

Evaluation des Roche cobas h232 POC-Systems für die NT-proBNP-Bestimmung im Urin bei Kindern

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. med.)

der Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Laurenz Ole Schneider

aus Velbert

2026

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Johannes Breuer
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Hemmen Sabir

Tag der mündlichen Prüfung: 28.04.2026

Aus dem Zentrum für Kinderheilkunde

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	6
1.1 Grundlagen der natriuretischen Peptide	7
1.1.1 Biochemische Grundlagen	7
1.1.2 Natriuretische Peptid Rezeptoren	9
1.1.3 Abbau von natriuretischen Peptiden	10
1.1.4 Biologische Wirkung	11
1.2 Diagnostische Bedeutung der natriuretischen Peptide	11
1.2.1 Natriuretische Peptide und Herzinsuffizienz	11
1.2.2 Natriuretische Peptide und angeborene Herzfehler	12
1.2.3 Screening auf angeborene Herzfehler mittels natriuretischer Peptide	13
1.2.4 Natriuretische Peptide in der Kinderherzchirurgie	14
1.2.5 Natriuretische Peptide und mechanische Beatmung	14
1.2.6 Prognostische Bedeutung der natriuretischen Peptide	14
1.3 Klinische Chemie	15
1.3.1 BNP	15
1.3.2 NT-proBNP	17
1.3.3 Patientennahe Bestimmung natriuretischer Peptide	17
1.3.4 NT-proBNP im Serum	19
1.4 Natriuretische Peptide im Urin	20
1.5 Fragestellung der vorliegenden Arbeit	21

2.	Material und Methoden	22
2.1	Probanden	22
2.2	Probengewinnung und Bestimmung	22
2.3	NT-proBNP-Bestimmung mittels Elecsys NT-proBNP II-Assay von Roche	24
2.4	NT-proBNP-Bestimmung mittels Roche cobas h232 POC-System	25
2.5	Statistische Auswertung	28
3.	Ergebnisse	30
3.1	Ordinalskala	30
3.2	Korrelation zwischen Roche cobas h232 POC-System und Elecsys NT-proBNP II-Assay	30
3.3	Mehrfachbestimmungen mittels Roche cobas h232 POC-System	33
3.4	Zeitliche Stabilität von NT-proBNP im Urin	36
4.	Diskussion	43
4.1	Evaluation des Roche cobas h232 POC-Systems	43
4.2	Zeitliche Stabilität von NT-proBNP im Urin	46
5.	Zusammenfassung	48
6.	Abbildungsverzeichnis	50
7.	Tabellenverzeichnis	52
8.	Literaturverzeichnis	53
9.	Erklärung zum Eigenanteil	59
10.	Veröffentlichungen	60
11.	Danksagung	61

Abkürzungsverzeichnis

ADH	Antidiuretisches Hormon
ANP	Atrial natriuretic peptide
AS	Aminosäure
BNP	Brain natriuretic peptide
CNP	C-type natriuretic peptide
cGMP	Zyklisches Guanosinmonophosphat
DNP	D-type natriuretic peptide
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
GLORIA	Gold-markierte Antikörper und optisch ablesbarer Immunassay
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin-6
NPRA	Natriuretischer Peptid Rezeptor A
NPRB	Natriuretischer Peptid Rezeptor B
NPRC	Natriuretischer Peptid Rezeptor C
NT-proBNP	N-terminales pro brain natriuretic peptide
POC	Point of Care
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RIA	Radioimmunassay
TNF	Tumornekrosefaktor
VNP	V-type natriuretic peptide

1. Einleitung

Bei einem von circa 100 neugeborenen Kindern lässt sich ein angeborener Herzfehler nachweisen (Liu et al., 2019). Die Diagnose eines angeborenen Herzfehlers verändert nachhaltig das Leben der Kinder und der gesamten Familie. Durch Verbesserung der Pränatalmedizin werden heute viele der Herzfehler noch vor der Geburt erkannt. Häufig genug wird jedoch die Diagnose erst im Laufe der Neugeborenen- und Säuglingsperiode und manchmal sogar erst in der frühen Kindheit gestellt.

Wichtige diagnostische und prognostische Biomarker für eine Herzinsuffizienz sind Brain natriuretic peptide (= BNP) und N-terminales pro brain natriuretic peptide (= NT-proBNP) (Zhang et al., 2018). Müller et al. (2020) zeigten, dass bei Kindern eine gute Korrelation zwischen den NT-proBNP-Werten im Serum und den NT-proBNP-Werten im Urin besteht. Insbesondere bei chronisch kranken Kindern sollten, sofern möglich, Blutentnahmen und traumatische Eingriffe auf ein Mindestmaß reduziert werden. Aus diesem Grund ist die Bestimmung von NT-proBNP im Urin sinnvoll und kann helfen, die Anzahl schmerzhafter Prozeduren zu reduzieren. Um langwierige und komplexe labormedizinisch-diagnostische Prozesse zu umgehen, könnte mittels eines Point-of-Care (= POC) Gerätes eine Bestimmung von NT-proBNP im Urin direkt am Patienten, insbesondere in strukturschwachen und abgelegenen Gebieten, eine Möglichkeit sein, die Versorgung kritisch kranker Kinder weltweit zu verbessern.

Durch die Entwicklung von neuen Routineparametern, sowie die Erstellung von Norm- und Grenzwerten, sollen supportive, nicht-invasive Methoden zur Diagnosestellung und Verlaufsbeobachtung für Kinder mit angeborenen Herzfehlern entwickelt werden.

1.1 Grundlagen der natriuretischen Peptide

Zu den natriuretischen Peptiden gehören Atrial natriuretic peptide (= ANP), BNP, C-type natriuretic peptide (= CNP), D-type natriuretic peptide (= DNP), V-type natriuretic peptide (= VNP), sowie das renal gebildete Urodilatin (Martinez-Rumayor et al., 2008). Sie werden hauptsächlich von Kardiomyozyten sezerniert und haben sowohl eine endokrine, als auch eine parakrine Wirkung (Hall, 2004). Einen stimulierenden Effekt auf die Sekretion haben die mechanische Belastung des Herzmuskels, Hypoxie, Angiotensin II, Endothelin-1, Alpha-Sympathomimetika, Beta-2-Sympathomimetika, das antidiuretische Hormon (= ADH), Zytokine (einschließlich Interleukin-1 (=IL-1), Interleukin-6 (=IL-6) und Tumornekrosefaktor (= TNF-Alpha), Wachstumsfaktoren, Prostaglandine, Glucocorticoide und Östrogene. Inhibierend wirken Androgene und Stickstoffmonoxid (Clerico et al., 2011; Martinez-Rumayor et al., 2008).

Gemeinsames Merkmal der natriuretischen Peptide ist ein über eine Disulfidbrücke gebildetes zyklisches Peptid, bestehend aus 17 Aminosäuren (=AS). Über diesen Ring binden die Peptide an spezifische ektozelluläre Rezeptoren und entfalten so ihre physiologische Wirkung (Cea, 2005). Hauptwirkungen der natriuretischen Peptide sind Diurese, Natriurese und Vasodilatation. Desweiteren wirken sie inhibierend auf inflammatorische Prozesse im Myokard und in glatten Muskelzellen und haben somit einen protektiven Effekt auf endotheliale Dysfunktion und vaskuläres Remodeling (Clerico et al., 2011; Zhang et al., 2018). Die Hauptfunktion der natriuretischen Peptide ist letztlich die Reduktion des Plasmavolumens und dadurch die Senkung des Blutdrucks. Somit stellen sie die wichtigsten Antagonisten des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (= RAAS) dar (Cea, 2005).

1.1.1 Biochemische Grundlagen

Das Gen für BNP befindet sich auf Chromosom 1. Es besteht aus drei Exons und zwei Introns (Martinez-Rumayor et al., 2008). Dieses kodiert für das aus 134 Aminosäuren bestehende Vorläuferprotein präproBNP, welches anschließend weiter prozessiert wird und so das aus 108 Aminosäuren bestehende proBNP₁₋₁₀₈ entsteht. Dieses wird weiter gespalten in das 76 Aminosäuren lange N-terminale NT-proBNP und das 32

Aminosäuren lange, biologisch aktive C-terminale BNP. Die enzymatische Spaltung von proBNP₁₋₁₀₈ findet im trans-Golgi-Netzwerk statt. In geringen Mengen wird das proBNP₁₋₁₀₈ auch direkt in den Kreislauf sezerniert. Ist die Produktion des proBNP₁₋₁₀₈ stark erhöht, beispielsweise im Rahmen einer schweren Herzinsuffizienz, so entstehen nicht nur vermehrt NT-proBNP und BNP, sondern das nicht gespaltene proBNP₁₋₁₀₈ wird auch vermehrt direkt in den Kreislauf ausgeschüttet (Clerico et al., 2011; Clerico et al. 2015; Hall, 2004; Martinez-Rumayor et al., 2008; Zhang et al., 2018).

Das Vorläuferprotein von ANP, proANP, wird in Granula in atrialen Kardiomyozyten gespeichert. Bei einem adäquaten Stimulus, beispielsweise der Dehnung der Herzwand, kommt es zur sofortigen Ausschüttung aus den Granula (Clerico et al., 2011). BNP wird dagegen kaum in Granula gespeichert. Über die Aktivierung verschiedener Signalkaskaden bewirkt ein adäquater Reiz letztlich eine Erhöhung der Transkriptionsrate, sodass es erst später zu einem Anstieg der Plasmakonzentration kommt.

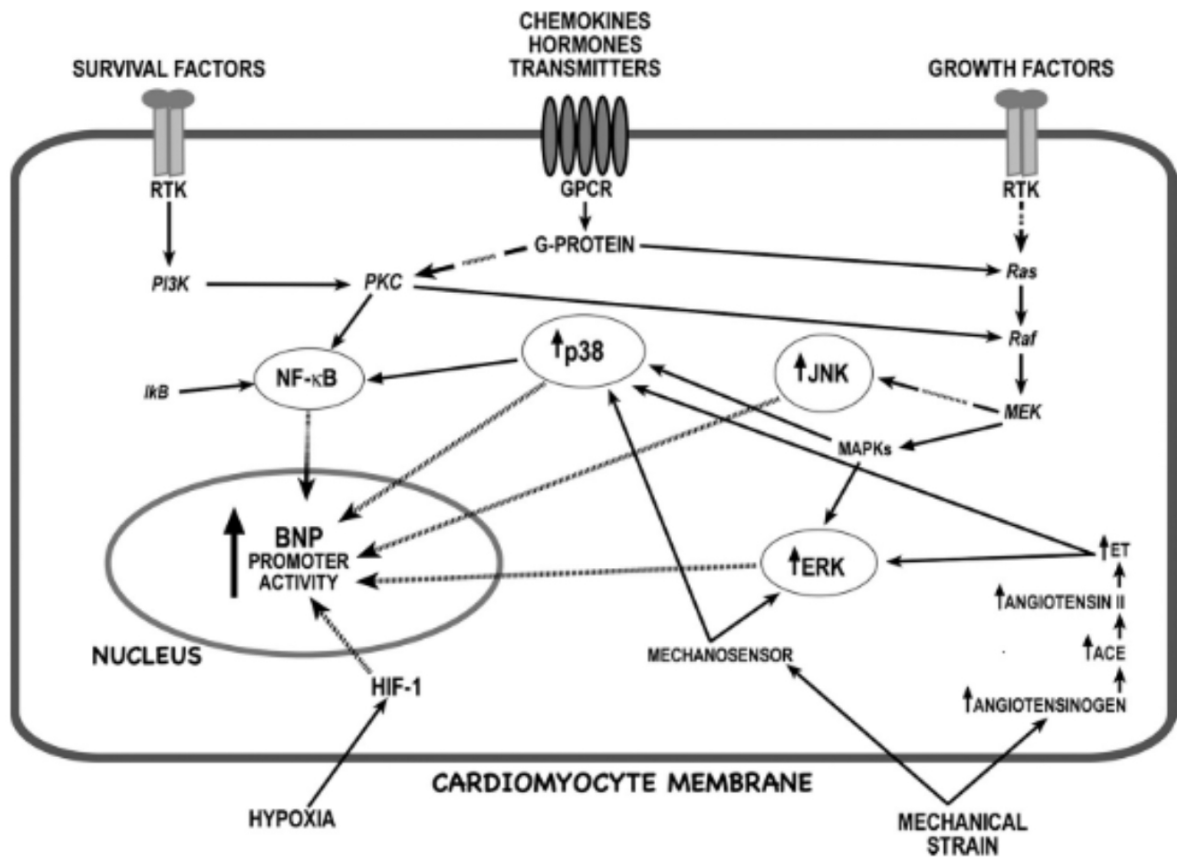


Abb.1 : Schematische Darstellung der BNP-Genregulation, modifiziert nach Clerico et al. (2011). Dargestellt sind verschiedene Signalkaskaden, die durch unterschiedliche Auslöser letztlich zu einer Erhöhung der Aktivität des BNP-Promoters im Zellkern führen. Folglich erhöht sich die Transkriptionsrate.

1.1.2 Natriuretische Peptid Rezeptoren

Natriuretische Peptide vermitteln ihre Hauptwirkungen, indem sie an spezifische membrangebundene Guanylat-Cyclase Rezeptoren binden. Dabei unterscheidet man die folgenden Rezeptoren:

- Natriuretischer Peptid Rezeptor A (=NPRA), der spezifisch ANP und BNP bindet,
- Natriuretischer Peptid Rezeptor B (=NPRB), der spezifisch CNP bindet.

Durch die Aktivierung dieser Rezeptoren kommt es zu einer Erhöhung der intrazellulären Konzentration des „second messenger“ zyklisches

Guanosinmonophosphat (= cGMP). Die Erhöhung des intrazellulären cGMP moduliert die Aktivität verschiedener regulatorischer Proteine, wie zum Beispiel der cGMP-regulierten Phosphodiesterasen, welche letztlich die Zellfunktion modifizieren (Kuhn, 2004).

1.1.3 Abbau von natriuretischen Peptiden

Der Abbau von natriuretischen Peptiden erfolgt über drei verschiedene Mechanismen:

- **Rezeptor-vermittelter Abbau:** Der Natriuretische Peptid Rezeptor C (= NPRC) ist der am häufigsten vorkommende Rezeptor der natriuretischen Peptide. Er bindet gleichermaßen ANP, BNP und CNP. Nach Bindung der Moleküle wird der Rezeptor samt Molekül internalisiert. Der Ligand, also ANP, BNP oder CNP, wird zum Lysosom transportiert und dort abgebaut. Anschließend wandert der Rezeptor wieder zurück in die Zellmembran. Erwähnenswert ist an dieser Stelle, dass unter den Peptid-Signalmolekülen des kardiovaskulären Systems ein separater Rezeptor für den Abbau einzigartig für die natriuretischen Peptide ist. So werden beispielsweise Angiotensin II, Endothelin oder ADH primär durch extrazelluläre Proteasen abgebaut (Potter, 2011).
- **Abbau mittels extrazellulärer Proteasen:** Neprilysin und Insulysin sind Enzyme, die für den Abbau verschiedener Proteine verantwortlich sind, so auch für den Abbau natriuretischer Peptide. Am Abbau der natriuretischen Peptide sind wahrscheinlich auch noch viele weitere Proteasen beteiligt. Dies ist Gegenstand aktueller Forschung (Potter, 2011).
- **Ausscheidung über Körperflüssigkeiten:** BNP wird in Organen mit hohem Blutfluss über passive Exkretion ausgeschieden (Martinez-Rumayor et al., 2008). In der Niere erfolgt die Ausscheidung von BNP und NT-proBNP über eine Kombination aus glomerulärer Filtration, tubulärer Rückresorption, renaler Sekretion und anderen Prozessen, wie zum Beispiel dem Abbau über Endopeptidasen oder über den NPRC (Schou et al., 2005). Weiterhin scheinen noch nicht bekannte tubuläre Prozesse in der Niere zu existieren, die die

Exkretion von NT-proBNP und BNP beeinflussen (Cortés et al., 2012 b). Bis heute sind noch keine Rezeptoren oder Peptidasen bekannt, die NT-proBNP abbauen (Hall, 2004). So wird der Beitrag der Nieren zum Abbau von NT-proBNP kontrovers diskutiert. Es gibt Studien, die eine gleiche renale Clearance von BNP und NT-proBNP nahelegen, während andere Studien zeigen, dass insbesondere BNP über die Nieren ausgeschieden wird (Martinez-Rumayor et al., 2008; Rutten et al., 2006; Schou et al., 2005; van Kimmenade und Januzzi, 2009). Es gilt jedoch als gesichert, dass eine beeinträchtigte Nierenfunktion zu erhöhten Werten sowohl von BNP, als auch von NT-proBNP führt (Kurishima et al., 2015).

1.1.4 Biologische Wirkung

Wie unter 1.1 bereits beschrieben, wirken alle natriuretischen Peptide diuretisch, natriuretisch und vasodilatierend. Weiterhin haben sie einen hemmenden und protektiven Effekt auf inflammatorische Prozesse im Myokard, im Endothel und in glatten Muskelzellen. Auf diese Weise haben sie auch einen modulierenden Effekt auf die Blutgerinnung, die Fibrinolyse und wirken hemmend auf die Thrombozytenaktivierung (Clerico et al., 2011). Die Hauptfunktion von BNP ist die Anpassung des Herzens auf Druck- und/ oder Volumenbelastung. Es reduziert die Sympathikusaktivierung, was zu Vasodilatation führt und es wirkt antagonistisch auf das RAAS, was zu Natriurese und Diurese führt (Afshani et al., 2015). Bei BNP-Knockout-Mäusen kommt es bei ventrikulärer Druckbelastung zu Myokardfibrose mit abnormalem Remodeling. Dies spricht für einen antifibrotischen Effekt von BNP auf den Herzmuskel (Martinez-Rumayor et al., 2008).

1.2 Diagnostische Bedeutung der natriuretischen Peptide

1.2.1 Natriuretische Peptide und Herzinsuffizienz

Gemäß aller internationaler Leitlinien gelten BNP und NT-proBNP als die Standard-Biomarker für die Diagnose einer akuten und chronischen Herzinsuffizienz bei Erwachsenen. Dabei gilt, dass niedrige Konzentrationen von BNP und NT-proBNP das

Vorliegen einer Herzinsuffizienz ausschließen, während höhere Konzentrationen einen hohen positiv prädiktiven Wert für das Vorliegen einer Herzinsuffizienz haben (Cantinotti et al., 2015).

Sowohl BNP, als auch NT-proBNP sind wichtige diagnostische Parameter, um zwischen kardialen und pulmonalen Ursachen für Dyspnoe auch bei Neugeborenen und Kindern zu unterscheiden (Das, 2010). Weiterhin konnte bei Kindern gezeigt werden, dass je weiter fortgeschritten eine Herzinsuffizienz ist, umso höher sind die Werte für BNP und NT-proBNP (Sugimoto et al., 2015). Ebenso sind die beiden Parameter hilfreich bei der frühzeitigen Erkennung einer linksventrikulären Dysfunktion bei Kindern mit einer Doxorubicin-induzierten Kardiomyopathie oder bei Kindern mit einer Kardiomyopathie durch Eisenüberladung im Rahmen einer Beta-Thalassaemia major (Cantinotti et al., 2015).

1.2.2 Natriuretische Peptide und angeborene Herzfehler

Die Konzentration von BNP ist ein guter diagnostischer Parameter um zwischen Kindern mit angeborenem Herzfehler und Kindern ohne angeborenem Herzfehler zu unterscheiden. Dabei ist allerdings zu beachten, dass die BNP-Konzentration eher mit der Art des Herzfehlers assoziiert ist, als mit der Schwere der Erkrankung. So ist die BNP-Konzentration bei Patienten mit komplexen angeborenen Herzfehlern, wie beispielsweise eine Transposition der großen Arterien oder das hypoplastische Linksherzsyndrom, höher als bei Patienten mit einfachen angeborenen Herzfehlern, wie einem persistierenden Ductus arteriosus Botalli. Insbesondere bei Herzfehlern, die zu einem Links-Rechts-Shunt und damit zu einer Rezirkulation von Blut im Lungenkreislauf führen, können BNP und NT-proBNP sehr hilfreich bei der Bewertung der Notwendigkeit einer therapeutischen Intervention sein (Cantinotti et al., 2015). Außerdem korrelieren die Werte von BNP und NT-proBNP mit dem Ausmaß des Shuntvolumens, der pulmonal-arteriellen Hypertonie, sowie mit dem Grad der rechtsventrikulären Dilatation und der pulmonalen Stauung (Santens et al., 2020).

1.2.3 Screening auf angeborene Herzfehler mittels natriuretischer Peptide

Eine weit verbreitete Screening-Methode zur Detektion angeborener Herzfehler ist die Pulsoximetrie. Jedoch ist bei etwa 25 % der kritisch herzkranken Neugeborenen die Pulsoximetrie unauffällig, da sie nicht zu einer Untersättigung beziehungsweise einer Sättigungsdifferenz zwischen oberer und unterer Körperhälfte führen. Am ehesten ist dies der Fall bei kritischen Stenosen im Bereich des Aortenbogens, einer kritischen Aortenisthmusstenose und bei anderen nicht-zyanotischen Herzfehlern, wie beispielsweise einer kritischen Pulmonalstenose oder Vitien mit sehr großem Links-Rechts-Shunt (Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Kardiologie, 2017). So können potentiell lebensbedrohliche Herzfehler übersehen werden. Durch Hinzunahme des BNP-Wertes könnten solche neonatalen Screening-Programme verbessert werden. Insbesondere die Bestimmung des BNP-Wertes im Blut mithilfe eines Point-of-Care Gerätes, zusammen mit der Pulsoximetrie stellt eine einfache, nicht-invasive Screening-Methode, vorallem im ambulanten Bereich dar (Cantinotti et al., 2015).

Blackshear et al. (2018) zeigen, dass die Zusammenschau aus BNP-Wert und einem Thrombozytenfunktionstest eine geeignete Screening-Methode für die hypertrophe obstruktive Kardiomyopathie sein könnte.

Bei einem kleinen Patientenkollektiv in Schweden wurde mithilfe eines speziellen NT-proBNP-Immunassays die Konzentration von NT-proBNP aus Fersenblut von Neugeborenen bestimmt. Dabei zeigte sich, dass der Test gut zwischen gesunden Neugeborenen und Neugeborenen mit angeborenen Herzfehlern differenzierte. Aufgrund dieser Ergebnisse sollten größere Studien an neonatalen Patientenkollektiven mit diesem NT-proBNP-Immunassay erfolgen, sodass in Zukunft die Bestimmung von NT-proBNP aus dem Fersenblut zur Detektion von angeborenen Herzfehlern ein möglicher Bestandteil des Neugeborenen-Screenings in Schweden werden könnte (Clausen et al., 2020).

1.2.4 Natriuretische Peptide in der Kinderherzchirurgie

Auch im perioperativen Management bei kinderherzchirurgischen Eingriffen sind BNP und NT-proBNP wertvolle diagnostische Parameter. So ist beispielsweise ein starker postoperativer Anstieg von BNP mit einer längeren Beatmungsdauer und einem schlechteren 6-Monats-Outcome assoziiert (Amirnovin et al., 2013).

1.2.5 Natriuretische Peptide und mechanische Beatmung

Die Entwöhnung vom Beatmungsgerät, das sogenannte „Weaning“, bleibt bis heute eine Herausforderung für das betreuende Gesundheitspersonal. Tägliches Aufwachen aus der Narkose gefolgt von Spontanatmungsversuchen reduzieren die Dauer der Beatmung und das Risiko für das Auftreten damit assoziierter Erkrankungen, wie beispielsweise die beatmungsassoziierte Pneumonie bei Erwachsenen. Jedoch misslingt der erste Extubationsversuch bei 20-30 % der Patienten. Der Hauptgrund dafür ist typischerweise eine respiratorische Insuffizienz, allerdings kann auch eine Herzinsuffizienz eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen. Auch hier können BNP und NT-proBNP hilfreich sein. So stehen erhöhte Werte in Zusammenhang mit Weaningversagen und prolongiertem Weaning. Weiterhin korreliert die Höhe der Werte mit der Weaningdauer (Zapata et al., 2011; Müller et al., 2021).

1.2.6 Prognostische Bedeutung der natriuretischen Peptide

Es gibt zunehmend Evidenz für die Verwendung von BNP und NT-proBNP als prognostische Parameter bei Kindern, die herzchirurgischen Eingriffen zur Korrektur oder Palliation angeborener Herzfehler unterzogen werden. Fallen die Werte nicht oder steigen sie gar an in der frühen postoperativen Periode, so kann dies auf Komplikationen und/ oder eine nur unzureichende chirurgische Korrektur des Herzfehlers hinweisen (Cantinotti et al., 2015).

1.3 Klinische Chemie

Blutentnahmen für BNP-Assays sollten in Plastikröhrchen erfolgen, da BNP aufgrund der Kallikrein-Aktivierung in Glasröhrchen instabil ist. Zur Bestimmung von BNP wird Ethylendiamintetraessigsäure(= EDTA)-Plasma verwendet, wohingegen NT-proBNP auch aus Serum bestimmt werden kann. Bei Raumtemperatur bleibt BNP für 24 Stunden stabil. Durch Zugabe des Proteaseninhibitors Aprotinin kann die zeitliche Stabilität verlängert werden. NT-proBNP bleibt bei Raumtemperatur im Serum, heparinisiertem Plasma oder EDTA-Plasma, nicht abzentrifugiert, für 72 Stunden stabil (Fu et al., 2018).

1.3.1 BNP

Die am weitesten verbreitete Methode zur Bestimmung von BNP sind Sandwich-Immunassays mit zwei monoklonalen oder polyklonalen Antikörpern, die an zwei verschiedene Epitope binden. Ein Antikörper bindet an die Ringstruktur zur Erkennung der aktiven Form, der andere Antikörper bindet an das N-terminale oder an das C-terminale Ende. Die derzeit verwendeten BNP-Immunassays verwenden verschiedene Antikörper und Kalibratoren mit teils großen systematischen Unterschieden. Beispielsweise erkennen Immunassays, die an das C-terminale Ende binden, nicht die gespaltene Form von BNP, das BNP₁₋₂₇, während Immunassays, die an das N-terminale Ende binden, nicht die gespaltene Form BNP₃₋₃₂ erkennen. Obwohl die Spaltung von proBNP bereits vor oder während der Sekretion stattfindet, ist die Konzentration von proBNP im Blut höher als die Konzentration von BNP. Somit stellt die Konzentration von proBNP einen signifikanten Bestandteil der Immunreaktivität von BNP bei gesunden Menschen, als auch bei Menschen mit Herzinsuffizienz dar (Fu et al., 2018).

Tab. 1: Antikörper und Standardmaterialien, die in kommerziellen BNP-Immunassays verwendet werden, modifiziert nach Fu et al. (2017). Dargestellt ist eine Liste der verschiedenen BNP-Immunassays unterschiedlicher Hersteller. Jeder Hersteller verwendet andere Antikörper. Je nach Immunassay kommt es zu Kreuzreaktionen unterschiedlichen Ausmaßes. Daher lassen sich die Ergebnisse verschiedener Immunassays nicht miteinander vergleichen.

Methode	Capture-Antikörper	Detection-Antikörper	Standardmaterial
Shionogi Radioimmunassay (= RIA)	C-terminales Ende (BC-203), muriner monoklonaler Antikörper, AS 27-32	Ringstruktur (KY-hBNPII), muriner monoklonaler Antikörper	synthetisches BNP
Siemens ADVIA	C-terminales Ende (BC-203), muriner monoklonaler Antikörper, AS 27-32	Ringstruktur (KY-hBNPII), muriner monoklonaler Antikörper	synthetisches BNP
Alere Triage	N-terminales Ende und Teil der Ringstruktur (Scios), muriner monoklonaler Antikörper, AS 5-13	BNP (Biosite), muriner omniklonaler Antikörper, Epitop nicht charakterisiert	rekombinantes BNP
Beckman Coulter Triage	BNP (Biosite), muriner omniklonaler Antikörper, Epitop nicht charakterisiert	N-terminales Ende und Teil der Ringstruktur (Scios), muriner monoklonaler Antikörper, AS 5-13	rekombinantes BNP
Abbott i-STAT	N-terminales Ende und Teil der Ringstruktur (Scios), muriner monoklonaler Antikörper, AS 5-13	C-terminales Ende, muriner monoklonaler Antikörper, AS 26-32	synthetisches BNP

1.3.2 NT-proBNP

Die derzeit verwendeten NT-proBNP-Immunassays verwenden alle Antikörper und Kalibratoren von der Firma Roche mit nur sehr geringen systematischen Unterschieden. Es kommt zu Kreuzreaktionen mit nicht-glykosyliertem proBNP und sie detektieren weder glykosyliertes NT-proBNP, noch proBNP (Fu et al., 2018).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der heutige Standard zur Bestimmung von NT-proBNP und BNP Immunassays sind. Dabei stellt die Komplexität des Stoffwechsels von BNP die Immunassays vor zahlreiche Herausforderungen. So kommt es zu Kreuzreaktionen unterschiedlichen Ausmaßes mit proBNP, NT-proBNP und vielen weiteren Formen von BNP. Aufgrund dieser Kreuzreaktionen variieren die Ergebnisse für BNP aus einer Probe zwischen den einzelnen Immunassays. Daher lassen sich die Ergebnisse verschiedener Immunassays nicht miteinander vergleichen (Fu et al., 2018). Die Einheitlichkeit der Antikörper bei NT-proBNP-Immunassays stellt einen erheblichen Vorteil dar, da so die Ergebnisse verschiedener Immunassays eine bessere Vergleichbarkeit haben.

1.3.3 Patientennahe Bestimmung natriuretischer Peptide

Die im Vorherigen beschriebenen Methoden zur Bestimmung von BNP und NT-proBNP sind alle automatisierte Tests, die im Labor stattfinden müssen. In der Notfallambulanz dauert es heute in der Regel etwa eine Stunde, einschließlich der Blutentnahme, bis ein Ergebnis für den BNP-Wert vorliegt (Shah et al., 2010). Die patientennahe Bestimmung von BNP und NT-proBNP erleichtert nicht nur die Notfallversorgung, sondern ebenfalls die ambulante Versorgung von Patienten außerhalb des Krankenhauses, zum Beispiel im Rahmen von Verlaufskontrollen (Christenson et al., 2014).

Heute gibt es verschiedene Point-of-Care Geräte zur Bestimmung von BNP und NT-proBNP. Allgemein lässt sich sagen, dass die Performance dieser Geräte schlechter ist, als die von Immunassays, da insbesondere die Sensitivität und die Präzision der POC-Geräte geringer ist (Fu et al., 2018). So zeigen beispielsweise Ro et al. (2011), dass das

Triage-System von Biosite deutlich niedrigere Werte für BNP liefert, als der Siemens ADVIA Immunassay.

In vielen Regionen auf dieser Welt stellt schon die medizinische Grundversorgung von Kindern eine Herausforderung dar, sodass die komplexe Versorgung von Kindern mit angeborenen Herzfehlern nur in spezialisierten Zentren erfolgt. Daher ist es wichtig, dass Kinder mit angeborenen Herzfehlern in medizinisch unterversorgten Regionen frühzeitig identifiziert und dann, wenn die lokalen Strukturen es zulassen, in die Zentren weitergeleitet werden. Die Echokardiographie ist der Goldstandard zur Diagnosestellung eines angeborenen Herzfehlers. Jedoch ist ein Ultraschallgerät und entsprechend geschultes Personal in vielen Regionen nicht verfügbar. Daher ist es wichtig, einfache diagnostische Methoden zu entwickeln, die überall in der Welt durchgeführt werden können und finanzierbar sind. Point-of-Care Geräte können diesen Ansprüchen gerecht werden, da sie im Vergleich zu automatisierten Systemen relativ kostenarm und einfach zu bedienen sind.

Ein weiterer Vorteil der patientennahen Bestimmung ist die Unabhängigkeit von aufwändigen Laborstrukturen. Die Tests ermöglichen auch in Häusern ohne ein dauerhaft besetztes Labor unmittelbar am Patientenbett zeitnah ein Ergebnis zu erhalten. Somit entfällt der Versand an ein externes Labor und es werden die zum Teil langwierigen und arbeitsintensiven Bestimmungsprozesse im Labor umgangen.

Tab. 2: Kommerziell verfügbare patientennahe BNP- und NT-proBNP-Tests, modifiziert nach Peetz et al. (2005). Dargestellt sind verschiedene Messgeräte von unterschiedlichen Herstellern, die verschiedene Messmethoden verwenden. Die Messgenauigkeit des Gerätes ist abhängig von der Messmethode.

Methode	Antigen	Antikörper	Messprinzip	Variationskoeffizient	Cutoff (pg/ml)
Biosite Triage	BNP	Scios (capture) Biosite (detection)	Fluoreszenz-Immunoassay	9,9 - 12,2 %	100
Dade Behring Stratus CS	NT-proBNP	Roche (capture und detection)	Fluoreszenz-Immunoassay	2,6 - 5,1 %	125
Mitsubishi Pathfast	BNP	Shionogi (capture und detection)	Chemilumineszenz-Immunoassay	7,1 - 10,0 %	100
Roche CardiacReader	NT-proBNP	Roche (capture und detection)	Gold-markierte Antikörper und optisch ablesbarer Immunassay (= GLORIA)	7 %	125

1.3.4 NT-proBNP im Serum

Für Erwachsene gibt es alters- und geschlechtsunabhängige Referenzwerte für NT-proBNP im Serum. Bei Kindern dagegen sind die Werte altersabhängig und die Referenzwerte existieren nicht für alle Altersklassen. Palm et al. (2020) entwickelten eine Formel zur Bestimmung des Referenzintervalls für Kinder von 0 – 18 Jahren. Mithilfe dieser Formel kann ein Z-Score gebildet werden, der zur Interpretation des NT-proBNP-Wertes im Serum von Kindern verschiedener Altersklassen verwendet werden kann.

1.4 Natriuretische Peptide im Urin

Eine Blutentnahme ist eine invasive diagnostische Maßnahme. Bei Kindern liegen nicht selten schwierige Venenverhältnisse vor, weshalb dafür fachliche Expertise erforderlich ist. Ebenso stellt diese schmerzhafteste Prozedur häufig ein traumatisierendes Ereignis für die Kinder dar. Aus diesen Gründen ist es wichtig, nicht-invasive und nicht-schmerzhafteste Untersuchungsmethoden zu entwickeln, die kein hohes Maß an fachlicher Expertise erfordern. Die Gewinnung von Urin erfüllt diese Anforderungen.

Es gibt einige Studien, die die Nachweisbarkeit von natriuretischen Peptiden im Urin untersucht haben. Jungbauer et al. zeigten bereits 2010, dass die Konzentration von NT-proBNP im Urin bei Erwachsenen signifikant niedriger ist, als die Konzentration von NT-proBNP im Serum. Jedoch besteht eine positive und signifikante Korrelation zwischen diesen Werten. Weiterhin konnten sie eine Korrelation zwischen der NT-proBNP-Konzentration im Urin und dem NYHA-Stadium zur Klassifikation der Herzinsuffizienz aufzeigen. Je höher das NYHA-Stadium, das bedeutet je schwerer die Herzinsuffizienz, desto höher die Konzentration von NT-proBNP im Urin. Verwendet wurde in dieser Studie der Elecsys proBNP-Assay von Roche. Zur Beurteilung der Präzision der Messmethode wurden die Wiederfindungsrate, sowie der Variationskoeffizient von mehrfachen NT-proBNP-Messungen aus dem Urin bestimmt. Die Wiederfindungsrate lag bei 96 % mit einem Konfidenzintervall von 10 %, der Variationskoeffizient lag bei 2,8 % mit einem Konfidenzintervall von 2,4 %. Auf Grundlage dieser Daten wird der Assay als geeignet für die NT-proBNP-Bestimmung aus dem Urin betrachtet. Weitere Daten zur Präzision des Assays bei der Anwendung von Urinproben liegen zum jetzigen Zeitpunkt nicht vor. In weiteren Studien, die sich mit der Bestimmung von NT-proBNP aus dem Urin bei Kindern beschäftigt haben, erfolgte die Bestimmung des Parameters ebenfalls mittels Elecsys proBNP II-Assay von Roche (Müller et al., 2022 a; Müller et al., 2021; Müller et al., 2020).

Ng et al. (2004) demonstrierten eine positive Korrelation zwischen den NT-proBNP-Werten aus dem Urin und den NT-proBNP-Werten aus dem Serum bei Erwachsenen mit linksventrikulärer systolischer Dysfunktion.

Tosse et al. (2012) haben nachgewiesen, dass zur Diagnosestellung eines hämodynamisch signifikanten persistierenden Ductus arteriosus Botalli bei Frühgeborenen die Bestimmung von NT-proBNP im Urin und Serum gleichermaßen geeignet sind.

Müller et al. (2020) zeigten eine positive Korrelation zwischen den NT-proBNP-Werten aus dem Urin und den NT-proBNP-Werten aus dem Serum bei Kleinkindern mit angeborenen Herzfehlern.

Die NT-proBNP-Konzentration im Spontanurin ist ähnlich der Konzentration im 24-Stunden-Sammelurin (Cortés et al., 2012 a). Im klinischen Alltag ist die Gewinnung von Spontanurin, insbesondere bei Kindern, unkomplizierter.

1.5 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Ziel dieser Studie ist es, das Roche cobas h232 POC-System auf die Analysierbarkeit von NT-proBNP im Urin bei Kindern zu evaluieren. Als Kontrollwerte dienen Werte, die mittels Immunassay bestimmt wurden. Weiterhin soll die zeitliche Stabilität des Parameters im Urin demonstriert werden. Hierzu wurde die Konzentration über einen Zeitraum von 96 Stunden in regelmäßigen Abständen untersucht. Dabei gelten die folgenden Nullhypothesen:

- 1) Das Roche cobas h232 POC-System und der Immunassay Elecsys NT-proBNP II von Roche liefern keine vergleichbaren NT-proBNP-Werte aus dem Urin.
- 2) Das Roche cobas h232 POC-System liefert keine reproduzierbaren Ergebnisse.
- 3) Die NT-proBNP-Konzentration im Urin bei Kindern fällt über einen Zeitraum von 96 Stunden in einem klinisch nicht relevantem Ausmaß ab.

2. Material und Methoden

2.1 Probanden

Nach ausführlicher Aufklärung und schriftlichem Einverständnis der Sorgeberechtigten wurden 86 Patienten mit angeborenen Herzfehlern, die sich einer Herzoperation am Universitätsklinikum Bonn unterzogen, in die Studie aufgenommen. Untersucht wurden Urinproben von 32 weiblichen und 54 männlichen Patienten im Alter von null bis sechs Jahren (Median: 11 Monate). Um einen möglichst breiten Messbereich zu erhalten, wurde der NT-proBNP-Wert aus 109 prä- und postoperativen Proben bestimmt. Einige Patienten wurden durch zwei bis fünf Urinproben zu unterschiedlichen Zeitpunkten repräsentiert. Das nicht vorhandene Einverständnis oder fehlende Urinproben führten zum Ausschluss aus der Studie.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Bonn genehmigt (Lfd. Nr: 502/20) und die Untersuchungen wurden auf der Grundlage der revidierten Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes und den entsprechenden gesetzlichen Grundlagen durchgeführt.

2.2 Probengewinnung und Bestimmung

Die Urinproben mit einem Volumen von zwei bis zehn Millilitern wurden mittels Urinbeutel oder einem einliegenden Harnblasenkatheter gewonnen. Insgesamt wurden 104 Urinproben in der BioBank des Universitätsklinikums Bonn aliquotiert und bei -80 Grad Celsius bis zur Weiterverarbeitung eingelagert. Zunächst wurde der NT-proBNP-Wert aus allen 104 Urinproben mithilfe des Elecsys NT-proBNP II-Assays auf dem cobas e801 Modul von Roche bestimmt. Diese Werte dienen als Kontrollwerte. Zusätzlich erfolgte eine Messung des NT-proBNP-Wertes aus den gleichen Urinproben mittels Roche cobas h232 POC-System. Um die Genauigkeit des POC-Gerätes zu überprüfen und die Vergleichbarkeit mit den Werten des Elecsys NT-proBNP II-Assays zu bewerten, wurden 35 Urinproben doppelt und acht Urinproben dreifach gemessen. Die restlichen 69 Urinproben wurden einfach bestimmt.

Zur Untersuchung der zeitlichen Stabilität des NT-proBNP im Urin wurde der Wert aus fünf ungekühlten Urinproben mittels Roche cobas h232 POC-System alle zwölf Stunden bestimmt. Die Lagerung zwischen den Messungen erfolgte bei Raumtemperatur.

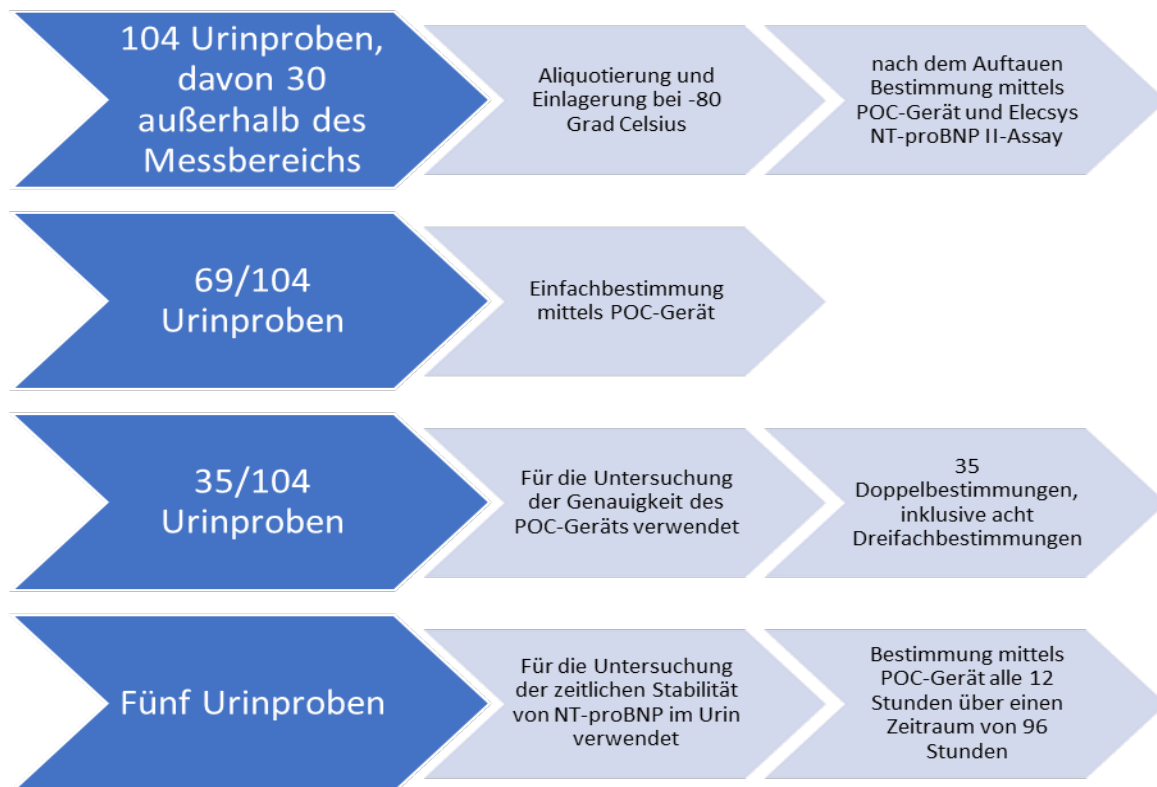


Abb. 2: Verarbeitung der Urinproben, modifiziert nach Müller et al. (2022 b). Nach Gewinnung wurden 104 Urinproben aliquotiert und eingelagert. Nach dem Auftauen wurden davon 69 Urinproben einmalig mittels POC-Gerät bestimmt. Zur Untersuchung der Genauigkeit des POC-Gerätes wurden 35 Urinproben doppelt beziehungsweise dreifach bestimmt. Alle 104 Urinproben wurden ebenfalls mittels Elecsys NT-proBNP II-Assay bestimmt, diese Werte dienen als Kontrollwerte. 30 Urinproben lagen außerhalb des Messbereichs des POC-Gerätes. Zur Untersuchung der zeitlichen Stabilität wurden fünf zusätzliche Urinproben alle zwölf Stunden über einen Zeitraum von 96 Stunden mittels POC-Gerät bestimmt.

2.3 NT-proBNP-Bestimmung mittels Elecsys NT-proBNP II-Assay von Roche

Beim Elecsys NT-proBNP II-Assay handelt es sich um einen Elektrochemilumineszenz-Immunassay (= ECLIA) zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von NT-proBNP in Humanserum oder -plasma. Der Test erfolgt in drei Schritten.

Im ersten Schritt wird die Patientenprobe mit einem biotinylierten und einem ruthenylierten monoklonalen Antikörper inkubiert. Diese beiden Antikörper richten sich gegen verschiedene Epitope des NT-proBNP, sodass es in Gegenwart von NT-proBNP zur Bildung eines Sandwichkomplexes kommt.

Im zweiten Schritt werden die zuvor gebildeten Immunkomplexe nach Zugabe von Streptavidin-beschichteten, paramagnetischen Mikropartikeln über die Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung an die Festphase gebunden.

Im letzten Schritt wird das Reaktionsgemisch in die Messzelle überführt. Dort werden die Mikropartikel auf der Elektrodenoberfläche magnetisch fixiert und ungebundene Substanzen werden entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzreaktion erzeugt. Das dabei emittierte Licht wird über einen Photomultiplier gemessen, wobei sich die Signalstärke proportional zur Analytkonzentration in der Probe verhält. Der Elecsys NT-proBNP II-Assay ist auf verschiedenen Plattformen von Roche verfügbar. In der vorliegenden Studie wurde das cobas e801 Modul verwendet. Hier dauert der Test neun Minuten. Als Probenmaterial können Serum und Plasma verwendet werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Urinproben verwendet. Das Probenvolumen beträgt neun Mikroliter. Der Messbereich dieses Tests liegt zwischen fünf und 35 000 pg/ml (Testbeschreibung „Elecsys NT-proBNP II“ von Roche).

Die Urinproben wurden in Röhrchen gelagert, die für die Verwendung im cobas e801 Modul vorgesehen sind. Diese wurden senkrecht in die geeigneten Racks gestellt. Anschließend wurden die Racks auf ein Racktray geschoben und in die Probenzufuhreinheit des Geräts geladen. Nach Auswahl der zu bestimmenden Parameter, in diesem Fall NT-proBNP, kann man den Test starten. Die Testergebnisse sind anschließend im System des Geräts einsehbar (Benutzerhandbuch „cobas pro integrated solutions von Roche“).

Testprinzip: Einstufiger Sandwich-Assay

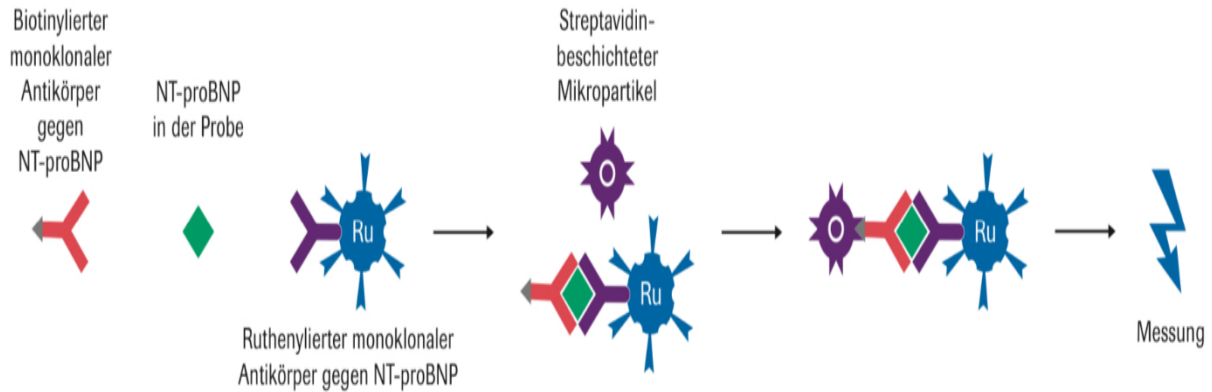


Abb. 3: Testprinzip des Elecsys NT-proBNP II-Assay von Roche (Testbeschreibung „Elecsys NT-proBNP II“ von Roche). Im ersten Schritt wird die Patientenprobe mit einem biotinylierten und einem ruthenylierten Antikörper inkubiert. Die Antikörper richten sich gegen verschiedene Epitope des NT-proBNP, sodass es in Gegenwart von NT-proBNP zur Bildung eines Sandwichkomplexes kommt. Im nächsten Schritt erfolgt die Zugabe von Streptavidin-beschichteten, paramagnetischen Mikropartikeln. Über die Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung werden die zuvor gebildeten Immunkomplexe an die Festphase gebunden. Im letzten Schritt wird das Reaktionsgemisch in die Messzelle überführt. Die Mikropartikel werden auf der Elektrodenoberfläche magnetisch fixiert. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenz-Reaktion erzeugt. Das emittierte Licht wird über einen Photomultiplier gemessen, dabei verhält sich die Signalstärke proportional zur Analytkonzentration in der Probe.

2.4 NT-proBNP-Bestimmung mittels Roche cobas h232 POC-System

Zur Bestimmung von NT-proBNP verwendet das Roche cobas h232 POC-System den Roche CARDIAC proBNP+-Test. Hierbei handelt es sich um einen immunologischen Test, der zugelassen ist für die quantitative In-vitro-Bestimmung von NT-proBNP aus heparinisiertem venösen Vollblut. Im Rahmen dieser Studie wird Urin als Probenmaterial verwendet. Der Test enthält einen monoklonalen und einen polyklonalen Antikörper gegen Epitope des NT-proBNP. Davon ist ein Antikörper mit Gold markiert und der andere Antikörper ist biotinyliert. Auch hier kommt es in Gegenwart von NT-proBNP zur Bildung eines Sandwichkomplexes. Im Anschluss durchfließt die Probe die Nachweiszone, auf der durch Anlagerung der goldmarkierten NT-proBNP-

Sandwichkomplexe das positive Signal als rötliche Linie, der sogenannten Signallinie, sichtbar wird. Die Intensität dieser Signallinie steigt mit der Konzentration von NT-proBNP an. Die überschüssigen goldmarkierten Antikörper binden an der Kontrolllinie. Das optische System im Gerät erkennt die beiden Linien und misst die Intensität der Signallinie. Mittels der integrierten Gerätesoftware wird diese Signalintensität in ein quantitatives Ergebnis umgerechnet, welches dann auf dem Display angezeigt wird. Das Probenvolumen beträgt 150 Mikroliter, die Testdauer zwölf Minuten. Der Messbereich liegt zwischen 60 und 9000 pg/ml (Testbeschreibung „Roche CARDIAC proBNP+“).

Patientenproben können heterophile Antikörper enthalten, die die Ergebnisse von Immunassays verfälschen. Gründe für das Vorhandensein von heterophilen Antikörpern sind zum Beispiel erhöhte Werte von Rheumafaktoren oder die Behandlung des Patienten mit monoklonalen Maus-Antikörpern zu therapeutischen oder diagnostischen Zwecken. Der Test enthält zwar Substanzen, die die Störeinflüsse durch heterophile Antikörper minimieren, jedoch kann keine vollständige Eliminierung von Störeinflüssen aller Proben garantiert werden (Testbeschreibung „Roche CARDIAC proBNP+“). Zum Zeitpunkt der Uringewinnung war bei keinem der Patienten eine Erkrankung aus dem rheumatoiden Formenkreis bekannt, ebenso erhielt keiner eine Therapie mit Antikörpern, sodass die Einschränkungen bei dem in der Studie verwendeten Patientenkollektiv zu vernachlässigen sind.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde anstelle von heparinisiertem venösem Vollblut Urin verwendet. Nach Einschalten des Geräts, wurde der Teststreifen in das Gerät eingeführt. Anschließend wurden 150 Mikroliter Urin mittels Pipette auf das Probenauftragsfeld des Teststreifens aufgetragen und der Test wurde gestartet („Kurzbedienungsanleitung cobas h232 POC-System“ von Roche).



Abb. 4: Verwendung des Roche cobas h232 POC-Systems Teil 1 („Kurzbedienungsanleitung cobas h232 POC System“ von Roche). Nach Einschalten fordert das Gerät den Benutzer auf einen Teststreifen in die dafür vorgesehene Öffnung einzuführen.



Abb. 5: Verwendung des Roche cobas h232 POC-Systems Teil 2 („Kurzbedienungsanleitung cobas h232 POC System“ von Roche). Nach Einführen des Teststreifens wurden 150 Mikroliter Urin auf das Probenauftragsfeld des Teststreifens aufgetragen. Anschließend wurde der Test gestartet.

2.5 Statistische Auswertung

Aufgrund der häufig vorkommenden Werte außerhalb des Messbereichs des POC-Gerätes, insbesondere unterhalb der unteren Messgrenze, erfolgt die Anwendung einer Ordinalskala. Die Werte, die mittels POC-Gerät bestimmt wurden, werden in Quartile aufgeteilt, deren Grenzen ebenfalls auf die mittels Elecsys NT-proBNP II-Assay ermittelten Werte angewendet werden. Der Zusammenhang zwischen den Quartilen wird mittels Spearman-Korrelation beschrieben.

Für die Werte, die innerhalb des Messbereichs des POC-Gerätes liegen, wird der Pearson-Korrelationskoeffizient berechnet, sowie eine Regressionsanalyse durchgeführt. Weiterhin wird für diese Werte ein Bland-Altman-Plot erstellt.

Zur Beurteilung der Genauigkeit der Messmethode werden, wie bereits unter 2.3 beschrieben, 35 Urinproben doppelbestimmt und acht Urinproben dreifach bestimmt. Für diese Mehrfachbestimmungen wird der Variationskoeffizient ermittelt.

Für die Untersuchung der zeitlichen Stabilität des NT-proBNP im Urin wurden die NT-proBNP-Werte von fünf Patienten im zeitlichen Verlauf dargestellt. Weiterhin erfolgte die Bestimmung der Variationskoeffizienten und des Pearson-Korrelationskoeffizienten der einzelnen Messwerte, sowie eine Regressionsanalyse. Außerdem erfolgte eine einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen. Ein p-Wert $\leq 0,05$ wurde als signifikant gewertet.

Die Datenerfassung erfolgte mit dem Softwareprogramm Numbers Version 12.0 für iMac. Die statistische Auswertung erfolgte mittels SPSS-Version 27 für iMac.

3. Ergebnisse

3.1 Ordinalskala

Das erste Quartil umfasst alle Werte, die unterhalb der unteren Messgrenze des POC-Gerätes von 60 pg/ml liegen. Dies entspricht 29 % aller Werte, was eine leichte Überrepräsentation dieser Gruppe ist. Das zweite Quartil beinhaltet alle Werte in einem Messbereich zwischen 60 pg/ml und 232 pg/ml, was 22 % aller Werte ausmacht. Das dritte Quartil umfasst Werte zwischen 232 pg/ml und 2171,5 pg/ml, was 23 % aller Werte entspricht. Werte über 2171,5 pg/ml gehören zum vierten Quartil, das 25 % aller mittels POC-Gerät ermittelten Werte abbildet.

Dieselben Quartilsgrenzen werden auf die NT-proBNP-Werte angewendet, die im Zentrallabor mit dem Elecsys NT-proBNP II-Assay auf dem cobas e801 Modul von Roche bestimmt wurden.

3.2 Korrelation zwischen Roche cobas h232 POC-System und Elecsys NT-proBNP II-Assay

Der Rangkorrelationskoeffizient, der den Zusammenhang zwischen den Quartilen der mit dem POC-Gerät gemessenen Werte und den Quartilen der im Zentrallabor bestimmten Werte beschreibt, beträgt 0,92 mit einer zweiseitigen Signifikanz von $<0,001$. Der NT-proBNP-Wert von 69 Urinproben liegt innerhalb des Messbereichs des POC-Gerätes von 60 pg/ml bis 9000 pg/ml. Im Vergleich mit den im Zentrallabor gemessenen Werten ergibt sich ein Pearson-Korrelationskoeffizient von 0,92, ebenfalls mit einer zweiseitigen Signifikanz von $< 0,001$. Die Regressionsanalyse dieser Werte zeigt eine lineare Regression mit einem Bestimmtheitsmaß R^2 von 0,84.

Für Werte bis 1000 pg/ml, die mittels POC-Gerät ermittelt wurden, erfolgte eine separate Bestimmung des Pearson-Korrelationskoeffizienten, sowie eine Regressionsanalyse. Der Pearson-Korrelationskoeffizient liegt bei 0,83 mit einer zweiseitigen Signifikanz von $< 0,001$, das Bestimmtheitsmaß R^2 liegt bei 0,69.

Abbildung 8 zeigt den Bland-Altman-Plot. Es zeigt sich, dass acht von 69 Messungen außerhalb des zu tolerierenden Schwankungsbereich liegen, was etwa 12 % aller Messungen entspricht. Alle diese Werte liegen in einem Konzentrationsbereich > 2000 pg/ml.

Diese Ergebnisse widerlegen die Nullhypothese, dass das Roche cobas h232 POC-System und der Elecsys NT-proBNP II-Assay keine vergleichbaren NT-proBNP-Werte aus dem Urin liefern.

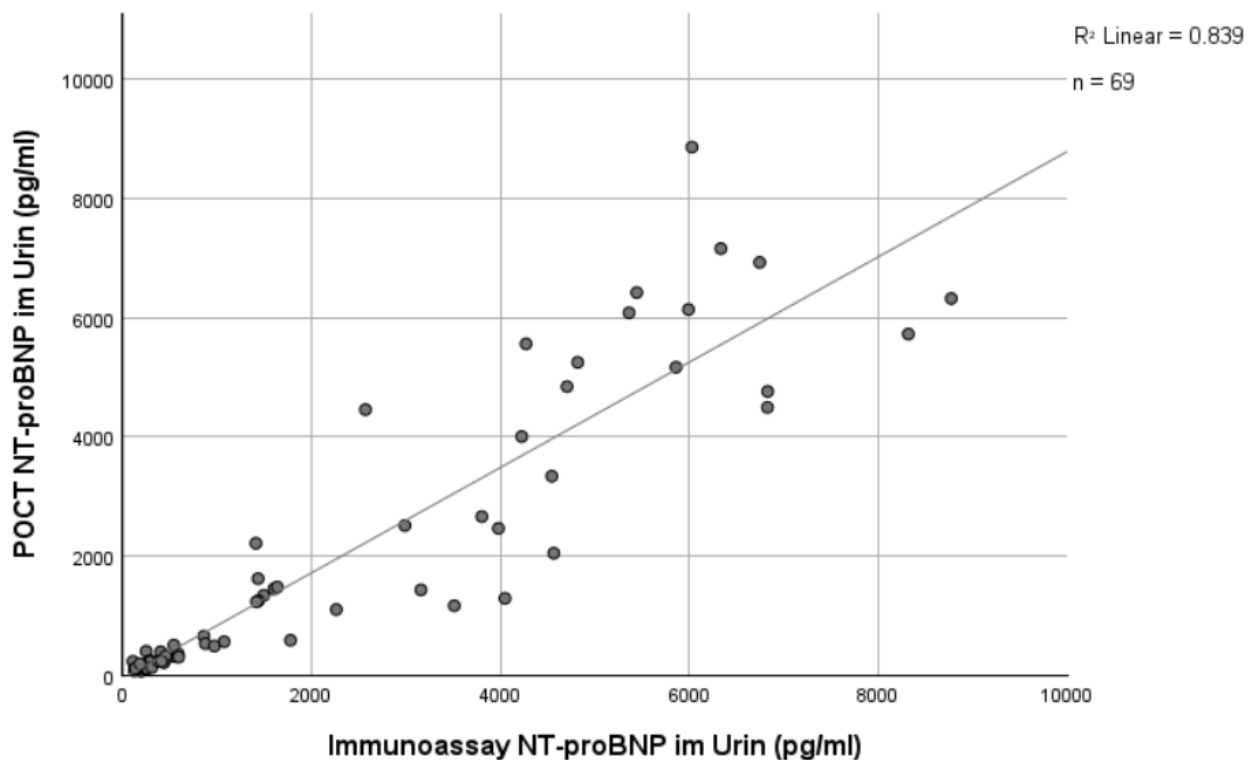


Abb. 6: Korrelation der NT-proBNP-Werte aus dem Urin, bestimmt mittels Roche cobas h232 POC-System und Elecsys NT-proBNP II-Assay, modifiziert nach Müller et al. (2022 b). Der Pearson-Korrelationskoeffizient liegt bei 0,92 mit einer zweiseitigen Signifikanz von $< 0,001$. Das Bestimmtheitsmaß R^2 liegt bei 0,84. Insbesondere im Messbereich bis 1000 pg/ml zeigt sich eine hohe Korrelation der Werte.

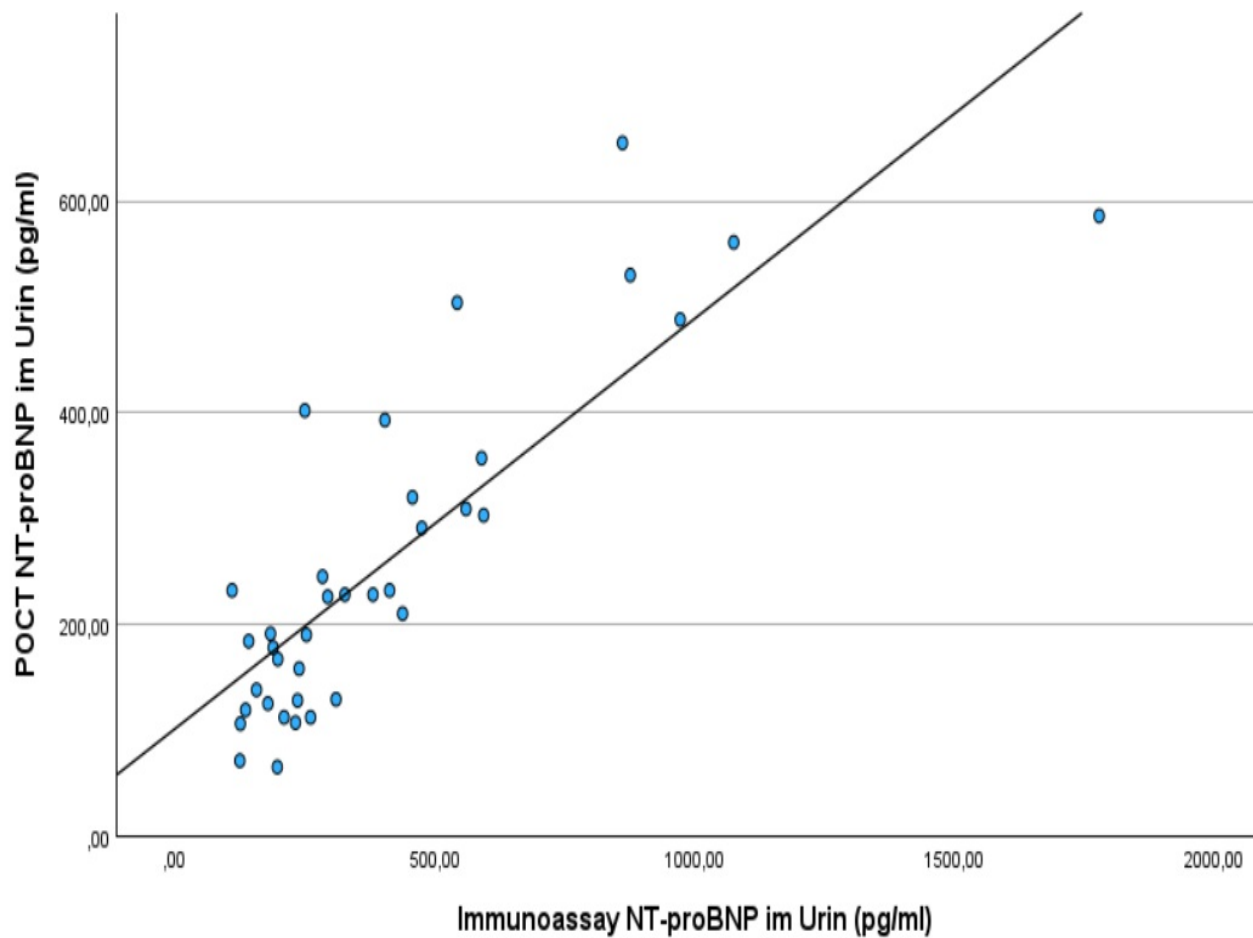


Abb. 7: Korrelation der NT-proBNP-Werte aus dem Urin für Werte bis 1000 pg/ml, bestimmt mittels Roche cobas h232 POC-System und Elecsys NT-proBNP II-Assay. Der Pearson-Korrelationskoeffizient liegt bei 0,83 mit einer zweiseitigen Signifikanz $< 0,001$. Das Bestimmtheitsmaß R^2 liegt bei 0,69.

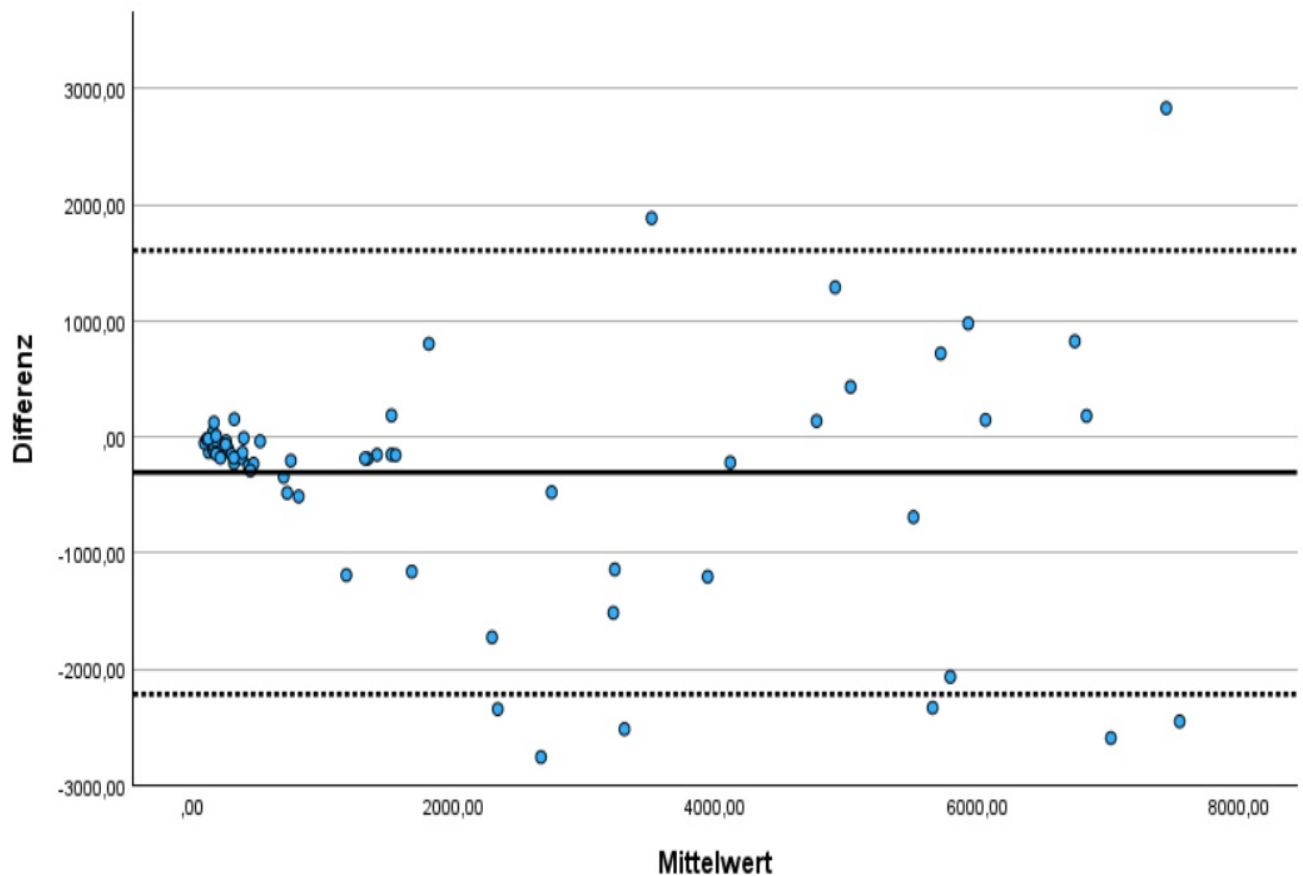


Abb. 8: Bland-Altman-Plot für Werte innerhalb des Messbereichs des POC-Gerätes. Für Werte < 1000 pg/ml zeigt sich eine hohe Übereinstimmung. Bei Werten > 1000 pg/ml zeigt sich eine größere Schwankungsbreite. Acht der 69 Messungen befinden sich außerhalb des zu tolerierenden Schwankungsbereich. Alle diese Werte liegen in einem Konzentrationsbereich > 2000 pg/ml.

3.3 Mehrfachbestimmungen mittels Roche cobas h232 POC-System

Für die Untersuchung der Genauigkeit des POC-Gerätes erfolgten Mehrfachbestimmungen. Die Werte wurden ebenfalls den bereits erwähnten Quartilen zugeordnet und mittels Spearman'schen Rangkorrelationskoeffizienten verglichen. Sowohl für die Doppel-, als auch für die Dreifachbestimmungen ergibt sich dabei ein Wert von 1,0 mit einer zweiseitigen Signifikanz < 0,001.

33 der 35 Doppelbestimmungen sowie die Dreifachbestimmungen haben einen Wert innerhalb des Messbereichs des POC-Gerätes, zwischen 60 pg/ml und 9000 pg/ml ergeben. Diese Werte wurden mittels Pearson-Korrelationskoeffizient verglichen. Für die

Doppelbestimmungen zeigt sich ein Wert von 0,96 mit einer zweiseitigen Signifikanz $< 0,001$, für die Dreifachbestimmungen von 0,97 mit einer zweiseitigen Signifikanz $< 0,001$. Ebenso wurde für diese Messungen der Variationskoeffizient bestimmt. Dieser liegt zwischen 0,3 % und 20,5 % mit einem Mittelwert von 10,3 % und einer Standardabweichung von 5,7 %.

Diese Ergebnisse widerlegen die Nullhypothese, dass das POC-Gerät keine reproduzierbaren Ergebnisse liefert.

Tab. 3: Messergebnisse, sowie die entsprechenden Variationskoeffizienten der Mehrfachbestimmungen mittels POC-Gerät. Dargestellt sind die Messergebnisse der Mehrfachbestimmungen mit den entsprechenden Variationskoeffizienten, sortiert nach der NT-proBNP-Konzentration.

1. Messung (pg/ml)	2. Messung (pg/ml)	3. Messung (pg/ml)	Variationskoeffizient (%)
65	77	/	11,95
112	138	130	10,51
128	118	/	5,75
158	118	/	20,50
190	208	/	6,40
210	195	/	5,24
228	206	/	7,17
393	378	/	2,75
402	349	/	9,98
586	731	/	15,57
655	627	/	3,09

1. Messung (pg/ml)	2. Messung (pg/ml)	3. Messung (pg/ml)	Variationskoeffizient (%)
1101	1247	1135	6,58
1165	1020	1461	18,49
1231	1119	/	6,74
1251	1170	/	4,73
1339	1112	1242	9,25
1449	1443	/	0,29
1619	1545	/	3,31
2511	2864	/	9,29
2661	2965	/	7,64
3339	2995	/	7,68
4456	3620	/	14,64
4761	5968	/	15,91
4842	6705	5435	16,81
5249	4161	/	16,35
5560	5114	/	5,91
6081	4380	5493	16,24
6137	4226	4822	19,32
6321	9000	7276	18,03
6421	5016	/	17,37

1. Messung (pg/ml)	2. Messung (pg/ml)	3. Messung (pg/ml)	Variationskoeffizient (%)
6926	5649	/	14,36
7158	7922	/	7,16
8861	8315	/	4,50

3.4 Zeitliche Stabilität von NT-proBNP im Urin

Wie bereits unter 2.3 beschrieben, wurde für die Untersuchung der zeitlichen Stabilität des NT-proBNP im Urin der Wert aus fünf Urinproben alle zwölf Stunden über einen Zeitraum von 96 Stunden mittels POC-Gerät bestimmt. Dabei korrelieren die Werte der einzelnen Proben mit Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen 0,97 und 1,0 bei einer zweiseitigen Signifikanz $< 0,001$. Die Abbildungen 10, 11, 12, 13 und 14 zeigen die Regressionsanalysen der Werte der einzelnen Patienten. Das Bestimmtheitsmaß R^2 liegt zwischen $< 0,01$ und 0,79. Die Variationskoeffizienten liegen zwischen 10 % und 18 %.

Die einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen zeigte keinen signifikanten Einfluss des Messzeitpunkts auf die NT-proBNP-Konzentration im Urin (Greenhouse-Geisser-korrigiert: $F(1,21; 4,86) = 1,29$; $p = 0,32$). Somit kann die Nullhypothese, dass die NT-proBNP-Konzentration im Urin bei Kindern über einen Zeitraum von 96 Stunden in einem klinisch nicht relevantem Ausmaß abfällt, nicht verworfen werden.

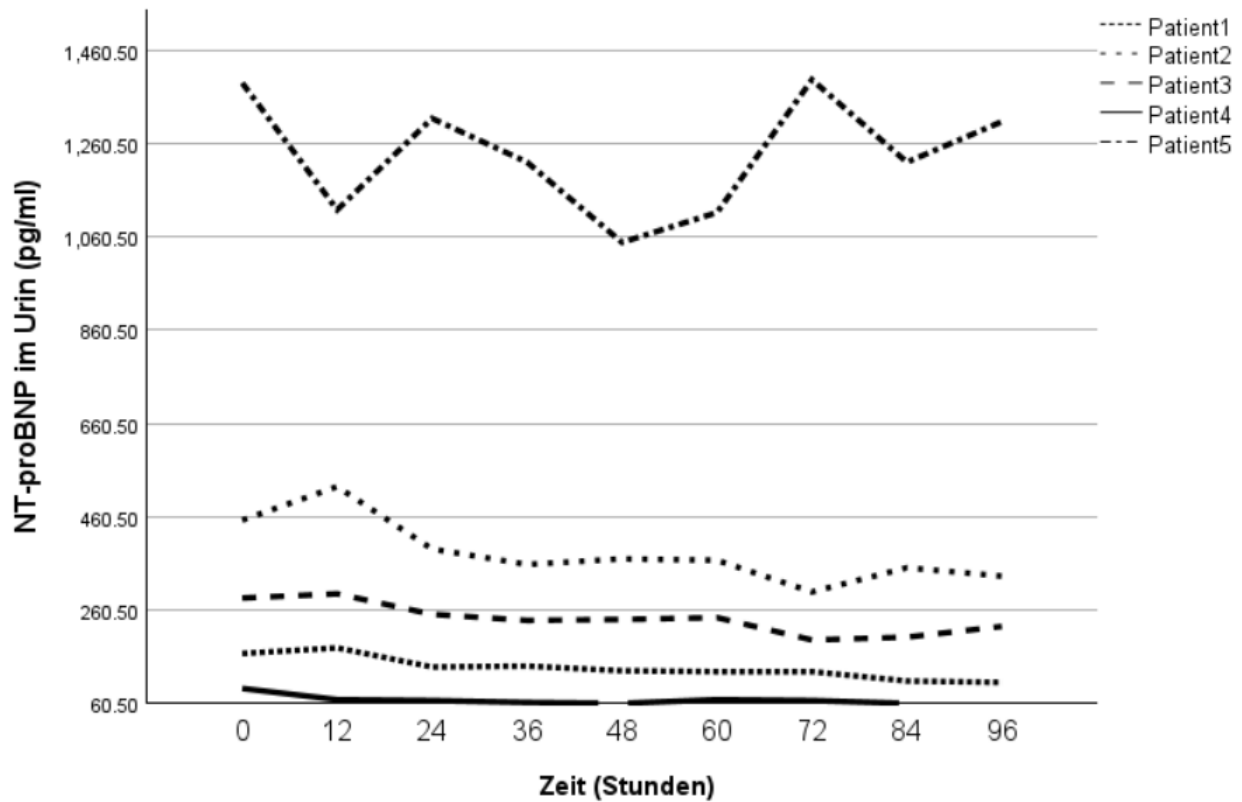


Abb. 9: Graphische Darstellung der zeitlichen Stabilität von NT-proBNP im Urin von fünf Patienten über einen Zeitraum von 96 Stunden, modifiziert nach Müller et al. (2022 b). Abgebildet sind die Konzentrationsverläufe von NT-proBNP im Urin von fünf Patienten über einen Zeitraum von 96 Stunden.

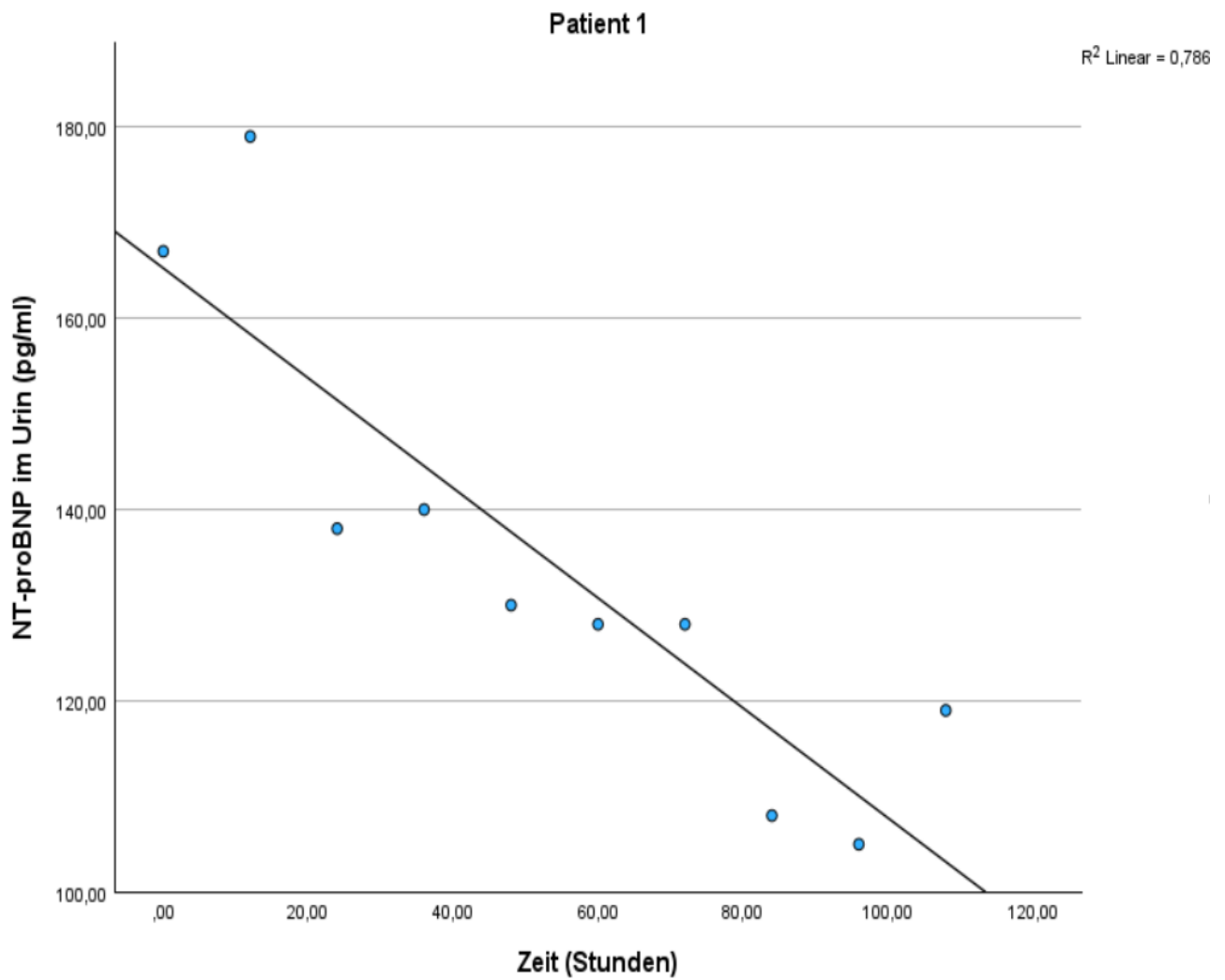


Abb. 10: Lineare Regression der NT-proBNP-Werte im Urin im zeitlichen Verlauf von Patient 1. Die Steigung der Geraden beträgt $-0,57$. Das Bestimmtheitsmaß R^2 liegt bei $0,79$. Der Variationskoeffizient liegt bei 18% . Der Konzentrationsverlust beträgt $28,74\%$.

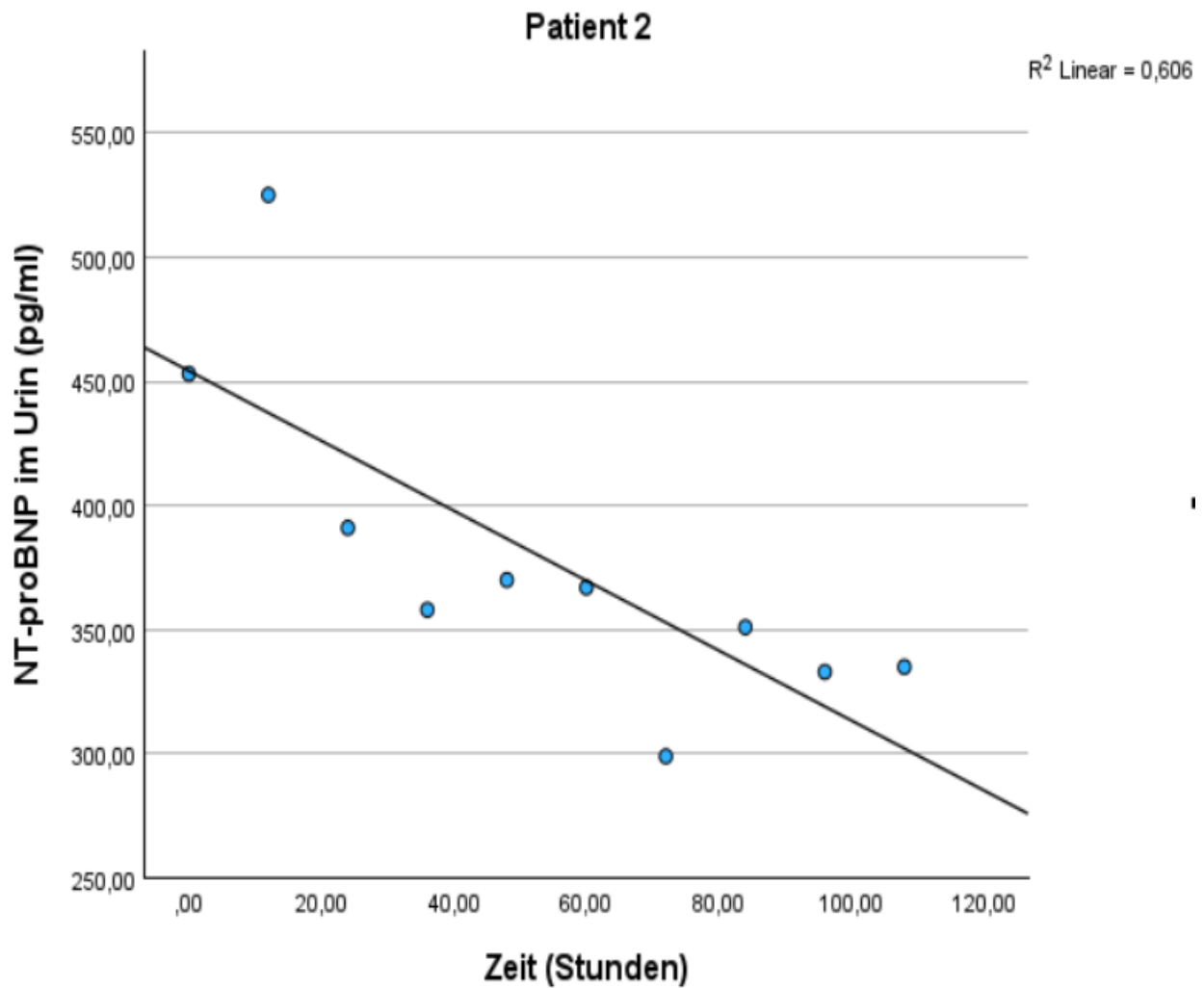


Abb. 11: Lineare Regression der NT-proBNP-Werte im Urin im zeitlichen Verlauf von Patient 2. Die Steigung der Geraden beträgt $-1,41$. Das Bestimmtheitsmaß R^2 liegt bei $0,61$. Der Variationskoeffizient liegt bei 17% . Der Konzentrationsverlust beträgt $26,05\%$.

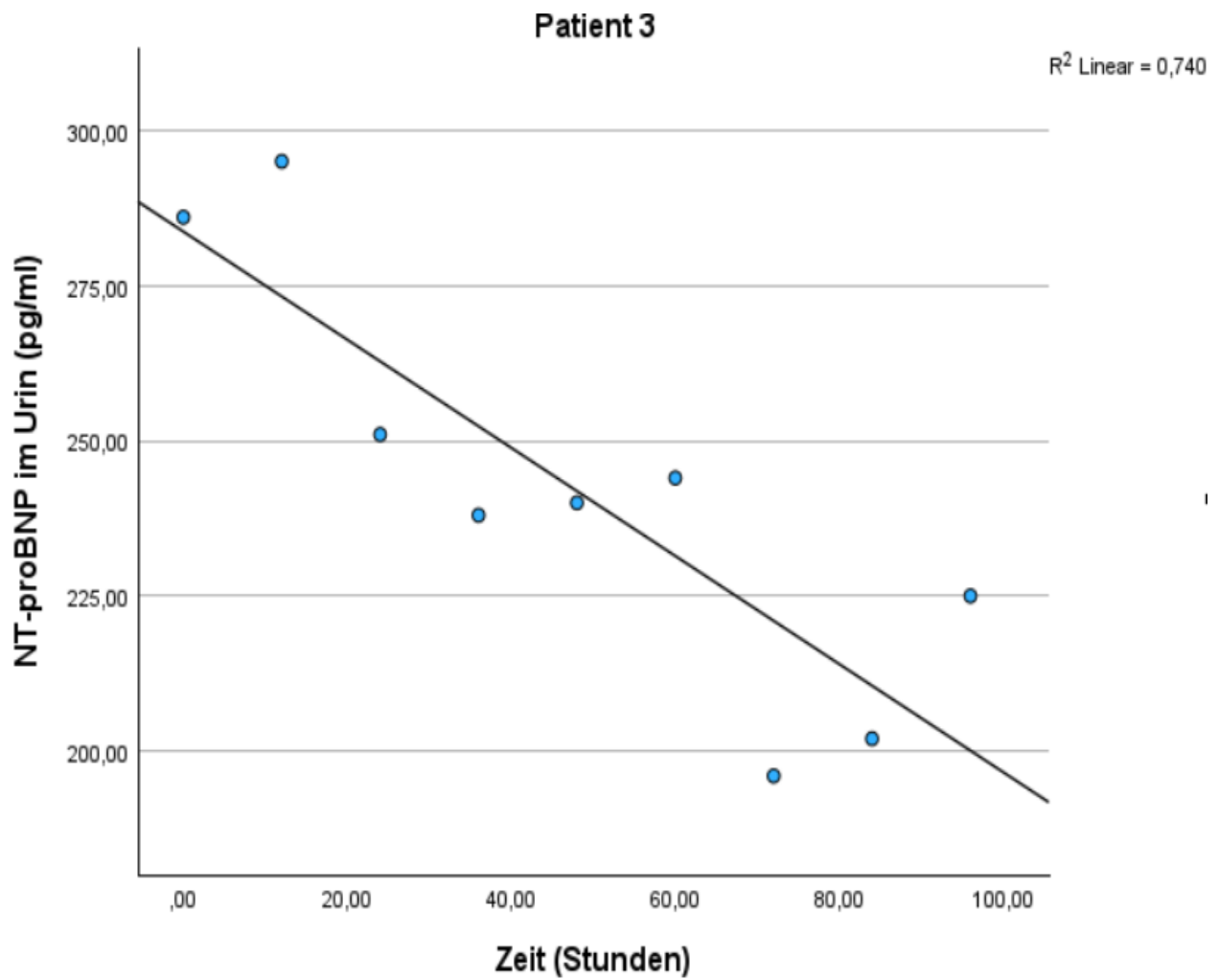


Abb. 12: Lineare Regression der NT-proBNP-Werte im Urin im zeitlichen Verlauf von Patient 3. Die Steigung der Geraden beträgt $-0,87$. Das Bestimmtheitsmaß R^2 liegt bei $0,74$. Der Variationskoeffizient liegt bei 14% . Der Konzentrationsverlust beträgt $21,33\%$.

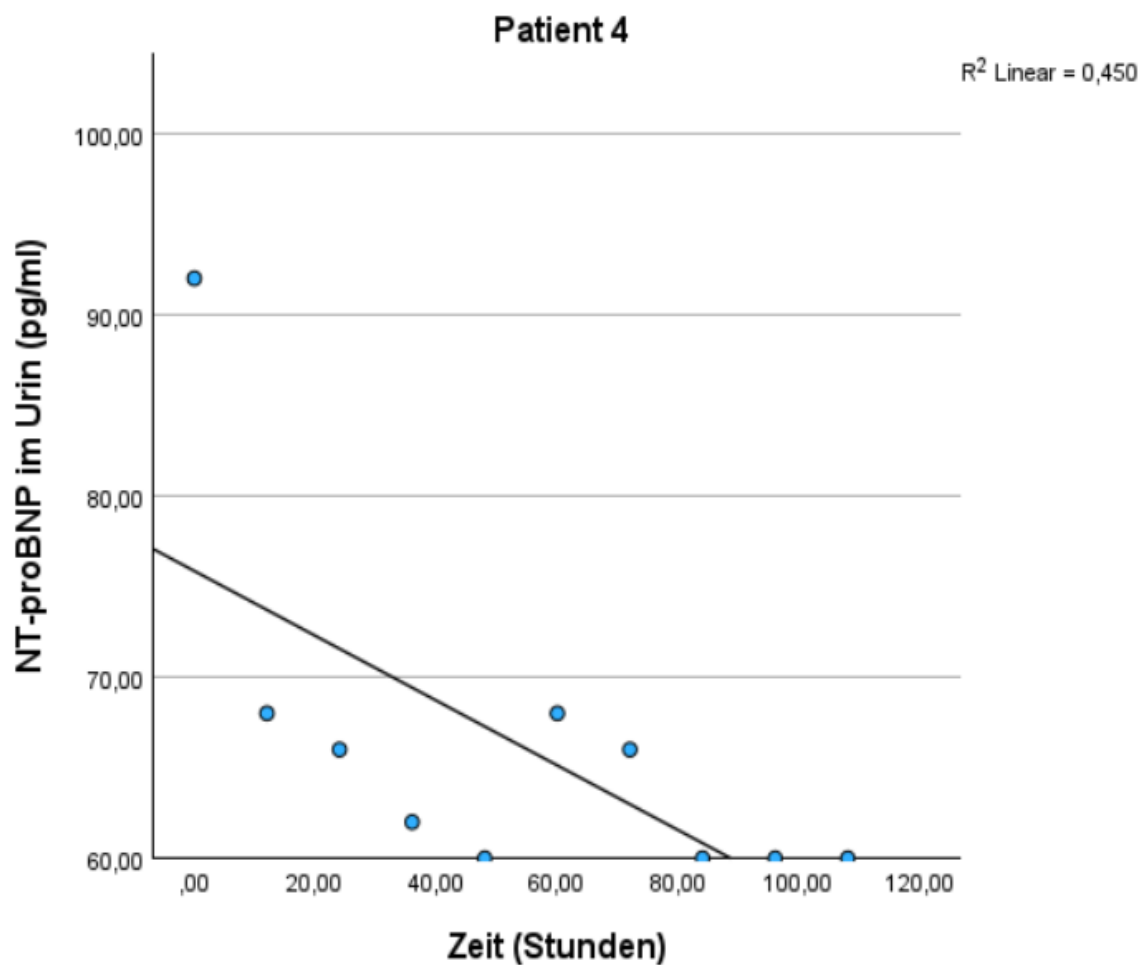


Abb. 13: Lineare Regression der NT-proBNP-Werte im Urin im zeitlichen Verlauf von Patient 4. Die Steigung der Geraden beträgt $-0,18$. NT-proBNP-Werte < 60 pg/ml werden in dieser Abbildung mit einer Konzentration von 60 pg/ml erfasst. Das Bestimmtheitsmaß R^2 liegt bei $0,45$. Der Variationskoeffizient liegt bei 15% . Der Konzentrationsverlust beträgt $34,78\%$.

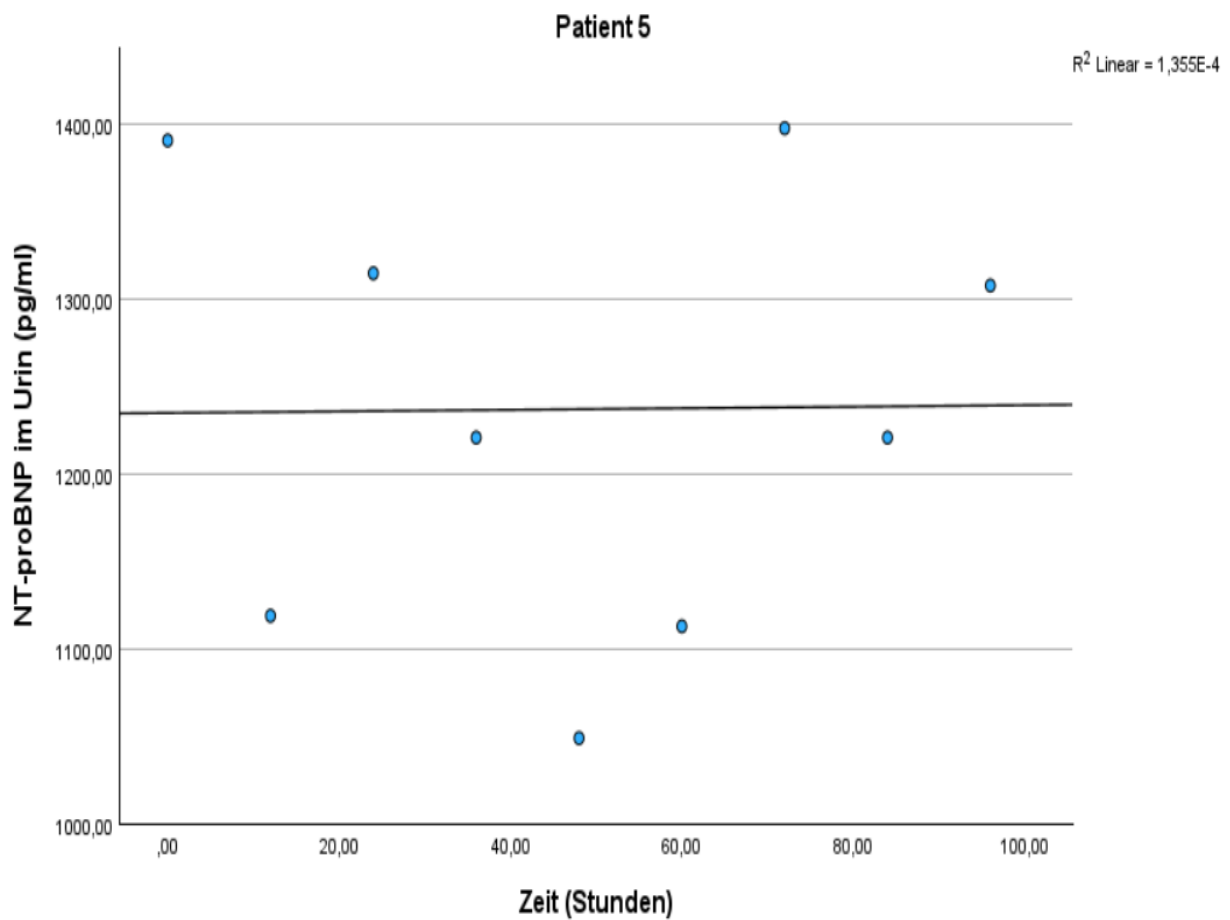


Abb. 14: Lineare Regression der NT-proBNP-Werte im Urin im zeitlichen Verlauf von Patient 5. Die Steigung der Geraden beträgt + 0,04. Das Bestimmtheitsmaß R^2 ist < 0,01. Der Variationskoeffizient liegt bei 10 %. Der Konzentrationsverlust beträgt 5,97 %.

4. Diskussion

4.1 Evaluation des Roche cobas h232 POC-Systems

NT-proBNP ist sowohl für die Diagnosestellung, als auch für Verlaufskontrollen ein etablierter Parameter im Management von Kindern mit angeborenen Herzfehlern (Cantinotti, 2016). Bisher wird dieser Wert aus dem Blut bestimmt, was fachliche Expertise für die Venenpunktion erfordert und für die Kinder schmerzhaft und traumatisierend sein kann. Es gibt zunehmend Evidenz für die positive Korrelation zwischen den NT-proBNP-Werten im Serum und den NT-proBNP-Werten im Urin (Jungbauer et al., 2010; Müller et al., 2020; Ng et al., 2004; Tosse et al., 2012). Dies ist die erste Studie, die ein POC-Gerät für die Bestimmung dieses Parameters aus dem Urin bei Kindern verwendet.

Die Geburtsprävalenz von Kindern mit moderaten bis schweren angeborenen Herzfehlern liegt bei 1,5 Fällen pro 1000 Geburten (van der Bom et al., 2011). Wird dieser Herzfehler nicht bereits pränatal diagnostiziert, so präsentieren sich diese Kinder nicht selten mit einer heterogenen Symptomatik, was die rechtzeitige Diagnosestellung und somit das Einleiten einer adäquaten Therapie erschwert. Der Goldstandard für die Diagnosestellung ist die Echokardiographie. Diese ist allerdings kostenintensiv und erfordert speziell dafür geschultes ärztliches Personal. Das Gewinnen einer Urinprobe ist eine nicht-invasive Prozedur, die kein hohes Maß an fachlicher Expertise erfordert. Somit stellen die Bestimmung des NT-proBNP-Werts aus dem Urin, zusammen mit einer ausführlichen Anamnese, körperlichen Untersuchung und einer Pulsoximetrie einfache, nicht kostenintensive Untersuchungen dar, die für die Identifikation von Kindern mit angeborenen Herzfehlern als auch für ambulante Verlaufskontrollen gut geeignet sind.

Die Richtlinien der National Academy of Clinical Biochemistry (Morrow et al., 2007) geben vor, dass sich bei der Bestimmung von kardialen Biomarkern die Performance von POC-Geräten nicht von der Performance der Geräte im Zentrallabor unterscheiden darf. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen eine starke Korrelation der NT-proBNP-Werte aus dem Urin gemessen mit dem Roche cobas h232 POC-System und dem Elecsys NT-proBNP II-Assay, sodass dieses Kriterium erfüllt wird. Laut Apple et al. (2005) ist es

wichtig, dass die analytische Ungenauigkeit eines Gerätes für die Bestimmung von natriuretischen Peptiden möglichst gering ist. Die unter 3.3 beschriebenen Ergebnisse zeigen, dass das Roche cobas h232 POC-System zuverlässig die NT-proBNP-Werte aus einer Urinprobe reproduzieren kann.

Die Ergebnisse der Zulassungsstudie zeigen eine gute analytische Performance des POC-Gerätes, sowie eine hohe Übereinstimmung der NT-proBNP-Werte aus dem Blut mit der konventionellen Labormethode (Bertsch et al., 2010). Dies zeigt sich auch bei den hier präsentierten Ergebnissen für NT-proBNP-Werte aus dem Urin innerhalb des Messbereichs des POC-Gerätes. Die Abbildungen 6 und 7 zeigen, dass in einem Messbereich bis etwa 1000 pg/ml die Werte zwischen dem POC-Gerät und dem Immunassay weitestgehend übereinstimmen. Bei Werten > 2000 pg/ml liegen die Werte zum Teil außerhalb des tolerierbaren Schwankungsbereichs. Dies verdeutlicht Abbildung 8. Die Höhe der NT-proBNP-Werte bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern ist im Wesentlichen von der Art des Herzfehlers und den vorausgegangenen Operationen abhängig (Cantinotti et al., 2011, 2015; Eindhoven et al., 2012). Zur Beurteilung der Prognose ist vorallem der Verlauf der Werte und nicht der absolute Wert entscheidend (Amirnovin et al., 2013). Für die Identifizierung von Kindern mit angeborenen Herzfehlern, sowie für ambulante Kontrolluntersuchungen kann die Bestimmung des NT-proBNP-Wertes aus dem Urin somit die bestehenden diagnostischen Maßnahmen sinnvoll ergänzen. Insbesondere in Regionen, in denen eine flächendeckende kinderkardiologische Versorgung nicht gewährleistet ist, kann sich das als sehr hilfreich erweisen. Fallen dabei stark erhöhte Werte auf, sollte eine weitere diagnostische Abklärung mittels Echokardiographie erfolgen. Für Verlaufskontrollen bei Kindern mit NT-proBNP-Werten > 1000 pg/ml im Urin ist das Gerät aufgrund der großen Schwankungsbreite in diesem Messbereich nicht geeignet.

Im postoperativen Verlauf nach kinderherzchirurgischen Eingriffen kommt es ebenfalls zu einer Erhöhung des NT-proBNP-Wertes. Für diese Situationen empfehlen Müller et al. (2021) die Bestimmung von NT-proBNP aus dem Blut, da sich Veränderungen im Urin erst mit zeitlicher Verzögerung manifestieren und die Gewinnung von Blutproben durch das Einlegen von zentralvenösen und arteriellen Kathetern einfacher ist. Für den Einsatz des POC-Gerätes zur Differenzierung zwischen herzkranken und gesunden

Kindern stellt die höhere Streubreite im hohen Messbereich kein Problem dar, da bereits das Vorliegen dieser deutlich erhöhten Werte einen Anlass für weitere Untersuchungen geben sollte.

Für ambulante Verlaufskontrollen sollte eine gesonderte Untersuchung erfolgen, um die Frage der Aussagekraft von Veränderungen genauer zu beantworten.

Die derzeit größte Einschränkung des POC-Gerätes stellt die untere Nachweisgrenze dar. Die NT-proBNP-Konzentration im Urin ist signifikant niedriger, als im Blut, sowohl bei herzgesunden Kindern, als auch bei Kindern mit strukturellen Herzerkrankungen. Die im Rahmen dieser Studie verwendeten Urinproben stammen von Kindern mit angeborenen Herzfehlern. Dennoch sind 29 % aller bestimmten Werte unterhalb der Messgrenze des Roche cobas h232 POC-Systems.

Müller et al. (2022 a) zeigten, dass der mediane NT-proBNP-Wert im Urin bei herzgesunden Kindern bei 13 pg/ml und bei Kindern mit angeborenen Herzfehlern unter stabilen hämodynamischen Bedingungen bei 23 pg/ml liegt. Aufgrund der unteren Messgrenze des POC-Gerätes von 60 pg/ml wäre eine Unterscheidung dieser beiden Gruppen somit nicht möglich. Unter den aktuellen Gegebenheiten ist der klinische Nutzen dieses Gerätes daher noch deutlich eingeschränkt, während sich die technisch-analytische Performance für Werte innerhalb des Messbereichs als gut erweist. Eine Anpassung des Messbereichs, insbesondere der unteren Nachweisgrenze, könnte somit zu einer Einführung dieser Methode in das klinische Management von herzkranken Kindern führen. Hierfür bedarf es weiterer klinischer Studien, die diese Methode im angepassten Messbereich mit den bereits etablierten diagnostischen Maßnahmen vergleichen. Zur Beurteilung, wie gut das POC-Gerät für ambulante Verlaufskontrollen geeignet ist, sollte insbesondere der niedrige Messbereich bis 100 pg/ml untersucht werden.

Aufgrund einer Altersabhängigkeit der NT-proBNP-Werte bei Kindern ist im Weiteren die Definition altersabhängiger Normbereiche erforderlich.

Bei etwa 50 % aller Kinder wird im Laufe ihres Lebens ein Herzgeräusch festgestellt. Für weitergehende Untersuchungen werden sie dann zu einem Kinderkardiologen überwiesen. Abhängig von der Studienpopulation wird bei < 1 – 19 % ein

angeborener Herzfehler als Ursache gefunden (Begic und Begic, 2017; Frank und Jacobe, 2011; Sackey, 2016). Insbesondere aufgrund einer verzögerten Diagnosestellung stellen angeborene Herzfehler in medizinisch unterversorgten Regionen, beispielsweise in Tibet in China, die führende Todesursache bei Kindern unter fünf Jahren dar (Wang et al., 2020). Daher ist es wichtig, ein schnelles und kosteneffizientes Verfahren zur Unterscheidung zwischen einer ernsthaften kardialen Erkrankung und einem harmlosen Herzgeräusch zu entwickeln. Wang et al. (2020) entwickelten dazu eine künstliche Intelligenz, die Phonokardiographien auswertet. Die in dieser Arbeit vorgestellte patientennahe Bestimmung des NT-proBNP-Wertes aus dem Urin stellt eine noch einfachere und vorallem kostengünstigere Alternative dar, die flächendeckend auf der ganzen Welt eingesetzt werden kann.

4.2 Zeitliche Stabilität von NT-proBNP im Urin

Michielsen et al. (2008) zeigten, dass der NT-proBNP-Wert im Urin über einen Zeitraum von 48 Stunden stabil bleibt. Die unter 3.4 beschriebenen Ergebnisse zeigen zwar einen Konzentrationsrückgang, der jedoch in Anbetracht der Höhe der Werte keine klinische Relevanz hat. Bei der Analyse der Regressionsgeraden zeigt sich in vier der fünf Proben eine negative Steigung, weiterhin zeigt sich ein Konzentrationsrückgang zwischen 5,97 % und 34,78 %. Der Hintergrund für die Untersuchung der zeitlichen Stabilität des NT-proBNP im Urin bei Kindern im Rahmen dieser Arbeit ist, dass dieses Untersuchungsverfahren im Rahmen ambulanter Verlaufskontrollen eingesetzt werden könnte. Die zur Untersuchung der zeitlichen Stabilität gemessenen NT-proBNP-Werte liegen deutlich über den Werten von Kindern mit angeborenen Herzfehlern unter stabilen hämodynamischen Bedingungen. Fallen nun bei ambulanten Verlaufskontrollen Werte in den hier verwendeten Konzentrationsbereichen auf, sollten weitergehende diagnostische Maßnahmen ergriffen werden. Weiterhin ist, wie bereits unter 4.1 diskutiert, der absolute Wert des NT-proBNP gar nicht so entscheidend, als vielmehr der Verlauf des Parameters. Somit ist der beobachtete Konzentrationsrückgang als geringfügig zu bewerten und stellt vorallem keine klinische Relevanz dar. In der Varianzanalyse zeigt sich ein p-Wert von 0,32, sodass die Nullhypothese, dass die NT-

proBNP-Konzentration im Urin bei Kindern über einen Zeitraum von 96 Stunden in einem klinisch nicht relevantem Ausmaß abfällt, nicht verworfen werden kann.

Dennoch ist bei den Patienten 1 bis 4 ein linearer Abwärtstrend zu beobachten. Ob dieser Trend ausschließlich auf Messungenauigkeiten und analytische Unsicherheiten zurückzuführen ist, oder ob tatsächlich ein zeitabhängiger Abbau von NT-proBNP im Urin vorliegt, kann auf Basis der hier erhobenen Daten nicht abschließend beurteilt werden. Weiterhin basiert die Analyse auf einem kleinen Patientenkollektiv mit insgesamt fünf Urinproben, wodurch eine umfassende Aussage über die Stabilität von NT-proBNP im Urin bei Kindern nur eingeschränkt möglich ist. Ebenso wurden ausschließlich Urinproben unter den gewählten Lagerungsbedingungen untersucht, ein Einfluss von Temperatur, Licht oder Lagergefäßmaterial wurde nicht systematisch erfasst. Für zukünftige Untersuchungen empfiehlt sich daher eine Erweiterung des Patientenkollektivs sowie die Berücksichtigung unterschiedlicher Lagerungs- und Transportbedingungen, um die Stabilität von NT-proBNP im Urin unter praxisnahen Bedingungen noch umfassender beurteilen zu können. Die Einbindung von Vergleichsmethoden, wie beispielsweise verschiedener Immunassays, könnte helfen, gerätebedingte Messabweichungen besser zu quantifizieren. Ebenso wäre die gezielte Analyse möglicher Matrixeffekte, etwa durch standardisierte Urinproben oder Zusatz von Stabilisierungsmitteln, sinnvoll.

5. Zusammenfassung

Bei etwa einem Prozent aller neugeborenen Kinder lässt sich ein angeborener Herzfehler nachweisen. Davon werden etwa 30 % pränatal mittels fetaler Echokardiographie diagnostiziert. Die unspezifische und sehr heterogene Symptomatik führt häufig zu einer verzögerten Diagnosestellung und somit stellen angeborene Herzfehler in medizinisch unterversorgten Regionen eine der häufigsten Todesursachen bei Kindern dar. Der Goldstandard für die Diagnosestellung ist die Echokardiographie. Diese ist allerdings kostenintensiv und erfordert speziell dafür geschultes ärztliches Personal. Die Etablierung supportiver, nicht-invasiver Methoden zur Diagnosestellung und Verlaufsbeobachtung könnte die Versorgung dieser Kinder deutlich verbessern.

Es gibt zunehmend Evidenz für die positive Korrelation zwischen den NT-proBNP-Werten in Serum und Urin. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein POC-Gerät, welches für die Bestimmung von NT-proBNP im Serum konzipiert ist, auf die Analysierbarkeit von NT-proBNP im Urin bei Kindern getestet. Als Kontrollwerte dienen NT-proBNP-Werte aus dem Urin, die mittels Immunassay bestimmt wurden. Für Werte innerhalb des Messbereichs des POC-Gerätes zeigt sich ein Pearson-Korrelationskoeffizient von 0,92. Allerdings liegen 29 % aller Werte unterhalb der unteren Messgrenze des POC-Gerätes. Ursächlich dafür ist die signifikant niedrigere NT-proBNP-Konzentration im Urin verglichen mit der Serumkonzentration. Daher wäre für einen klinischen Einsatz dieses Gerätes zur Analyse von Urinproben eine Anpassung des Messbereichs, insbesondere der unteren Nachweisgrenze, erforderlich. Nach dieser Anpassung könnte das Gerät die bestehenden diagnostischen Methoden im Management von herzkranken Kindern sinnvoll ergänzen. Insbesondere in Regionen, in denen keine flächendeckende kinder-kardiologische Versorgung verfügbar ist, könnte diese Untersuchungsmethode bei der Identifizierung und Versorgung von Kindern mit angeborenen oder erworbenen Herzfehlern hilfreich sein.

Bislang gibt es keine Daten zur Stabilität von NT-proBNP im Urin über einen Zeitraum von mehr als 48 Stunden. In dieser Arbeit wurden 5 Urinproben von Kindern bei Raumtemperatur gelagert und es erfolgte alle zwölf Stunden die Bestimmung des NT-proBNP-Wertes mittels POC-Gerät über einen Zeitraum von 96 Stunden. Zur

Beurteilung der Stabilität erfolgte eine Regressionsanalyse, ebenso wurde der Variationskoeffizient, sowie der Pearson-Korrelationskoeffizient bestimmt. Die Werte der einzelnen Proben korrelieren mit einem Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen 0,97 und 1,0, die Variationskoeffizienten liegen zwischen 10 % und 18 %. Diese Daten sprechen für die Stabilität des NT-proBNP im Urin über den genannten Untersuchungszeitraum. Weiterhin erfolgte eine einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen, welche keinen signifikanten Effekt des Messzeitpunktes auf die NT-proBNP-Konzentration im Urin ergeben hat. Bei einem p-Wert von 0,32 lässt sich die Nullhypothese, dass die NT-proBNP-Konzentration im Urin bei Kindern über einen Zeitraum von 96 Stunden in einem klinisch nicht relevantem Ausmaß abfällt, nicht verwerfen. Dennoch fällt in den Abbildungen 10 bis 13 eine negative Steigung der Regressionsgeraden auf. Ebenso zeigt sich ein Konzentrationsrückgang zwischen 5,97 % und 34,78 %. Ob hier tatsächlich ein Abbau von NT-proBNP vorliegt, oder ob dies im Rahmen der analytischen Ungenauigkeit des POC-Gerätes zu werten ist, lässt sich mithilfe der vorliegenden Daten nicht abschließend beurteilen. Weiterhin beruht die Analyse auf einem kleinen Patientenkollektiv und es wurde der Einfluss unterschiedlicher Lagerungsbedingungen auf die Konzentration von NT-proBNP im Urin nicht untersucht. Um endgültige Aussagen über die Stabilität des Parameters in Urinproben treffen zu können, sollten in Zukunft weitere Studien erfolgen, in denen größere Patientenkollektive einbezogen und unterschiedliche Lagerungsbedingungen berücksichtigt werden.

6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Schematische Darstellung der BNP Genregulation	9
Abbildung 2:	Verarbeitung der Urinproben	23
Abbildung 3:	Testprinzip des Elecsys NT-proBNP II-Assay von Roche	25
Abbildung 4:	Verwendung des Roche cobas h232 POC-Systems Teil 1	27
Abbildung 5:	Verwendung des Roche cobas h232 POC-Systems Teil 2	28
Abbildung 6:	Korrelation der NT-proBNP-Werte aus dem Urin, bestimmt mittels Roche cobas h232 POC-System und Elecsys NT-proBNP II-Assay	31
Abbildung 7:	Korrelation der NT-proBNP-Werte aus dem Urin für Werte bis 1000 pg/ml, bestimmt mittels Roche cobas h232 POC-System und Elecsys NT-proBNP II-Assay	32
Abbildung 8:	Bland-Altman-Plot für Werte innerhalb des Messbereichs des POC-Gerätes	33
Abbildung 9:	Graphische Darstellung der zeitlichen Stabilität von NT-proBNP im Urin von fünf Patienten über einen Zeitraum von 96 Stunden	37
Abbildung 10:	Lineare Regression der NT-proBNP-Werte im Urin im zeitlichen Verlauf von Patient 1	38
Abbildung 11:	Lineare Regression der NT-proBNP-Werte im Urin im zeitlichen Verlauf von Patient 2	39
Abbildung 12:	Lineare Regression der NT-proBNP-Werte im Urin im zeitlichen Verlauf von Patient 3	40
Abbildung 13:	Lineare Regression der NT-proBNP-Werte im Urin im zeitlichen Verlauf von Patient 4	41

Abbildung 14: Lineare Regression der NT-proBNP-Werte im Urin im zeitlichen Verlauf von Patient 5 42

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Antikörper und Standardmaterialien, die in kommerziellen BNP-Immunassays verwendet werden	16
Tabelle 2:	Kommerziell verfügbare patientennahe BNP- und NT-proBNP-Tests	19
Tabelle 3:	Messergebnisse, sowie die entsprechenden Variationskoeffizienten der Mehrfachbestimmungen mittels POC-Gerät	34

8. Literaturverzeichnis

Afshani N, Schüle S, Biccard BM, Thomas JM. Clinical utility of B-type natriuretic peptide (NP) in pediatric cardiac surgery--a systematic review. *Paediatr Anaesth*. 2015; 25: 115-126

Amirnovin R, Keller RL, Herrera C, Hsu JH, Datar S, Karl TR, Adatia I, Oishi P, Fineman JR. B-type natriuretic peptide levels predict outcomes in infants undergoing cardiac surgery in a lesion-dependent fashion. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2013; 145: 1279-1287

Apple FS, Panteghini M, Ravkilde J, Mair J, Wu AH, Tate J, Pagani F, Christenson RH, Jaffe AS; Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage of the IFCC. Quality specifications for B-type natriuretic peptide assays. *Clin Chem*. 2005; 51: 486-493

Begic E, Begic Z. Accidental Heart Murmurs. *Med Arch*. 2017; 71: 284-287

Bertsch T, Chapelle JP, Dempfle CE, Giannitsis E, Schwabs M, Zerback R. Multicentre analytical evaluation of a new point-of-care system for the determination of cardiac and thromboembolic markers. *Clin Lab*. 2010; 56: 37-49

Blackshear JL, Safford RE, Thomas CS, Bos JM, Ackerman MJ, Geske JB, Ommen SR, Shapiro BP, Johns GS. Platelet Function Analyzer 100 and Brain Natriuretic Peptide as Biomarkers in Obstructive Hypertrophic Cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2018; 121: 768-774

Cantinotti M. B-Type Cardiac Natriuretic Peptides in the Neonatal and Pediatric Intensive Care Units. *J Pediatr Intensive Care*. 2016; 5: 189-197

Cantinotti M, Giovannini S, Murzi B, Clerico A. Diagnostic, prognostic and therapeutic relevance of B-type natriuretic hormone and related peptides in children with congenital heart diseases. *Clin Chem Lab Med*. 2011; 49: 567-580

Cantinotti M, Walters HL, Crocetti M, Marotta M, Murzi B, Clerico A. BNP in children with congenital cardiac disease: is there now sufficient evidence for its routine use? *Cardiol Young*. 2015; 25: 424-437

Cea LB. Natriuretic peptide family: new aspects. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents*. 2005; 3: 87-98

Christenson ES, Collinson PO, Defilippi CR, Christenson RH. Heart failure biomarkers at point-of-care: current utilization and future potential. *Expert Rev Mol Diagn*. 2014; 14: 185-197

Clausen H, Norén E, Valtonen S, Koivu A, Sairanen M, Liuba P. Evaluation of Circulating Cardiovascular Biomarker Levels for Early Detection of Congenital Heart Disease in Newborns in Sweden. *JAMA Netw Open*. 2020; 3: e2027561

Clerico A, Franzini M, Masotti S, Prontera C, Passino C. State of the art of immunoassay methods for B-type natriuretic peptides: An update. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2015; 52: 56-69

Clerico A, Vittorini S, Passino C. Measurement of the pro-hormone of brain type natriuretic peptide (proBNP): methodological considerations and pathophysiological relevance. *Clin Chem Lab Med*. 2011; 49: 1949-1954

Cortés R, Portolés M, Roselló-Lletí E, Martínez-Dolz L, Almenar L, Grigorian L, Bertomeu V, Rivera M. Impact of glomerular filtration rate on urinary BNP and NT-proBNP levels in heart failure. *Peptides*. 2012 a; 33: 354-358

Cortés R, Roselló-Lletí E, Rivera M, Martínez-Dolz L, Salvador A, Sirera R, Portolés M. Expression of B-type natriuretic peptide forms in ischemic human hearts. *Int J Cardiol*. 2012 b; 158: 199-204

Das BB. Plasma B-type natriuretic peptides in children with cardiovascular diseases. *Pediatr Cardiol*. 2010; 31: 1135-1145

Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Kardiologie, 2017: Abklärung einer Zyanose. https://www.dgpk.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/16%20LL%20Abklaerung%20einer%20Zyanose.pdf (Zugriffsdatum: 21.12.2022)

Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Kardiologie, 2015: Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Chronische Herzinsuffizienz.

[https://www.dgpk.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/LL_Chronische Herzinsuffizienz Nov 2015 Rickers.pdf](https://www.dgpk.org/fileadmin/user_upload/Leitlinien/LL_Chronische_Herzinsuffizienz_Nov_2015_Rickers.pdf) (Zugriffsdatum: 21.12.2022)

Eindhoven JA, van den Bosch AE, Jansen PR, Boersma E, Roos-Hesselink JW. The usefulness of brain natriuretic peptide in complex congenital heart disease: a systematic review. *J Am Coll Cardiol.* 2012; 60: 2140-2149

Frank JE, Jacobe KM. Evaluation and management of heart murmurs in children. *Am Fam Physician.* 2011; 84: 793-800

Fu S, Ping P, Zhu Q, Ye P, Luo L. Brain Natriuretic Peptide and Its Biochemical, Analytical, and Clinical Issues in Heart Failure: A Narrative Review. *Front Physiol.* 2018; 9: 692

Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *Eur J Heart Fail.* 2004; 6: 257-260

Jungbauer CG, Buchner S, Birner C, Resch M, Heinicke N, Debl K, Buesing M, Biermeier D, Schmitz G, Riegger G, Luchner A. N-terminal pro-brain natriuretic peptide from fresh urine for the biochemical detection of heart failure and left ventricular dysfunction. *Eur J Heart Fail.* 2010; 12: 331-337

Kuhn M. Molecular physiology of natriuretic peptide signalling. *Basic Res Cardiol.* 2004; 99: 76-82

Kurishima C, Masutani S, Kuwata S, Iwamoto Y, Saiki H, Ishido H, Tamura M, Senzaki H. Cystatin C and body surface area are major determinants of the ratio of N-terminal pro-brain natriuretic peptide to brain natriuretic peptide levels in children. *J Cardiol.* 2015; 66: 175-180

Liu Y, Chen S, Zühlke L, Black GC, Choy MK, Li N, Keavney BD. Global birth prevalence of congenital heart defects 1970-2017: updated systematic review and meta-analysis of 260 studies. *Int J Epidemiol.* 2019; 48: 455-463

Martinez-Rumayor A, Richards AM, Burnett JC, Januzzi JL Jr. Biology of the natriuretic peptides. *Am J Cardiol.* 2008; 101: 3-8

Michielsen EC, Bakker JA, Kimmenade RR, Pinto YM, Dieijen-Visser MP. The diagnostic value of serum and urinary NT-proBNP for heart failure. *Ann Clin Biochem.* 2008; 45: 389-394

Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby LK, Ravkilde J, Storrow AB, Wu AH, Christenson RH, Apple FS, Francis G, Tang W; National Academy of Clinical Biochemistry. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Clin Chem.* 2007; 53: 552-574

Müller N, Bayer E, Bernhardt C, Breuer J, Freudenthal NJ. Performance of urinary NT-proBNP in ambulatory settings. *Clin Chim Acta.* 2022 a; 529: 4-9

Müller N, Rothkegel ST, Boerter N, Breuer J, Freudenthal NJ. Urinary values of NT-proBNP in children with congenital heart disease - Is it feasible? *Clin Chim Acta.* 2020; 509: 224-227

Müller N, Rothkegel ST, Boerter N, Sumaria K, Breuer J, Freudenthal NJ. Perioperative urinary NT-ProBNP values and their usefulness as diagnostic and prognostic markers in children with congenital heart disease. *Clin Chim Acta.* 2021; 518: 28-32

Müller N, Schneider L, Breuer J, Freudenthal NJ. Evaluation of the Roche point of care system for determination of NT-proBNP in urine samples. *Clin Chim Acta.* 2022 b; 537: 107-111

Ng LL, Geeranavar S, Jennings SC, Loke I, O'Brien RJ. Diagnosis of heart failure using urinary natriuretic peptides. *Clin Sci (Lond).* 2004; 106: 129-133

Palm J, Hoffmann G, Klawonn F, Tutarel O, Palm H, Holdenrieder S, Ewert P. Continuous, complete and comparable NT-proBNP reference ranges in healthy children. *Clin Chem Lab Med.* 2020; 58:1509-1516

Peetz D, Hafner G, Lackner KJ. Patientennahe Bestimmung natriuretischer Peptide. *J Lab Med* 2005; 29: 219-228

Potter LR. Natriuretic peptide metabolism, clearance and degradation. *FEBS J.* 2011; 278: 1808-1817

Ro R, Thode HC Jr, Taylor M, Gulla J, Tetrault E, Singer AJ. Comparison of the diagnostic characteristics of two B-type natriuretic peptide point-of-care devices. *J Emerg Med.* 2011; 41: 661-667

Rutten JH, Boomsma F, van den Meiracker AH. Higher renal extraction of ANP compared with NT-proANP, BNP and NT-proBNP. *Eur J Clin Invest.* 2006; 36: 514-515

Sackey AH. Prevalence and diagnostic accuracy of heart disease in children with asymptomatic murmurs. *Cardiol Young.* 2016; 26: 446-450

Santens B, Van De Bruaene A, De Meester P, D'Alto M, Reddy S, Bernstein D, Koestenberger M, Hansmann G, Budts W. Diagnosis and treatment of right ventricular dysfunction in congenital heart disease. *Cardiovasc Diagn Ther.* 2020; 10: 1625-1645

Schou M, Dalsgaard MK, Clemmesen O, Dawson EA, Yoshiga CC, Nielsen HB, Gustafsson F, Hildebrandt PR, Secher NH. Kidneys extract BNP and NT-proBNP in healthy young men. *J Appl Physiol (1985).* 2005; 99: 1676-1680

Shah K, Terracciano GJ, Jiang K, Maisel AS, Fitzgerald RL. Comparability of Results between Point-of-Care and Automated Instruments to Measure B-type Natriuretic Peptide. *West J Emerg Med.* 2010; 11: 44-48

Sugimoto M, Kuwata S, Kurishima C, Kim JH, Iwamoto Y, Senzaki H. Cardiac biomarkers in children with congenital heart disease. *World J Pediatr.* 2015; 11: 309-315

Tosse V, Pillekamp F, Verde P, Hadzik B, Sabir H, Mayatepek E, Hoehn T. Urinary NT-proBNP, NGAL, and H-FABP may predict hemodynamic relevance of patent ductus arteriosus in very low birth weight infants. *Neonatology.* 2012; 101: 260-266

van der Bom T, Zomer AC, Zwinderman AH, Meijboom FJ, Bouma BJ, Mulder BJ. The changing epidemiology of congenital heart disease. *Nat Rev Cardiol.* 2011; 8: 50-60

van Kimmenade RR, Januzzi JL Jr. The evolution of the natriuretic peptides – Current applications in human and animal medicine. *J Vet Cardiol.* 2009; 11: 9-21

Wang J, You T, Yi K, Gong Y, Xie Q, Qu F, Wang B, He Z. Intelligent Diagnosis of Heart Murmurs in Children with Congenital Heart Disease. *J Healthc Eng.* 2020; 2020: 9640821

Zapata L, Vera P, Roglan A, Gich I, Ordonez-Llanos J, Betbesé AJ. B-type natriuretic peptides for prediction and diagnosis of weaning failure from cardiac origin. *Intensive Care Med.* 2011; 37: 477-485

Zhang ZL, Li R, Yang FY, Xi L. Natriuretic peptide family as diagnostic/prognostic biomarker and treatment modality in management of adult and geriatric patients with heart failure: remaining issues and challenges. *J Geriatr Cardiol.* 2018; 15: 540-546

9. Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Abteilung für Kinderkardiologie aus dem Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. med. Johannes Breuer durchgeführt.

Die Konzeption der Arbeit erfolgte durch Herrn Prof. Dr. med. Johannes Breuer, Frau PD Dr. med. Nicole Müller, sowie Frau Dr. med. Noa Judith Freudenthal.

Die Bestimmung des NT-proBNP-Wertes aus dem Urin mittels Roche cobas h232 POC-System erfolgte eigenständig.

Die Bestimmung des NT-proBNP-Wertes aus dem Urin mittels Elecsys NT-proBNP II-Assay von Roche, sowie die Lagerung und die Bereitstellung der Urinproben erfolgte durch die Mitarbeiter der BioBank des Universitätsklinikums Bonn.

Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit Frau PD Dr. med. Nicole Müller und Frau Dr. med. Noa Judith Freudenthal.

Bei der Erstellung dieser Arbeit verwendete ich ChatGPT, um die Lesbarkeit und Sprache des Manuskripts zu verbessern. Nach der Verwendung dieses Tools habe ich die entsprechenden Passagen überprüft und übernehme die volle Verantwortung für den Inhalt der veröffentlichten Dissertationsschrift.

Ich versichere, die Dissertationsschrift selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

10. Veröffentlichungen

Die Inhalte der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Müller N, Schneider L, Breuer J, Freudenthal NJ. Evaluation of the Roche point of care system for determination of NT-proBNP in urine samples. Clin Chim Acta. 2022; 537:107-111.

<https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.10.010>

11. Danksagung

Zuerst möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Johannes Breuer danken, der mir diese Arbeit ermöglicht hat.

Ein großer Dank richtet sich an Frau PD Dr. med. Nicole Müller und Frau Dr. med. Noa Freudenthal. Als Betreuerinnen dieser Arbeit standen sie mir von Beginn an stets für Rückfragen zur Verfügung und haben mir wertvolle Ratschläge gegeben.

Ebenso möchte ich den Mitarbeitern der BioBank des Universitätsklinikums Bonn für die Nutzung ihrer Räumlichkeiten, sowie für die Lagerung und Bereitstellung der Urinproben danken.

Nicht zuletzt möchte ich meinen Eltern, Ulrich und Anke, meinen Brüdern, Maximilian und Philip, sowie meiner Freundin Friederike für die treue Begleitung meines Lebensweges danken.