR 5 Minuten	9,83	10	0,45	8	10
APGAR 10 Minuten	9,9	10	0,12	9	10

Maternale Werte					
Alter (Jahre)	34,5	35,5	5,3	21	46
Gewicht (kg)	80,54	81,5	12,64	57	124
BGA Nabelvene					
pH	7,35	7,37	0,06	7,13	7,5
pCO ₂ (mmHG)	50,25	48,9	8,7	22,1	74,8
Base Excess (mmol/l)	-2,4	-2,1	2,7	-11,4	2,3
Hb (g/dl)	15,63	15,8	1,66	11,7	19,2
Lactat (mmol/l)	2,52	1,6	2,2	0,9	10,4
Bilirubin (mg/dl)	0,6	0,4	0,6	0	2,7

Maternale Einflussfaktoren der Studienpopulationen waren Gestationsdiabetes (dreimal), Morbus Basedow (einmal), Faktor-V-Leiden (einmal), Epilepsitherapie unter Lamotrigin (einmal) und Hypothyreose (einmal). Bei den Neonaten wurde postnatal bei einem Kind eine Hydronephrose und bei einem Säugling eine Hypoglykämie diagnostiziert.

Die aus Nabelvenenblut analysierten kardialen Biomarkermessungen sind in Tabelle 3 dargestellt und durch die Angaben des Mittelwertes, Medians, der Standardabweichung und der jeweiligen Maximal- und Minimalwerte charakterisiert. Ein Mangel an Probenmaterial führte bei den Messungen dazu, dass nicht von allen 66 Studienteilnehmern jeder Biomarker bestimmt werden konnte. Eine detaillierte Auseinandersetzung mit den Ergebnissen findet in den Unterpunkten der jeweiligen Biomarkermessungen statt.

Tabelle 3: Kardiale Biomarker aus Nabelvenenblut der Gesamtstudienpopulation

	N	Mittelwert	Median	SD	Min	Max
MR-Pro-Atrial natriuretic peptide (pmol/l)	66	215,55	186,88	105,3	71,83	634,05
Brain natriuretic peptide (pg/ml)	50	32,08	27,48	23,81	4,45	150,05
NT-Pro-Brain natriuretic peptide (pg/ml)	65	1228,9	1052,5	739,58	301,8	4357
MR-Pro-Adrenomedullin (nmol/l)	49	1,01	0,98	0,23	0,45	1,76
Copeptin (pmol/l)	66	103,42	7,2	185,99	2,6	500
high sensitive Troponin-I (pg/ml)	65	13,52	4,95	41,77	1,85	325,3

3.2 Qualität

Für die Verarbeitungsgeschwindigkeit der maternalen Blutabnahme (Abnahme bis Laborverarbeitung) ergab sich ein zeitlicher Abstand von $122,9 \pm 209$ Minuten (15 - 857 Minuten). Die zeitliche Differenz zwischen kindlicher Blutabnahme und der Verarbeitung im Labor betrug $126,1 \pm 228$ Minuten (10 - 915 Minuten). Zur Bestimmung der Messqualität der genutzten Geräte und verwendeten Immunoassays wurde für jeden untersuchten Biomarker der intra-assay coefficient of variation (intra-assay CV) und inter-assay coefficient of variation (inter-assay CV) gebildet und in Tabelle 4 angegeben. Jede analysierte Probe wurde nach dem Einfrieren einmalig wieder aufgetaut und ausgewertet (Freeze–thaw cycles = 1).

Tabelle 4: Assay-Qualität der Biomarkerbestimmungen

	Test	intra-assay CV	inter-assay CV
MR-proANP	BRAHMS MR-proANP KRYPTOR	1,89%	0,8%
BNP	ARCHITECT BNP	6,66%	1,36%
NT-proBNP	Elecsys proBNP II assay	1,96%	1,23%
MR-proADM	BRAHMS MR-proADM KRYPTOR	1,58%	0,39%
Copeptin	BRAHMS copeptin us KRYPTOR	3,64%	2,61%
high sensitive Troponin-I	ARCHITECT STAT hs troponin I	9,82%	3,57%

3.3 Biomarkermessungen

3.3.1 Natriuretische Peptide

Zur Analyse der natriuretischen Peptide MR-proANP, BNP und NT-proBNP wurde ein Histogramm der Biomarkermessungen erstellt und in Abbildung 16 grafisch dargestellt. Mit Ausnahme von MR-proANP ($p = 0,013$) wurde im Kolmogorov-Smirnov-Test für NT-proBNP ($p = 0,2$) und BNP ($p = 0,05$) eine Normalverteilung der Messergebnisse der Studienkohorte nachgewiesen.

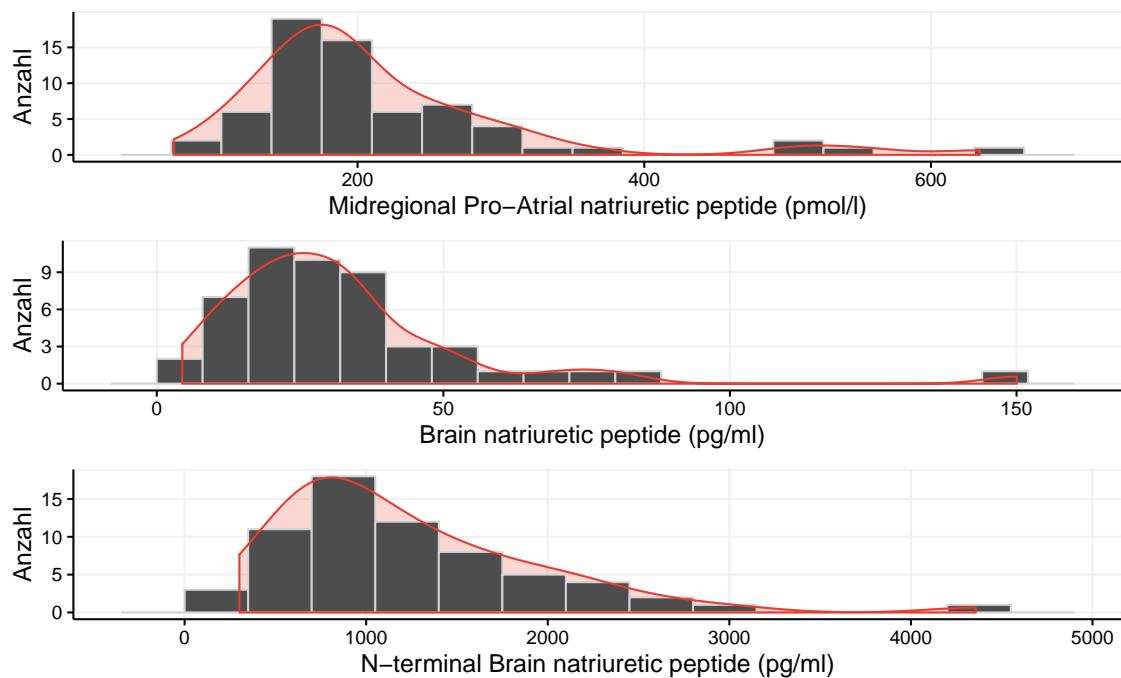


Abbildung 16: Histogramm der natriuretischen Peptid-Messungen und Durchführung einer Kerndichteschätzung (rote Linie)

Bei der Untersuchung der Einflüsse biometrischer Variablen auf die Biomarkerwerte, zeigten sich negative Korrelationen zwischen dem Gestationsalter und den natriuretischen Peptiden MR-proANP ($p < 0,001$; $r_s = -0,43$) und NT-proBNP ($p < 0,001$; $r_s = -0,41$), welche in Abbildung 17 grafisch dargestellt ist. Die BNP-Messergebnisse wiesen eine Tendenz auf ($p = 0,07$; $r_s = -0,26$). Für die weiteren Einflussfaktoren Geburtsgröße, -gewicht, und Kopfumfang wurden keine Zusammenhänge mit den natriuretischen Peptiden gefunden.

Die erhobenen APGAR-Werte bei der Geburt und nach fünf und zehn Minuten korrelierten in unserer Studienkohorte nicht mit den Messergebnissen von MR-proANP, BNP und NT-proBNP.

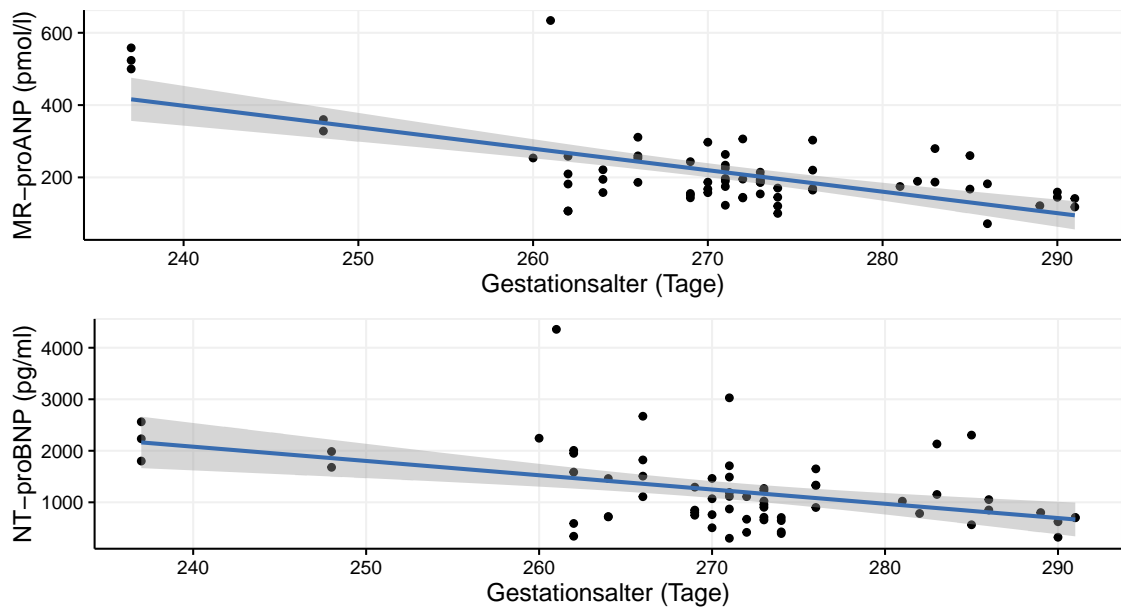


Abbildung 17: Korrelation des Gestationsalters mit MR-proANP ($p < 0,001$; $r_s = -0,43$; $N = 66$) und NT-proBNP ($p < 0,001$; $r_s = -0,41$; $N = 65$). Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsgerade (blau) mit 95%-Konfidenzintervall (grauer Bereich) hinzugefügt

Die Messergebnisse der Pro-Hormone NT-proBNP und MR-proANP zeigten einen schwachen aber signifikanten Zusammenhang mit den ermittelten Laktat-Werten (MR-proANP $p = 0,042$; $r_s = 0,26$; NT-proBNP $p = 0,05$; $r_s = -0,24$) der Blutgasanalyse aus Nabelvenenblut. Für MR-proANP waren weitere Korrelationen mit dem Base Excess ($p = 0,042$; $r_s = 0,26$) und dem Hämoglobin-Wert ($p = 0,044$; $r_s = -0,25$) schwach signifikant. Für die weiteren untersuchten Messwerte der Blutgasanalyse (Bilirubin, pH und pCO_2) wurden keine Wechselbeziehungen mit den natriuretischen Peptiden gefunden.

Im Mann-Whitney-U-Test wurden keine signifikanten Unterschiede der Biomarkerlevel MR-proANP ($p = 0,47$), BNP ($p = 0,44$) und NT-proBNP ($p = 0,92$) im Geschlechtervergleich ermittelt.

Für die Korrelation untereinander ließ sich für alle natriuretischen Peptide ein Zusammenhang demonstrieren. So ließ sich in einer Korrelationen für alle Peptide eine höchst signifikante Korrelation beschreiben (siehe Abbildung 18). Für die Messergebnisse von MR-proANP und NT-proBNP ergab sich ein positiver Zusammenhang mit den Werten von Midregional Pro-Adrenomedullin, der im nächsten Kapitel beschrieben wird.

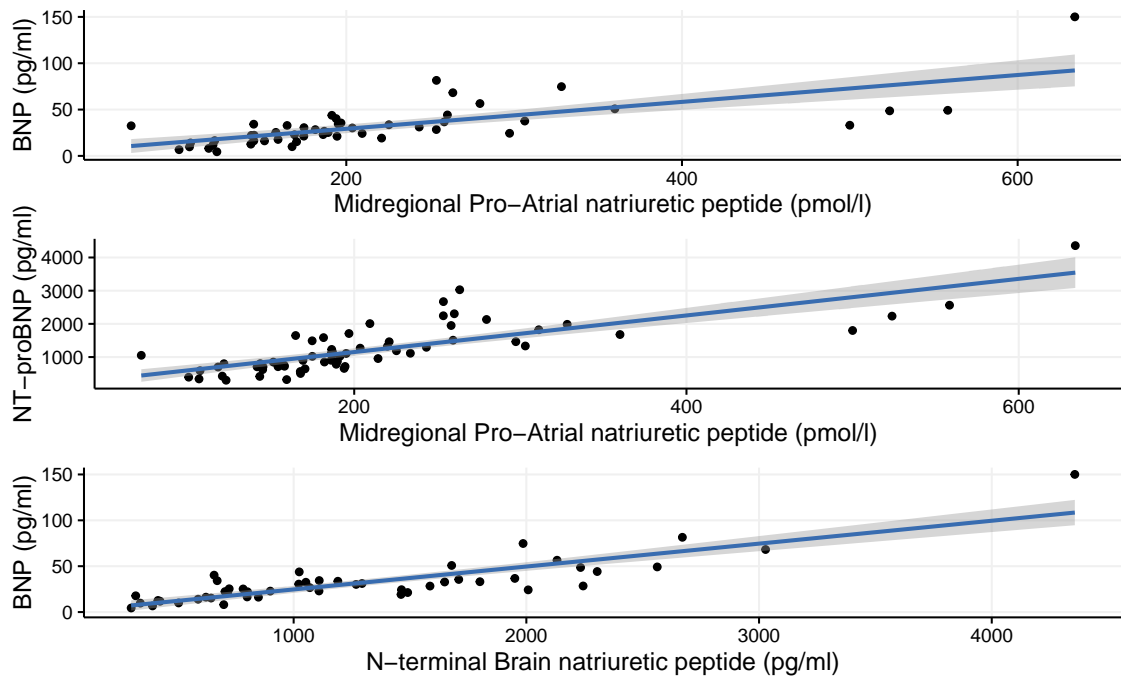


Abbildung 18: Korrelation der natriuretischen Peptide untereinander: MR-proANP - BNP ($p < 0,001$; $r_s = 0,78$; $N = 50$), MR-proANP - NT-proBNP ($p < 0,001$; $r_s = 0,83$; $N = 65$), BNP - NT-proBNP ($p < 0,001$; $r_s = 0,8$; $N = 49$). Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsgerade (blau) mit 95%-Konfidenzintervall (grauer Bereich) hinzugefügt

3.3.2 Midregional Pro-Adrenomedullin

Die in der Studie gewonnenen Messwerte für Midregional Pro-Adrenomedullin zeigten als Verteilungsmuster im Histogramm eine Gauß'sche Normalverteilung (Abbildung 19) mit einem p-Wert von $p = 0,53$ im Kolmogorov-Smirnov-Test.

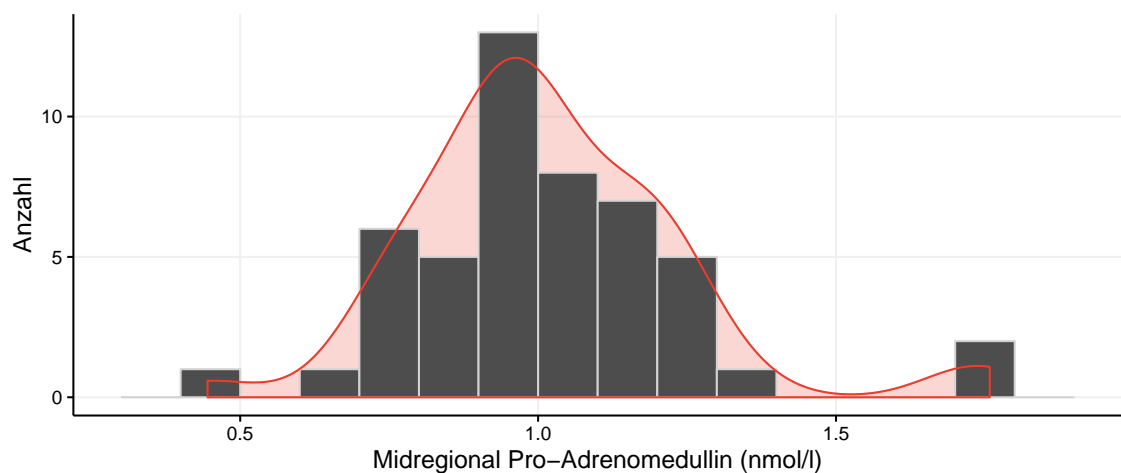


Abbildung 19: Histogramm der Midregional Pro-Adrenomedullin-Messungen und Durchführung einer Kerndichteschätzung (rote Linie)

In der Untersuchung von biometrischen Einflussfaktoren konnte eine signifikante Korrelation mit dem Gestationsalter ($p = 0,01$; $r_s = -0,36$) nachgewiesen werden (siehe Abbildung 20). Für das Geburtsalter, -gewicht, Kopfumfang und die ermittelten APGAR-Werte bei Geburt und nach fünf und zehn Minuten fanden sich keine Zusammenhänge.

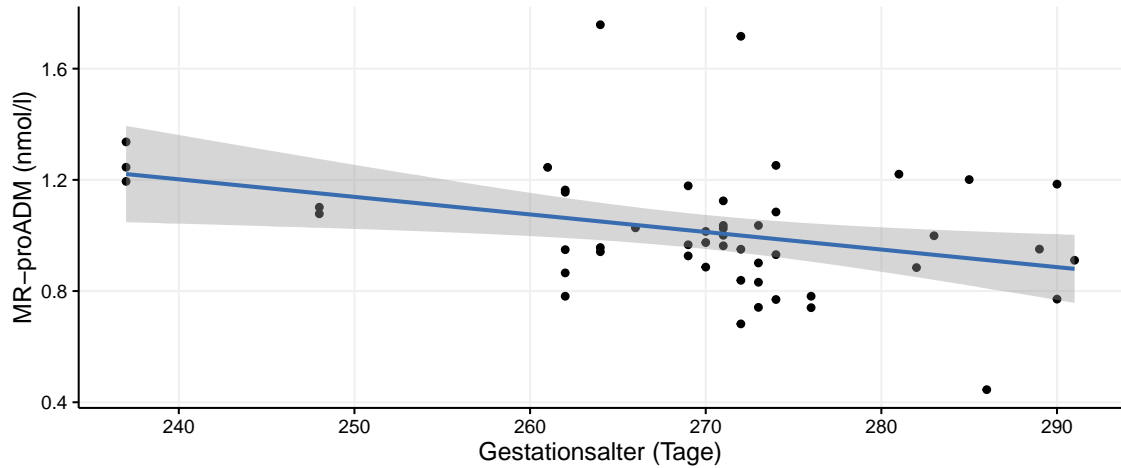


Abbildung 20: Korrelation von Midregional Pro-Adrenomedullin mit dem Gestationsalter ($p = 0,01$; $r_s = -0,36$; $N = 49$). Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsgerade (blau) mit 95%-Konfidenzintervall (grauer Bereich) hinzugefügt

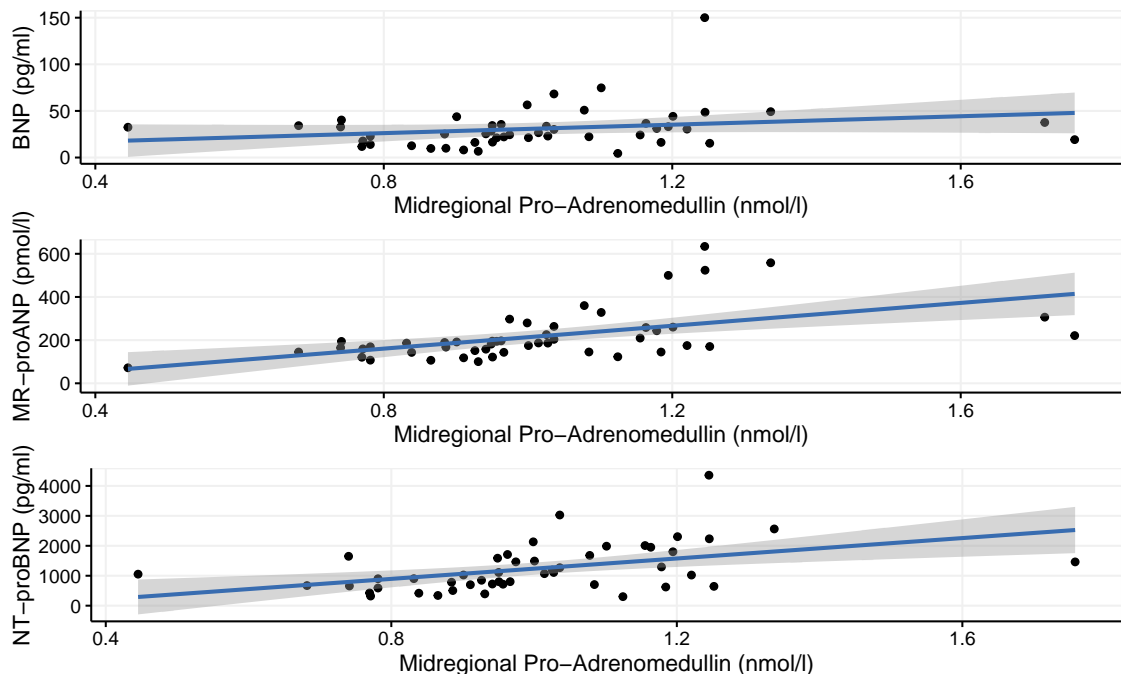


Abbildung 21: Korrelation von MR-proADM mit BNP ($p = 0,027$; $r_s = 0,32$; $N = 48$), MR-proANP ($p < 0,001$; $r_s = 0,63$; $N = 49$) und NT-proBNP ($p < 0,001$; $r_s = 0,53$; $N = 48$). Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsgerade (blau) mit 95%-Konfidenzintervall (grauer Bereich) hinzugefügt

Alle gewonnenen Messwerte der Blutgasanalyse aus venösem Nabelschnurblut wurden mit den Ergebnissen der MR-proADM-Messung korreliert. Dabei ergaben sich keine Korrelationen zwischen den Biomarkerlevel der MR-proADM-Bestimmungen und den aus der BGA gewonnenen Messergebnissen. In der Untersuchung auf unterschiedliche Messwerte zwischen den weiblichen und männlichen Probanden wurde im Mann-Whitney-U-Test kein Unterschied ermittelt ($p = 0,32$).

In der Untersuchung einer Korrelation von MR-proADM mit anderen Biomarkern, konnte eine positive Korrelation mit den natriuretischen Peptiden MR-proANP, BNP und NT-proBNP festgestellt werden, die in Abbildung 21 grafisch dargestellt ist.

3.3.3 Copeptin

Die Verteilung der Copeptin-Messwerte in der Studie zeigten eine bimodale Verteilung (Abbildung 22) mit 45 Messergebnissen < 30 pmol/l und 12 Ergebnisse über 400 pmol/l. Dazwischen befindet sich eine mittlere Gruppe von 9 Werten zwischen 37,52 pmol/l und 225,95 pmol/l. Die Inhomogenität der Messwerte wird durch die Diskrepanz des Median- (7,2 pmol/l) und Mittelwertes (103,42 pmol/l) sowie der großen Standardabweichung (185,99 pmol/l) verdeutlicht. Die Testung mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests ($p < 0,001$) bestätigte, dass die Datenreihe keine Normalverteilung aufwies. Durch das verwendete Testverfahren wurde der Maximalwert auf 500 pmol/l festgelegt. Somit lag der Datenreihe kein intervallskaliertes Zahlenniveau zugrunde.

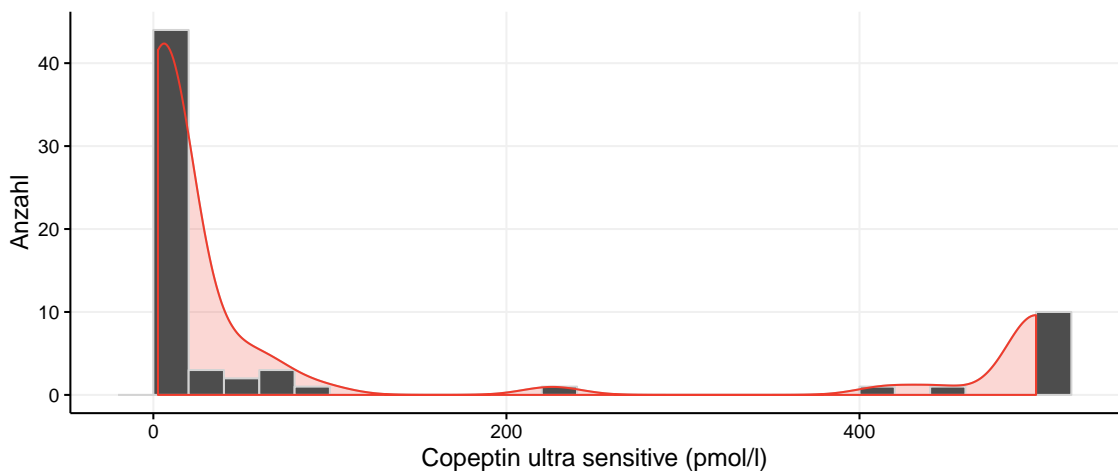


Abbildung 22: Histogramm der Copeptin-Messungen und Durchführung einer Kerndichteschätzung (rote Linie)

In der Untersuchung biometrischer Indizes zeigte sich eine positive Korrelation mit dem Gestationsalter ($p = 0,008$; $r_s = 0,32$), verdeutlicht in der Abbildung 23. Für alle weiteren biometrischen Werte ergaben sich keine Zusammenhänge. Für beide Geschlechter fand sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,9$).

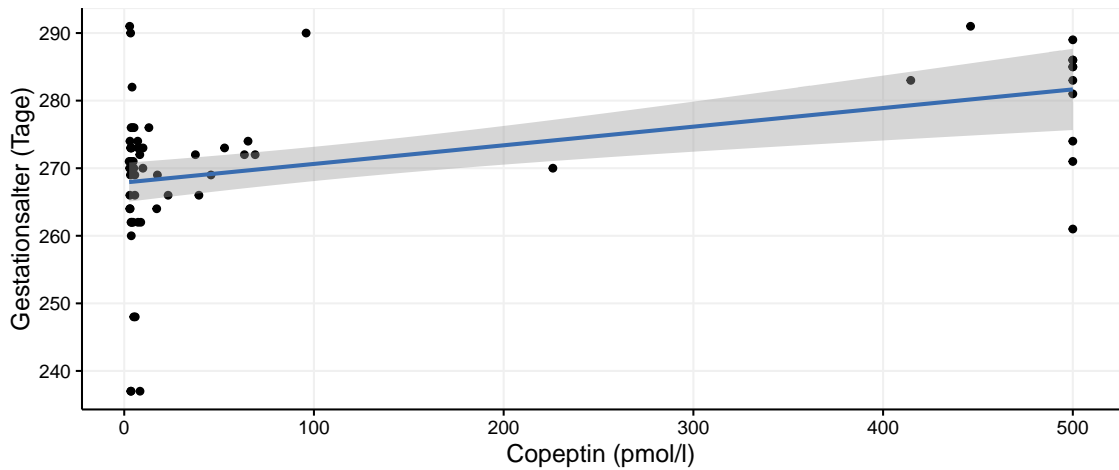


Abbildung 23: Korrelation von Copeptin mit dem Gestationsalter ($p = 0,008$; $r_s = 0,32$; $N = 66$). Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsgerade (blau) mit 95%-Konfidenzintervall (grauer Bereich) hinzugefügt

Die erhobenen APGAR-Werte korrelierten in unserer Studie nicht mit den Biomarkerlevel der Copeptin-Bestimmung. Copeptin zeigte bei der Untersuchung der Werte, die in der Blutgasanalyse aus venösem Nabelschnurblut gewonnen wurden, deutliche Korrelationen für den pH- ($p < 0,001$; $r_s = -0,41$), $p\text{CO}_2$ - ($p = 0,005$; $r_s = 0,35$), Base Excess- ($p < 0,001$; $r_s = -0,45$), Hb- ($p = 0,008$; $r_s = 0,32$) sowie für den Laktatwert ($p < 0,001$; $r_s = 0,55$). Die Korrelationen mit dem pH- und Laktatwert wurden in Abbildung 24 grafisch verdeutlicht.

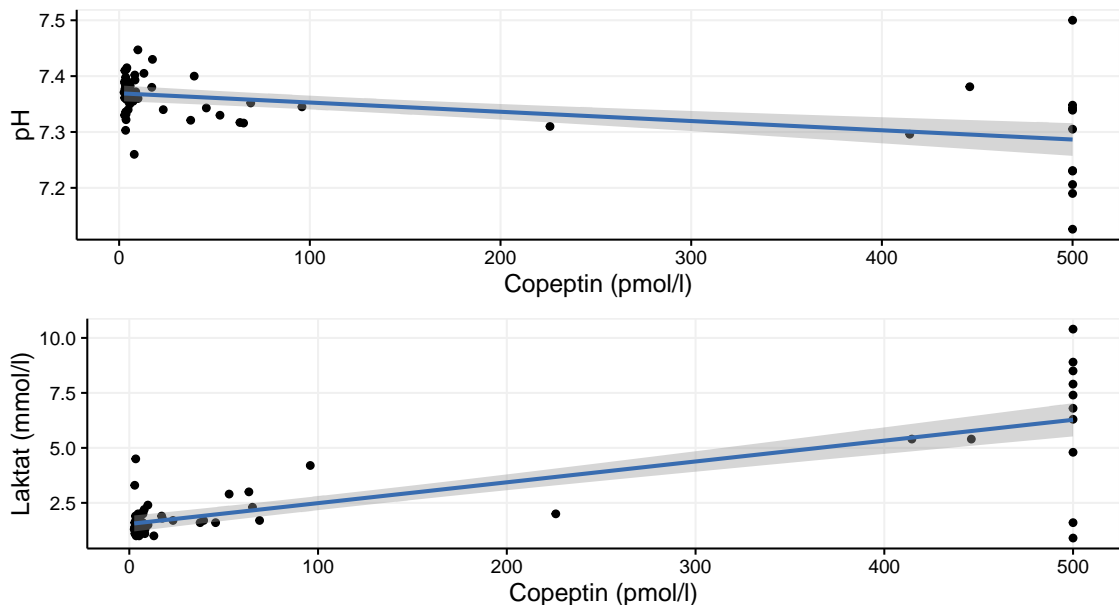


Abbildung 24: Korrelation von Copeptin mit pH- ($p < 0,001$; $r_s = -0,41$; $N = 66$) und Laktatgehalt ($p < 0,001$; $r_s = 0,55$; $N = 66$). Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsgerade (blau) mit 95%-Konfidenzintervall (grauer Bereich) hinzugefügt

In der Korrelation der Copeptin-Messwerte mit den weiteren in der Studie untersuchten kardialen Biomarkern, ließen sich keine Wechselbeziehungen beschreiben.

3.3.4 High sensitive Troponin-I

Die Analyse der in der Studie ermittelten high sensitive Troponin-I-Werte ergab eine monophasische rechts-schiefe Häufigkeitsverteilung (Kolmogorov-Smirnov Test $p < 0,001$) mit einem Peak um den Median im unteren Testbereich, welche 92% der Messwerte beinhaltet (Abbildung 25). Fünf Ergebnisse lagen in der herzgesunden neonatalen Gruppe oberhalb von 25 pg/ml.

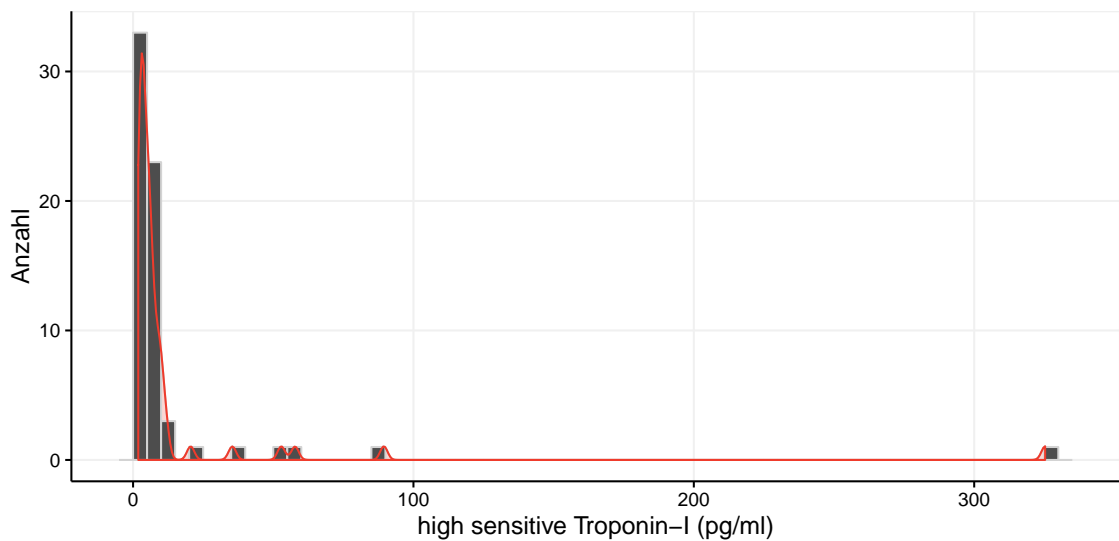


Abbildung 25: Histogramm der high sensitive Troponin-I-Messungen und Durchführung einer Kerndichteschätzung (rote Linie)

In der Analyse der biometrischen Testvariablen und APGAR-Werten ließ sich keine Korrelation darstellen. Zwischen den Geschlechtern gab es keine Unterschiede in den Messwerten (Mann-Whitney-U-Test $p = 0,58$). Die Höhe der hs-cTNI-Werte korrelierte mit keinen der in der Blutgasanalyse erhobenen Variablen.

3.3.5 Mutter-Kind-Paare

Bei 20 Studienteilnehmern erfolgte die Gewinnung mütterlichen Blutes nach der Blutabnahme aus der Nabelschnur. Da es durch den Geburtsstress sowie die Medikamenten- und Volumengabe zu Verfälschungen der mütterlichen Blutwerte kommen kann, wurden diese Studienteilnehmer von dem maternal-fetalen Vergleich ausgeschlossen. Daraus ergab sich für den Mutter-Kind-Vergleich eine Studiengruppe von 46 Mutter-Kind-Paaren. Die durchschnittliche Zeitdifferenz zwischen der Blutabnahme aus der Nabelschnur und der Mutter betrug bei der zur Auswertung berücksichtigten Subgruppe $99,75 \pm 185,9$ Minuten (5 - 890 Minuten). Eine Gegenüberstellung der kindlichen und mütterlichen Laborwerte ist in Tabelle 5 zu sehen. Mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests wurde auf signifikante Unterschiede untersucht.

Tabelle 5: Kardiale Biomarker im Mutter-Kind-Vergleich

	N	Kind	Mutter	p
MR-Pro-Atrial natriuretic peptide (pmol/l)	46	225,1 \pm 120,6	47,8 \pm 24,3	<0,001
Brain natriuretic peptide (pg/ml)	36	32,7 \pm 25,8	20,4 \pm 23,3	<0,001
NT-Pro-Brain natriuretic peptide (pg/ml)	45	1235,8 \pm 766,3	69 \pm 71,4	<0,001
MR-Pro-Adrenomedullin (nmol/l)	36	1 \pm 0,3	1,3 \pm 0,6	0,02
Copeptin (pmol/l)	46	93,2 \pm 175,1	5,2 \pm 4,4	<0,001
high sensitive Troponin-I (pg/ml)	45	15,7 \pm 48,6	6,1 \pm 23,1	<0,001

Für alle untersuchten Biomarker konnte ein signifikanter Unterschied der maternalen und kindlichen Werte gezeigt werden. Für alle natriuretischen Peptide sowie Copeptin und Troponin-I lag der Messwert im Nabelvenenblut höher als der maternale Vergleichswert. Midregional Pro-Adrenomedullin bildete als einziger untersuchter Biomarker eine Ausnahme (fetal vs. maternal, $1 \pm 0,26$ nmol/l vs. $1,3 \pm 0,6$ nmol/l).

Zur Untersuchung einer Beeinflussung von kindlichen und mütterlichen Blutwerten, wurden Korrelationen der Mutter-Kind-Paare für jeden Biomarker durchgeführt. Dabei wurde eine positive Spearman-Korrelation der mütterlichen und neonatalen Biomarkerwerte für MR-proADM ($p = 0,008$; $r_s = 0,43$) gefunden (siehe Abbildung 26). Für alle anderen untersuchten Biomarker ergab sich kein Zusammenhang zwischen maternalen und kindlichen Biomarkerlevel.

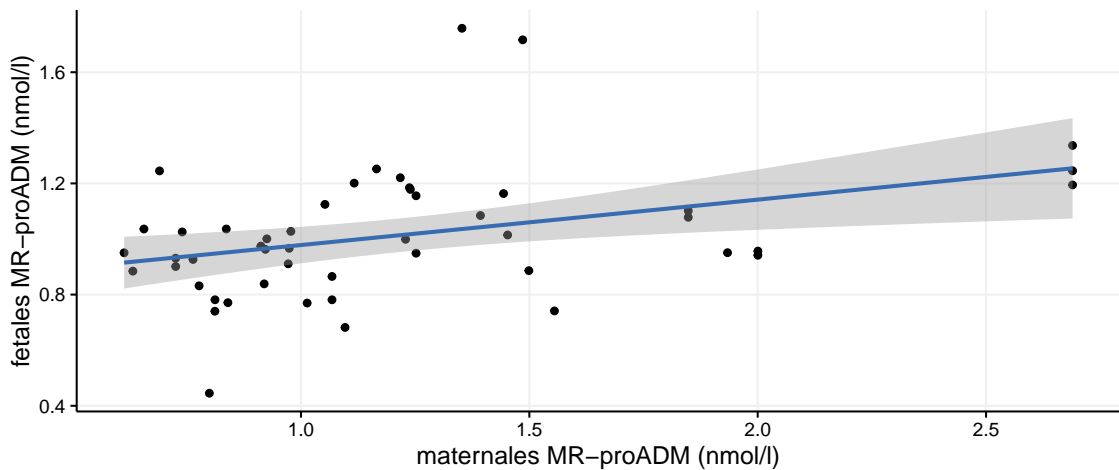


Abbildung 26: Korrelation von maternalen und fetalvenösen Midregional Pro-Adrenomedullin-Werten ($p = 0,008$; $r_s = 0,43$; $N = 36$). Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsgerade (blau) mit 95%-Konfidenzintervall (grauer Bereich) hinzugefügt

Durch die unterschiedlichen Halbwertszeiten der untersuchten Biomarker, kann ein möglicher Zusammenhang der maternalen und neonatalen Werte durch einen großen Blutentnahmeabstand verfälscht werden. Zur Berücksichtigung dieses Umstandes, wurde eine Subgruppe mit Mutter-Kind-Paaren gebildet, bei denen die Blutabnahme der Mutter vor der Geburt erfolgte und die Geburt durch einen primären Kaiserschnitt (Spontangeburt wiesen aufgrund der schlechten Planbarkeit der Geburt, einen deutlich größeren Blutentnahmeabstand auf) vollzogen wurde. In der neuen Subgruppe ($N = 35$) betrug der Blutentnahmeabstand zwischen der Mutter und dem Nabelschnurblut $37,7 \pm 13,4$ Minuten (5 - 80 Minuten). In der erneuten Korrelationsanalyse wurden die Ergebnisse der Gesamtgruppe des Mutter-Kind-Vergleichs reproduziert. Midregional Pro-Adrenomedullin wies als einziger Biomarker eine positive Spearman-Korrelation ($p = 0,003$; $r_s = 0,53$) zwischen maternalen und neonatalen Messwerten auf.

Im folgenden Abschnitt wurden die maternalen und fetal-venösen Biomarkerlevel im Verlauf des Gestationsalters untersucht. Dazu wurden vier Gruppen nach den aktuellen Schwangerschaftswochen bei Geburt gebildet und die Biomarkerlevel als Boxplots angegeben. In Abbildung 27 wird der Verlauf von MR-proANP demonstriert. In der Studienpopulation befanden sich die maternalen Werte konstant in jeder Gruppe um den Median von $43,2$ pmol/l. Die kindlichen MR-proANP-Werte lagen in allen Gruppen höher, als die maternalen Messungen. Mit Zunahme des Gestationsalters bei der Geburt sanken die kindlichen MR-proANP-Ergebnisse von $454,1 \pm 103,1$ pmol/l (33. - 36. SSW) auf $137,1 \pm 17,2$ pmol/l (41. SSW).

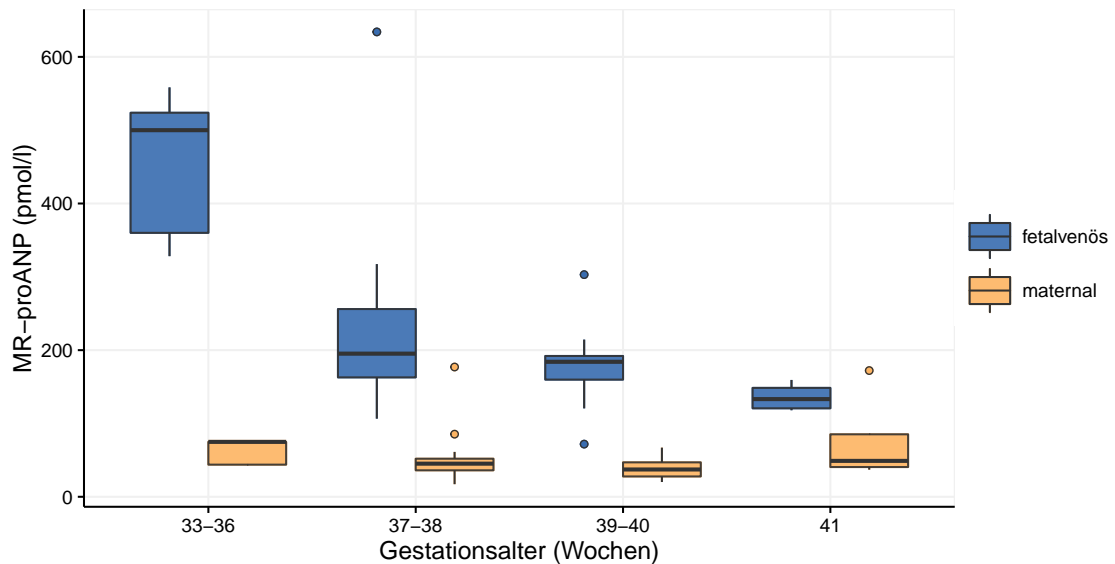


Abbildung 27: Boxplot der fetalvenösen und maternalen MR-proANP-Werte nach Gestationsalter. Es wurden vier Gruppen nach aktuellen Schwangerschaftswochen bei Geburt gebildet und den Biomarkerwerten gegenübergestellt. Die horizontale Linie gibt den Medianwert an, die Box beschreibt den Abstand der 25. bis 75. Perzentile, die vertikale Linie verdeutlicht das 95%-Intervall, Ausreißer sind als Punkte dargestellt (N = 46)

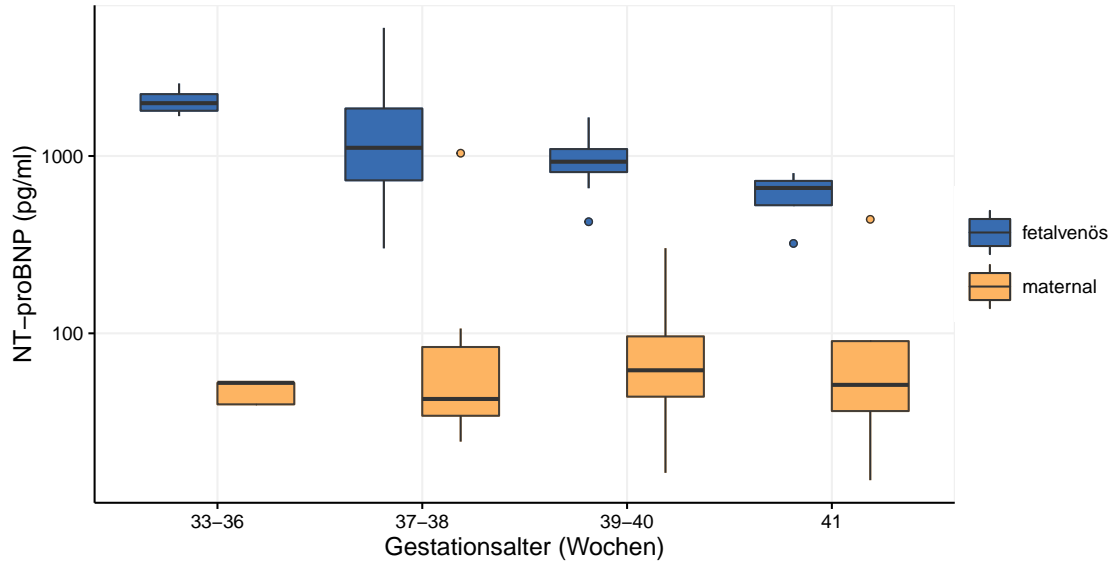


Abbildung 28: Boxplot der fetalvenösen und maternalen NT-proBNP-Werte nach Gestationsalter. Darstellung der Messwerte als dekadischer Logarithmus. Es wurden vier Gruppen nach aktuellen Schwangerschaftswochen bei Geburt gebildet und den Biomarkerwerten gegenübergestellt. Die horizontale Linie gibt den Medianwert an, die Box beschreibt den Abstand der 25. bis 75. Perzentile, die vertikale Linie verdeutlicht das 95%-Intervall, Ausreißer sind als Punkte dargestellt (N = 45)

Als weiteres natriuretisches Peptid wies NT-proBNP einen ähnlichen Verlauf der Biomarkerlevel im Mutter-Kind-Vergleich nach Gestationsalter wie MR-proANP auf (siehe Abbildung 28). Das Gestationsalter hatte keinen Einfluss auf Messwerte der mütterlichen NT-proBNP-Ergebnisse. In der Gruppe der Geburten in der 33.-36. Schwangerschaftswoche war der neonatale NT-proBNP-Messwert um das 20-fache höher (2052 pg/ml vs. 47,45 pg/ml) als der maternale Vergleichswert. Dieser Unterschied sank in der Gruppe der 40.-41. SSW auf das 8-fache (630 pg/ml vs. 76,8 pg/ml).

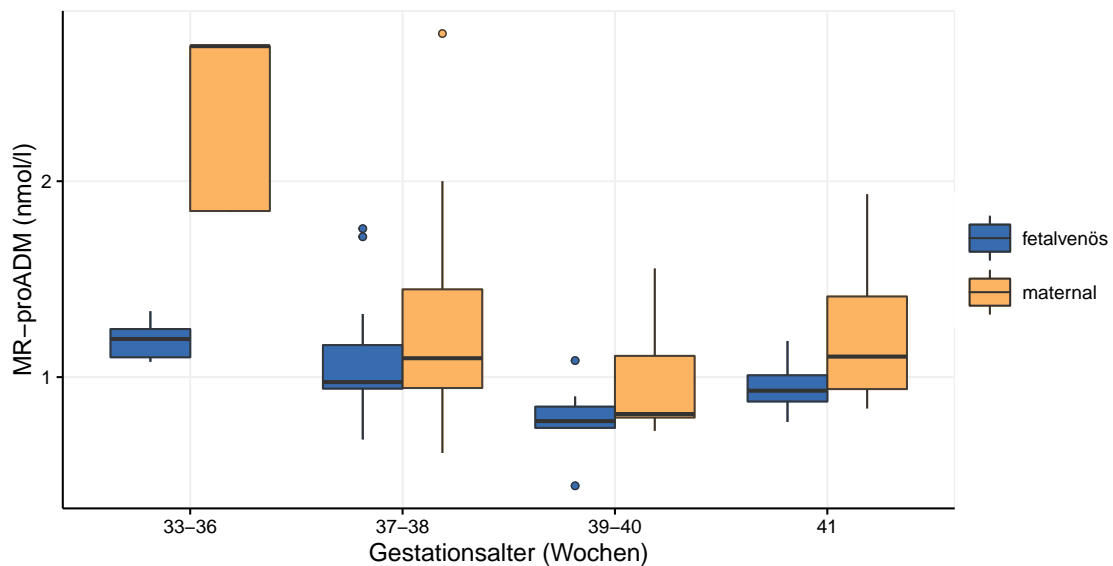


Abbildung 29: Boxplot der fetalvenösen und maternalen MR-proADM-Werte nach Gestationsalter. Es wurden vier Gruppen nach aktuellen Schwangerschaftswochen bei Geburt gebildet und den Biomarkerwerten gegenübergestellt. Die horizontale Linie gibt den Medianwert an, die Box beschreibt den Abstand der 25. bis 75. Perzentile, die vertikale Linie verdeutlicht das 95%-Intervall, Ausreißer sind als Punkte dargestellt (N = 36)

Bei der Untersuchung des Midregional Pro-Adrenomedullin lagen die maternalen Messwerte in jeder Gruppe über denen der Neonaten (siehe Abbildung 29). Mit steigendem Gestationsalter fielen die maternalen und kindlichen Vergleichswerte bis zu einem Minimum in der Gruppe der 39.-40. SSW kontinuierlich ab. Auffällig ist ein Anstieg der MR-proADM-Werte auf das Niveau der 37.-38. SSW in der Gruppe der Neonaten, die in der 41. Schwangerschaftswoche geboren wurden. Sowohl die mütterlichen ($p = 0,008$), als auch die neonatalen ($p < 0,001$) Messwerte korrelierten mit dem Gestationsalter. Wie in Abbildung 26 demonstriert, konnte ein Zusammenhang der maternalen und neonatalen Biomarkerlevel von Midregional Pro-Adrenomedullin nachgewiesen werden ($p = 0,008$).

3.3.6 Arterio-venöser Vergleich

In der durchgeführten Studie wurde von elf Neonaten zusätzlich zum venösen Nabelschnurblut eine arterielle Nabelschnurprobe gewonnen (Tabelle 6). Diese Gruppe beinhaltete zehn primäre Sectiones sowie eine Spontangeburt. Aufgrund eines Materialmangel konnte nicht jeder Biomarker wiederholt bestimmt werden. Zusätzlich wurde mit dem Spearman-Ranglistenkoeffizienten r_s auf Zusammenhänge zwischen den arteriellen und venösen Messungen untersucht und der p-Wert in der Tabelle angegeben.

Tabelle 6: Messergebnisse der Arteria und Vena umbilicalis

	N	Arterie	Vene	p
MR-Pro-Atrial natriuretic peptide (pmol/l)	11	197,6 ± 59,1	200 ± 57,6	<0,001
Brain natriuretic peptide (pg/ml)	9	39,8 ± 24,2	28,3 ± 11	0,001
NT-Pro-Brain natriuretic peptide (pg/ml)	10	1113,3 ± 440	1045,6 ± 416,9	0,002
MR-Pro-Adrenomedullin (nmol/l)	10	0,94 ± 0,1	1,1 ± 0,2	0,001
Copeptin (pmol/l)	11	169,5 ± 190,9	13,7 ± 18,1	0,33
high sensitive Troponin-I (pg/ml)	10	5,9 ± 3,6	5,4 ± 3,4	<0,001

Mit der Ausnahme von Copeptin wurde für jeden untersuchten Biomarker ein signifikanter Zusammenhang der arteriellen und venösen Nabelschnurblutwerte ermittelt. Dieses Ergebnis bestätigte sich zusätzlich im Mann-Whitney-U-Test, wobei Copeptin im Gegensatz zu den weiteren untersuchten Markern einen signifikanten Unterschied ($p = 0,003$) zwischen den Messergebnissen aus dem Blut der A. umbilicalis und V. umbilicalis aufwies. Eine Besonderheit fand sich bei dem arteriellen Copeptin-Wert, der durchschnittlich 11-fach höher, als der venöse Vergleichsparameter lag. Der maternale Messwert des Copeptin lag zwischen den arteriellen und venösen Ergebnissen (Abbildung 30), jedoch 10-fach unterhalb der Messungen aus der A. umbilicalis.

Im Durchschnitt lagen die hier untersuchten arteriellen Indizes höher, als die im Nabelvenenblut gemessenen Werte. Eine Ausnahme bildete Midregional Pro-Adrenomedullin. In der Gegenüberstellung mit dem MR-proADM-Vergleichswert aus maternalem Blut (Abbildung 31), lagen beide Messungen beim Neonaten oberhalb des maternalen Ergebnisses.

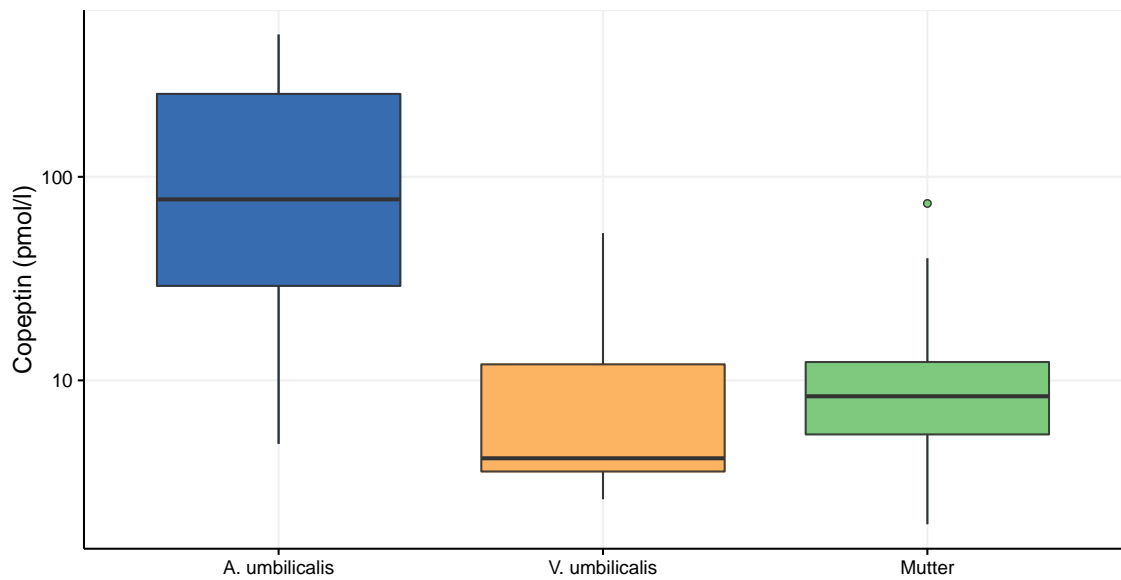


Abbildung 30: Boxplot der arteriellen und venösen Nabelschnur- und maternalen Copeptin-Werte. Darstellung der Messwerte als dekadischer Logarithmus. Die horizontale Linie gibt den Medianwert an, die Box beschreibt den Abstand der 25. bis 75. Perzentile, die vertikale Linie verdeutlicht das 95%-Intervall, Ausreißer sind als Punkte dargestellt (N = 11)

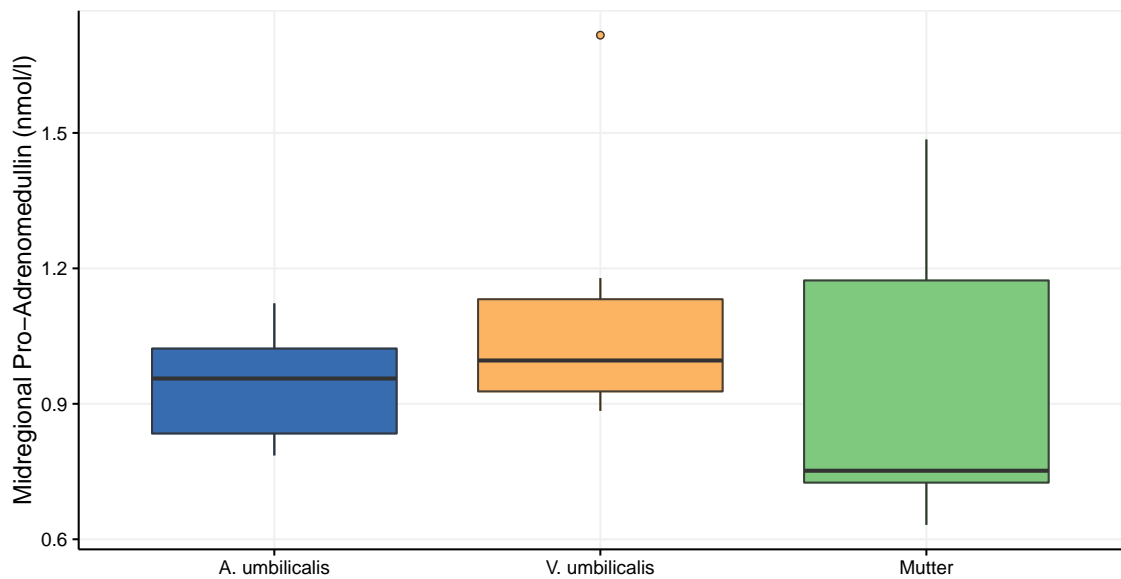


Abbildung 31: Boxplot der arteriellen und venösen Nabelschnur- und maternalen MR-proADM-Werte. Die horizontale Linie gibt den Medianwert an, die Box beschreibt den Abstand der 25. bis 75. Perzentile, die vertikale Linie verdeutlicht das 95%-Intervall, Ausreißer sind als Punkte dargestellt (N = 10)

3.3.7 Mehrlingsgeburten

Die Studienpopulation umfasste elf Mehrlingsgeburten, darunter eine Drillings- und vier Zwillinggeburten. Zur Ermittlung des Einflusses einer Mehrlingsgeburt auf die Biomarkerlevel, wurden die als Mehrlinge geborenen Neonaten der Gruppe der Einlinge gegenüber gestellt (Tabelle 7). Zur Analyse von Unterschieden in den beiden Studiengruppen wurde mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ein p-Wert ermittelt.

Tabelle 7: Messergebnisse der Einlinge und Mehrlinge (N = 66)

	Einlinge	Mehrlinge	p
Anzahl	55	11	
Geburtsgewicht (kg)	3,5 ± 0,6	2,3 ± 0,4	<0,001
Geburtsgröße (cm)	51,5 ± 2,5	45,4 ± 3,4	<0,001
BMI ($\frac{kg}{m^2}$)	13,1 ± 1,3	11,2 ± 0,9	<0,001
Kopfumfang (cm)	35,5 ± 1,6	31,2 ± 1,9	<0,001
Geburtsalter (Wochen)	39+1	36+1	<0,001
MR-Pro-Atrial natriuretic peptide (pmol/l)	200 ± 80,7	293,4 ± 170	0,16
Brain natriuretic peptide (pg/ml)	31,4 ± 25,1	34,5 ± 19,3	0,49
NT-Pro-Brain natriuretic peptide (pg/ml)	1178,8 ± 733,7	1475 ± 753,2	0,2
MR-Pro-Adrenomedullin (nmol/l)	1 ± 0,25	1 ± 0,1	0,34
Copeptin (pmol/l)	123,1 ± 198,2	5,1 ± 2,1	0,04
high sensitive Troponin-I (pg/ml)	5,6 ± 50	14,1 ± 20,5	0,56

Mit Hilfe der Tabelle 7 wird sichtbar, dass sich die beiden Studiengruppen deutlich in den biometrischen Merkmalen unterscheiden. Besonders erkennbar wurde dies am Gestationsalter, das bei den Mehrlingsgeburten um drei Wochen vor dem der Einlingsgeburten lag. Ein weiteres grundlegendes Unterscheidungskriterium war der Geburtsmodus. Alle Mehrlinge wurden per primärem Kaiserschnitt entbunden. Die Gruppe der Einlinge beinhaltete alle in der Studie erfassten Neonaten mit Geburtsstress (sekundäre Sectio caesarea und Spontanpartus). Bei der Biomarkeranalyse ergab sich für Copeptin ein signifikanter Unterschied ($p = 0,04$) der beiden Gruppen. Die weiteren untersuchten Laborwerte wiesen keine Beeinflussung durch eine Mehrlingsgeburt auf.

In der Untersuchung des Einflusses der Mehrlingsgeburten auf die maternalen Biomarkerlevel, wurde für MR-proADM ein signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) gefunden. Im Durchschnitt lagen die hier verglichenen mütterlichen Werte bei

Mehrlingsgeburten zweifach (1,03 nmol/l vs. 1,9 nmol/l) über den Vergleichswerten der Einlinge. Alle anderen Biomarkerbestimmungen dieser Studie wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen Einlingen und Mehrlingen auf.

3.3.8 Geburtsmodus

Zur Untersuchung des Einflusses des Geburtsmodus auf die in der Studie erhobenen Biomarkerlevel, wurden die Neonaten nach ihrem Geburtsvorgang in die Gruppen primäre Sectio caesarea, sekundäre Sectio caesarea und Spontanpartus eingeteilt (Tabelle 8). Dabei wurden der Datensatz mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests auf signifikante Unterschiede untersucht.

Tabelle 8: Messergebnisse der Geburtsmodi

	prim. Sectio	sek. Sectio	Spontanpartus	p
Anzahl	49	4	13	
Geburtsgewicht (kg)	3,3 ± 0,7	3,3 ± 0,1	3,4 ± 0,6	0,75
Geburtsgröße (cm)	50,1 ± 3,6	51,0 ± 1,4	51,9 ± 2,9	0,34
BMI ($\frac{kg}{m^2}$)	12,8 ± 1,6	12,6 ± 0,4	12,7 ± 1,2	0,89
Kopfumfang (cm)	34,9 ± 2,3	34,3 ± 1	35,3 ± 1,5	0,51
Geburtsalter (Wochen+Tage)	38+1	39+0	40+3	<0,001
MR-Pro-Atrial natriuretic peptide (pmol/l)	223,3 ± 98	166,2 ± 37	201,6 ± 141,7	0,09
Brain natriuretic peptide (pg/ml)	31,2 ± 17	19,2 ± 2,9	40 ± 44,6	0,36
NT-Pro-Brain natriuretic peptide (pg/ml)	1249,6 ± 641	908,8 ± 375	1251,1 ± 1112	0,4
MR-Pro-Adrenomedullin (nmol/l)	1 ± 0,2	1,3 ± 0,4	0,99 ± 0,26	0,26
Copeptin (pmol/l)	26,4 ± 77	18 ± 19,5	420 ± 167,7	<0,001
high sensitive Troponin-I (pg/ml)	13,8 ± 47	14,2 ± 14,7	12,4 ± 23,6	0,49

Copeptin zeigte einen höchst signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen Spontanpartus und primärer Sectio ($p < 0,001$) sowie Spontanentbindung und sekundärer Sectio caesarea ($p = 0,008$), grafisch in der Abbildung 32 verdeutlicht. Zwischen primärem und sekundärem Kaiserschnitt gab es keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,56$). Alle untersuchten Studiengruppen beinhalteten Ausreißer. In der Gruppe der primären Sectiones befanden sich 96% der Messergebnisse innerhalb des Medians und dem 1,5-fachen Quartilabstand. Zwei Werte wiesen mit 225,9 pmol/l und 500 pmol/l einen deutlich höheren Copeptin-Wert auf. In der Gruppe der Spontangeburt waren 85% der Ergebnisse am Maximalpunkt des Testbereichs. Zwei Messpunkte lagen mit 2,8 pmol/l und 95,9 pmol/l erkennbar darunter. Zur Überprüfung der in Kapitel 3.3.3 ermittelten

Copeptin-Korrelationen mit dem Gestationsalter, wurden erneute Korrelationen in den Gruppen unterschieden nach dem Geburtsmodus durchgeführt. Hier bestätigten sich die Zusammenhänge der Gesamtstudienkohorte in den Gruppen des primären ($p = 0,19$) und sekundären ($p = 0,36$) Kaiserschnitts mit dem Gestationsalter nicht. In der Gruppe der Spontanentbindungen korrelierten die Copeptin-Werte weiterhin mit dem Gestationsalter ($p = 0,042$).

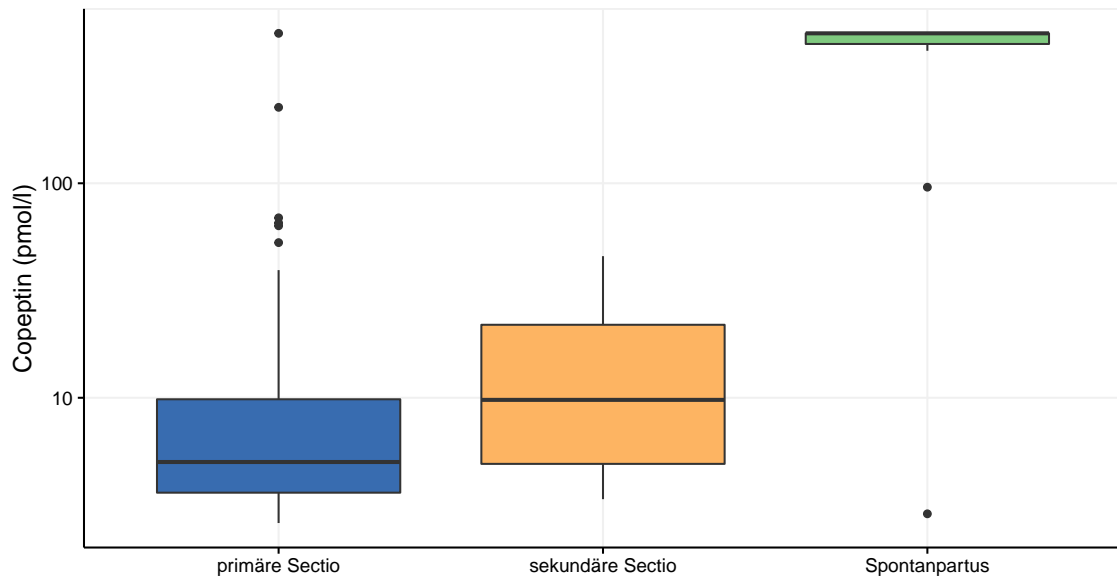


Abbildung 32: Boxplot der fetalen Copeptin-Werte nach Geburtsmodus. Darstellung der Messwerte als dekadischer Logarithmus. Es wurden 3 Gruppen nach dem Geburtsmodus gebildet und den Biomarkerwerten gegenübergestellt. Die horizontale Linie gibt den Medianwert an, die Box beschreibt den Abstand der 25. bis 75. Perzentile, die vertikale Linie verdeutlicht das 95%-Intervall, Ausreißer sind als Punkte dargestellt (N = 48)

Alle weiteren untersuchten Biomarker wiesen keine Beeinflussung durch den Modus der Geburt auf. Bei alle Neonaten, die einem Geburtsstress ausgesetzt waren (Spontangeburt und sekundäre Sectiones), wurde ein Zusammenhang mit der Wehendauer, dem zeitlichen Abstand zum Blasensprung und den Biomarkerlevel untersucht. Dabei ließen sich in dieser Studienkohorte keine Zusammenhänge der Biomarkerlevel mit der Dauer der Wehentätigkeit oder dem zeitlichen Abstand zwischen dem Blasensprung und der Geburt demonstrieren.

3.3.9 Normwerte und Referenzbereich

Nach der Untersuchung der Einflussfaktoren auf die zu untersuchenden Laborwerte, wurden biomarkerspezifische Normwerte erstellt und deren Referenzbereich mit Hilfe des 95%-Konfidenzintervalls angegeben.

Die Messwerte der natriuretischen Peptide Midregional Pro-Atrial natriuretic peptide, Brain natriuretic peptide, N-terminales Pro-Brain natriuretic peptide sowie Midregional Pro-Adrenomedullin wiesen eine signifikante negative Korrelation mit dem Gestationsalter auf, die in den Kapiteln 3.3.1 und 3.3.2 beschrieben wurde. Zur Erstellung von Normwerten und Referenzbereichen wurden diese Biomarker in vier Gruppen (33.-36., 37.-38., 39.-40., 41.) nach dem Gestationsalter (Schwangerschaftswochen) eingeteilt (Tabelle 9).

Tabelle 9: Normwerte und Referenzbereiche für MR-proANP, BNP, NT-proBNP und MR-proADM

	Gestationsalter	N	Mittelwert	Median	Referenzbereich	p
MR-proANP (pmol/l)	33.-36.SSW	5	454,1	500	328,2 - 558,3	0,06
	37.-38.SSW	33	213,2	194,5	180,1 - 225,3	<0,001
	39.-40.SSW	23	164,2	186,1	166 - 201,7	<0,001
	41.SSW	5	137,1	141,6	118,1 - 159,4	0,06
BNP (pg/ml)	33.-36.SSW	5	51,29	49,2	33,1 - 74,75	0,06
	37.-38.SSW	27	32,73	25,4	21,8 - 32,53	<0,001
	39.-40.SSW	14	29,63	30,32	22,15 - 37,35	<0,001
	41.SSW	4	14,65	16,38	8,1 - 17,75	0,125
NT-proBNP (pg/ml)	33.-36.SSW	5	2052	1986	1679 - 2562	0,06
	37.-38.SSW	32	1327	1113	958 - 1506	<0,001
	39.-40.SSW	23	1043	955	812 - 1191	<0,001
	41.SSW	5	630	700	321 - 800	0,06
MR-proADM (nmol/l)	33.-36.SSW	5	1,19	1,19	1,08 - 1,34	0,06
	37.-38.SSW	25	1,05	0,98	0,95 - 1,09	<0,001
	39.-40.SSW	15	0,92	0,90	0,81 - 1,04	<0,001
	41.SSW	4	0,95	0,93	0,77 - 1,18	0,125

Der Biomarker Copeptin zeigte sowohl für die Korrelation mit dem Gestationsalter als auch für die Untersuchung des Einflusses des Geburtsmodus signifikante Unterschiede. Mit den Ergebnissen zur Berechnung des Einflusses des Geburtsmodus (Kapitel 3.3.6), wurde der Einfluss des Gestationsalters auf den Copeptin-Wert in den Gruppen der primären und sekundären Kaiserschnitte nicht bestätigt. Obwohl sich in der Gruppe der vaginalen Entbindungen eine Korrelation mit dem Gestationsalter fand ($p = 0,04$), erscheint die weitere Unterteilung, aufgrund der geringen Probandenanzahl, nicht sinnvoll. Zur Berücksichtigung dieser Erkenntnisse, wurden die Normwerte und Referenzbereich für Copeptin Geburtsmodus-spezifisch angegeben (Tabelle 10).

Tabelle 10: Normwerte und Referenzbereiche für Copeptin

	Geburtsmodus	N	Mittelwert	Median	Referenzbereich	p
Copeptin (pmol/l)	prim. Sectio	49	26,42	5	4,97 - 12,37	<0,001
	sek. Sectio	4	17,95	11,36	3,37 - 45,73	0,125
	Spontanpartus	13	419,96	500	446,1 - 500	0,001

Für den Biomarker high sensitive Troponin-I wurde in der Studie kein Einflussfaktor gefunden. Die Normwerte und Referenzbereiche im neonatalen Bereich können daher für die gesamte Studienpopulation angegeben werden (Tabelle 11).

Tabelle 11: Normwerte und Referenzbereiche für high sensitive Troponin-I

	N	Mittelwert	Median	Referenzbereich	p
high sensitive Troponin-I (pg/ml)	65	13,52	4,95	4,4 - 6,42	<0,001

Analog zu den Veröffentlichungen von Araújo et al. (2004) und Bader et al. (2006) werden die hs-cTNI-Ergebnisse zusätzlich in Perzentilen-Form dargestellt (Tabelle 12). Nach den Kriterien der European Society of Cardiology und dem American College of Cardiology geben hs-cTNI-Werte oberhalb der 99. Perzentile im Erwachsenenbereich einen kritischen myokardialen Schaden an (National Committee for Clinical Laboratory Standards 2002).

Tabelle 12: Perzentilenangabe für high sensitive Troponin-I

	1.	2,5.	5.	10.	25.	50.	75.	90.	95.	97,5.	99.
hs-cTNI (pg/ml)	1,98	2,1	2,15	2,49	2,9	4,95	7,3	11,66	49,36	70,43	174,36

3.4 Impedanzkardiographische Messungen

Bei 56 Säuglingen wurde postpartal eine Impedanzkardiographie durchgeführt. Gründe für die Nichtdurchführung waren eine Verweigerung der Messung durch die Eltern (dreimal) oder eine vorzeitige Entlassung (siebenmal). Die durchschnittliche Qualität der Messung kann mit $93,4 \pm 6,82\%$ (80 - 100%) angegeben werden. Der zeitliche Abstand zwischen der Durchführung der impedanzkardiographischen Messung und der Geburt betrug in unserer Studie $56,42 \pm 17,7$ Stunden (27 - 98 Stunden). Zur Ermittlung der Werte wurden durchschnittlich $18,64 \pm 2,23$ (12,5 - 23,5) Herzzyklen gemessen und daraus die Mittelwerte gebildet. Tabelle 13 zeigt die Messergebnisse für die impedanzkardiographischen Parameter.

Tabelle 13: Impedanzkardiographische Messwerte der Gesamtstudienpopulation (N = 56)

	Mittelwert	Median	SD	Min	Max
Biometrie					
Geburtsgewicht (kg)	3,2	3,2	0,69	1,78	4,83
Geburtsgröße (cm)	50,1	50	3,51	41	56
BMI ($\frac{kg}{m^2}$)	12,6	12,39	1,36	9,612	16,32
Kopfumfang (cm)	34,67	35	2,17	28,5	39,5
Geburtsalter (Wochen+Tage)	38+3	38+5	1+4	33+4	41+3
Blutfluss					
Herzfrequenz (min^{-1})	121,3	122	13,38	83,5	159,5
Schlagvolumen (ml)	4,26	4,19	1	2,53	6,78
Schlagindex (ml/m^2)	21,6	21,6	3,1	15,6	27,9
Herzzeitvolumen (l/min)	0,51	0,49	0,15	0,34	0,79
Herzindex ($\text{ml}/\text{min} \cdot \text{m}^2$)	2,6	2,49	0,39	1,8	3,6
Flüssigkeitsvolumen					
Thorakaler Flüssigkeitsstatus	28,77	28,33	4,93	19,7	41,9

3.4.1 Biometrie

In der Untersuchung der impedanzkardiographischen Messwerte mit biometrischen Daten der Neonaten, ergaben sich höchst signifikante Korrelationen zwischen dem Schlagvolumen und dem Geburtsgewicht ($p < 0,001$; $r_s = 0,75$), der Geburtsgröße ($p < 0,001$; $r_s = 0,76$), dem Kopfumfang ($p < 0,001$; $r_s = 0,68$) und dem Gestationsalter

bei Geburt ($p < 0,001$; $r_s = 0,46$). Abbildung 33 verdeutlicht diesen Zusammenhang grafisch anhand des Geburtsgewichtes, der Geburtsgröße, des Kopfumfang und des Gestationsalters.

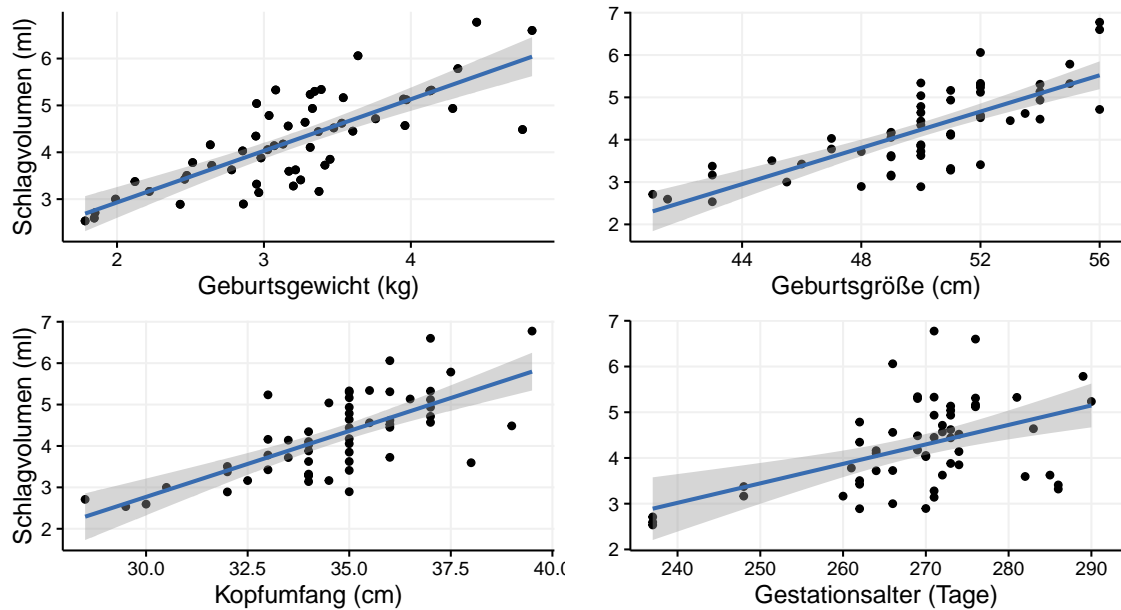


Abbildung 33: Korrelation des Schlagvolumens mit Geburtsgewicht, -größe, Kopfumfang und Gestationsalter. Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsgerade (blau) mit 95%-Konfidenzintervall (grauer Bereich) hinzugefügt (N = 56)

Analog zum Schlagvolumen wurden signifikante Korrelationen zwischen dem Herzzeitvolumen und dem Geburtsgewicht ($p < 0,001$; $r_s = 0,68$), der Geburtsgröße ($p < 0,001$; $r_s = 0,73$), dem Kopfumfang ($p < 0,001$; $r_s = 0,68$) und dem Gestationsalter ($p < 0,001$; $r_s = 0,46$) gefunden. Auch die zweite Berechnungsvariable des Herzzeitvolumens, die Herzfrequenz, zeigte mit zunehmenden Gestationsalter ($p = 0,019$; $r_s = -0,31$), Geburtsgewicht ($p = 0,03$; $r_s = -0,29$) und Geburtsgröße ($p = 0,04$; $r_s = -0,27$) eine abnehmende Frequenz. Bei den über die Körpergröße und das Körpergewicht normierten Indizes Schlag- und Herzindex ließ sich für den Schlagindex eine Korrelation mit der Geburtsgröße ($p = 0,02$; $r_s = 0,31$) und dem Geburtsgewicht ($p = 0,044$; $r_s = 0,27$) demonstrieren.

Bei dem Maßen des Flüssigkeitsvolumen konnte für den Thorakalen Flüssigkeitsstatus, als Kennzahl für das Flüssigkeitsvolumen im Thorax, ein Zusammenhang mit dem Kopfumfang ($p < 0,001$; $r_s = 0,49$), der Geburtsgröße ($p = 0,002$; $r_s = 0,4$) und dem Geburtsgewicht ($p < 0,001$; $r_s = 0,44$) gefunden werden.

3.4.2 Biomarker

Zur Untersuchung von Zusammenhängen der kardialen Biomarkermessungen und der impedanzkardiographischen Messwerte, wurde eine Korrelationsmatrix in Form einer Heatmap (Abbildung 34) erstellt. Für jede Fragestellung wurde eine Spearman-Korrelation durchgeführt und der jeweilige p-Wert in der Matrix angegeben (Abbildung 34). Zur grafischen Verdeutlichung erfolgte eine farbkodierte Darstellung als Heatmap. Ab einem p-Wert von 0,05 wird in der Heatmap eine signifikante Spearman-Korrelation verdeutlicht. Mit zunehmendem Signifikanzlevel nimmt die Intensität der Rotfärbung zu.

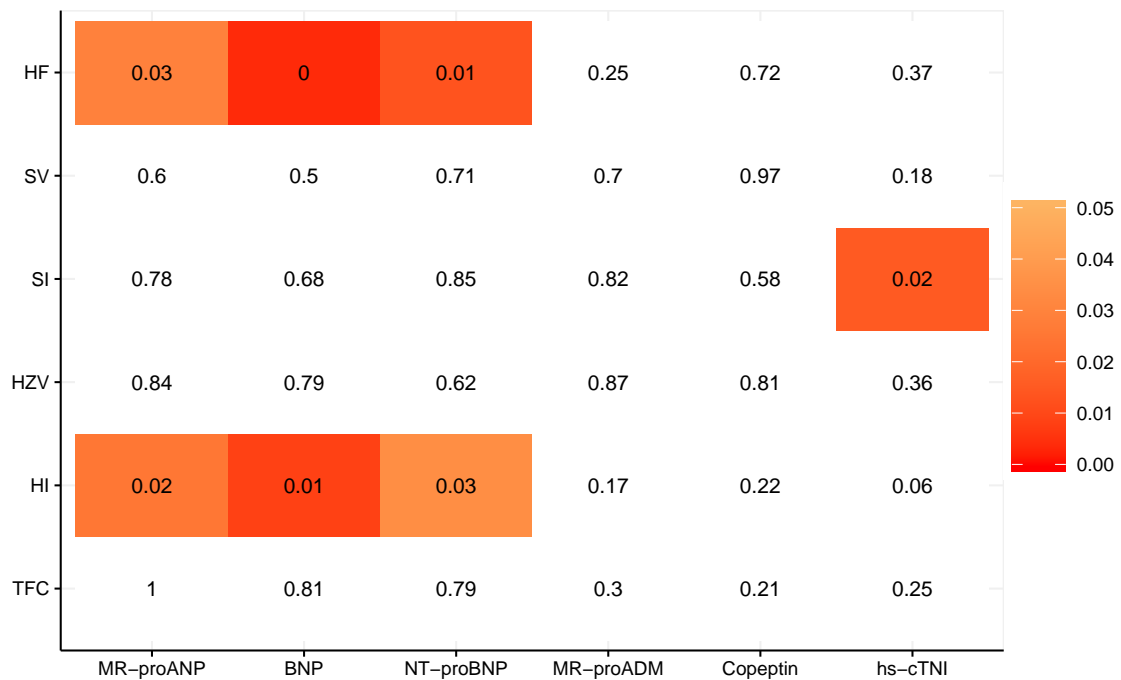


Abbildung 34: Heatmap der p-Werte von kardialen Biomarkern mit impedanzkardiographischen Parametern. Die Berechnung der p-Werte erfolgte unter Verwendung des Spearman-Ranglistenkoeffizienten. Mit Hilfe einer roten Farbskalierung wurden verschiedener Signifikanzniveaus abgebildet (N = 56)

In der Untersuchung der gemessenen Biomarker mit den ermittelten impedanzkardiologischen Indizes zeigten alle natriuretischen Peptide eine positive Spearman-Korrelation mit der Herzfrequenz (MR-proANP $p = 0,03$; $r_s = 0,29$; BNP $p = 0,04$; $r_s = 0,4$; NT-proBNP $p = 0,01$; $r_s = 0,33$) und dem Herzindex (MR-proANP $p = 0,03$; $r_s = 0,3$; BNP $p = 0,008$; $r_s = 0,41$; NT-proBNP $p = 0,03$; $r_s = 0,29$). Abbildung 35 verdeutlicht diese Untersuchung grafisch für MR-proANP und NT-proBNP. Als weiterer hämodynamischer Parameter korrelierte der Schlagindex mit den Messergebnissen der high sensitive Troponin-I-Bestimmung ($p = 0,02$; $r_s = 0,33$). In der grafischen Darstellung (Abbildung 36) bestätigt sich ein linearer Zusammenhang

nicht. Bei der Variablen des thorakalen Flüssigkeitsstatus fand sich keine Korrelation mit den Biomarkerlevel.

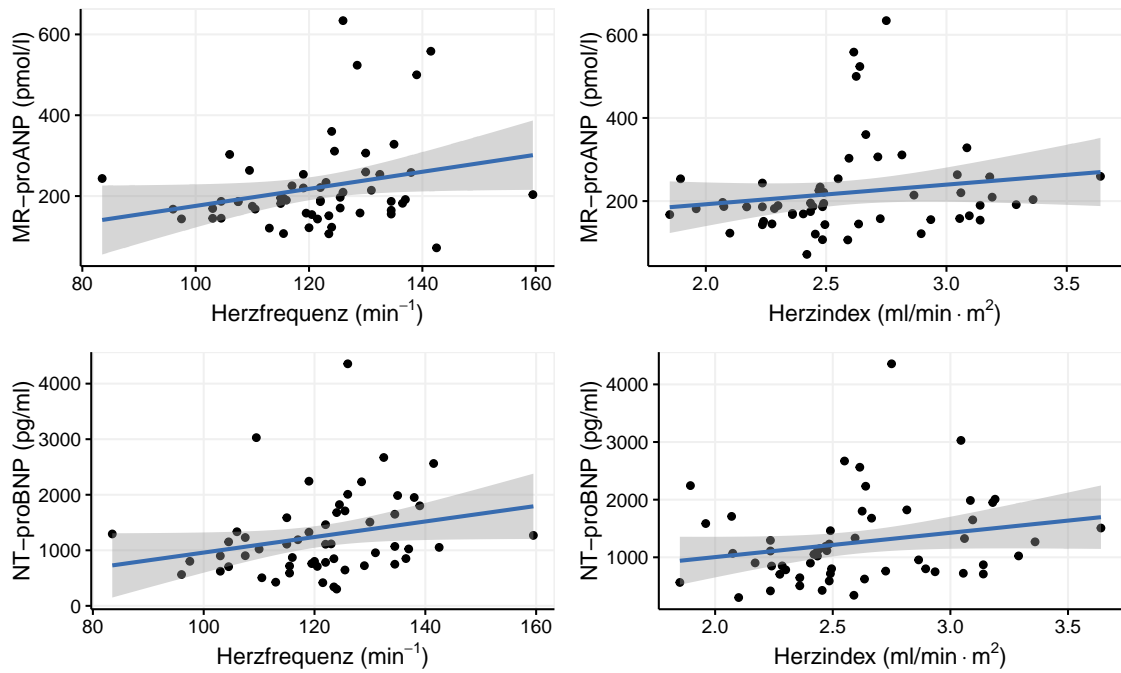


Abbildung 35: Korrelation der natriuretischen Peptide MR-proANP (N = 56) und NT-proBNP (N = 55) mit der Herzfrequenz (MR-proANP $p = 0,03$; $r_s = 0,29$; NT-proBNP $p = 0,01$; $r_s = 0,33$) und dem Herzindex (MR-proANP $p = 0,03$; $r_s = 0,3$; NT-proBNP $p = 0,03$; $r_s = 0,29$). Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsgerade (blau) mit 95%-Konfidenzintervall (grauer Bereich) hinzugefügt

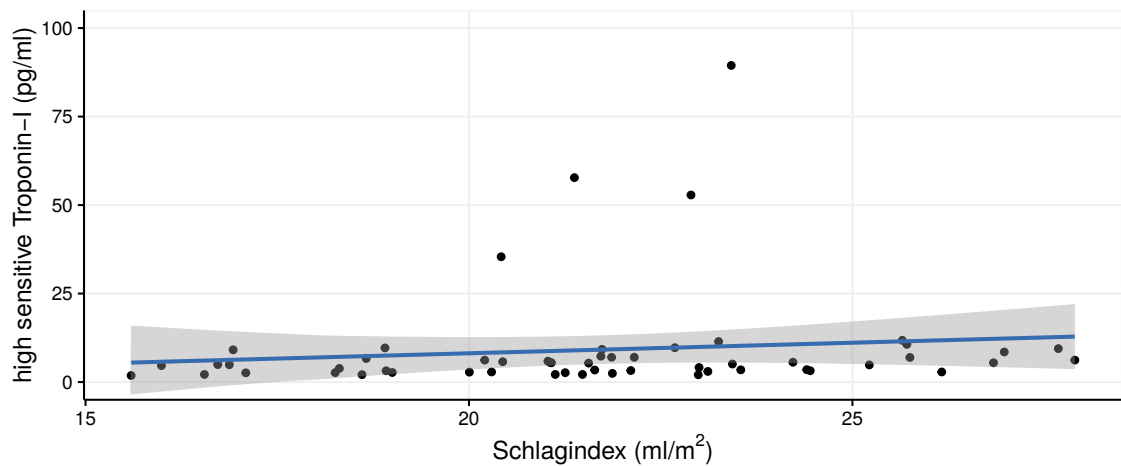


Abbildung 36: Korrelation des high sensitive Troponin-I mit dem Schlagindex ($p = 0,02$; $r_s = 0,33$; N = 55). Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsgerade (blau) mit 95%-Konfidenzintervall (grauer Bereich) hinzugefügt

KAPITEL 4

Diskussion

4.1 Beurteilung der Ergebnisse und Einordnung in die Fachliteratur

4.1.1 Biomarkermessungen

Mit der Durchführung der „Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie“ sollen die Biomarker MR-proANP, BNP, NT-proBNP, MR-proADM, Copeptin und high sensitive Troponin-I aus venösem Nabelschnurblut von gesunden Neugeborenen zum Zeitpunkt der Geburt untersucht werden. Mit der Analyse der ersten Studienteilnehmer konnten Normwerte und Referenzbereiche (Kapitel 3.3.9) für diese Biomarker ermittelt werden, die im folgenden Abschnitt mit den Ergebnissen von vergleichbaren Studien diskutiert werden.

Die Messergebnisse der natriuretischen Peptide BNP und NT-proBNP unterscheiden sich stark in Abhängigkeit von der verwendeten Nachweismethode (Kulkarni et al. 2015). Vorliegende Normwertstudien beziehen sich zum großen Teil auf die Erstellung von Referenzbereichen in gegebenen Entwicklungsperioden (Neugeborenes, Säugling, Kleinkind, Schulkind). Die Beschreibung von alterskorrigierten Normwerten in der Neonatalphase wurde in der Literatur bisher selten aufgegriffen. Vergleichbare Studien verwenden oft die Kohorte der reifgeborenen Neonaten als Kontrollgruppe. Die publizierten medianen NT-proBNP-Werte von 553,4 pg/ml (Hammerer-Lercher et al. 2005), 818 pg/ml (Schwachtgen et al. 2016) und 626 pg/ml (Lechner et al. 2009) sowie die MR-proANP-Werte von 163 pmol/l (Miguel et al. 2011) und 200 pmol/l (Koch et al. 2011) aus der Vergleichsliteratur, liegen innerhalb unserer ermittelten alterskorrigierten Referenzbereiche für die reifgeborenen Neonaten. In allen Studien wurde die negative Korrelation mit dem Gestationsalter nachgewiesen, weshalb sich die NT-proBNP-Werte innerhalb der Reifgeborenen (≥ 37 . SSW und ≤ 42 . SSW) stark unterscheiden. Aus diesem Grund ist die Verwendung eines alterskorrigierten Normwerts, der Zusammenfassung des fünfwöchigen Zeitraums der Reifgeborenen

vorzuziehen. Die Erstellung von alterskorrigierten Normwerten ist auch auf den Bereich der Frühgeborenen auszuweiten. Die Studiengruppe der Frühgeburten umfasste in unserer Studie die Höchstwerte der Messungen der natriuretischen Peptide MR-proANP, BNP und NT-proBNP. Die Studienergebnisse von Koch et al. bestätigen diese Zusammenhänge und geben drei alterskorrigierte Referenzbereiche an (Koch et al. 2011). Besonders relevant wird die geeignete Erstellung von Referenzbereichen für die natriuretischen Peptide zur Vorhersage der mit der Frühgeburtlichkeit assoziierten Erkrankungen, wie dem persistierenden Ductus arteriosus botalli (Letzner et al. 2012; Grass et al. 2014). Im Vergleich der neonatalen Ergebnisse mit den Referenzwerten im Erwachsenenbereich, weisen alle natriuretischen Peptide vielfach höhere Werte auf. Besonders markant ist dieser Unterschied bei dem Vergleich der Prohormone MR-proANP und NT-proBNP. Die MR-proANP- und NT-proBNP-Messergebnisse von Frühgeborenen liegen im Erwachsenenbereich (Normwerte: MR-proANP 18,4 - 163,9 pmol/l, Masson et al. 2010; NT-proBNP Frauen: 111 - 216 pg/ml, Männer: 42,5 - 106,4 pg/ml, Fradley et al. 2011) auf dem Niveau einer schweren Herzinsuffizienz, wobei auch reifgeborene Neonaten noch erhöhte Werte aufweisen.

Neben den natriuretischen Peptiden wurden auch für den Biomarker Midregional Pro-Adrenomedullin alterskorrigierte Normwerte erstellt. Dieses System wurde auch in vergleichbaren Studien von Admaty et al. (2012), Koch et al. (2011) und Miguel et al. (2011) aufgegriffen. Die von uns ermittelten Referenzbereiche zeigten übereinstimmende Normwerte, wie die in den vergleichbaren Studien publizierten Ergebnisse. Die MR-proADM-Level liegen in allen Altersgruppen der untersuchten Neonatalphase konstant bei dem doppelten bis dreifachen adulten Referenzbereich (0,17 - 0,49 nmol/l, Masson et al. 2010).

Aufgrund der bedeutsamen Korrelation mit dem Geburtsmodus, wurden die Referenzbereiche für den Biomarker Copeptin für die unterschiedlichen Geburtsmodi angegeben. Diese Unterscheidung wurde in einer Reihe von früheren Studien publiziert (Wellmann et al. 2010; Benzing et al. 2011; Koch et al. 2011; Burckhardt et al. 2014). In der Gruppe der elektiven Kaiserschnitte sind unsere Ergebnisse vergleichbar mit den vorherigen Studien (Wellmann et al. 2010; Benzing et al. 2011). Unterschiede gibt es bei den Referenzbereichen der sekundären Sectiones und vaginalen Entbindungen. Aufgrund des Bildungsmechanismus des Vasopressins und Copeptins und der bekannten Rolle als Stresshormon, ist von einem höheren Referenzbereich bei den Neonaten, die einem Geburtsstress unterlagen, auszugehen (sekundäre Sectiones, Spontangeburt). Dies spiegelt sich nicht in unseren Ergebnissen wider, ist jedoch in der Studie von Burckhardt et al. mit einer größeren Anzahl von sekundären Kaiserschnitten beschrieben (Burckhardt et al. 2014). Durch den studienlimitierenden Faktor des maximalen Detektionsbereichs von 500 pmol/l, liegen unsere Ergebnisse auch in der Gruppe der Spontangeburt erheblich unterhalb der publizierten Referenzbereiche vergleichbarer Studien (Wellmann et al. 2010; Benzing et al. 2011; Burckhardt et al. 2014), was einen Vergleich zusätzlich

erschwert. Die Copeptin-Werte der vaginalen Entbindungen liegen vielfach oberhalb der Normwerte für Erwachsene (1,7 - 11,25 pmol/l, Masson et al. 2010). Die ermittelten Maximalwerte von Copeptin führen zur Hypothese, dass die Geburt die herausforderndste Situation in unserem Leben darstellt (Wellmann et al. 2010). Lebensbedrohliche Erkrankungen, wie ein Myokardinfarkt (Wildi et al. 2015), ein Schlaganfall oder eine Sepsis (Morgenthaler et al. 2007), bleiben mit ihren Maximalwerten deutlich unterhalb des Niveaus einer natürlichen Geburt.

Die Beurteilung der gemessenen hs-cTNI-Werte sollte in Abhängigkeit von der verwendeten Testmethode geschehen, weil sich die angegebenen Referenzbereiche stark unterscheiden können (EL-Khuffash und Molloy 2007). Ursache hierfür ist die Verwendung von unterschiedlichen Antikörpern und Kalibrierungsmaterial. In der Literatur gibt es zu dem hier verwendeten Testverfahren (Immunoassay ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I der Firma ABBOT) keine vergleichbaren Messergebnisse aus Nabelschnurblut zum Verlauf der hs-cTNI-Level bei gesunden Neonaten. Unter Verwendung des gleichen Testverfahrens, beschrieb Caselli et al. in einer aktuellen Normwertstudie in der zusammengefassten Kohorte der Neugeborene (erster Lebensmonat), einen vierfach höheren Median-Wert im Vergleich zu unseren Studienergebnissen (Caselli et al. 2016). Dieses Ergebnis ist vereinbar mit dem in der Literatur beschriebenen postpartalen Troponin-Anstieg (EL-Khuffash und Molloy 2007). Als Vergleichswert zu unserer Studie ist er aufgrund des unterschiedlichen Abnahmezeitraums nicht geeignet. Durch die Analyse der Einflussfaktoren, konnte für die Gesamtheit der Studienkohorte ein Normwert und Referenzbereich erstellt werden. Überträgt man die Perzentilendarstellung der adulten Kardiologie auf die Neonatologie und legt man die gleichen Kriterien für einen myokardialen Schaden zu Grunde (hs-cTNI > 99. Perzentile), so ergeben sich in der Neonatologie dreizehnfach (Frauen) und fünffach (Männer) höhere Cut-off-Werte. Als myokardiales Markerprotein für Zellschädigungen ist es möglich, dass die erhöhten hs-cTNI-Werte im Nabelschnurblut ein Hinweis auf vermehrte kardiale Umbauprozesse während der Neonatalphase sind (Quivers et al. 1999). Diese Entwicklung setzt sich in den frühen Lebensjahren fort, bis sich die kardialen Tropine im adoleszenten Alter stabilisieren (Caselli et al. 2016). Zu beachten ist das große Intervall der Maximalwerte der Nabelschnurblut-Bestimmungen. Während 92% der Studienteilnehmer einen Wert innerhalb der Erwachsenen-Normbereiche aufwiesen, zeigten fünf Messergebnisse auch bei klinisch gesunden Neonaten vielfach erhöhte Werte an. Diese hohe Anzahl von Ausreißern wurde auch in weiteren Studien mit gesunden Neonaten anhand unterschiedlicher Messverfahren beschrieben (Araújo et al. 2004; Baum et al. 2004; Bader et al. 2006). Die Methodik der Referenzwerterstellung der adulten Kardiologie ist somit vorerst nicht auf die Messreihen mit Nabelschnurblut anwendbar.

4.1.2 Einflussfaktoren

Biometrie

In der Untersuchung der biometrischen Einflussfaktoren, konnte für alle natriuretischen Peptide eine negative Korrelation mit dem Gestationsalter gezeigt werden (Abbildungen 17 und 20). Dieser Zusammenhang wurde für die untersuchten Biomarker auch in weiteren Studien beschrieben (Miguel et al. 2011; Koch et al. 2011; Letzner et al. 2012). Durch die Korrelation mit dem Schwangerschaftsalter, ist zusätzlich eine Korrelation mit den biometrischen Variablen Geburtsgewicht, -größe und Kopfumfang denkbar. In unserer Studie bestätigte sich diese Hypothese für die Berechnungsmethode nach dem Spearman-Ranglistenkoeffizienten nicht. In der Literatur finden sich negative Korrelationen mit dem Geburtsgewicht und den Biomarkern MR-proANP und NT-proBNP (Letzner et al. 2012) sowie BNP (Moriichi et al. 2012). Die Ergebnisse deuten insgesamt darauf hin, dass die Biomarkerlevel vorrangig durch das Entwicklungsalter und nicht durch die Geburtsgröße und somit die Herzmasse beeinflusst werden. Diese Beobachtungen lassen sich über drei Mechanismen erklären. Erstens kann vermutet werden, dass die Rezeptorexpression im unreifen Fetus noch nicht auf dem Level eines reifgeborenen Kindes ist und somit reflektorisch höhere Biomarkerkonzentrationen bei Kindern mit niedrigem Gestationsalter benötigt werden (Koch et al. 2011). Zweitens könnten die Biomarkerspiegel einen Marker für die fetale Diurese darstellen (Blohm et al. 2016a). Der Flüssigkeitsumsatz sinkt mit zunehmender Schwangerschaftsdauer, wobei am Ende der Schwangerschaft das relative Verhältnis vom Fetus zur Amnionflüssigkeit am geringsten ist. Drittens ist das Risiko für das Auftreten von neonatalen Komplikationen (persistierendes Foramen ovale, persistierender Ductus arteriosus botalli) bei Frühgeborenen deutlich erhöht, was über geänderte hämodynamische Druckverhältnisse zu einem Biomarkeranstieg führen kann (Kulkarni et al. 2015). Die hohen neonatalen Biomarkerlevel der natriuretischen Peptide sind vermutlich auf deren hohe pulmonologische vasodilatatorische Wirkung zurückzuführen. Im Zuge der postnatalen Kreislaufumstellung mit dem Schluss der physiologischen Shunts - Ductus arteriosus botalli, ductus venosus hepatis und foramen ovale - wird das gesamte Herzzeitvolumen in den Lungenkreislauf gepumpt. Durch die vermehrte Volumen- und Druckbelastung der Ventrikel und Vorhöfe wird die Produktion von ANP und BNP angeregt, was schließlich im Nabelschnurblut messbar ist. Durch diese Stimuli und den Bildungsmechanismus ist auch die erwartete hohe Korrelation der untersuchten Biomarker MR-proANP, BNP und NT-proBNP untereinander zu erklären. Der postpartale Biomarkeranstieg bis zum zweiten und dritten Lebenstag deutet darauf hin, dass die natriuretischen Peptide einen wichtigen Einfluss auf die Umstellung der fetalen zur postpartalen Zirkulation haben (Mir et al. 2003). Unsere Studienergebnisse unterstützen die These, dass in jungen Jahren das Geschlecht keinen Einfluss auf die

Biomarkerlevel der natriuretischen Peptide hat (Mir et al. 2006). Mit der sexuellen Differenzierung in den adoleszenten Jahren, ist durch den Einfluss der Sexualhormone, die Verwendung von geschlechtsspezifischen Referenzbereichen als sinnvoll zu erachten (Koch und Singer 2003).

Für das vasoaktive Hormon Adrenomedullin fand sich in unserer Studienkohorte eine negative Korrelation mit dem Gestationsalter (Abbildung 20). Diese Ergebnisse bestätigen die Publikationen vorheriger Studien mit Früh- und Reifgeborenen (Koch et al. 2011; Admaty et al. 2012). Admaty et al. fanden darüber hinaus eine Korrelation mit der Geburtsgröße, die sich jedoch in weiteren Studien (Koch et al. 2011; Miguel et al. 2011) nicht bestätigte und analog zu den natriuretischen Peptiden mit der Korrelation des Gestationsalters zusammenhängen kann. Als starker Vasodilatator wird auch Adrenomedullin eine Rolle in der postpartalen Kreislaufumstellung und Blutdruckregulation zugeschrieben. Eine erhöhte ADM-Produktion kann dabei einen Einfluss auf die mit der Frühgeburtlichkeit assoziierten niedrigen Blutdruckwerte haben (Admaty et al. 2012). In der Literatur sind weiterhin erhöhte ADM-Level bei neonatalen Komplikationen, wie zum Beispiel der Hyperbilirubinämie (Erdinc et al. 2014) oder intrakraniellen Blutungen (Gazzolo et al. 2001), beschrieben. Da diese Komplikationen gehäuft bei Geburten der frühen Schwangerschaftswochen auftreten, kann auch ein latenter Einfluss auf die Biomarkerlevel diskutiert werden, auch wenn in unserer Studie nur gesunde Neonaten eingeschlossen wurden. Die Plasmalevel der natriuretischen Peptide MR-proANP, BNP und NT-proBNP korrelierten in unserer Studie signifikant mit den MR-proADM-Werten. Einen Erklärungsansatz liefern die ähnlichen biologischen Funktionen (Natriuresis und Vasodilatation) der aktiven Hormone. Vesely et al. konnten zudem einen Anstieg des Adrenomedullins nach vorheriger ANP-Infusion beobachten (Vesely et al. 1996). Dabei ist festzustellen, dass die glatte Muskulatur zugleich der Wirkungsort der natriuretischen Peptide und der Bildungsort des Adrenomedullins ist.

In unserer Studienkohorte korrelierten die Copeptin-Ergebnisse positiv mit dem Gestationsalter. Zu berücksichtigen ist dabei, dass alle eingeschlossenen vaginalen Entbindungen ein um durchschnittlich 16 Tage höheres Schwangerschaftsalter hatten, wodurch sich die Korrelation erklären lässt. Dieser Zusammenhang ließ sich unter Berücksichtigung der Geburtsmodi nur noch schwach signifikant in der Gruppe der vaginalen Entbindungen nachweisen. In einer Studie mit Frühgeborenen kamen Benzing et al. (2011) zu einem ähnlichen Ergebnis. Eine Assoziation mit dem Geburtsgewicht wurde hier für Neonaten unter der fünften Perzentile nachgewiesen. Ein möglicher Erklärungsansatz könnte dafür eine insuffiziente Sauerstoffversorgung sein, die über den chronischen Stress zu dauerhaft erhöhten Copeptin-Level bei untergewichtigen Neonaten führt (Burkhardt et al. 2012). In einer weiteren vergleichbaren Studie von Burkhardt et al. (2014) wurden keine Assoziationen mit den biometrischen Variablen Geburtsgröße, -gewicht und Kopfumfang beschrieben. Es kann vermutet werden, dass die Freisetzung durch eine Stresssituation unabhängig von biometrischen Variablen

ist. Einen Konzentrationsunterschied zwischen den Geschlechtern fand sich in unserer Studie nicht, was sich mit den Ergebnissen von Koch et al. (2011) deckt. Männliche Erwachsene haben einen um das 1,2 - 1,8-Fache höheren Copeptin-Wert als Frauen, was sich mit einer niedrigeren Sensibilität für den AVP-Rezeptor erklären lässt (Morgenthaler et al. 2006). Im pädiatrischen Bereich beschrieben Burckhardt et al. (2014) diesen Geschlechterunterschied erstmals auch bei Neugeborenen. Es ist anzunehmen, dass Vasopressin einen Einfluss auf die postnatale Flüssigkeitsbalance hat. Um eine Aussage treffen zu können, müssen jedoch die Geschlechterunterschiede oder differenzierte AVP-Rezeptor-Sensibilitäten im neonatologischen Bereich weiter erforscht werden.

Die Messergebnisse der hs-cTNI-Untersuchungen wiesen in unserer Studie keine Korrelationen mit biometrischen Variablen auf. Vergleichbare Studien von Araújo et al. (2004), Baum et al. (2004) und McAuliffe et al. (2004) fanden ebenfalls keine Zusammenhänge der hs-cTNI-Messungen mit dem Gestationsalter oder dem Geburtsgewicht. Bader et al. (2006) beschrieb einen Trend für das Auftreten höherer Troponin-I-Werte bei Frühgeborenen, der auch in einer früheren Studie von Quivers et al. (1999) unter der Verwendung von unterschiedlichen Analyse-Kits erwähnt wurde. Quivers et al. erklären die möglichen Zusammenhänge der hs-cTNI-Messung und dem Gestationsalter mit einer niedrigeren Antikörperspezifität in dieser Kohorte. Denkbar sind auch vermehrte myokardiale Umbauprozesse, die über einen erhöhten Zellumsatz und daraus resultierende gesteigerte hs-cTNI-Level für die Assoziation mit dem Gestationsalter verantwortlich sind (Quivers et al. 1999). Der Geschlechterunterschied der hs-cTNI-Werte im Erwachsenenalter (Abbot Laboratories 2010) wurde in unserer Studie nicht für den neonatologischen Bereich bestätigt. Unsere Ergebnisse stimmen mit den Resultaten vergleichbarer Literatur überein (Araújo et al. 2004; Baum et al. 2004; Bader et al. 2006), sodass eine geschlechtsspezifische Differenzierung der Normwerte erst mit steigendem Lebensalter nötig wird (Caselli et al. 2016).

Geburtsmodus und Blutgasanalysen

Unsere Studienergebnisse legen nahe, dass nur die Copeptin-Spiegel einem Einfluss durch den Geburtsmodus unterliegen. Als Surrogatparameter für das Stresshormon Vasopressin, bietet die Copeptin-Bestimmung eine Möglichkeit der Evaluierung des Stresslevels im menschlichen Organismus. Somit sind die in unserer Studie gemessenen stark erhöhten Copeptin-Level bei vaginalen Entbindungen gegenüber primären Kaiserschnitten durch den erhöhten Geburtsstress bei Spontanentbindungen zu erklären. Als starker Triggerfaktor für die Copeptin-Freisetzung kann die durch den vaginalen Geburtsmechanismus bedingte Minderversorgung mit Sauerstoff für die Korrelationen mit den Werten aus der Blutgasanalyse verantwortlich gemacht werden. Diese Zusammenhänge wurden in weiteren Studien berichtet (Wellmann et al. 2010; Foda und Abdel Aal 2012; Burckhardt et al. 2014). Durch die Wehentätigkeit wird bei der vaginalen

Geburt über die Konstriktion der Spiralarterien eine zunehmende intensivierete fetale Sauerstoffmangelversorgung ausgelöst, die in einer reflektorischen fetalen Stressantwort mittels Vasopressin/Copeptin-Produktion mündet. Vasopressin nimmt damit eine wichtige Rolle als Aktivator der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse ein, was letztendlich über die ACTH-Erhöhung zur Sekretion von Cortisol führt (Evers und Wellmann 2016). Die eingeschlossenen vier Neonaten, die durch einen sekundären Kaiserschnitt geboren wurden, zeigten ähnliche Copeptin-Level, wie die Neonaten der primären Sectiones. Obwohl die Neugeborenen dieser Gruppe einem Geburtsstress ausgeliefert waren, unterschieden sich die Messwerte damit deutlich von den Kindern nach vaginaler Entbindung. Aufgrund der geringen Kohortengröße ist eine Aussage hier erschwert und eine Reevaluierung mit den vollständigen Studiendaten angeraten. Die niedrigen Copeptin-Ergebnisse würden dafür sprechen, dass die Neonaten keiner hypoxiebedingten Stresssituation ausgesetzt waren. In einer vergleichbaren Studie lagen die Copeptin-Messwerte der sekundären Kaiserschnitte zwischen den Messwerten der elektiven Sectio caesarea und der vaginalen Entbindung (Smith et al. 2013).

Die stärksten Stimuli zur Adrenomedullin-Bildung sind oxidativer Stress und inflammatorische Mediatoren (Sugo et al. 1995). Aufgrund dieses Bildungsmechanismus ist eine Beeinflussung der ADM-Level durch den Geburtsmodus möglich. Vaginale Entbindungen und sekundäre Kaiserschnitte weisen ein erheblich höheres Stresspotential für den Neonaten auf. Durch den Blasensprung und dem längeren Kontakt mit Mikroorganismen besteht darüber hinaus das Potential einer Adrenomedullin-Bildung durch die immunologischen Triggerfaktoren. Boldt et al. (1998) und Admaty et al. (2012) bestätigten diese Hypothese durch signifikant höhere Adrenomedullin-Level bei vaginalen Geburten und sekundären Kaiserschnitten im Vergleich mit primären Sectiones. Es konnte dabei zusätzlich gezeigt werden, dass eine perinatale Infektion mit erhöhten Adrenomedullin-Werten assoziiert ist (Admaty et al. 2012). In unserer Studienkohorte wurde der Zusammenhang für gesunde Neonaten nicht bestätigt. Es bleibt abzuwarten, ob nur die klinische relevante Neugeboreneninfektion für die Biomarkererhöhung verantwortlich ist oder ob auch der längere Kontakt mit den Mikroorganismen schon einen Einfluss hat. Die ADM-Stimulation durch den Geburtsstress hatte in unserer Studie mit Neonaten ohne peripartale Infektion, keinen signifikanten Einfluss auf die Biomarkerspiegel.

Mutter-Kind-Paare

Mit Hilfe der simultanen Messung der Biomarkerlevel im mütterlichen, arteriellen und venösen Nabelschnurblut, soll das System der plazentären Austauschprozesse untersucht werden. Durch fünf verschiedene Mechanismen (Diffusion, erleichterte Diffusion, aktiver Transport, Diapedese und Pinozytose) ist es für Moleküle möglich, die Plazentaschranke zu überwinden. Durch ihre relativ große Molekulargröße ist es für die meisten Biomarker

nur mit der Hilfe eines geeigneten Transportproteins möglich, die Plazentaschranke zu überqueren. Sollte dieses Protein existieren ergeben sich drei verschiedene Szenarien für die Messergebnisse der Arteria und Vena umbilicalis sowie der maternalen Blutprobe (Tabelle 14). Im ersten Szenario besteht die Hauptproduktionsquelle im mütterlichen Blut, dadurch findet man in der maternalen und umbilicalvenösen Blutprobe die höchsten Biomarkerlevel. Eine Produktion in der Plazenta (Szenario 2) würde ein ähnliches Ergebnis erwarten lassen. Je nach gleichzeitiger Beeinflussung der maternalen Werte ist es möglich, im Mutterblut auch eine Biomarkererhöhung zu messen. Durch das höhere Abbaupotential und das größere Blutvolumen im maternalen Kreislauf, sollten diese Auswirkungen eventuell weniger stark messbar sein. Die schwierige Schlussfolgerung auf die maternalen Biomarkerlevel gilt auch für die Biomarkererhöhung aus kindlichen Quellen. Allerdings wäre in diesem dritten Szenario der höchste Wert in der A. umbilicalis zu messen.

Tabelle 14: Szenarien der Biomarkerproduktion und plazentärer Austausch

	Produktionsort	A.umbilicalis	V.umbilicalis	Mutter
1.	Mutter	↓	↑	↑
2.	Plazenta	↓	↑	?
3.	Kind	↑	↓	?

Je nach Sättigungspotential der Transportproteine sollten in den drei Szenarien die arteriellen und venösen Werte nicht miteinander korrelieren und sich signifikant voneinander unterscheiden. Sollte nur ein geringer Austausch zwischen maternalen und fetalen Biomarkern in der Plazenta durch eine schnelle Aufsättigung möglich sein, so sind Korrelationen jedoch möglich. Für den Fall, dass es keinen maternal-fetalen Biomarker-Austausch gibt, sollte sich ein Zusammenhang zwischen arteriellen und venösen Nabelschnurblutmessungen finden lassen und die Messwerte sollten sich nicht in ihrer Konzentration unterscheiden.

Alle natriuretischen Peptide und high sensitive Troponin-I zeigten in unserer Studie die gleichen Ergebnisse im Mutter-Kind- und arterio-venösen Vergleich. Es wurden keine Zusammenhänge der maternalen und fetalen Werte entdeckt. Trotz der geringen Anzahl der Proben im arterio-venösen Vergleich, wurden dort hochsignifikante Korrelationen ermittelt. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass für diese Biomarker kein plazentärer Austausch stattfindet. Unsere Ergebnisse bestätigen somit die Schlussfolgerungen früherer Studien zum maternal-fetalen Austausch von NT-proBNP (Hammerer-Lercher et al. 2005; Bar-Oz et al. 2005).

Die gepaarten Messungen des MR-proADM wiesen in der Kohorte der Mutter-Kind-Vergleiche als einziger Biomarker eine positive Korrelation ($p = 0,006$; $r_s = 0,44$) auf. Maternale Werte waren dabei in allen Gruppen der unterschiedlichen

Gestationsalter (siehe Abbildung 26) größer als die fetalvenösen Vergleichswerte. Als stark endothelisiertes Organ bietet die Plazenta ein großes Potential der Adrenomedullin-Produktion. Diese These wird durch den mehrfachen Nachweis einer erhöhten ADM-Produktion in der Plazenta gestützt (Yotsumoto et al. 1998; Kraus et al. 2014). In der Gegenüberstellung der MR-proADM-Messergebnisse von mütterlichem Blut mit arteriellem und venösem Nabelschnurblut (siehe Abbildung 31), wurde eine positive Korrelation zwischen den Ergebnissen der Arteria und Vena umbilicalis gefunden ($p < 0,001$; $r_s = 0,94$). Dabei lagen die arteriellen Messwerte unterhalb der venösen Resultate, was eine ADM-Produktion durch das Kind unwahrscheinlich macht. Im Hinblick auf die ersten beiden Szenarien kann mit unseren Ergebnissen keine Unterscheidung getroffen werden, weil in beiden Varianten die venösen Ergebnisse höher, als die arteriellen Messwerte sein müssten. Diese Ergebnisse stimmen mit den Resultaten von Admaty et al. (2012) überein. In dieser Vergleichsstudie mit 328 Neonaten wurde ein linearer Zusammenhang der arteriellen und venösen MR-proADM-Werte beschrieben. Venöse Nabelschnurwerte lagen dabei im Mittel leicht höher als vergleichbare arterielle Werte.

Die Ergebnisse der Copeptin-Bestimmung zeigten als einziger untersuchter Biomarker, einen signifikanten Unterschied zwischen den Messungen aus der Arteria und Vena umbilicalis. Dabei lagen die arteriell gemessenen Ergebnisse vielfach oberhalb der venösen Level. Ein Zusammenhang zwischen maternalen und fetalen Biomarkermessungen fand sich nicht. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Copeptin-Werte auf eine Produktion des Kindes zurückzuführen sind (Szenario 3). Durch die niedrigen umbilical-venösen Werte kann ein Abbau- oder Clearancemechanismus durch die Plazenta vermutet werden. Zu diesem Schluss kamen Wellmann et al. (2010) in einer vergleichbaren Studie, deren Ergebnisse des arterio-venösen Vergleichs mit unseren Ergebnissen übereinstimmt. Die Möglichkeit der Stressantwort mit erhöhter Vasopressin/Copeptin-Produktion ist dabei kein Mechanismus der reifgeborenen Neonaten. Auch bei Kindern der 24. Schwangerschaftswoche konnte man Copeptin im Nabelschnurblut nachweisen (Benzing et al. 2011).

Eine wichtige zusätzliche Mutter-Kind-Interaktion ist die Medikamentengabe. Wellmann et al. (2016) konnten dabei zeigen, dass die im Rahmen der Geburtsbetreuung regelmäßig angewendete Oxitocin-Gabe zu einer Erhöhung des Copeptin-Spiegels führt. Dabei reichen selbst minimale Kontraktionen der Gebärmutter aus, die von der Mutter oft nicht wahrgenommen werden (Wellmann et al. 2016). Auch wenn der arteriell-venöse Vergleich teilweise signifikante Korrelationen ergab, so müssen alle Ergebnisse - durch die geringe Anzahl in dieser Studienkohorte - unter Vorbehalt betrachtet und in größeren Studien bestätigt werden.

Mehrlingsgeburten

Eine Mehrlingsschwangerschaft bietet besondere Gegebenheiten, die sich auch auf die von uns erhobenen Biomarkerlevel aus Nabelschnurblut auswirken können. Besonders relevant sind hierbei die plazentären Austauschprozesse bei monochorealen Mehrlingen, die stärkere mütterliche Belastung durch die gleichzeitige Ernährung und Versorgung mehrerer Kinder und die geänderten Platzverhältnisse im Mutterleib. Ein Beispiel für eine mögliche pathologische Form ist das fetofetale Transfusionssyndrom. In einer Studie mit Zwillingen, bei denen ein fetofetales Transfusionssyndrom diagnostiziert wurde, wies der Akzeptor-Zwilling höhere BNP-Werte als der Donator-Zwilling auf (Bajoria et al. 2002). Die Biomarkermessung kann somit als Vorhersage für kardiale Fehlfunktionen des Akzeptor-Zwillings dienen.

In der Gegenüberstellung von Einlings- und Mehrlingsgeburten zeigte sich für die Copeptin-Level ein signifikanter Unterschied, wobei die Einlinge einen 24-fach höheren Mittelwert des Copeptins aufwiesen, als die Biomarkermessungen bei Mehrlingen. Zu beachten ist bei dieser Auswertung, dass sich die beiden Gruppen in den biometrischen Variablen deutlich unterscheiden. Alle Mehrlinge wurden darüber hinaus per elektivem Kaiserschnitt auf die Welt gebracht. Somit lassen sich die Ergebnisse für die Copeptin-Messung erklären. Zur besseren Evaluierung der Mehrlingsgeburten benötigt man eine größere Anzahl an Proben und vergleichbare biometrische Variablen, um den Einfluss dieser zu minimieren.

Alle anderen Biomarker wiesen bei den Mehrlingen höhere, aber nicht signifikant erhöhte Biomarkerlevel auf. Eine Erklärung ist hierbei erneut, die nachgewiesene Korrelation mit dem Gestationsalter bei den natriuretischen Peptiden und MR-proADM. Adrenomedullin bietet durch seine Eigenschaften als wichtiger angiogener Wachstumsfaktor und sein Mitwirken bei der Plazentaimplantation das Potential der Beeinflussung durch eine Mehrlingsschwangerschaft (Kraus et al. 2014). In der Auswertung mit elf Mehrlingen wurde in unserer Studie bei den fetalen Biomarkerlevel dafür kein Anhalt gefunden. Maternale MR-proADM-Werte zeigten bei unseren Messungen einen signifikanten Unterschied ($p < 0,001$) zwischen Einlings- und Mehrlingsschwangerschaften, wobei die mütterlichen Biomarkerlevel der Mehrlingsschwangerschaften im Durchschnitt den zweifachen Wert der Einlinge erreichten. Dieses Ergebnis kann ein Hinweis auf eine plazentäre Adrenomedullin-Produktion sein, die bei Mehrlingsschwangerschaften zusätzlich erhöht ist. Zu beachten ist jedoch auch hier die negative Korrelation der maternalen MR-proADM-Werte mit dem Gestationsalter. Eine wichtige Unterscheidung ist die Einteilung in mono- oder dichoreale Schwangerschaften, die bei uns nicht erfasst wurden. Zusammenhänge mit der Größe der Plazenta und den ADM-Werten sind in der Literatur nicht beschrieben und bieten die Möglichkeit zu weiteren Forschungen.

4.1.3 Impedanzkardiographische Messungen

Die Evaluierung der impedanzkardiographisch erhobenen Messdaten wies auf einen möglichen Zusammenhang des Schlagvolumens (SV) und der Herzfrequenz (HF) mit den biometrischen Indizes Gestationsalter, Geburtsgröße und -gewicht hin (Kapitel 3.4.1). Da sich das Herzzeitvolumen (HZV) aus diesen beiden Parametern berechnet, fand sich analog dazu eine positive Korrelation. Diese Zusammenhänge sind schlüssig und lassen sich mit dem Verlauf des Gestationsalters erklären. Mit zunehmendem Gestationsalter nehmen auch die biometrischen Variablen Geburtsgewicht, -größe und Kopfumfang zu. Analog zum körperlichen Wachstum vergrößern sich auch das Herz und das Blutvolumen des Fetus, was zu einer Erhöhung des impedanzkardiographisch ermittelten Schlagvolumens führt. Aus dem Größenwachstum resultiert zusätzlich eine Zunahme des Flüssigkeitsvolumens im Körper. Als Messgröße dieses Volumens korreliert der thorakale Flüssigkeitsstatus (TFC) folglich auch mit den biometrischen Größen. Auch die Korrelation mit dem Alter und der Herzfrequenz ist in der Literatur beschrieben, weshalb in der Kinderheilkunde etablierte alterskorrigierte Normwerte für die Herzfrequenz bestehen (Haas und Kleideiter 2011).

In der Literatur gibt es eine Reihe von Studien (Noori et al. 2012; Blohm et al. 2014; Blohm et al. 2016b), die sich auf die Evaluierung der Impedanzkardiographie im Vergleich mit etablierten Messverfahren zur Bestimmung von hämodynamischen Indizes bei Neonaten konzentrieren. Die ermittelten durchschnittlichen Messwerte für das Herzzeitvolumen lagen bei Noori et al. (2012) im Bereich unserer Messergebnisse (0,535 l/min vs. 0,51 l/min), wobei die 20 Neonaten in der Studie von Noori et al. ein um fünf Tage höheres Gestationsalter aufwiesen. Unter der Verwendung desselben Messverfahrens untersuchten Hsu et al. (2016) in einer Pilotstudie 280 Neonaten unterschiedlicher Altersstufen. Das in unserer Studie ermittelte Herzzeitvolumen (0,51 l/min) entspricht den Messergebnissen von Hsu et al. in den entsprechenden alters- (>39. SSW 0,49 l/min) und gewichtsadaptierten Vergleichsgruppen (3000 - 3500g 0,53 l/min). Die in unserer Studienkohorte beschriebenen Korrelationen der impedanzkardiographisch erhobenen Messwerte SV, HZV, HF und TFC mit den biometrischen Variablen Gestationsalter, Geburtsgewicht und -größe stimmen mit den Studienergebnissen von Hsu et al. überein. Die deutlichste Korrelation fanden Hsu et al. mit der von ihnen berechneten Body-Surface-Area (BSA), weshalb sie zum Vergleich die BSA-korrigierten Messwerte Schlagindex (SI) und Herzindex (HI) empfehlen. Trotz dieser Normierung wurde in der Vergleichsstudie von Hsu et al. eine Korrelation zwischen dem HI und dem Gestationsalter und dem Geburtsgewicht beschrieben. Dieser Zusammenhang fand sich in unserer Studie für den HI nicht, die Messergebnisse des SI zeigten jedoch eine schwache Korrelation mit der Geburtsgröße ($p = 0,02$; $r_s = 0,31$) und dem -gewicht ($p = 0,044$; $r_s = 0,27$). Auch in der Kohorte der früh- und extrem frühgeborenen Neonaten bestätigten sich die Zusammenhänge der hämodynamischen

Messwerte SV, HZV und HF mit den biometrischen Daten des Gestationsalters und dem Geburtsgewicht (Grollmuss und Gonzalez 2014).

In unserer Studie fand sich eine positive Korrelation aller untersuchten natriuretischen Peptide mit der Herzfrequenz und dem Herzindex. Es ist möglich, dass dieser Zusammenhang durch eine Scheinkorrelation mit der konfundierenden Variablen (Gestationsalter) fehlinterpretiert werden kann, da sowohl die Herzfrequenz als auch die Messwerte der natriuretischen Peptide mit zunehmendem Gestationsalter abfallen. Im Gegensatz dazu müsste diese Beobachtung auch auf die Messergebnisse der MR-proADM-Bestimmung zutreffen, was in unserer Studie nicht der Fall war. Aufgrund des Bildungsmechanismus ist ein Zusammenhang der Biomarkerlevel mit der Herzfrequenz des Neugeborenen denkbar (Mannix et al. 1991). So wurden bei Forschungen adulter Probanden mit tachykarden Rhythmusstörungen, wie zum Beispiel dem paroxysmalen Vorhofflimmern, erhöhte BNP- und NT-proBNP-Werte gemessen (Seegers et al. 2015). In einer weiteren Studie mit Myokardinfarkt-Patienten konnte zudem eine negative Korrelation der Biomarker BNP, NT-proBNP und high sensitive Troponin-T mit den impedanzkardiographisch ermittelten Indizes SV, HZV, SI und HI nachgewiesen werden (Chen et al. 2014). Durch die eingeschränkte Pumpfunktion kommt es hierbei zu einer vermehrten Volumenbelastung des Herzens, was zur Ausschüttung der natriuretischen Peptide führt. Dieser Zusammenhang lässt sich auch bei herzinsuffizienten Patienten nachweisen (Malfatto et al. 2010). Das thorakale Flüssigkeitsvolumen steigt bei diesen Patienten aufgrund des erhöhten Kapillardrucks und dem daraus resultierenden Lungenödem. Malfatto et al. (2010) konnten aus diesem Grund einen Zusammenhang zwischen den BNP-Level und dem TFC ermitteln.

Für die Berechnung der hs-cTNI-Ergebnisse fand sich in unserer Studie eine positive Spearman-Korrelation mit dem Schlagindex. Betrachtet man die grafische Darstellung (Abbildung 36) der beiden Variablen, so kann ein linearer Zusammenhang ausgeschlossen werden. Isolierte, vielfach höhere hs-cTNI-Werte, spiegeln sich nicht in einem erhöhten Schlagindex wider. Bei der Berechnungsmethode mit dem Spearman-Ranglistenkoeffizienten r_s werden diese Ausreißer nicht mit Ihrem Absolutwert mit dem Mittelwert verglichen (wie zum Beispiel bei der Pearson-Korrelation), weshalb hier fälschlicherweise eine positive Korrelation berechnet wurde. Vergleichbare Studien beschreiben darüber hinaus keinen Zusammenhang zwischen den hs-cTNI-Level und dem Schlagindex.

Eine Übertragung der Ergebnisse der Erwachsenenkardiologie auf den pädiatrischen Bereich, ist aufgrund der anatomischen, physiologischen und biochemischen Unterschiede nicht ohne Weiteres möglich. Die Umstellung der postpartalen Kreislaufzirkulation sowie der Einfluss des Geburtsmodus und Geburtskomplikationen (z.B. Aspirationen), sind weitere Einflussfaktoren, die hier berücksichtigt werden müssen. Die veröffentlichten Studien zur Evaluierung impedanzkardiographisch

erfasster Messwerte mit kardialen Biomarkern, wurden zudem mit herzkranken Patienten (Myokardinfarkt, Herzinsuffizienz) durchgeführt und nicht mit einer gesunden Studienkohorte verglichen. Es besteht somit ein großer Bedarf an pädiatrischen Studien zur Reevaluierung der Ergebnisse. Die Aussagekraft der in unserer Studie ermittelten Korrelation ist zusätzlich durch die postpartalen Biomarkerverläufe und den Abstand zwischen der Laborbestimmung und der impedanzkardiographischen Messung gemindert. So unterliegen die Messwerte der natriuretischen Peptide einem Einfluss durch die postpartale Kreislaufumstellung, was zu einem Anstieg bis zum zweiten und dritten Lebensstag führt (Letzner et al. 2012). Auch die Halbwertszeiten müssen hier berücksichtigt werden, wobei der zeitliche Abstand zwischen Biomarkerbestimmung und Messung der hämodynamischen Parameter möglichst gering gehalten werden sollte. Die in unserer Studie verwendete Methodik vergleicht somit fetale Biomarkerwerte mit neonatalen impedanzkardiographischen Messwerten.

In der neonatalen Intensivmedizin werden aktuell indirekte Parameter, wie die Herzfrequenz, die Urinausscheidung und die Laktat-Level verwendet, um die jungen Patienten zu überwachen (Coté et al. 2015). Das HZV ist ein entscheidender Faktor, um eine ausreichende Gewebepfusion aufrecht zu halten. Der HZV-Bestimmung und der Evaluierung des Verlaufs kommt somit eine wichtige Rolle als Kreislaufparameter zu (Pinsky 2003). Die IKG bietet das Potential einer nicht-invasiven und kontinuierlichen Bestimmung von hämodynamischen Parametern (Lien et al. 2014; Coté et al. 2015). Neben der Vergleichbarkeit mit weiteren Messmethoden ist der Bedarf nach Normwerten auch für die impedanzkardiographischen Messwerte in der Neonatologie groß, um bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern mögliche Pathologien zu erkennen. Die Normwerte sollten dabei alters- und gewichtsadaptiert angegeben werden (Hsu et al. 2016).

4.2 Studienlimitierende Faktoren

Mit der Auswertung der ersten Messergebnisse der „Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie“ kann in dieser Dissertation nicht der Anspruch erhoben werden, gültige Normwerte und Referenzbereiche der untersuchten Biomarker zu erstellen. Die Aussagekraft dieser Ergebnisse ist durch die geringe Anzahl an Studienteilnehmern deutlich limitiert. Die Aussagefähigkeit der Beeinflussung durch den Geburtsmodus ist aufgrund der geringen Anzahl von Kindern mit Geburtsstress (vaginale Entbindung und sekundäre Sectio caesarea) reduziert. Genauso verhält es sich mit den Aussagen zur arterio-venösen Korrelation, obgleich die Gewinnung von arteriellen gegenüber venösen Blutproben erschwert ist. Auch wenn die venösen und arteriellen Messergebnisse, bis auf die Copeptin-Level, mit einander korrelierten, so bietet die arterielle Messung den Vorteil der direkten Beurteilung von fetalem Blut. Durch die Minimierung von mütterlichen oder plazentären Einflussfaktoren, sollten daher vorrangig die studienbezogenen

Untersuchungen mit arteriellem Nabelschnurblut durchgeführt werden. Im Vergleich mit den maternalen Biomarkerlevel sollte der Abstand zwischen den Blutentnahmen aufgrund der Halbwertszeiten der Biomarker, relativ kurz gehalten werden, um dort passende Aussagen zu treffen. Besonders im Bereich der vaginalen Entbindungen wiesen diese Abstände in unserer Studie eine große Variabilität auf. Aufgrund der geringen Fallzahl und der Heterogenität der ausgewählten Studiengruppen (Mutter-Kind-Paare, Geburtsmodus, biometrische Variablen) lässt sich erklären, dass in der Datenauswertung dieser Dissertation abweichende feto-maternale Biomarkerkorrelation, im Vergleich zu der im Anhang veröffentlichten Publikation (Blohm et al. 2016a), beschrieben wurden.

Die Laboranalysen mit Hilfe von Immunoassays sind in großen Maßen abhängig von den erkannten Epitopen der verwendeten Antikörper. Im Bereich der Peptidhormone hat dieses Verfahren den Nachteil einer schlechten Normierung, was die Vergleichbarkeit von Referenzbereich auf das untersuchende Labor und das verwendete Analyse-Kit einschränkt (Kulkarni et al. 2015). Diese Methode kann akzeptable klinikinterne Ergebnisse liefern, jedoch genügt sie damit nicht den akademischen Ansprüchen (Goetze et al. 2015). Der obere Detektionsbereich des verwendeten Analyse-Kits zur Messung der Copeptin-Level lag mit 500 pmol/l deutlich unterhalb des Maximalbereichs, weshalb die Copeptin-Messung daher nicht zur Erstellung von Referenzbereichen geeignet war. Für die zukünftigen Auswertungen empfiehlt sich die Verwendung einer Verdünnungsreihe oder eines anderen Analysekits mit größerem Detektionsbereich. Für das kardiale Troponin-I existiert eine fetale Isoform, die bis zum neunten Lebensmonat nachweisbar ist (Sasse et al. 1993). Dies kann zu einer Beeinflussung unserer Messergebnisse und Aussagen zur Evaluierung des Troponin-I führen. Im Gegensatz dazu, wurde für das herzspezifische Troponin-T keine fetale Isoform entdeckt, weshalb die Bestimmung des Troponin-T im neonatalen Bereich einen Vorteil bieten kann, weil Troponin-T bereits fetal vollständig exprimiert wird.

Aufgrund der geringen Anzahl von Probanden in unserer Studie, Einschränkungen der Zahlenniveaus (siehe Copeptin-Messung) und der fehlenden Normalverteilungen der Biomarkermessungen, wurde in dieser Auswertung auf nichtparametrische Tests zurückgegriffen, die im Vergleich zu parametrischen Tests eine geringere Teststärke und Aussagekraft aufweisen. Bei einer ausreichend großen Studienkohorte sollten parametrische Tests verwendet werden, um die Aussagekraft zu erhöhen. In der kleinen Studienkohorte finden sich große Beeinflussungen durch einzelne Extremwerte, die sich mit unseren Daten nicht erklären ließen. In großen Studien sollten diese Extremwerte weiterhin auf deren Ursachen untersucht und ggf. als Ausreißer deklariert werden.

Einige Studien, die die Vergleichbarkeit von impedanzkardiographisch ermittelten hämodynamischen Messwerten mit etablierten Methoden bei Neonaten untersuchten,

kamen zu widersprüchlichen Ergebnissen (Waal et al. 2008). Besonders in der möglichen Anwendungskohorte der Kinder mit angeborenen Herzfehlern, wurden - aufgrund der pathologischen Herzanatomie - verstärkt abweichende Werte ermittelt (Tomaske et al. 2008; Torigoe et al. 2015; Blohm et al. 2016b).

4.3 Ausblick peripartale Biomarkerdiagnostik

Die peripartalen Biomarkermessungen bieten ein großes Potential zur Diagnostik und Therapiekontrolle von angeborenen Herzfehlern. Mit Hilfe moderner Messverfahren und der Detektierung von stabilen Surrogat-Markern, wird die Analyse kardialer Biomarker stark verbessert. Die Erstellung von Normwerten im pädiatrischen Rahmen stellt auch in Zukunft eine große Herausforderung dar. Pädiatrische Richtlinien müssen eine Vielzahl von Einflussfaktoren berücksichtigen, weil jede Altersgruppe einer spezifische organische, endokrinologische und metabolische Differenzierung bedarf (Jung und Adeli 2009). Ein wichtiges Ziel ist es, zukünftig die Analysestandards zu vereinheitlichen und damit die Auswertung mit unterschiedlichen Messmethoden und Analyse-Kits vergleichbar zu machen (EL-Khuffash und Molloy 2007; Kulkarni et al. 2015). Nur so würde es gelingen, in absehbarer Zeit mit der Hilfe von Multi-Center-Studien eine ausreichend große Kohorte zu untersuchen und klinikübergreifende Normwerte und Referenzbereiche der Biomarker aus Nabelschnurblut zu erstellen. Normwerte sollten für das arterielle Nabelschnurblut erstellt werden, um direkt den kindlichen Metabolismus zu untersuchen. Dadurch wird der plazentäre Einfluss (Mutter-Kind-Austausch, Biomarkerproduktion oder -abbau) minimiert. Für die Biomarker, die sich nicht signifikant im arteriellen und venösen Blut unterscheiden, können zusätzlich venöse Messwerte herangezogen werden.

Eine sehr elegante Methode wäre in Zukunft die Schlussfolgerung von kardialen Pathologien des Neugeborenen über eine Biomarkerbestimmung der Mutter zu erreichen. Durch eine Vielzahl von möglichen Faktoren im Austausch zwischen mütterlichen und kindlichen Biomarkern bleibt es schwierig, geeignete Vorhersagen zu treffen. Viele menschliche Proteine weisen spezifische fetale Isoformen auf (z.B. Hämoglobin). Sollte es diese Isoformen auch für die untersuchten Biomarker geben und wären sie dann im maternalen Blut nachweisbar, dann läge in deren Bestimmung und Erforschung ein großes zukünftiges Potential zur Früherkennung von angeborenen Herzfehlern.

Die Erforschung der kardialen Biomarker in der Neonatologie, kann in Zukunft einen Beitrag zum Verständnis von embryologischen Entwicklungsprozessen liefern. Dabei konnte bereits gezeigt werden, dass die natriuretischen Peptide ANP und BNP sowie Adrenomedullin einen Einfluss auf die embryologische Vaskularisierung und Organentwicklung haben (Montuenga et al. 1997; Tokudome et al. 2015). Frühere Studienergebnisse, die eine Erhöhung der NT-proBNP-Werte bei angeborenen

Herzfehlern andeuten (Lechner et al. 2009), müssen in Multi-Center-Studien bestätigt und im zeitlichen Verlauf evaluiert werden. Durch die postpartale Kreislaufumstellung ist es denkbar, dass sich angeborene Herzfehler erst durch einen erhöhten Biomarker-Peak oder einen verzögerten Abfall bemerkbar machen (Cantinotti et al. 2014). Bei diesem Verlauf und geeigneten Nachweismethoden aus Kapillarblut, wäre eine Abnahme im Rahmen des Neugeborenen Screenings denkbar. Als Surrogat-Parameter für das wichtige Stresshormon Vasopressin kann der Copeptin-Bestimmung in Zukunft eine Evaluierungsrolle von geburtsmedizinischen Techniken und Methoden zukommen. Dabei müssen vorher geeignete Referenzwerte erstellt und mögliche Interaktionen mit Medikamenten (z.B. Oxytocin) abgeklärt werden. Die Beeinflussung der Copeptin-Werte durch einen angeborenen Herzfehler, ist durch das erhöhte Stresslevel denkbar. Es ist fraglich, welches Gewicht dem Einfluss einer Herzpathologie im Vergleich mit der Beeinflussung durch den Geburtsmodus zukommt.

KAPITEL 5

Zusammenfassung

Die kardiale Biomarkerdiagnostik aus Nabelschnurblut bietet eine leicht anwendbare und nichtinvasive Möglichkeit, der Untersuchung von kardiovaskulären Vorgängen im Neugeborenen. Dieser Arbeit liegen die Ergebnisse der Biomarkerbestimmungen von 66 Neonaten der „Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie“ zugrunde, mit deren Hilfe Einflussfaktoren auf sechs kardiale Biomarkerlevel im Nabelschnurblut untersucht werden. Zusätzlich erfolgte bei 56 Neugeborenen eine impedanzkardiographische Messung und Auswertung von hämodynamischen Parametern.

In unserer Studienkohorte fanden wir eine negative Korrelation der Pro-Hormone MR-proANP, NT-proBNP und MR-proADM mit dem Gestationsalter. Als Surrogat-Marker des Stresshormons Vasopressin konnte ein deutlicher Einfluss durch den Geburtsmodus auf die Copeptin-Level demonstriert werden, wobei vaginale Entbindungen die Höchstwerte aller untersuchten Kinder aufwiesen. Die deutlich erhöhten arteriellen Copeptin-Level weisen auf eine stressinduzierte Copeptin-Produktion durch den Fetus hin. Im Mutter-Kind-Vergleich wurde für MR-proADM, als einziger Biomarker, ein Zusammenhang zwischen mütterlichen und kindlichen Biomarkerlevel gefunden, wobei eine mögliche Adrenomedullin-Produktion durch die Plazenta einen Einfluss auf das mütterliche und kindliche Kreislaufsystem haben kann. Die Auswertungen der hs-cTNI-Bestimmungen zeigten keine Zusammenhänge mit den hier untersuchten Einflussfaktoren, wiesen jedoch auch in unserer herzgesunden Untersuchungskohorte vereinzelt hohe Maximalwerte (Ausreißer) auf. Im Vergleich mit den impedanzkardiographisch erhobenen Variablen ließ sich ein Zusammenhang aller natriuretischer Peptide mit der Herzfrequenz und dem Herzindex demonstrieren.

Die Studienergebnisse leisten einen Beitrag zur Erstellung von geeigneten Normwerten der untersuchten Biomarker aus Nabelschnurblut. Ein Hauptaugenmerk sollte zukünftig auf der Vereinheitlichung der Messmethoden liegen, um die Ergebnisse klinikübergreifend vergleichbar zu machen. Zur Detektierung von angeborenen Herzpathologien müssen darüber hinaus die postpartalen Biomarkerverläufe evaluiert und Neugeborene mit angeborenen Herzfehlern im Studienkollektiv eingeschlossen werden.

Abstract

Testing for cardiac biomarkers in the umbilical cord blood offers an applicable and non-invasive method to investigate cardiovascular functions of the newborn. This thesis is based on the results of the study „Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie“, which investigates the impact of determinants on the behaviour of six cardiac biomarkers of 66 healthy neonates. Furthermore, hemodynamic parameters of 56 newborns were measured, using the method of impedance cardiography.

A negative correlation between the pro-hormones MR-proANP, NT-proBNP, MR-proADM and the gestational age was found. As a surrogate marker of the stress hormone vasopressin, a significant impact of the mode of delivery and the level of copeptin, with the maximum values within the group of vaginal delivery, was demonstrated. Thus, a fetal stress-induced production of copeptin due to the high level of copeptin in the arteria umbilicalis compared to the venous blood samples, was concluded. Only MR-proADM indicated a relationship between the maternal and fetal level of cardiac biomarkers. A possible production of MR-proADM in the placenta could have an influence on both the maternal as well as the fetal circulatory system. The evaluation of hs-cTNI didn't correlate with any of the analysed determinants but included some isolated maximum values (outliers) although the study group didn't include neonates with congenital heart diseases. Compared to the hemodynamic parameters of the impedance cardiography, a relationship of all natriuretic peptides to both the heart rate as well the cardiac index was demonstrated.

The present study results contribute to the creation of appropriate reference values of the investigated six cardiac biomarkers in umbilical cord blood. A major priority of possible future research improvements should be the standardisation of the measurement procedures, to increase the comparability between different analysing kits. In terms of the development of new screening methods for congenital heart diseases, further research on the evaluation of the postpartal process of the biomarkers should be conducted. In addition, future studies should include a cohort with neonatal cardiac defects.

KAPITEL 6

Publikation

Die Ergebnisse dieser Promotionsarbeit wurden im Rahmen einer Gemeinschaftspromotion der Institute für Kinderintensivmedizin, Kinderkardiologie und Geburtshilfe des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf in der Ausgabe 03/2016 der Fachzeitschrift „Early Human Development“ veröffentlicht.

Als Postervortrag wurden die Ergebnisse der „Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie“ auf der 40. Jahrestagung der Gesellschaft für Neonatologie und pädiatrische Intensivmedizin 2014 sowie auf der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Kardiologie 2014 präsentiert.



Contents lists available at ScienceDirect

Early Human Development

journal homepage: www.elsevier.com/locate/earlhumdev

Cardiovascular biomarkers in paired maternal and umbilical cord blood samples at term and near term delivery[☆]



Martin E. Blohm^{a,*}, Florian Arndt^{b,1}, Jan Sandig^a, Werner Diehl^c, Tanja Zeller^d, Goetz C. Mueller^b, Claudia Schlesner^b, Thomas S. Mir^b, Stefan Blankenberg^d, Kurt Hecher^c, Dominique Singer^a, Jochen Weil^b

^a University Children's Hospital, Department of Pediatrics, Division of Neonatology and Pediatric Intensive Care, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, Hamburg 20246, Germany

^b University Heart Center, Clinic for Pediatric Cardiology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

^c Department of Obstetrics and Fetal Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

^d University Heart Center, Clinic for General and Interventional Cardiology, German Center for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Sites Hamburg, Lübeck, Kiel, Hamburg, Germany

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 November 2015

Received in revised form 18 December 2015

Accepted 5 January 2016

Available online xxxx

Keywords:

Troponin-I

Copeptin

Proadrenomedullin

Atrial natriuretic factor

Beta-atrial natriuretic peptide

Neonate

Human

ABSTRACT

Background: Cardiovascular biomarkers might help to identify fetuses or pregnancies at risk.

Aim: To examine the umbilical cord neonatal and maternal levels of cardiovascular biomarkers at the time of delivery, and to correlate maternal and fetal biomarker levels to each other, to gestational age and to delivery mode.

Study design: In a prospective, observational, cross-sectional, single-center study biomarkers were measured in paired maternal and umbilical venous cord blood samples.

Subjects: The sample cohort included 66 sets of fetal and maternal blood samples (11 after multiple gestation, 53 after cesarean section, 17 after exposure to labor).

Outcome measures: Midregional pro-adrenomedullin (MRproADM), midregional-pro atrial natriuretic peptide (MRproANP), brain natriuretic peptide (BNP), n-terminal-pro brain natriuretic peptide (NTproBNP), copeptin, and high sensitive troponin I (hsTnI) levels were measured.

Results: Mean \pm SEM for biomarker levels in umbilical venous/maternal blood were: MRproADM [nmol/L] $1.02 \pm 0.04/1.24 \pm 0.08$, MRproANP [pmol/L] $215.53 \pm 12.96/54.65 \pm 3.41$, BNP [pg/mL] $32.02 \pm 3.37/19.76 \pm 3.29$, NTproBNP [pg/mL] $1228.94 \pm 91.73/71.48 \pm 8.65$, copeptin [pmol/L] $103.42 \pm 22.89/10.41 \pm 1.71$, and hsTnI [pg/mL] $13.54 \pm 5.17/4.91 \pm 2.37$. Fetal MRproANP, NTproBNP, and BNP were inversely correlated with gestational age. Maternal and fetal MRproANP ($r = 0.472, p = 0.002$) and copeptin ($r = 0.572, p < 0.001$) levels were correlated, whereas there was no fetomaternal correlation for the other biomarkers. Fetal copeptin was elevated after exposure to labor.

Conclusions: Biomarker levels appear to be regulated independently in mother and fetus. Fetal biomarkers are influenced by gestational age and delivery mode. In this study on term and near term pregnancies without specific fetal pathology, correlation between paired maternal and fetal biomarker levels was weak or not demonstrable.

© 2016 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

In the present study, we examined the levels and relationship between several fetal and maternal cardiovascular biomarkers in paired samples of postnatal umbilical cord blood (fetal) and maternal blood at the time of delivery.

The natriuretic peptides midregional-pro atrial natriuretic peptide (MRproANP), brain natriuretic peptide (BNP), and (biologically inactive) n-terminal-pro brain natriuretic peptide (NTproBNP) are

structurally related. The natriuretic peptides exhibit both diuretic and natriuretic effects in postnatal life. These peptides inhibit the renin-angiotensin system, endothelin secretion, and systemic and renal sympathetic activity [1], and exhibit age- and sex-dependent reference values [2–8]. Increased atrial filling or cardiac strain results in elevated levels of these natriuretic peptides both during intra-uterine fetal life [9,10] and extra-uterine neonatal life [11–13], as well as in adults [14]. The natriuretic peptides are relevant during intra-uterine fetal life, as they are involved in regulation of urine and thus amniotic fluid production. Elevated fetal natriuretic peptides may cause an ANP-induced pulmonary vasodilatation contributing to perinatal adaptation of the newborn [8].

Adrenomedullin is a peptide with vasodilatory, positive inotropic and diuretic effects, and is elevated in heart failure [15]. Maternal

[☆] Parts of the study data were presented at the GNPI 2014 and DGPK2014 congress.

* Corresponding author. Tel.: +49 40 7410 51 185; fax: +49 40 7410 58 028.

E-mail address: m.blohm@uke.de (M.E. Blohm).

¹ These authors contributed equally.

midregional pro-adrenomedullin (MRproADM) levels were reported to be lower in severe gestosis [16]. MRproADM in gestation may be involved in regulating placental perfusion both on maternal and fetal side.

Copeptin is synthesized and secreted together with arginine vasopressin. Vasopressin exhibits vasoconstrictive and antidiuretic effects. So far copeptin has no known biological function, once it has been released into the blood stream [17]. The larger and more stable copeptin may be used as a vasopressin surrogate. Elevated copeptin levels are associated with increased mortality in adults [18], development of gestosis [19,20], pulmonary arterial hypertension [21], and have been observed in neonates with birth asphyxia [22] and fetuses with intra-uterine growth restriction [23]. It seems a physiologically useful response of the child to secrete vasopressin during labor. An elevated fetal blood pressure can increase blood flow to the placenta during labor. After birth systemic blood pressure has to increase in addition to the drop in pulmonary vascular resistance in order to achieve a left to right ductal shunt. The antidiuretic effects of vasopressin may help to prevent dehydration of the newborn [24].

The biomarker high sensitive troponin I (hsTnI) is highly specific for myocardial injury [25,26].

The importance of most of the cardiac biomarkers in connection with pregnancy and neonatal period is still poorly understood. Labor does influence maternal biomarker levels with e. g. an elevation of copeptin [27] and natriuretic peptides [28]. Only for individual biomarkers potential cutoff levels defining a risk for pathology have been established in neonates such as an increased risk of hypoxic ischemic encephalopathy based on elevated copeptin levels [22] or such as an increased risk for a relevant PDA based on elevated MRproANP levels [13]. This study addresses the question of the relationship between maternal and fetal biomarker levels. This may contribute to the understanding of biological regulatory mechanisms of fetal and maternal circulation.

2. Methods

2.1. Study design

The primary aim of this study was to assess and to compare fetal and maternal levels of several cardiovascular biomarkers, including MRproADM, MRproANP, BNP, NTproBNP, copeptin, and hsTnI in healthy pregnancies at the time of delivery. Secondary aims were to correlate biomarker levels with gestational age and mode of delivery. The study was conducted as a prospective, single-center, cross-sectional, observational study and was approved by the Local Ethics Committee of the Chamber of Physicians, Hamburg, Germany.

2.2. Patients

Expectant mothers or parents were addressed prior to elective caesarian section or normal vaginal delivery at the University Medical Center Hamburg-Eppendorf (UKE), Germany. If written informed consent was obtained, paired maternal and umbilical venous cord blood samples were taken at the time of delivery. The umbilical venous blood samples taken from the placenta represent "perinatal" rather than a purely "fetal" blood samples, as they reflect the status of the child at the time of cord clamping. For simplicity reasons and in order to better distinguish mother and child we chose the term "fetal" rather than "perinatal" throughout the text for the umbilical venous cord blood samples. The study sample included paired maternal and umbilical venous blood samples of 66 neonates and their mothers. Neonatal and maternal demographic data are summarized in Table 1. Cases included 49 primary cesarean sections, 13 spontaneous births, and four secondary cesarean sections, corresponding to 17/66 neonates exposed to labor. The cohort included 55 singletons and 11 children after multiple gestations (four twins and one triplet pregnancy). In addition we

Table 1

Sample characteristics ($n = 66$ neonates).

	Mean	SD	SEM	Minimum	Maximum
Birth weight [kg]	3.306	0.689	0.085	1.783	4.825
Birth length [cm]	50.5	3.438	0.423	41	56
Head circumference [cm]	34.98	2.229	0.274	28	40
Apgar at 1 min	8.91	0.601	0.074	7	10
Apgar at 5 min	9.83	0.45	0.055	8	10
Apgar at 10 min	9.98	0.123	0.015	9	10
Gestational age [weeks]	38.68	1.660	0.204	33.86	41.57
Fetal hemoglobin [g/dl]	15.63	1.660	0.206	11.7	19.2
Umbilical arterial pH	7.30	0.077	0.010	7.06	7.44
Fetal arterial base excess [mmol/l]	-1.93	3.945	0.486	-19	2.6
Fetal lactate [mmol/l]	2.52	2.196	0.270	0.9	10.4
Maternal age [years]	34.5	5.292	0.651	21	46
Maternal weight [kg]	80.54	12.630	1.555	57	124

collected 11 paired umbilical arterial blood samples matching to 11 umbilical venous blood samples as a pilot study, which were however not included into the general analysis due to the small number.

2.3. Laboratory analytics

Blood samples were processed within an average of 2 h, centrifuged, aliquoted and frozen at -80°C . Laboratory analyses for each biomarker were performed simultaneously with duplicate analysis of the collected stored samples using commercially available kits.

MRproADM was measured in EDTA plasma with a fluoroimmunoassay (BRAHMS MRproADM KRYPTOR; BRAHMS GmbH, Hennigsdorf, Germany). The analytical limit of detection (LoD) of the assay was 0.08 nmol/L. The intra-assay coefficient of variation (intra-assay CV) was 1.58%, and the inter-assay CV was 0.39%. MRproANP was measured in EDTA plasma with a fluoroimmunoassay (BRAHMS MRproANP KRYPTOR, LoD 6.0 pmol/L, intra-assay CV 1.89%, inter-assay CV 0.80%). BNP was measured by immunoassay in serum samples (ARCHITECT i2000SR; Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA; intra-assay CV 6.66%, inter-assay CV 1.36%). NTproBNP was measured in serum samples on the ELECSYS 2010 using the Elecsys proBNP II assay (ECLIA; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany; LoD of 5 ng/L, intra-assay CV 1.96%, inter-assay CV 1.23%). Copeptin was measured in EDTA plasma with a fluoroimmunoassay (BRAHMS copeptin us KRYPTOR; LoD of 4.8 pmol/L, intra-assay CV 3.64%, inter-assay CV 2.61%). HsTnI was assessed in serum samples (ARCHITECT STAT highly sensitive troponin I immunoassay; Abbott Diagnostics; LoD of 1.9 ng/L inter-assay CV 9.82%, inter-assay CV 3.57%).

2.4. Data collection and statistics

Demographic data and laboratory results were combined and analyzed using an SPSS software (SPSS 20.0[®]; IBM, Armonk, NY, USA). Mean, standard deviation (SD), standard error of the mean (SEM), median, and interquartile range (IQR) are presented for the individual biomarkers and sample groups as appropriate. Fetal biomarker levels were correlated to gestational age and to delivery mode using Pearson correlation. A t-test was used for paired samples, with post-hoc analysis of variance (ANOVA) calculations (factors included exposure to labor, grouped gestational age, singleton or multiple pregnancy). The significance level was set to $p < 0.05$.

3. Results

There were significant differences between maternal and fetal blood in levels of MRproADM, MRproANP, BNP, NTproBNP, and copeptin, but no differences in hsTnI (details see Table 2).

Gestational age did have a significant effect on fetal biomarker levels for MRproANP ($p < 0.001$), NTproBNP ($p = 0.001$) and copeptin

Table 2
Biomarker levels in umbilical venous cord blood and maternal venous blood.

Biomarker	Unit	Umbilical venous blood				Maternal blood				p
		Mean	SEM	Median	IQR (25%–75% percentiles)	Mean	SEM	Median	IQR (25%–75% percentiles)	
MRproADM	[nmol/L]	1.02	0.04	1.00	0.00 (1.00–1.00)	1.24	0.08	1.00	0.00 (1.00–1.00)	0.015
MRproANP	[pmol/L]	215.53	12.96	187.00	99.25 (154.75–254.00)	54.65	3.41	47.50	27.75 (37.00–64.75)	0.000
BNP	[pg/mL]	32.02	3.37	27.50	19.75 (17.50–37.25)	19.76	3.29	15.00	23.00 (5.00–28.00)	0.016
NTproBNP	[pg/mL]	1228.94	91.73	1052.00	909.50 (708.00–1617.50)	71.48	8.65	52.50	53.50 (34.00–87.50)	0.000
Copeptin	[pmol/L]	103.42	22.89	7.00	59.50 (4.00–63.50)	10.41	1.71	5.00	5.00 (3.75–8.75)	0.000
hsTnI	[pg/mL]	13.54	5.17	5.00	4.50 (3.00–7.50)	4.91	2.37	2.00	2.00 (1.00–3.00)	0.139

($p < 0.001$), for BNP there was a trend ($p = 0.12$), while fetal MRproADM and hsTnI were not affected. The effect of gestational age on maternal biomarkers was significant for MRproADM ($p < 0.001$), BNP ($p = 0.014$), and NTproBNP ($p = 0.031$), a trend was seen for MRproANP ($p = 0.097$), while there was no effect for copeptin ($p = 0.320$) and hsTnI ($p = 0.246$). For the biomarkers that were influenced by gestational age, the individual maternal and umbilical venous biomarker levels are shown in Figs. 1–4. The means and IQRs for the individual biomarkers in umbilical venous blood, divided into four groups of gestational age if appropriate, are shown in Table 3.

Gestational age (mean, 39.2 weeks vs. 36.1 weeks) and body weight (mean, 3.49 kg vs. 2.32 kg) were significantly different between singletons and non-singletons, but no significant effect of multiple gestation on biomarker levels was detectable except on maternal ADM ($p = 0.006$), maternal copeptin ($p = 0.001$) and neonatal copeptin ($p < 0.001$). Fetal copeptin levels were significantly higher in children after exposure to labor (mean \pm SEM [pmol/l], 325.41 ± 55.328 vs. 26.41 ± 11.060 , $p < 0.001$).

There was no correlation between maternal and umbilical cord blood biomarker levels looking at the whole cohort ($n = 66$). Due to organizational reasons maternal blood was taken at the time of routine establishment of an iv-access during the course of normal vaginal delivery or cesarean section. This caused a variable time interval between

maternal and umbilical cord blood sampling with most maternal blood samples taken prior and some after delivery. For the sample subgroup, where maternal blood sampling was up to 60 min prior to delivery a positive feto-maternal biomarker correlation could be demonstrated for MRproANP ($r = 0.472$, $p = 0.002$; see Fig. 5) and copeptin ($r = 0.572$, $p < 0.001$).

A post-hoc power calculation (power = 0.8 at alpha = 0.05) did show that the sample size was sufficient to achieve a power of above 0.8 in detecting differences between maternal and fetal biomarker levels for MRproADM, MRproANP, BNP and NTproBNP, whereas for copeptin and hsTnI power was insufficient and less than 0.8, as the standard deviation was high.

4. Discussion

In the present study, we examined the levels of several cardiovascular biomarkers in paired maternal and fetal umbilical venous blood samples at birth.

The comparison of biomarker levels between mother and venous umbilical cord blood did show that the biomarker levels appear to be regulated independently in fetal and maternal circulation. At delivery MRproANP, BNP, NTproBNP, and copeptin levels were significantly higher in umbilical venous cord blood than maternal blood. MRproADM was higher in maternal than in fetal blood.

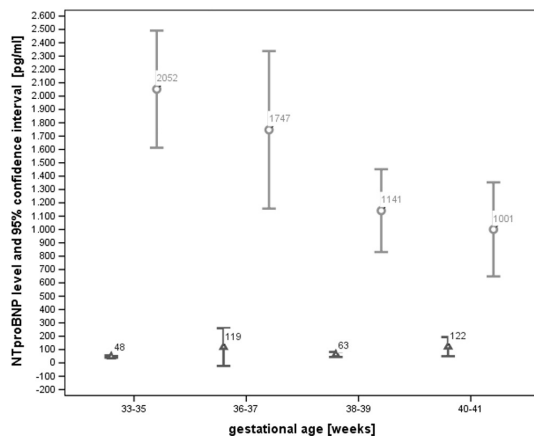


Fig. 1. NTproBNP with respect to gestational age. Data are presented as means with error bars (95% confidence intervals) for maternal (triangles) and umbilical venous (circles) blood. The database consists of 65 pairs of neonates and their mothers.

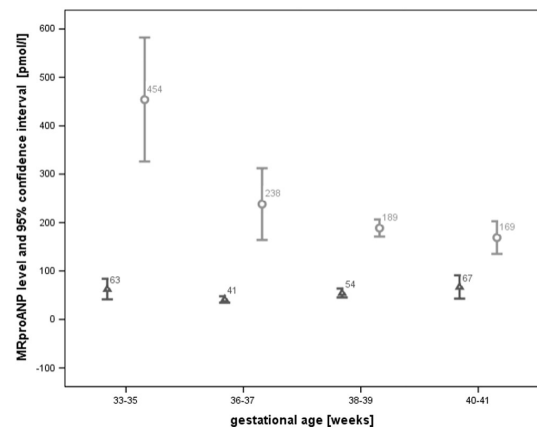


Fig. 2. MRproANP with respect to gestational age. Data are presented as means with error bars (95% confidence intervals) for maternal (triangles) and umbilical venous (circles) blood. The database consists of 66 pairs of neonates and their mothers.

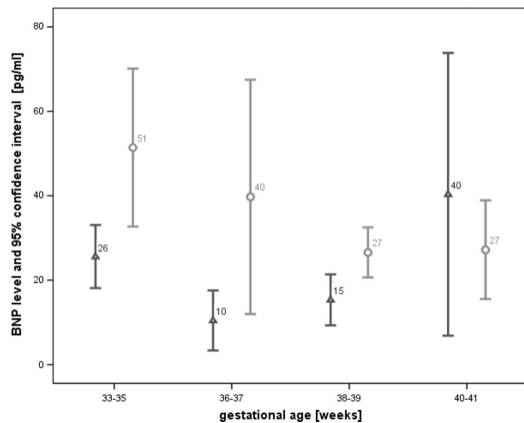


Fig. 3. BNP with respect to gestational age. Data are presented as means with error bars (95% confidence intervals) for maternal (triangles) and umbilical venous (circles) blood. The database consists of 50 pairs of neonates and their mothers.

Gestational age did influence the natriuretic peptide levels (MRproANP, BNP, NTproBNP) both in umbilical cord venous blood and in maternal blood inversely. Umbilical cord blood levels of copeptin increased with gestational age, however detailed analysis of the data showed that copeptin was related to labor rather than to gestational age, copeptin may be used as a marker for fetal stress unrelated to gestational age [22,23,27].

For MRproANP and copeptin a weak but significant positive correlation between fetal and maternal levels could be shown, whereas the other biomarkers did not show a significant fetomaternal correlation. The concept of a fetal biomarker elevation causing a secondary maternal biomarker elevation may only be true for biomarkers with higher concentrations in fetal than in maternal blood, as it was the case in this study. If – theoretically – the fetus had higher biomarker levels due to the intrauterine fetal physiology or due to an intrauterine pathology, this could lead to a consecutively higher

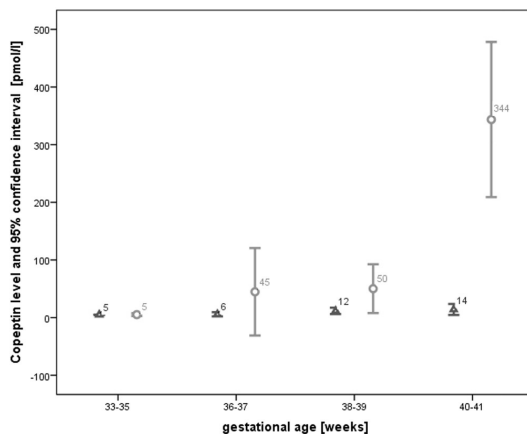


Fig. 4. Copeptin with respect to gestational age. Data are presented as means with error bars (95% confidence intervals) for maternal (triangles) and umbilical venous (circles) blood. The database consists of 66 pairs of neonates and their mothers.

level in maternal blood. This hypothesis may be supported by this study regarding the course of natriuretic peptides, which were inversely correlated to gestational age, both in mother and fetus. Literature data on copeptin also support this assumption showing higher fetal than maternal copeptin levels in secondary cesarean sections performed for fetal distress and lower fetal than maternal copeptin levels in cesarean sections performed for reasons other than fetal distress [27]. In order to further investigate the possibility of a detection of a fetal pathology based on umbilical cord blood biomarker level elevation or even based on a maternal blood biomarker elevation transmitted from the fetus via the placenta, pregnancies with relevant fetal pathology would have to be studied.

The influence of the placenta on biomarker levels is not examined by this study. The placenta may be involved in biomarker production (e.g. MRproADM, which is elevated in twin pregnancies in this study), it may be part of a clearing system for biomarkers or it may be involved in an active transport between the two circulatory compartments of mother and fetus. The question on the placental influence on biomarker levels might be addressed by comparing umbilical arterial versus umbilical venous blood biomarker levels. In addition to the presented study data we did examine 11 paired umbilical arterial and umbilical venous blood samples in a small pilot study. Two biomarker levels were significantly higher in umbilical arterial than in umbilical venous blood (69% for copeptin and 14% for BNP), whereas there was no significant difference for the other examined biomarkers. This preliminary finding might imply a placental clearing function for copeptin and BNP.

The pattern of biomarker distribution observed in this study appears physiologically appropriate from the perspective of the fetal organism. The elevation of the natriuretic peptides MRproANP, BNP, and NTproBNP inversely correlated with gestational age may be interpreted as a physiological response of the fetal organism to the requirements during the progress of pregnancy. At mid gestation, the fluid turnover of the fetus is relatively higher than toward the term at the end of pregnancy, where the amount of amniotic fluid decreases relatively. Possibly the fetus has to increase his diuresis by natriuretic peptide elevation in order to maintain an adequate amount of amniotic fluid and to handle maternofetal fluid transfer over the placenta. In discordant twin pregnancies with placental fetofetal anastomoses could be shown that the acceptor has higher natriuretic peptide levels than the donor, analogous to the distribution of amniotic fluid between donor and acceptor [9]. These literature data support the physiological relevance of natriuretic peptides during fetal development. The observation of copeptin elevation (which is interpreted as a surrogate parameter for vasopressin) in association to labor may be a useful response of the fetal organism to the perinatal requirements. The fetus has to adapt to postnatally higher systemic blood pressure and prevent dehydration postnatally until sufficient enteral feeding is established. The observed neonatal biomarker pattern is consistent with the present understanding of neonatal transitional circulation [29].

4.1. Limitations

There are a number of potential limitations in our study. The main limitation is the small sample size which is further aggravated by several factors causing inhomogeneity. First only 26% of sample pairs included children exposed to labor. Secondly, the timing of maternal blood samples (taken before or after delivery), and thus the influence of labor [27,28] or iv hydration during caesarian section on maternal biomarker levels impairs the assessment of direct fetomaternal biomarker correlations. Possibly therefore only in the subgroup of paired samples with no more than 60 min delay between maternal and fetal blood sampling a positive fetomaternal biomarker correlation could be demonstrated. Thirdly, as unclamped umbilical blood flow may continue several minutes after delivery [30,31], (variably delayed) umbilical cord clamping might have had an influence on fetal biomarker levels.

Table 3
Cardiovascular biomarkers in umbilical venous blood (quartiles, depending on gestational age if appropriate).

Biomarker	Gestational age (completed weeks)	N in each gestational age subgroup	Quartiles (weighted average)		
			25	50	75
MRproADM [nmol/L]	33–41	49	1.00	1.00	1.00
MRproANP [pmol/L]	33–35	5	344.10	500.00	541.00
	36–37	14	176.00	215.00	258.50
	38–39	34	153.25	186.00	215.50
	40–41	13	132.00	168.00	188.08
BNP [pg/mL]	33–35	5	41.00	49.00	63.00
	36–37	12	19.50	24.50	34.75
	38–39	24	15.25	25.50	34.00
	40–41	9	16.00	25.00	38.00
NTproBNP [pg/mL]	33–35	5	1739.50	1986.00	2397.50
	36–37	14	721.50	1547.00	2067.00
	38–39	33	688.00	903.00	1281.00
	40–41	13	661.50	800.00	1102.00
Copeptin [pmol/L]	33–41	66	4.00	7.00	63.50
hsTNI [pg/mL]	33–41	65	3.00	5.00	7.50

Finally, the amount of obtained blood was not sufficient to analyze all examined biomarkers in all feto–maternal paired samples resulting in further reduction in sample size.

5. Conclusion

Fetal biomarker levels of MRproANP, BNP, NTproBNP, and copeptin were significantly higher than maternal values. Gestational age did influence natriuretic peptide levels inversely. Fetal copeptin was elevated in association to labor. The observed biomarker pattern appears to be a physiologically useful fetal response to the requirements during the course of gestation. In this study on term and near term pregnancies without specific fetal pathology, a weak positive correlation between paired maternal and fetal biomarker levels could be observed for MRproANP and copeptin.

Disclosures

Funding of the study was provided by “Förderverein Universitäres Herzzentrum e. V.”.

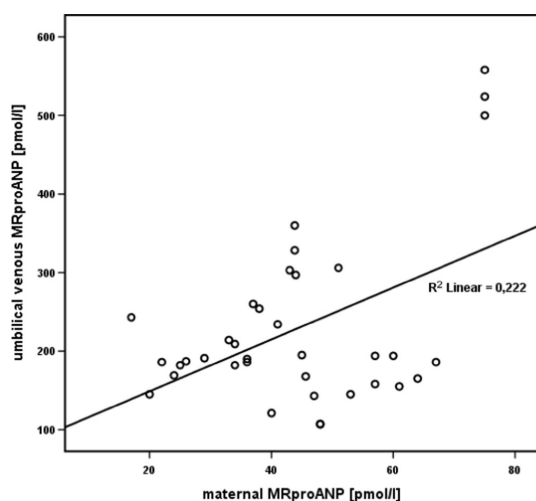


Fig. 5. Correlation between maternal and umbilical venous MRproANP levels ($r = 0.472$, $p = 0.002$, $n = 36$).

Conflict of interest statement

None declared.

References

- [1] Brunner-La Rocca HP, Kaye DM, Woods RL, Hastings J, Esler MD. Effects of intravenous brain natriuretic peptide on regional sympathetic activity in patients with chronic heart failure as compared with healthy control subjects. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(5):1221.
- [2] Nir A, Lindinger A, Rauh M, Bar-Oz B, Laer S, Schwachngen L, et al. NT-pro-B-type natriuretic peptide in infants and children: reference values based on combined data from four studies. *Pediatr Cardiol* 2009;30(1):3–8.
- [3] Mir TS, Laux R, Hellwege HH, Liedke B, Heinze C, von Buelow H, et al. Plasma concentrations of aminoterminal pro atrial natriuretic peptide and aminoterminal pro brain natriuretic peptide in healthy neonates: marked and rapid increase after birth. *Pediatrics* 2003;112(4):896–9.
- [4] Loke I, Squire IB, Davies JE, Ng LL. Reference ranges for natriuretic peptides for diagnostic use are dependent on age, gender and heart rate. *Eur J Heart Fail* 2003;5(5):599–606.
- [5] Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett Jr JC. Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(5):976–82.
- [6] Koch A, Singer H. Normal values of B type natriuretic peptide in infants, children, and adolescents. *Heart* 2003;89(8):875–8.
- [7] Mannarino S, Garofoli F, Cerbo RM, Perotti G, Mongini E, Codazzi C, et al. Cord blood, perinatal BNP values in term and preterm newborns. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2010;95(1):F74.
- [8] Koch L, Dabek MT, Frommhold D, Poeschl J. Stable precursor fragments of vasoactive peptides in umbilical cord blood of term and preterm infants. *Horm Res Paediatr* 2011;76(4):234–9.
- [9] Bajoria R, Ward S, Chatterjee R. Natriuretic peptides in the pathogenesis of cardiac dysfunction in the recipient fetus of twin-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186(1):121–7.
- [10] Bahlmann F, Krummenauer F, Spahn S, Gallinat R, Kampmann C. Natriuretic peptide levels in intrauterine growth-restricted fetuses with absent and reversed end-diastolic flow of the umbilical artery in relation to ductus venosus flow velocities. *J Perinat Med* 2011;39(5):529–37.
- [11] Vijlbrief DC, Benders MJ, Kemperman H, van Bel F, de Vries WB. Use of cardiac biomarkers in neonatology. *Pediatr Res* 2012;72(4):337–43.
- [12] Vijlbrief DC, van Bel F, Molenschot MC, Benders MJ, Pistorius LR, Kemperman H, et al. Early detection of prenatal cardiocirculatory compromise in small for gestational age infants. *Neonatology* 2014;105(4):256–62.
- [13] Grass B, Baumann P, Arlettaz R, Fouzas S, Meyer P, Spanaus K, et al. Cardiovascular biomarkers pro-atrial natriuretic peptide and pro-endothelin-1 to monitor ductus arteriosus evolution in very preterm infants. *Early Hum Dev* 2014;90(6):293–8.
- [14] Richards AM, Doughty R, Nicholls MG, MacMahon S, Sharpe N, Murphy J, et al. Yandle TG; Australia–New Zealand Heart Failure Group. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin: prognostic utility and prediction of benefit from carvedilol in chronic ischemic left ventricular dysfunction. Australia–New Zealand Heart Failure Group. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(7):1781–7.
- [15] Nishikimi T, Saito Y, Kitamura K, Ishimitsu T, Eto T, Kangawa K, et al. Increased plasma levels of adrenomedullin in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1424–31.
- [16] Matson BC, Corty RW, Karpovich NO, Murtha AP, Valdar W, Grotegug CA, et al. Midregional pro-adrenomedullin plasma concentrations are blunted in severe preeclampsia. *Placenta* 2014;35(9):780–3.

- [17] Acher R, Chauvet J, Rouille Y. Dynamic processing of neuropeptides: sequential conformation shaping of neurohypophysial preprohormones during intraneuronal secretory transport. *J Mol Neurosci* 2002;18(3):223–8.
- [18] Nickel CH, Bingisser R, Morgenthaler NG. The role of copeptin as a diagnostic and prognostic biomarker for risk stratification in the emergency department. *BMC Med* 2012;10:7.
- [19] Santillan MK, Santillan DA, Scroggins SM, Min JY, Sandgren JA, Pearson NA, et al. Vasopressin in preeclampsia: a novel very early human pregnancy biomarker and clinically relevant mouse model. *Hypertension* 2014;64(4):852–9.
- [20] Wellmann S, Benzing J, Fleischlin S, Morgenthaler N, Fouzas S, Bühler CA, et al. Cardiovascular biomarkers in preeclampsia at triage. *Fetal Diagn Ther* 2014;36(3):202–7.
- [21] Nickel NP, Lichtinghagen R, Golpon H, Olsson KM, Brand K, Welte T, et al. Circulating levels of copeptin predict outcome in patients with pulmonary arterial hypertension. *Respir Res* 2013;14:130.
- [22] Schlapbach LJ, Frey S, Bigler S, Manh-Nhi C, Aebi C, Nelle M, et al. Copeptin concentration in cord blood in infants with early-onset sepsis, chorioamnionitis and perinatal asphyxia. *BMC Pediatr* 2011;11:38.
- [23] Burkhardt T, Schwabe S, Morgenthaler NG, Natalucci G, Zimmermann R, Wellmann S. Copeptin: a marker for stress reaction in fetuses with intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207(6) (497.e1–5).
- [24] Tsukahara H, Hata I, Sekine K, Miura M, Hata K, Fujii Y, et al. Urinary excretion of aquaporin-2 in term and preterm infants. *Early Hum Dev* 1998;51(1):31–7.
- [25] Puelacher C, Hillinger P, Wagener M, Müller C. Cardiac biomarkers for infarct diagnosis and early exclusion of acute coronary syndrome. *Herz* 2014;39(6):668–71.
- [26] Karadeniz L, Coban A, Ince Z, Turkoglu U, Can G. Cord blood cardiac troponin T and nonprotein-bound iron levels in newborns of mild pre-eclamptic mothers. *Neonatology* 2010;97(4):305–10.
- [27] Foda AA, Abdel Aal IA. Maternal and neonatal copeptin levels at cesarean section and vaginal delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;165(2):215–8.
- [28] Lev-Sagie A, Bar-Oz B, Salpeter L, Hochner-Celnikier D, Arad I, Nir A. Plasma concentrations of N-terminal Pro-B-Type natriuretic peptide in pregnant women near labor and during early puerperium. *Clin Chem* 2005;51:1909–10.
- [29] Finnemore A, Groves A. Physiology of the fetal and transitional circulation. *Semin Fetal Neonatal Med* 2015;20(4):210–6.
- [30] Yao AC, Hirvensalo M, Lind J. Placental transfusion-rate and uterine contraction. *Lancet* 1968;1:380–3.
- [31] Boere I, Roest AA, Wallace E, Ten Harkel AD, Haak MC, Morley CJ, et al. Umbilical blood flow patterns directly after birth before delayed cord clamping. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2015;100:F121–5.

KAPITEL 7

Literatur

- Abbot Laboratories (2009). *ARCHITECT System Operations Manual, IL, USA*.
- Abbot Laboratories (2010). *ARCHITECT Stat Troponin-I assay manual, IL, USA*.
- Aburaya M., Hino J., Minamino N., Kangawa K. und Matsuo H. (1989). „Isolation and identification of rat brain natriuretic peptides in cardiac atrium“. *Biochemical and biophysical research communications* 163.1, S. 226–232.
- Admaty D., Benzing J., Burkhardt T., Lapaire O., Hegi L., Szinnai G., Morgenthaler N. G., Bucher H. U., Bühler C. und Wellmann S. (2012). „Plasma midregional proadrenomedullin in newborn infants: impact of prematurity and perinatal infection“. *Pediatric Research* 72.1, S. 70–76.
- Albert N. M., Hail M. D., Li J. und Young J. B. (2004). „Equivalence of the Bioimpedance and Thermodilution Methods in Measuring Cardiac Output in Hospitalized Patients With Advanced, Decompensated Chronic Heart Failure“. *American Journal of Critical Care* 13.6, S. 469–479.
- Antoni F. A. (1993). „Vasopressinergic Control of Pituitary Adrenocorticotropin Secretion Comes of Age“. *Frontiers in Neuroendocrinology* 14.2, S. 76–122.
- Araújo K., Silva J. d., Sañudo A. und Kopelman B. (2004). „Plasma Concentrations of Cardiac Troponin I in Newborn Infants“. *Clinical Chemistry* 50.9, S. 1717–1718.
- Armstrong W. E. (2004). „Hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei“. *The Rat Nervous system, edited by Paxinos G., CA: Elsevier Academic*, S. 369–388.
- Atzler E. und Lehmann G. (1932). „Über ein neues Verfahren zur Darstellung der Herztätigkeit (Dielektrographie)“. *Arbeitsphysiologie* 5.6, S. 636–680.
- Austin W. J., Bhalla V., Hernandez-Arce I., Isakson S. R., Beede J., Clopton P., Maisel A. S. und Fitzgerald R. L. (2006). „Correlation and Prognostic Utility of B-Type Natriuretic Peptide and Its Amino-Terminal Fragment in Patients With Chronic Kidney Disease“. *American Journal of Clinical Pathology* 126.4, S. 506–512.
- Aziz O. und Schmidt W. (1976). „Elimination of vasopressin by the normal and the damaged liver“. *Pflügers Archiv* 367.2, S. 165–168.

-
- Babuín L. und Jaffe A. S. (2005). „Troponin: the biomarker of choice for the detection of cardiac injury“. *CMAJ : Canadian Medical Association Journal* 173.10, S. 1191–1202.
- Bader D., Kugelman A., Lanir A., Tamir A., Mula E. und Riskin A. (2006). „Cardiac troponin I serum concentrations in newborns: A study and review of the literature“. *Clinica Chimica Acta* 371.1–2, S. 61–65.
- Bajoria R., Ward S. und Chatterjee R. (2002). „Natriuretic peptides in the pathogenesis of cardiac dysfunction in the recipient fetus of twin-twin transfusion syndrome“. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 186.1, S. 121–127.
- Barat C., Simpson L. und Breslow E. (2004). „Properties of Human Vasopressin Precursor Constructs: Inefficient Monomer Folding in the Absence of Copeptin as a Potential Contributor to Diabetes Insipidus“. *Biochemistry* 43.25, S. 8191–8203.
- Bar-Oz B., Lev-Sagie A., Arad I., Salpeter L. und Nir A. (2005). „N-Terminal pro-B-Type Natriuretic Peptide Concentrations in Mothers just before Delivery, in Cord Blood, and in Newborns“. *Clinical Chemistry* 51.5, S. 926–927.
- Barr C. S., Rhodes P. und Struthers A. D. (1996). „C-Type Natriuretic Peptide“. *Peptides* 17.7, S. 1243–1251.
- Baum H., Hinze A., Bartels P. und Neumeier D. (2004). „Reference values for cardiac troponins T and I in healthy neonates“. *Clinical Biochemistry* 37.12, S. 1079–1082.
- Benzing J., Wellmann S., Achini F., Letzner J., Burkhardt T., Beinder E., Morgenthaler N. G., Haagen U., Bucher H. U., Bühler C., Lapaire O. und Szinnai G. (2011). „Plasma Copeptin in Preterm Infants: A Highly Sensitive Marker of Fetal and Neonatal Stress“. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 96.6, E982–E985.
- Blohm M. E., Arndt F., Sandig J., Diehl W., Zeller T., Mueller G. C., Schlesner C., Mir T. S., Blankenberg S., Hecher K., Singer D. und Weil J. (2016a). „Cardiovascular biomarkers in paired maternal and umbilical cord blood samples at term and near term delivery“. *Early Human Development* 94, S. 7–12.
- Blohm M. E., Hartwich J., Obrecht D., Kersten J. F. und Singer D. (2016b). „Effect of patent ductus arteriosus and patent foramen ovale on left ventricular stroke volume measurement by electrical velocimetry in comparison to transthoracic echocardiography in neonates“. *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, S. 1–10.
- Blohm M. E., Obrecht D., Hartwich J., Mueller G. C., Kersten J. F., Weil J. und Singer D. (2014). „Impedance cardiography (electrical velocimetry) and transthoracic echocardiography for non-invasive cardiac output monitoring in pediatric intensive care patients: a prospective single-center observational study“. *Critical Care* 18.6.
- Boldt T., Luukkainen P., Fyhrquist F., Pohjavuori M. und Andersson S. (1998). „Birth stress increases adrenomedullin in the newborn“. *Acta Paediatrica* 87.1, S. 93–94.
- Bordicchia M., Ceresiani M., Pavani M. und Sarzani R. (2016). „Up-regulation of the Natriuretic Peptide Clearance Receptor and Inhibition of Lipolysis by Insulin: Filling

-
- the Gap between Metabolic Syndrome and Hypertension“. *Journal of Hypertension* 34, e86–e87.
- Bordicchia M., Liu D., Amri E.-Z., Ailhaud G., Dessì-Fulgheri P., Zhang C., Takahashi N., Sarzani R. und Collins S. (2012). „Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes“. *Journal of Clinical Investigation* 122.3, S. 1022–1036.
- Brown K. L., Ridout D. A., Hoskote A., Verhulst L., Ricci M. und Bull C. (2006). „Delayed diagnosis of congenital heart disease worsens preoperative condition and outcome of surgery in neonates“. *Heart (British Cardiac Society)* 92.9, S. 1298–1302.
- Brown L. A. S. und Wood L. H. (1989). „Stimulation of surfactant secretion by vasopressin in primary cultures of adult rat type II pneumocytes“. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism* 1001.1, S. 76–81.
- Burckhardt M.-A., Wellmann M., Fouzas S., Lapaire O., Burkhardt T., Benzing J., Bühner C., Szinnai G. und Wellmann S. (2014). „Sexual Disparity of Copeptin in Healthy Newborn Infants“. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 99.9, E1750–E1753.
- Burkhardt T., Schwabe S., Morgenthaler N. G., Natalucci G., Zimmermann R. und Wellmann S. (2012). „Copeptin: a marker for stress reaction in fetuses with intrauterine growth restriction“. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 207.6, 497.e1–497.e5.
- Burrell L. M., Lambert H. J. und Baylis P. H. (1991). „Effect of atrial natriuretic peptide on thirst and arginine vasopressin release in humans“. *The American Journal of Physiology* 260.3 Pt 2, R475–479.
- Cantinotti M., Law Y., Vittorini S., Crocetti M., Marco M., Murzi B. und Clerico A. (2014). „The potential and limitations of plasma BNP measurement in the diagnosis, prognosis, and management of children with heart failure due to congenital cardiac disease: an update“. *Heart Failure Reviews* 19.6, S. 727–742.
- Caselli C., Cangemi G., Masotti S., Ragusa R., Gennai I., Del Ry S., Prontera C. und Clerico A. (2016). „Plasma cardiac troponin I concentrations in healthy neonates, children and adolescents measured with a high sensitive immunoassay method: High sensitive troponin I in pediatric age“. *Clinica Chimica Acta* 458, S. 68–71.
- Charles C. J., Espiner E. A. und Richards A. M. (1993). „Cardiovascular actions of ANF: contributions of renal, neurohumoral, and hemodynamic factors in sheep“. *The American Journal of Physiology* 264.3 Pt 2, R533–538.
- Chen S.-J., Gong Z. und Duan Q.-L. (2014). „Evaluation of heart function with impedance cardiography in acute myocardial infarction patients“. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* 7.3, S. 719–727.
- Chen Y.-X. und Li C.-S. (2013). „Prognostic value of adrenomedullin in septic patients in the ED“. *The American Journal of Emergency Medicine* 31.7, S. 1017–1021.

-
- Chong S. W. und Peyton P. J. (2012). „A meta-analysis of the accuracy and precision of the ultrasonic cardiac output monitor (USCOM)“. *Anaesthesia* 67.11, S. 1266–1271.
- Coté C. J., Sui J., Anderson T. A., Bhattacharya S. T., Shank E. S., Tuason P. M., August D. A., Zibaitis A., Firth P. G., Fuzaylov G., Leeman M. R., Mai C. L. und Roberts J. D. (2015). „Continuous noninvasive cardiac output in children: is this the next generation of operating room monitors? Initial experience in 402 pediatric patients“. *Pediatric Anesthesia* 25.2, S. 150–159.
- De Bold A. J., Borenstein H. B., Veress A. T. und Sonnenberg H. (1981). „A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats“. *Life Sciences* 28.1, S. 89–94.
- De Bold A. (1985). „Atrial natriuretic factor: a hormone produced by the heart“. *Science* 230.4727, S. 767–770.
- De Wied D., Diamant M. und Fodor M. (1993). „Central Nervous System Effects of the Neurohypophyseal Hormones and Related Peptides“. *Frontiers in Neuroendocrinology* 14.4, S. 251–302.
- Di Somma S., De Berardinis B., Bongiovanni C., Marino R., Ferri E. und Alfei B. (2010). „Use of BNP and Bioimpedance to Drive Therapy in Heart Failure Patients“. *Congestive Heart Failure* 16, S56–S61.
- Ebashi S. und Kodama A. (1965). „A New Protein Factor Promoting Aggregation of Tropomyosin“. *Journal of Biochemistry* 58.1, S. 107–108.
- Ebrahim M., Hegde S., Printz B., Abcede M., Proudfoot J. A. und Davis C. (2016). „Evaluation of Impedance Cardiography for Measurement of Stroke Volume in Congenital Heart Disease“. *Pediatric Cardiology*, S. 1–5.
- Enhörning S., Wang T. J., Nilsson P. M., Almgren P., Hedblad B., Berglund G., Struck J., Morgenthaler N. G., Bergmann A., Lindholm E., Groop L., Lyssenko V., Orho-Melander M., Newton-Cheh C. und Melander O. (2010). „Plasma Copeptin and the Risk of Diabetes Mellitus“. *Circulation* 121.19, S. 2102–2108.
- Erdinc K., Sarici S. U., Akgul E. O., Agilli M. und Ozcan O. (2014). „Relationship between neonatal adrenomedullin and bilirubin levels“. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 27.1, S. 30–35.
- Evers K. S. und Wellmann S. (2016). „Arginine Vasopressin and Copeptin in Perinatology“. *Frontiers in Pediatrics* 4.
- Floras J. S. (1990). „Sympathoinhibitory effects of atrial natriuretic factor in normal humans.“ *Circulation* 81.6, S. 1860–1873.
- Foda A. A. und Abdel Aal I. A. (2012). „Maternal and neonatal copeptin levels at cesarean section and vaginal delivery“. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 165.2, S. 215–218.
- Fradley M. G., Larson M. G., Cheng S., McCabe E., Coglianese E., Shah R. V., Levy D., Vasan R. S. und Wang T. J. (2011). „Reference Limits for N-Terminal-pro-B-Type

-
- Natriuretic Peptide in Healthy Individuals (from the Framingham Heart Study)“. *The American Journal of Cardiology* 108.9, S. 1341–1345.
- Freda B. J., Tang W. H. W., Van Lente F., Peacock W. F. und Francis G. S. (2002). „Cardiac troponins in renal insufficiency: Review and clinical implications“. *Journal of the American College of Cardiology* 40.12, S. 2065–2071.
- Freidl T., Baik N., Pichler G., Schwabegger B., Zingerle B., Avian A. und Urlesberger B. (2016). „Haemodynamic Transition after Birth: A New Tool for Non-Invasive Cardiac Output Monitoring“. *Neonatology* 111.1, S. 55–60.
- Gazzolo D., Marinoni E., Giovannini L., Letizia C., Serra G. und di Iorio R. (2001). „Circulating Adrenomedullin Is Increased in Preterm Newborns Developing Intraventricular Hemorrhage“. *Pediatric Research* 50.4, S. 544–547.
- Gerbes A. L. und Vollmar A. M. (1990). „Degradation and clearance of atrial natriuretic factors (ANF)“. *Life Sciences* 47.14, S. 1173–1180.
- Goetze J. P., Hansen L. H., Terzic D., Zois N. E., Albrethsen J., Timm A., Smith J., Soltysinska E., Lippert S. K. und Hunter I. (2015). „Atrial natriuretic peptides in plasma“. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 443, S. 25–28.
- Grass B., Baumann P., Arlettaz R., Fouzas S., Meyer P., Spanaus K. und Wellmann S. (2014). „Cardiovascular biomarkers pro-atrial natriuretic peptide and pro-endothelin-1 to monitor ductus arteriosus evolution in very preterm infants“. *Early Human Development* 90.6, S. 293–298.
- Grollmuss O. und Gonzalez P. (2014). „Non-Invasive Cardiac Output Measurement in Low and Very Low Birth Weight Infants: A Method Comparison“. *Frontiers in Pediatrics* 2.
- Haas N. und Schirmer K. (2011). „S2 Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Abklärung eines Herzgeräuschs“. *Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Kardiologie*.
- Haas N. A. und Kleideiter U. (2011). *Kinderkardiologie: Klinik und Praxis der Herzerkrankungen bei Kindern, Jugendlichen und jungen Erwachsenen*. 1. Aufl. Stuttgart: Thieme.
- Hammerer-Lercher A., Mair J., Tews G., Puschendorf B. und Sommer R. (2005). „N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Concentrations Are Markedly Higher in the Umbilical Cord Blood of Newborns than in Their Mothers“. *Clinical Chemistry* 51.5, S. 913–915.
- Harris P. J., Thomas D. und Morgan T. O. (1987). „Atrial natriuretic peptide inhibits angiotensin-stimulated proximal tubular sodium and water reabsorption“. *Nature* 326.6114, S. 697–698.
- Heringlake M., Handke U., Hanke T., Eberhardt F., Schumacher J., Gehring H. und Heinze H. (2007). „Lack of agreement between thermodilution and electrical velocimetry cardiac output measurements“. *Intensive Care Medicine* 33.12, S. 2168–2172.

-
- Hirata Y., Hayakawa H., Suzuki Y., Suzuki E., Ikenouchi H., Kohmoto O., Kimura K., Kitamura K., Eto T., Kangawa K., Matsuo H. und Omata M. (1995). „Mechanisms of Adrenomedullin-Induced Vasodilation in the Rat Kidney“. *Hypertension* 25.4, S. 790–795.
- Hollister A. S., Rodeheffer R. J., White F. J., Potts J. R., Imada T. und Inagami T. (1989). „Clearance of atrial natriuretic factor by lung, liver, and kidney in human subjects and the dog.“ *Journal of Clinical Investigation* 83.2, S. 623–628.
- Holmes S. J., Espiner E. A., Richards A. M., Yandle T. G. und Frampton C. (1993). „Renal, endocrine, and hemodynamic effects of human brain natriuretic peptide in normal man“. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 76.1, S. 91–96.
- Holwerda D. A. (1972). „A Glycopeptide from the Posterior Lobe of Pig Pituitaries“. *European Journal of Biochemistry* 28.3, S. 334–339.
- Hsu K.-H., Wu T.-W., Wang Y.-C., Lim W.-H., Lee C.-C. und Lien R. (2016). „Hemodynamic reference for neonates of different age and weight: a pilot study with electrical cardiometry“. *Journal of Perinatology* 36.6, S. 481–485.
- Hu S.-B., Zhao Z.-S., Yhap C., Grinberg A., Huang S.-P., Westphal H. und Gold P. (2003). „Vasopressin receptor 1a-mediated negative regulation of B cell receptor signaling“. *Journal of Neuroimmunology* 135.1–2, S. 72–81.
- Huang D. T., Angus D. C., Kellum J. A., Pugh N. A., Weissfeld L. A., Struck J., Delude R. L., Rosengart M. R. und Yealy D. M. (2009). „Midregional Proadrenomedullin as a Prognostic Tool in Community-Acquired Pneumonia“. *Chest* 136.3, S. 823–831.
- Hunt P. J., Richards A. M., Nicholls M. G., Yandle T. G., Doughty R. N. und Espiner E. A. (1997). „Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-PROBNP): a new marker of cardiac impairment“. *Clinical endocrinology* 47.3, S. 287–296.
- Iorio R. D., Marinoni E., Letizia C., Alò P., Villaccio B. und Cosmi E. V. (1998). „Adrenomedullin, a New Vasoactive Peptide, Is Increased in Preeclampsia“. *Hypertension* 32.4, S. 758–763.
- Irfan A., Reichlin T., Twerenbold R., Fischer C., Ballarino P., Nelles B., Wildi K., Zellweger C., Rubini Gimenez M., Mueller M., Haaf P., Fischer A., Freidank H., Osswald S. und Mueller C. (2015). „Cardiomyocyte injury induced by hemodynamic cardiac stress: Differential release of cardiac biomarkers“. *Clinical Biochemistry*.
- Iwamoto H. S., Rudolph A. M., Keil L. C. und Heymann M. A. (1979). „Hemodynamic responses of the sheep fetus to vasopressin infusion.“ *Circulation Research* 44.3, S. 430–436.
- Jordan I., Corniero P., Balaguer M., Ortiz J., Vila D., Velasco J., Cambra F. J. und Esteban E. (2014). „Adrenomedullin is a useful biomarker for the prognosis of critically ill septic children“. *Biomarkers in Medicine* 8.9, S. 1065–1072.
- Jougasaki M., Wei C. M., Aarhus L. L., Heublein D. M., Sandberg S. M. und Burnett J. C. (1995). „Renal localization and actions of adrenomedullin: a natriuretic peptide“. *The American Journal of Physiology* 268.4 Pt 2, F657–663.

-
- Jung B. und Adeli K. (2009). „Clinical laboratory reference intervals in pediatrics: The CALIPER initiative“. *Clinical Biochemistry* 42.16–17, S. 1589–1595.
- Kantor P. F., Lougheed J., Dancea A., McGillion M., Barbosa N., Chan C., Dillenburg R., Atallah J., Buchholz H., Chant-Gambacort C., Conway J., Gardin L., George K., Greenway S., Human D. G., Jeewa A., Price J. F., Ross R. D., Roche S. L., Ryerson L., Soni R., Wilson J. und Wong K. (2013). „Presentation, Diagnosis, and Medical Management of Heart Failure in Children: Canadian Cardiovascular Society Guidelines“. *Canadian Journal of Cardiology* 29.12, S. 1535–1552.
- Katrukha A. G., Bereznikova A. V., Esakova T. V., Pettersson K., Lövgren T., Severina M. E., Pulkki K., Vuopio-Pulkki L.-M. und Gusev N. B. (1997). „Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex“. *Clinical Chemistry* 43.8, S. 1379–1385.
- Kehoe M. W. (1994). *The Blue Baby Operation Exhibit. The Celebration of the 50th Anniversary of the Blalock - Taussig Shunt. Baltimore, Maryland, USA*. URL: <http://www.neonatology.org/pdf/bluebabyoperation.pdf> (besucht am 22. 08. 2014).
- Keller T., Zeller T., Ojeda F., Tzikas S., Lillpopp L., Sinning C., Wild P., Genth-Zotz S., Warnholtz A., Giannitsis E., Möckel M., Bickel C., Peetz D., Lackner K., Baldus S., Münzel T. und Blankenberg S. (2011). „Serial changes in highly sensitive troponin I assay and early diagnosis of myocardial infarction“. *JAMA* 306.24, S. 2684–2693.
- Kelley W. E., Januzzi J. L. und Christenson R. H. (2009). „Increases of Cardiac Troponin in Conditions other than Acute Coronary Syndrome and Heart Failure“. *Clinical Chemistry* 55.12, S. 2098–2112.
- Khan N. A., Hemmelgarn B. R., Tonelli M., Thompson C. R. und Levin A. (2005). „Prognostic Value of Troponin T and I Among Asymptomatic Patients With End-Stage Renal Disease A Meta-Analysis“. *Circulation* 112.20, S. 3088–3096.
- EL-Khuffash A. F. und Molloy E. J. (2007). „Serum Troponin in Neonatal Intensive Care“. *Neonatology* 94.1, S. 1–7.
- Kitamura K., Kangawa K., Kawamoto M., Ichiki Y., Nakamura S., Matsuo H. und Eto T. (1993a). „Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma“. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 192.2, S. 553–560.
- Kitamura K., Sakata J., Kangawa K., Kojima M., Matsuo H. und Eto T. (1993b). „Cloning and Characterization of cDNA Encoding a Precursor for Human Adrenomedullin“. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 194.2, S. 720–725.
- Koch A. und Singer H. (2003). „Normal values of B type natriuretic peptide in infants, children, and adolescents“. *Heart (British Cardiac Society)* 89.8, S. 875–878.
- Koch L., Dabek M. T., Frommhold D. und Poeschl J. (2011). „Stable precursor fragments of vasoactive peptides in umbilical cord blood of term and preterm infants“. *Hormone research in paediatrics* 76.4, S. 234–239.

-
- Kontos M. C., Diercks D. B. und Kirk J. D. (2010). „Emergency Department and Office-Based Evaluation of Patients With Chest Pain“. *Mayo Clinic Proceedings* 85.3, S. 284–299.
- Kraus D. M., Feng L., Heine R. P., Brown H. L., Caron K. M., Murtha A. P. und Grotegut C. A. (2014). „Cigarette Smoke-Induced Placental Adrenomedullin Expression and Trophoblast Cell Invasion“. *Reproductive Sciences* 21.1, S. 63–71.
- Kubicek W. G., Karnegis J. N., Patterson R. P., Witsoe D. A. und Mattson R. H. (1966). „Development and evaluation of an impedance cardiac output system“. *Aerospace medicine* 37.12, S. 1208–1212.
- Kubicek W. G., Patterson R. P. und Witsoe D. A. (1970). „Impedance Cardiography as a Noninvasive Method of Monitoring Cardiac Function and Other Parameters of the Cardiovascular System*“. *Annals of the New York Academy of Sciences* 170.2, S. 724–732.
- Kulkarni M., Gokulakrishnan G., Price J., Fernandes C. J., Leeflang M. und Pammi M. (2015). „Diagnosing Significant PDA Using Natriuretic Peptides in Preterm Neonates: A Systematic Review“. *Pediatrics* 135.2, e510–e525.
- Land H., Schütz G., Schmale H. und Richter D. (1982). „Nucleotide sequence of cloned cDNA encoding bovine arginine vasopressin–neurophysin II precursor“. *Nature* 295.5847, S. 299–303.
- Lechner E., Wiesinger-Eidenberger G., Wagner O., Weissensteiner M., Schreier-Lechner E., Leibetseder D., Arzt W. und Tulzer G. (2009). „Amino Terminal pro B-Type Natriuretic Peptide Levels Are Elevated in the Cord Blood of Neonates With Congenital Heart Defect“. *Pediatric Research* 66.4, S. 466–469.
- Letzner J., Berger F., Schwabe S., Benzing J., Morgenthaler N. G., Bucher H. U., Bühler C., Arlettaz R. und Wellmann S. (2012). „Plasma C-Terminal Pro-Endothelin-1 and the Natriuretic Pro-Peptides NT-proBNP and MR-proANP in Very Preterm Infants with Patent Ductus Arteriosus“. *Neonatology* 101.2, S. 116–124.
- Lien R., Hsu K.-H., Chu J.-J. und Chang Y.-S. (2014). „Hemodynamic alterations recorded by electrical cardiometry during ligation of ductus arteriosus in preterm infants“. *European Journal of Pediatrics* 174.4, S. 543–550.
- Lindinger A., Dähnert I. und Riede F. (2013). „Stellungnahme zum Pulsoximetrie-Screening zur Erfassung von kritischen angeborenen Herzfehlern im Neugeborenenalter“. *Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Kardiologie*.
- Lipshultz S. E., Simbre V. C., Hart S., Rifai N., Lipsitz S. R., Reubens L. und Sinkin R. A. (2008). „Frequency of Elevations in Markers of Cardiomyocyte Damage in Otherwise Healthy Newborns“. *The American journal of cardiology* 102.6, S. 761–766.
- Lüderitz B., Arnold G., Adam W., Bircks W., Gleichmann U., Heintzen P., Hort W., Jacob R., Kissling G., Lichtlen P., Pfeiffer D., Riegger G., Schaper W., Scholz H. und Spieckermann P. (2002). *75 Jahre Deutsche Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung*. Hrsg. von B. Lüderitz und G. Arnold. Berlin: Springer.

-
- Maisel A. S., Krishnaswamy P., Nowak R. M., McCord J., Hollander J. E., Duc P., Omland T., Storrow A. B., Abraham W. T., Wu A. H. B., Clopton P., Steg P. G., Westheim A., Knudsen C. W., Perez A., Kazanegra R., Herrmann H. C., McCullough P. A. und Breathing Not Properly Multinational Study Investigators (2002). „Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure“. *The New England Journal of Medicine* 347.3, S. 161–167.
- Malfatto G., Branzi G., Giglio A., Villani A., Facchini C., Ciambellotti F., Facchini M. und Parati G. (2010). „Transthoracic bioimpedance and brain natriuretic peptide levels accurately indicate additional diastolic dysfunction in patients with chronic advanced systolic heart failure“. *European Journal of Heart Failure* 12.9, S. 928–935.
- Malmivuo J. und Plonsey R. (1995). *Bioelectromagnetism: Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields*. Oxford University Press.
- Mannarino S., Garofoli F., Mongini E., Cerbo R. M., Codazzi A. C., Tziella C., Mazzucchelli I., Perotti G., Tinelli C., De Silvestri A., Manzoni P. und Stronati M. (2010). „BNP concentrations and cardiovascular adaptation in preterm and fullterm newborn infants“. *Early Human Development* 86.5, S. 295–298.
- Mannix E. T., Farber M. O., Aronoff G. R., Cockerill E. M., Ryan T., Sullivan T. Y., Carlone S., Palange P., Galassetti P., Serra P. und Et A. (1991). „Regulation of atrial natriuretic peptide release in normal humans“. *Journal of Applied Physiology* 71.4, S. 1340–1345.
- Masson S., Latini R., Carbonieri E., Moretti L., Rossi M. G., Ciricugno S., Milani V., Marchioli R., Struck J., Bergmann A., Maggioni A. P., Tognoni G., Tavazzi L. und on behalf of the GISSI-HF Investigators (2010). „The predictive value of stable precursor fragments of vasoactive peptides in patients with chronic heart failure: data from the GISSI-heart failure (GISSI-HF) trial“. *European Journal of Heart Failure* 12.4, S. 338–347.
- McAuliffe F., Mears K., Fleming S., Grimes H. und Morrison J. J. (2004). „Fetal Cardiac Troponin I in Relation to Intrapartum Events and Umbilical Artery pH“. *American Journal of Perinatology* 21.3, S. 147–152.
- McMurray J. J. V., Adamopoulos S., Anker S. D., Auricchio A., Bohm M., Dickstein K., Falk V., Filippatos G., Fonseca C., Gomez-Sanchez M. A., Jaarsma T., Kober L., Lip G. Y. H., Maggioni A. P., Parkhomenko A., Pieske B. M., Popescu B. A., Ronnevik P. K., Rutten F. H., Schwitter J., Seferovic P., Stepinska J., Trindade P. T., Voors A. A., Zannad F., Zeiher A., ESC Committee for Practice Guidelines (CPG), Bax J. J., Baumgartner H., Ceconi C., Dean V., Deaton C., Fagard R., Funck-Brentano C., Hasdai D., Hoes A., Kirchhof P., Knuuti J., Kolh P., McDonagh T., Moulin C., Popescu B. A., Reiner Z., Sechtem U., Sirnes P. A., Tendera M., Torbicki A., Vahanian A., Windecker S., Document Reviewers, McDonagh T., Sechtem U., Bonet L. A., Avraamides P., Ben Lamin H. A., Brignole M., Coca A., Cowburn P., Dargie H., Elliott P., Flachskampf F. A., Guida G. F., Hardman S., Iung B., Merkely B.,

-
- Mueller C., Nanas J. N., Nielsen O. W., Orn S., Parissis J. T. und Ponikowski P. (2012). „ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC“. *European Heart Journal* 33.14, S. 1787–1847.
- Medis Medizinische Messtechnik (2014). *ICG - Impedance Cardiography*. Illmenau, Deutschland. URL: <https://medis.company/cms/index.php?page=icg-impedance-cardiography> (besucht am 10. 10. 2014).
- Meeran K., O’Shea D., Upton P. D., Small C. J., Ghatei M. A., Byfield P. H. und Bloom S. R. (1997). „Circulating Adrenomedullin Does Not Regulate Systemic Blood Pressure but Increases Plasma Prolactin after Intravenous Infusion in Humans: A Pharmacokinetic Study“. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 82.1, S. 95–100.
- Michener M. L., Gierse J. K., Seetharam R., Fok K. F., Olins P. O., Mai M. S. und Needleman P. (1986). „Proteolytic processing of atriopeptin prohormone.“ *Molecular Pharmacology* 30.6, S. 552–557.
- Miguel D., Prieto B., Costa M., Coto D. und Alvarez F. V. (2011). „Cord blood plasma reference intervals for potential sepsis markers: Pro-adrenomedullin, pro-endothelin, and pro-atrial natriuretic peptide“. *Clinical Biochemistry* 44.4, S. 337–341.
- Miller M. J., Martínez A., Unsworth E. J., Thiele C. J., Moody T. W., Elsasser T. und Cuttitta F. (1996). „Adrenomedullin Expression in Human Tumor Cell Lines. Its potential role as an autocrine growth factor“. *Journal of Biological Chemistry* 271.38, S. 23345–23351.
- Mir T. S., Flato M., Falkenberg J., Haddad M., Budden R., Weil J., Albers S. und Laer S. (2006). „Plasma concentrations of N-terminal brain natriuretic peptide in healthy children, adolescents, and young adults: effect of age and gender“. *Pediatric Cardiology* 27.1, S. 73–77.
- Mir T. S., Laux R., Hellwege H. H., Liedke B., Heinze C., Buelow H. v., Läer S. und Weil J. (2003). „Plasma Concentrations of Aminoterminal Pro Atrial Natriuretic Peptide and Aminoterminal Pro Brain Natriuretic Peptide in Healthy Neonates: Marked and Rapid Increase After Birth“. *Pediatrics* 112.4, S. 896–899.
- Montuenga L. M., Martínez A., Miller M. J., Unsworth E. J. und Cuttitta F. (1997). „Expression of Adrenomedullin and Its Receptor during Embryogenesis Suggests Autocrine or Paracrine Modes of Action“. *Endocrinology* 138.1, S. 440–451.
- Morgenthaler N. G., Müller B., Struck J., Bergmann A., Redl H. und Christ-Crain M. (2007). „Copeptin, a stable peptide of the arginine vasopressin precursor, is elevated in hemorrhagic and septic shock“. *Shock* 28.2, S. 219–226.

-
- Morgenthaler N. G., Struck J., Alonso C. und Bergmann A. (2005). „Measurement of Midregional Proadrenomedullin in Plasma with an Immunoluminometric Assay“. *Clinical Chemistry* 51.10, S. 1823–1829.
- Morgenthaler N. G., Struck J., Alonso C. und Bergmann A. (2006). „Assay for the Measurement of Copeptin, a Stable Peptide Derived from the Precursor of Vasopressin“. *Clinical Chemistry* 52.1, S. 112–119.
- Morgenthaler N. G., Struck J., Thomas B. und Bergmann A. (2004). „Immunoluminometric Assay for the Midregion of Pro-Atrial Natriuretic Peptide in Human Plasma“. *Clinical Chemistry* 50.1, S. 234–236.
- Moriichi A., Cho K., Mizushima M., Furuse Y., Akimoto T., Yamada T. und Minakami H. (2012). „B-type natriuretic peptide levels at birth predict cardiac dysfunction in neonates“. *Pediatrics International* 54.1, S. 89–93.
- Mueller C. (2014). „Biomarkers and acute coronary syndromes: an update“. *European Heart Journal* 35.9, S. 552–556.
- Mukoyama M., Nakao K., Hosoda K., Suga S., Saito Y., Ogawa Y., Shirakami G., Jougasaki M., Obata K. und Yasue H. (1991). „Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans. Evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide.“ *Journal of Clinical Investigation* 87.4, S. 1402–1412.
- Nakagawa O., Ogawa Y., Itoh H., Suga S., Komatsu Y., Kishimoto I., Nishino K., Yoshimasa T. und Nakao K. (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.“ *Journal of Clinical Investigation* 96.3, S. 1280–1287.
- Nakao K., Morii N., Itoh H., Yamada T., Shiono S., Sugawara A., Saito Y., Mukoyama M., Arai H. und Sakamoto M. (1986). „Atrial natriuretic polypeptide in the brain: implication of central cardiovascular control“. *Journal of Hypertension. Supplement: Official Journal of the International Society of Hypertension* 4.6, S492–496.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (2002). „Interference Testing in Clinical Chemistry: Approved Guideline“. *NCCLS document EP7-A. Villanova*.
- Neumann J. T., Tzikas S., Funke-Kaiser A., Wilde S., Appelbaum S., Keller T., Ojeda-Echevarria F., Zeller T., Zwiener I., Sinning C. R., Jagodzinski A., Schnabel R. B., Lackner K. J., Münzel T., Blankenberg S., Wild P. S. und Sydow K. (2013). „Association of MR-proadrenomedullin with cardiovascular risk factors and subclinical cardiovascular disease“. *Atherosclerosis* 228.2, S. 451–459.
- Nishikimi T., Kitamura K., Saito Y., Shimada K., Ishimitsu T., Takamiya M., Kangawa K., Matsuo H., Eto T. und Omae T. (1994). „Clinical studies on the sites of production and clearance of circulating adrenomedullin in human subjects.“ *Hypertension* 24.5, S. 600–604.

-
- Noda Y., Sohara E., Ohta E. und Sasaki S. (2010). „Aquaporins in kidney pathophysiology“. *Nature Reviews Nephrology* 6.3, S. 168–178.
- Noori S., Drabu B., Soleymani S. und Seri I. (2012). „Continuous non-invasive cardiac output measurements in the neonate by electrical velocimetry: a comparison with echocardiography“. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition* 97.5, F340–F343.
- Noori S. und Seri I. (2005). „Pathophysiology of newborn hypotension outside the transitional period“. *Early Human Development* 81.5, S. 399–404.
- Norozi K., Beck C., Osthaus W. A., Wille I., Wessel A. und Bertram H. (2008). „Electrical velocimetry for measuring cardiac output in children with congenital heart disease“. *British journal of anaesthesia* 100.1, S. 88–94.
- Oldgren J., Hijazi Z., Lindbäck J., Alexander J. H., Connolly S. J., Eikelboom J. W., Ezekowitz M. D., Granger C. B., Hylek E. M., Lopes R. D., Siegbahn A., Yusuf S. und Wallentin L. (2016). „Performance and Validation of a Novel Biomarker-Based Stroke Risk Score for Atrial Fibrillation“. *Circulation*.
- Oshikawa S., Tanoue A., Koshimizu T.-a., Kitagawa Y. und Tsujimoto G. (2004). „Vasopressin Stimulates Insulin Release from Islet Cells through V1b Receptors: a Combined Pharmacological/Knockout Approach“. *Molecular Pharmacology* 65.3, S. 623–629.
- Ostergaard L., Rudiger A., Wellmann S., Gammella E., Beck-Schimmer B., Struck J., Maggiorini M. und Gassmann M. (2014). „Arginine-vasopressin marker copeptin is a sensitive plasma surrogate of hypoxic exposure“. *Hypoxia*, S. 143.
- Osyпка Medical (2011). *Gebrauchsanweisung AESCULON Kardiovaskulärer Monitor. Berlin, Deutschland.*
- Osyпка Medical (2016). *Electrical Cardiometry Technology. Berlin, Deutschland.* URL: <http://cardiotronic.net/electrical-cardiometry-technology-ec> (besucht am 06.08.2016).
- Pape H.-C., Kurtz A. und Silbernagl S. (2014). *Physiologie*. 7. Aufl. Stuttgart: Thieme.
- Parmacek M. S. und Solaro R. (2004). „Biology of the troponin complex in cardiac myocytes“. *Progress in Cardiovascular Diseases* 47.3, S. 159–176.
- Partridge E. A., Hanna B. D., Rintoul N. E., Herkert L., Flake A. W., Adzick N. S., Hedrick H. L. und Peranteau W. H. (2015). „Brain-type natriuretic peptide levels correlate with pulmonary hypertension and requirement for extracorporeal membrane oxygenation in congenital diaphragmatic hernia“. *Journal of Pediatric Surgery* 50.2, S. 263–266.
- Pérez-Piaya M., Abarca E., Soler V., Coca A., Cruz M., Villagrá F., Giannivelli S. und Asensio Á. (2011). „Levels of N-terminal-pro-brain natriuretic peptide in congenital heart disease surgery and its value as a predictive biomarker“. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* 12.3, S. 461–466.
- Peronnet E., Becquart L., Poirier F., Cubizolles M., Choquet-Kastylevsky G. und Jolivet-Reynaud C. (2006). „SELDI-TOF MS analysis of the Cardiac Troponin I forms

-
- present in plasma from patients with myocardial infarction“. *PROTEOMICS* 6.23, S. 6288–6299.
- Piccoli A. (2004). „Bioelectric impedance vector distribution in peritoneal dialysis patients with different hydration status“. *Kidney International* 65.3, S. 1050–1063.
- Pinsky M. R. (2003). „Why measure cardiac output?“ *Critical Care* 7.2, S. 114–116.
- Pío R., Elsasser T. H., Martínez A. und Cuttitta F. (2002). „Identification, characterization, and physiological actions of factor H as an adrenomedullin binding protein present in human plasma“. *Microscopy Research and Technique* 57.1, S. 23–27.
- Quivers E. S., Murthy J. N. und Soldin S. J. (1999). „The effect of gestational age, birth weight, and disease on troponin I and creatine kinase MB in the first year of life“. *Clinical Biochemistry* 32.6, S. 419–421.
- Rahman A. und Broadley S. A. (2014). „Review article: Elevated troponin: Diagnostic gold or fool’s gold?“ *Emergency Medicine Australasia* 26.2, S. 125–130.
- Ratnasamy C., Kinnamon D. D., Lipshultz S. E. und Rusconi P. (2008). „Associations between neurohormonal and inflammatory activation and heart failure in children“. *American Heart Journal* 155.3, S. 527–533.
- Reynolds E. W., Ellington J. G., Vranicar M. und Bada H. S. (2004). „Brain-Type Natriuretic Peptide in the Diagnosis and Management of Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn“. *Pediatrics* 114.5, S. 1297–1304.
- Riede F. T., Wörner C., Dähnert I., Möckel A., Kostelka M. und Schneider P. (2010). „Effectiveness of neonatal pulse oximetry screening for detection of critical congenital heart disease in daily clinical routine—results from a prospective multicenter study“. *European Journal of Pediatrics* 169.8, S. 975–981.
- Rios D. R. und Kaiser J. R. (2015). „Vasopressin vs Dopamine for Treatment of Hypotension in ELBW Infants: A Randomized, Blinded Pilot Study“. *The Journal of pediatrics* 166.4, S. 850–855.
- Şahin M., Portakal O., Karagöz T., Haşçelik G. und Özkutlu S. (2010). „Diagnostic performance of BNP and NT-ProBNP measurements in children with heart failure based on congenital heart defects and cardiomyopathies“. *Clinical Biochemistry* 43.16–17, S. 1278–1281.
- Sasse S., Brand N. J., Kyprianou P., Dhoot G. K., Wade R., Arai M., Periasamy M., Yacoub M. H. und Barton P. J. (1993). „Troponin I gene expression during human cardiac development and in end-stage heart failure.“ *Circulation Research* 72.5, S. 932–938.
- Scherbaum W. A. (1983). „Neue Erkenntnisse zur Ausschüttung und Wirkung von Vasopressin und Oxytocin“. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift* 108.51/52, S. 1970–1975.
- Schwachtgen L., Herrmann M., Georg T., Schwarz P., Marx N. und Lindinger A. (2016). „Reference values of NT-proBNP serum concentrations in the umbilical cord blood and in healthy neonates and children“. *Zeitschrift für Kardiologie* 94.6, S. 399–404.

-
- Schwedler G., Lindinger A., Lange P. E., Sax U., Olchvary J., Peters B., Bauer U. und Hense H.-W. (2011). „Frequency and spectrum of congenital heart defects among live births in Germany“. *Clinical Research in Cardiology* 100.12, S. 1111–1117.
- Scirica B. M. und Morrow D. A. (2004). „Troponins in acute coronary syndromes“. *Progress in Cardiovascular Diseases* 47.3, S. 177–188.
- Seegers J., Zabel M., Grüter T., Ammermann A., Weber-Krüger M., Edelmann F., Gelbrich G., Binder L., Herrmann-Lingen C., Gröschel K., Hasenfuß G., Feltgen N., Pieske B. und Wachter R. (2015). „Natriuretic peptides for the detection of paroxysmal atrial fibrillation“. *Open Heart* 2.1.
- Share L. (1988). „Role of vasopressin in cardiovascular regulation.“ *Physiological Reviews* 68.4, S. 1248–1284.
- Smith J., Halse K. G., Damm P., Lindegaard M. L., Amer-Wählin I., Hertel S., Johansen M., Mathiesen E. R., Nielsen L. B. und Goetze J. P. (2013). „Copeptin and MR-proADM in umbilical cord plasma reflect perinatal stress in neonates born to mothers with diabetes and MR-proANP reflects maternal diabetes“. *Biomarkers in Medicine* 7.1, S. 139–146.
- Struck J., Morgenthaler N. G. und Bergmann A. (2005). „Copeptin, a stable peptide derived from the vasopressin precursor, is elevated in serum of sepsis patients“. *Peptides* 26.12, S. 2500–2504.
- Sudoh T., Kangawa K., Minamino N. und Matsuo H. (1988). „A new natriuretic peptide in porcine brain“. *Nature* 332.6159, S. 78–81.
- Sugimoto M., Ota K., Kajihama A., Nakau K., Manabe H. und Kajino H. (2011). „Volume overload and pressure overload due to left-to-right shunt-induced myocardial injury. - Evaluation using a highly sensitive cardiac Troponin-I assay in children with congenital heart disease-“. *Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society* 75.9, S. 2213–2219.
- Sugo S., Minamino N., Kangawa K., Miyamoto K., Kitamura K., Sakata J., Eto T. und Matsuo H. (1994). „Endothelial Cells Actively Synthesize and Secrete Adrenomedullin“. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 201.3, S. 1160–1166.
- Sugo S., Minamino N., Shoji H., Kangawa K., Kitamura K., Eto T. und Matsuo H. (1995). „Interleukin-1, Tumor Necrosis Factor and Lipopolysaccharide Additively Stimulate Production of Adrenomedullin in Vascular Smooth Muscle Cells“. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 207.1, S. 25–32.
- Tarkowska A. und Furmaga-Jabłońska W. (2012). „The Evaluation of Diagnostic Role of Cardiac Troponin T (cTnT) in Newborns with Heart Defects“. *The Scientific World Journal* 2012.
- Thermo Fisher Scientific (2016). *What is TRACE technology? Brahms Instruments. Hennigsdorf, Deutschland.* URL: <http://www.brahms-instruments.com> (besucht am 12.08.2016).

-
- Thygesen K., Mair J., Giannitsis E., Mueller C., Lindahl B., Blankenberg S., Huber K., Plebani M., Biasucci L. M., Tubaro M., Collinson P., Venge P., Hasin Y., Galvani M., Koenig W., Hamm C., Alpert J. S., Katus H. und Jaffe A. S. (2012). „How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care“. *European Heart Journal* 33.18, S. 2252–2257.
- Tobacman L. S. (1996). „Thin Filament-Mediated Regulation of Cardiac Contraction“. *Annual Review of Physiology* 58.1, S. 447–481.
- Tokudome T., Kishimoto I., Shindo T., Kawakami H., Koyama T., Otani K., Nishimura H., Miyazato M., Kohno M., Nakao K. und Kangawa K. (2015). „Importance of Endogenous Atrial and Brain Natriuretic Peptides in Murine Embryonic Vascular and Organ Development“. *Endocrinology* 157.1, S. 358–367.
- Tomaske M., Knirsch W., Kretschmar O., Woitzek K., Balmer C., Schmitz A., Bauersfeld U. und Weiss M. (2008). „Cardiac output measurement in children: comparison of Aesculon® cardiac output monitor and thermodilution“. *British Journal of Anaesthesia* 100.4, S. 517–520.
- Torigoe T., Sato S., Nagayama Y., Sato T. und Yamazaki H. (2015). „Influence of patent ductus arteriosus and ventilators on electrical velocimetry for measuring cardiac output in very-low/low birth weight infants“. *Journal of Perinatology: Official Journal of the California Perinatal Association* 35.7, S. 485–489.
- Türker G., Babaoğlu K., Duman C., Gökalp A., Zengin E. und Arısoy A. E. (2004). „The effect of blood gas and Apgar score on cord blood cardiac Troponin I“. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine* 16.5, S. 315–319.
- Vanderheyden M., Bartunek J. und Goethals M. (2004). „Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects“. *European Journal of Heart Failure* 6.3, S. 261–268.
- Vesely D. L., Blankenship M., Douglass M. A., McCormick M. T., Rodriguez-Paz G. und Schocken D. D. (1996). „Atrial natriuretic peptide increases adrenomedullin in the circulation of healthy humans“. *Life Sciences* 59.3, S. 243–254.
- Vollmar A. M. (1990). „Atrial natriuretic peptide in peripheral organs other than the heart“. *Klinische Wochenschrift* 68.14, S. 699–708.
- Von Haehling S., Jankowska E. A., Morgenthaler N. G., Vassanelli C., Zanolla L., Rozentryt P., Filippatos G. S., Doehner W., Koehler F., Papassotiropoulos J., Kremastinos D. T., Banasiak W., Struck J., Ponikowski P., Bergmann A. und Anker S. D. (2007). „Comparison of Midregional Pro-Atrial Natriuretic Peptide With N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide in Predicting Survival in Patients With Chronic Heart Failure“. *Journal of the American College of Cardiology* 50.20, S. 1973–1980.
- Waal E. E. C. d., Konings M. K., Kalkman C. J. und Buhre W. F. (2008). „Assessment of stroke volume index with three different bioimpedance algorithms: lack of agreement compared to thermodilution“. *Intensive Care Medicine* 34.4, S. 735–739.
- Wang L., Gala M., Yamamoto M., Pino M. S., Kikuchi H., Shue D. S., Shirasawa S., Austin T. R., Lynch M. P., Rueda B. R., Zukerberg L. R. und Chung D. C. (2014).

-
- „Adrenomedullin is a therapeutic target in colorectal cancer“. *International Journal of Cancer* 134.9, S. 2041–2050.
- Wang T. J., Larson M. G., Levy D., Leip E. P., Benjamin E. J., Wilson P. W. F., Sutherland P., Omland T. und Vasani R. S. (2002). „Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults“. *The American Journal of Cardiology* 90.3, S. 254–258.
- Wellmann S., Benzing J., Cippà G., Admaty D., Creutzfeldt R., Mieth R. A., Beinder E., Lapaire O., Morgenthaler N. G., Haagen U., Szinnai G., Bühner C. und Bucher H. U. (2010). „High Copeptin Concentrations in Umbilical Cord Blood after Vaginal Delivery and Birth Acidosis“. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 95.11, S. 5091–5096.
- Wellmann S., Koslowski A., Spanaus K., Zimmermann R. und Burkhardt T. (2016). „Fetal Release of Copeptin in Response to Maternal Oxytocin Administration: A Randomized Controlled Trial“. *Obstetrics & Gynecology* 128.4, S. 699–703.
- Weyer S., Zink M. D., Wartzek T., Leicht L., Mischke K., Vollmer T. und Steffen Leonhardt (2014). „Bioelectrical impedance spectroscopy as a fluid management system in heart failure“. *Physiological Measurement* 35.6, S. 917.
- Wieacker P. und Steinhard J. (2010). „The prenatal diagnosis of genetic diseases“. *Deutsches Ärzteblatt International* 107.48, S. 857–862.
- Wijeyaratne C. N. und Moulton P. J. (1993). „The effect of alpha human atrial natriuretic peptide on plasma volume and vascular permeability in normotensive subjects“. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 76.2, S. 343–346.
- Wildi K., Zellweger C., Twerenbold R., Jaeger C., Reichlin T., Haaf P., Faoro J., Giménez M. R., Fischer A., Nelles B., Druce S., Krivoshei L., Hillinger P., Puelacher C., Herrmann T., Campodarve I., Rentsch K., Steuer S., Osswald S. und Mueller C. (2015). „Incremental value of copeptin to highly sensitive cardiac Troponin I for rapid rule-out of myocardial infarction“. *International Journal of Cardiology* 190, S. 170–176.
- Wu F., Yan W., Pan J., Morser J. und Wu Q. (2002). „Processing of pro-atrial natriuretic peptide by corin in cardiac myocytes“. *Journal of Biological Chemistry*.
- Xiajuan Z., Ding D., Yanyan H. und Zhen H. (2013). „Impedance cardiographic hemodynamic variables and hypertension in elderly Han residents“. *Upsala Journal of Medical Sciences* 118.2, S. 80–86.
- Yandle T. G., Richards A. M., Nicholls M. G., Cuneo R., Espiner E. A. und Livesey J. H. (1986). „Metabolic clearance rate and plasma half life of alpha-human atrial natriuretic peptide in man“. *Life Sciences* 38.20, S. 1827–1833.
- Ying P., Serife A.-G., Deyang Y. und Ying G. (2014). „Top-down Mass Spectrometry of Cardiac Myofilament Proteins in Health and Disease“. *Proteomics. Clinical applications* 8, S. 554–568.

-
- Yotsumoto S., Shimada T., Cui C.-Y., Nakashima H., Fujiwara H. und Ko M. S. H. (1998). „Expression of Adrenomedullin, a Hypotensive Peptide, in the Trophoblast Giant Cells at the Embryo Implantation Site in Mouse“. *Developmental Biology* 203.2, S. 264–275.
- Zaks-Zilberman M., Salkowski C. A., Elsasser T., Cuttitta F. und Vogel S. N. (1998). „Induction of Adrenomedullin mRNA and Protein by Lipopolysaccharide and Paclitaxel (Taxol) in Murine Macrophages“. *Infection and Immunity* 66.10, S. 4669–4675.
- Zaramella P., Saraceni E., Freato F., Falcon E., Suppiej A., Milan A., Laverda A. M. und Chiandetti L. (2007). „Can tissue oxygenation index (TOI) and cotside neurophysiological variables predict outcome in depressed/asphyxiated newborn infants?“ *Early Human Development* 83.8, S. 483–489.

KAPITEL 8

Anhang

Dokumente der „Studie zu kardialen Biomarkern in der Pädiatrie“.

- Aufklärungsbogen
- Einverständniserklärung
- Datenschutzbogen

Elternaufklärungsbogen Biomarkerstudie neonatal

Sehr geehrte Eltern,
wir möchten Sie um Teilnahme an einer „**Studie zu Biomarkern bei Kindern**“, die hier im Universitätsklinikum Eppendorf durchgeführt wird, bitten.

Hintergrund:

Es gibt Biomarker (NT-BNP, MR-ANP, Adrenomedullin, hs-Troponin, GDF 15, Endothelin 1) über deren Bedeutung bei Kindern noch wenig bekannt ist. Diese Biomarker sind Laborwerte, die möglicherweise anzeigen können, ob es Auffälligkeiten im Kreislauf gibt.

Unser Anliegen:

Wir möchten bei Kindern für diese Biomarker Normalwerte ermitteln und deren Bedeutung untersuchen.

Studienaufbau:

Bei der Geburt: Wir würden dazu jeweils ca. 6 ml Blut der Mutter und aus der Plazenta (Nabelschnurblut) untersuchen. Das hat den Vorteil, dass wir weder bei Ihnen (der Mutter) noch bei Ihrem Kind extra zu diesem Zweck Blut abnehmen müssen. Sie (als Mutter) bekommen für die Geburt in der Regel ohnehin einen venösen Zugang, aus dem dann zusammen mit den üblicherweise bestimmten Laborwerten die zusätzliche Blutprobe abgenommen würde. Das Nabelschnurblut wird nach der Geburt aus der Plazenta entnommen, dazu muss Ihr Kind nicht eigens gestochen werden.

Nach der Geburt: Wir würden im Laufe des Aufenthaltes am UKE einmalig zwischen dem zweiten und vierten Lebenstag mit einem Impedanzkardiographiegerät nicht-invasiv wie bei einem EKG mit EKG-Elektroden bei Ihrem Kind messen, wieviel Blut das Herz pumpt. Diese Messung dauert ca. 5 Minuten und ist für Ihr Kind nicht belastend.

Es werden also keine Blutabnahmen eigens für die Biomarkerstudie durchgeführt, es wird nur eine geringe Menge Blut im Falle von ohnehin stattfindenden Blutabnahmen, bzw. aus der Plazenta zusätzlich gewonnen. Wir würden zusätzlich medizinischen Daten und Laborwerte erfassen und auswerten. Die Behandlung Ihres Kindes wird von der Studie nicht beeinflusst. Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig, das Einverständnis zur Studienteilnahme kann ohne Angabe von Gründen jederzeit widerrufen werden. Die Datenauswertung erfolgt verschlüsselt unter Berücksichtigung des Datenschutzes.

Mit freundlichen Grüßen,

Dr. med. Martin Blohm / Dr. med. Florian Arndt
Dr. med. Anna Hammerer / Dr. med. Jenny Busch/ Dr. med. Laura Maaß / cand. med. Jan Sandig
Zentrum für Geburtshilfe, Kinder- und Jugendmedizin
Universitäres Herzzentrum, Kinderkardiologie, Martinistr. 52, 20246 Hamburg
Ansprechpartner über Tel. 040 7410 53722 erreichbar
Version: 2013-08-28 Elternaufklärungsbogen Biomarker-Studie neonatal

**Einverständniserklärung
Biomarkerstudie**

**Ansprechpartner
Dr. med. Martin Blohm /
Dr. med. P. Glosemeyer /
Dr. med. Florian Arndt /
cand med. Jan Sandig
Universitätskinderklinik
Zentrum für Geburtshilfe,
Kinder – und Jugendmedizin
Kinderkardiologie
Martinistr. 52, 20246 Hamburg,
Tel. 040 7410 53722**

„Studie zu Biomarkern bei Kindern“,

..... (Name des aufklärenden Arztes, Name der aufklärenden Person) hat mich vollständig über das Wesen und die Bedeutung der geplanten Studie aufgeklärt. Ich konnte dabei alle interessierenden Fragen stellen. Ferner hatte ich die Gelegenheit, das Aufklärungsblatt (Version 2013-08-28) und den Aufklärungsbogen zum Datenschutz (Version 2013-08-28) genau durchzulesen und auch dazu Fragen zu stellen. Jeweils ein Exemplar des Aufklärungsbogens / des Datenschutzbogens und der Einverständniserklärung ist mir zum Verbleib ausgehändigt worden.

Ich bin damit einverstanden, dass die im Rahmen der Studie erhobenen persönlichen Daten der Schweigepflicht und den datenschutzrechtlichen Bestimmungen unterliegen. Sie werden in Papierform und auf elektronischen Datenträgern pseudonymisiert (verschlüsselt) gespeichert. Die Auswertung der Daten erfolgt pseudonymisiert.

Eine Weitergabe an Dritte oder Veröffentlichung der Studienergebnisse erfolgt nur in pseudonymisierter Form. Die Speicherung der Daten ist für die Dauer von 10 Jahren vorgesehen. Bei Widerruf der Einverständniserklärung werden die personenbezogenen Daten entweder gelöscht oder anonymisiert und in dieser Form weiter genutzt.

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Die Bedenkzeit war angemessen. Mir/uns ist bekannt, dass diese Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne persönliche Nachteile mündlich oder schriftlich widerrufen werden kann.

Ich bestätige durch meine Unterschrift, dass ich die Aufklärung verstanden habe und mit der Durchführung der geplanten Studie einverstanden bin.

Hamburg, den:..... Unterschriften: Mutter:.....

Vater:

Arzt/Ärztin :.....

Version: 2013-10-08 Einverständniserklärung Biomarkerstudie Studie neonatal

Datenschutzbogen

**Ansprechpartner
Dr. med. Martin Blohm
Universitätskinderklinik
Sektion Neonatologie/Päd. Intensivmedizin
Martinistr. 52
20246 Hamburg
Tel. 040 7410 53722**

„Studie zu Biomarkern bei Kindern“,

Sehr geehrte Eltern,

hier einige Informationen zum Datenschutz (gemäß §6 BDSG).

Die im Rahmen der Studie erhobenen persönlichen Daten und insbesondere Befunde unterliegen der Schweigepflicht und den datenschutzrechtlichen Bestimmungen. Sie werden in Papierform und auf elektronischen Datenträgern pseudonymisiert (verschlüsselt) gespeichert. Pseudonymisieren ist das Ersetzen des Namens und anderer Identifikationsmerkmale durch ein Kennzeichen, zu dem Zweck, die Bestimmung des Betroffenen auszuschließen oder wesentlich zu erschweren.

Die Auswertung der Daten erfolgt in pseudonymisierter Form.

Eine Weitergabe der erhobenen Daten im Rahmen der Studie und Veröffentlichung der Studienergebnisse erfolgt nur pseudonymisierter bzw. anonymisierter Form.

Sie haben das Recht, über die von Ihnen bzw. Ihrem Kind stammenden personenbezogenen Daten und studienbezogenen Daten Auskunft zu verlangen.

Die Speicherung der Daten ist für die Dauer von 10 Jahren vorgesehen.

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Die Einwilligung kann jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne persönliche Nachteile mündlich oder schriftlich widerrufen werden.

Bei Widerruf der Einverständniserklärung können auf Ihren Wunsch die Daten entweder gelöscht oder anonymisiert werden. Anonymisieren ist das Verändern personenbezogener Daten derart, dass die Einzelangaben nicht mehr unverhältnismäßig großem Aufwand einer bestimmaren natürlichen Person zugeordnet werden können.

2013-08-28 Datenschutzbogen Biomarker Studie neonatal

KAPITEL 9

Danksagung

*Sei auch noch so viel bezeichnet,
Was man fürchtet, was begehrt,
Nur weil es dem Dank sich eignet,
Ist das Leben schätzenswert.*

(Johann Wolfgang von Goethe)

Ich möchte allen Menschen danken, die mit ihren Beiträgen einen großen Anteil an der Planung, Durchführung und Niederschrift dieser Dissertation hatten! Aufrichtig dankbar bin ich meiner Frau Christina, meiner Familie und all meinen Freunden, die es mir immer ermöglicht haben, an meinem Traumberuf festzuhalten.

Stellvertretend für die Kinderkardiologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Weil für das Überlassen dieses spannenden Themas. Ein großes Dankeschön gebührt meinen beiden Betreuern Herrn Dr. Martin Blohm und Dr. Florian Arndt, die mir als kompetente Ansprechpartner jederzeit zur Seite standen. Ohne die Hilfe des freundlichen Hebammenteam, der Geburtshelfer und der guten Seele des Kreißsaal's (Uwe) wäre die Studiendurchführung nie so reibungslos und unkompliziert möglich gewesen. Sehr dankbar bin ich auch für die Hilfe bei der Studienkoordination und der Laborauswertung, wobei ich an dieser Stelle besonders Christiane, Kirstin, Caro, Sabine und Tanja erwähnen möchte. Eine große Stütze bei der Auswertung der Daten war mir Herr Gerhard Schön vom Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie. Ich danke besonders Tante Withe, Christian, Krissi und Caro für ihre geduldigen Korrekturen und aufmerksamen Hinweise.

Abschließend möchte ich mich bei allen teilnehmenden Elternpaaren und den kleinen, fast freiwillig teilnehmenden Kindern bedanken, denen ich mit der Fertigstellung dieser Arbeit zu Ihrem dritten Geburtstag gratulieren darf.

KAPITEL 10

Lebenslauf

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

KAPITEL 11

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe. Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe. Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Jan Sandig